

BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENDOJEN KANNABİNOİDLERİN İSKEMİ/REPERFÜZYON İLE
UYARILAN ARİTMİLER ÜZERİNE ETKİSİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SALİH ERDEM

OCAK 2018

**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ENDOJEN KANNABİNOİDLERİN İSKEMİ/REPERFÜZYON İLE
UYARILAN ARİTMİLER ÜZERİNE ETKİSİ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Salih ERDEM**

DANIŞMAN : Doç. Dr. ERSÖZ GONCA

**ZONGULDAK
Ocak 2018**

KABUL:

Salih ERDEM tarafından hazırlanan “Endojen Kannabinoidlerin İskemi/Reperfüzyon İle Uyarılan Aritmiler Üzerine Etkisi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 05/01/2018

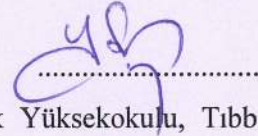
Danışman: Doç. Dr. Ersöz GONCA

Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü.



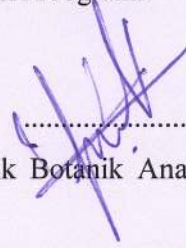
Üye: Yrd. Doç. Dr. Selçuk YAŞAR

İstanbul Rumeli Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı.



Üye: Yrd. Doç. Dr. Yasin HAZER

Bülent Ecevit Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Botanik Anabilim Dalı.



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

08/01/2018



Doç. Dr. Ahmet ÖZARSLAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”


Salih ERDEM

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ENDOJEN KANNABİNOİDLERİN İSKEMİ/REPERFÜZYONLA UYARILAN ARİTMİLER ÜZERİNE ETKİSİ

Salih ERDEM

Bülent Ecevit Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ersöz GONCA

Ocak 2018, 57 sayfa

Endokannabinoid sistem iştah, ağrı duyumu, duygu durum ve bellek gibi etkinliklerde nöronal sinaptik iletişimi etkileyen nöromodülatör ve reseptör sistemidir. Kannabinoidler, çeşitli kimyasal yapılarda bulunan farmakolojik olarak aktif moleküllerdir. Endokannabinoidler, bitkisel kannabinoidler ve sentetik kannabinoidler olarak üçe ayrılırlar. Endokannabinoidler etkilerini hücrelerdeki kannabinoid reseptörlerini modüle ederek gösterirler. Kannabinoidlerin miyokardiyal hücrelerde, kannabinoid 1 (KB₁) ve kannabinoid 2 (KB₂) olmak üzere iki ayrı reseptörü tespit edilmiştir. Bu çalışmada endojen kannabinoidlerin iskemi reperfüzyon (I/R) ile uyarılan aritmiler üzerine etkisi araştırılmıştır. Projede 59 adet Wistar Albino türü sıçan kullanılmıştır. Bu çalışma 3 grupta planlanmıştır. Grup I (n=13) Kontrol; DMSO (1ml/kg/i.v), Grup II (n=17) AM251 (1mg/kg/i.v) ve Grup III (n=17) AM630 (1mg/kg/i.v) ligasyondan 10 dakika önce verilmiştir. Anestezi altındaki sıçanlarda sol koroner arter bağlanarak 6 dakika iskemi, tıkanan damar gevşetilerek 10 dakika reperfüzyon yapılmıştır.

ÖZET (devam ediyor)

KB₁ antagonisti AM251 reperfüzyon periyodunda ölüm oranını, ventriküler taşikardi (VT) ve ventriküler fibrilasyon (VF)'nin görülme sıklığını, VF süresi ile toplam aritmi süresi ve aritmi skorunu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırmıştır. AM251 ortalama arteriyel kan basıncını ligasyondan önce anlamlı olarak artırmıştır. KB₂ antagonisti AM630 ölüm oranında, reperfüzyon aritmilerinin süre ve sıklığında anlamlı bir değişime neden olmamıştır. Bu sonuçlar iskemi reperfüzyonda meydana gelen endojen kannabinoidlerin KB₁ reseptör aktivasyonu ile ventriküler aritmilerin oluşumunu azaltıcı bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kannabinoidler, Miyokardiyal iskemi/reperfüzyon, Ventriküler aritmiler

Bilim Kodu: 401.04.02

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

THE EFFECT OF ENDOGENOUS CANNABINOIDS ON ISCHEMIA/REPERFUSION-INDUCED ARRHYTHMIAS

Salih ERDEM

**Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Ersöz GONCA

January 2018, 57 pages

The endocannabinoid system is a neuromodulator and receptor system that affects neuronal synaptic communication in activities such as appetite, pain sensation, mood and memory. Cannabinoids are pharmacologically active molecules in diverse chemical structures. Cannabinoids are classified as an endocannabinoids, phytocannabinoids and synthetic cannabinoids. They reveal their effects by modulation of the cannabinoid receptors. There are mainly two type of receptors, cannabinoid 1(CB₁) and cannabinoid 2 (CB₂) in myocardial cells. We aimed to research the effect of endogenous cannabinoids on I/R-induced ventricular arrhythmias.

59 Wistar Albino rats were used in this project. Study have planned in 3 groups. Group I (n = 13) Control the solvent of the drugs DMSO at a dose of 1 ml/kg/i.v 10 min before ligation, Group II (n = 17) AM251 at dose of 1 mg/kg/i.v 10 min before ligation and Group III (n = 17) AM630 at 1 mg/kg/i.v dose 10 min before ligation. Ischemia will be produced by the ligation of the left main coronary artery for 6 min and reperfusion was produced by the release of the occluded coronary vessel for 10 min in anaesthetized rats.

ABSTRACT (continued)

The CB₁ antagonist AM251 significantly increased mortality, the incidence of ventricular tachycardia (VT) and ventricular fibrillation (VF), the duration of total arrhythmia with VF, and the arrhythmia scores in the reperfusion period compared to the control group. AM251 significantly increased the mean arterial blood pressure before the ligation. The CB₂ antagonist AM630 did not cause a significant change the mortality rate and the incidence and duration of reperfusion arrhythmias. These results demonstrated that endogenous cannabinoids that occur in ischemia reperfusion period may suppress the generation of ventricular arrhythmias via the CB₁ receptor activation.

Keywords: Cannabinoids, Myocardial ischemia/reperfusion, Ventricular arrhythmias

Science Code: 401.04.02

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında değerli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Ersöz GONCA'ya teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Tezimin yazım sürecinde tavsiyelerinden faydalandığım tez komite üyeleri sayın Yrd. Doç. Dr. Selçuk YAŞAR ile sayın Yrd. Doç. Dr. Yasin HAZER'e teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bana her türlü destek olan aileme ve özellikle de rahmetli babama sonsuz teşekkürler ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL:	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
1.1 KALP FİZYOLOJİSİ	3
1.1.1 Kalbin Elektrofizyolojik Özellikleri	3
1.1.1.1 Sinoatriyal (SA) Düğüm Aksiyon Potansiyeli	4
1.1.1.2 Ventriküler Miyosit Aksiyon Potansiyeli	5
1.1.2 Kardiyak Uyarım-Kasılma Bağlantısı	7
1.2 MİYOKARDİYAL İSKEMİ	7
1.3 İSKEMİNİN SONUÇLARI	8
1.3.1 Enerji Üretiminin Bozulması	8
1.3.2 Normal İyon Dengesinin Bozulması	8
1.3.2.1 Sodyum (Na^+)	8
1.3.2.2 Potasyum (K^+)	9
1.3.2.3 Kalsiyum (Ca^{2+})	10
1.3.2.4 Hidrojen (H^+)	11
1.3.3 Hücre Nekrozu	12
1.3.4 İskemiden Kaynaklı Fonksiyonel Değişiklikler	12
1.4 VENTRİKÜLER ARİTMİLERİN ELEKTROFİZYOLOJİSİ	12
1.4.1 Değişmiş Kardiyak Aksiyon Potansiyelleri	13
1.4.2 Otomatisite	13
1.4.3 Tetikleme Aktivitesi	14
1.4.4 Re-entry Döngüsü	14

1.5 REPERFÜZYON HASARI	15
1.5.1 Reperfüzyon Aritmileri.....	15
1.6 KANNABİNOİDLERİN FARMAKOLOJİSİ	16
1.6.1 Reseptörler	16
1.6.2 KB ₁	17
1.6.3 KB ₂	18
1.6.4 Ligandlar	18
1.6.5 Agonistler.....	19
1.6.6 Antagonistler.....	19
1.7 KARDİYOVASKÜLER SİSTEM ve ENDOKANNABİNOİD SİSTEM	19
BÖLÜM 2	21
MATERYAL METOD.....	21
2.1 CERRAHİ İŞLEMLER.....	21
2.2 RİSK ALANI TESPİTİ.....	22
2.3 DENEY BAŞARI KRİTERLERİ	23
2.4 DENEY GRUPLARI ve İLAÇ UYGULAMASI	24
2.5 ARİTMİ ANALİZİ.....	25
2.6 HEMODİNAMİK ANALİZ.....	27
2.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZ	27
BÖLÜM 3	28
BULGULAR.....	28
3.1 HEMODİNAMİK PARAMETRELER.....	28
3.2 İSKEMİ VE REPERFÜZYON ARİTMİLERİ	28
3.3 İLAÇ UYGULAMALARININ ELEKTROFİZYOLOJİK ETKİSİ	30
BÖLÜM 4.....	35
TARTIŞMA	35
BÖLÜM 5.....	39
SONUÇLAR.....	39
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Sinoatriyal aksiyon potansiyelinde zamana bağlı iyonik kanal akımlarındaki değişiklikler	4
Şekil 1.2 Ventriküler miyosit aksiyon potansiyelinin zamana bağlı iyon hareketleri ile ilgili kanallar ve akımlar.....	6
Şekil 2.1 Anestezi altındaki sıçanda iskemi/reperfüzyon aritmi modeli.....	22
Şekil 2.2 Risk alanının belirlenmesi.....	23
Şekil 2.3 Ligasyon öncesi ve sonrası EKG ve kan basıncı kaydı.....	24
Şekil 2.4 İlaç uygulamalarının verilmiş zamanı ve dozu	24
Şekil 2.5 Anestezi altındaki sıçanlara intravenöz enjeksiyon orijinal görüntüsü	25
Şekil 2.6 Orijinal EKG kayıtları ve kan basınçları.....	26
Şekil 3.1 AM251 ve AM630'un aritmi skoruna etkisi.....	29
Şekil 3.2 AM251 ve AM630'un toplam aritmi süresine etkisi.....	29
Şekil 3.3 AM251 ve AM630'un elektrofizyolojik etkileri	30



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 AM251 ve AM630'un ligasyon öncesi ve I/R periyotlarında ölçülen ortalama arteriyal kan basıncı (mmHg) değerlerine etkisi.....	31
Çizelge 3.2 AM251 ve AM630'un ligasyon öncesi ve I/R periyotlarında ölçülen kalp atımı (atım/dakika) değerlerine etkisi.....	32
Çizelge 3.3 AM251 ve AM630'un iskemi periyodu boyunca görülen aritmiler üzerine etkisi.....	33
Çizelge 3.4 AM251 ve AM630'un reperfüzyon periyodu boyunca görülen aritmiler üzerine etkisi.....	34



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrad derece
g	: Gram
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mmHg	: Milimetre civa

KISALTMALAR

AEA	: Anandamid
AM251	: <i>N</i> -(Piperidin-1-yl)-5-(4-iodofenil)-1-(2,4-diklorofenil)-4-metil-1 <i>H</i> -pirazol-3-carboksamid
AM630	: 6-Iodo-2-metil-1-[2-(4-morfolinyl)etil]-1 <i>H</i> -indol-3-yl](4metoksifenil)methanone
ATP	: Adenozin trifosfat
AV	: Atriyoventriküler
AP	: Aksiyon potansiyeli
Ca²⁺	: Kalsiyum
[Ca²⁺]_i	: İntraselüler kalsiyum konsantrasyonu
CO₂	: Karbondioksit
DAD	: Geç ard-depolarizasyon
DMSO	: Dimetil sülfoksit
EKG	: Elektrokardiyagram
EKS	: Endokannabinoid sistem
GPRC	: G-proteinine bağlı 7-transmembran reseptörleri.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

H⁺	: Hidrojen
HCN	: Hiperpolarize aktivasyonlu siklik nükleotit kapılı kanallar
I_{Ca,L}	: L tipi kalsiyum akımı
I_{Ca,T}	: T tipi kalsiyum akımı
I_{Ks}	:Yavaş potasyum akımı
I_{Kr}	: Hızlı potasyum akımı
i.v	: İntravenöz
K⁺	: Potasyum
[K⁺]_e	: Ekstraselüler potasyum konsantrasyonu
KB₁	: Kannabinoid tip 1 reseptör
KB₂	: Kannabinoid tip 2 reseptör
KDH	: Kalp damar hastalıkları
KIKS	: Kalsiyum ile uyarılan kalsiyum salınımı
LTKK	: L-tipi kalsiyum kanalları
MI	: Miyokardiyal iskemi
mPTP	: Mitokondriyal geçiş poru
MSS	: Merkezi sinir sistemi
Na⁺	: Sodyum
[Na⁺]_i	: İntraselüler sodyum konsantrasyonu
PZBB	: Plazma zar bütünlüğünün bozulması
SA	: Sinoatriyal
SR	: Sarkoplazmik retikulum
SR141617A	: Rimonabant
VF	: Venriküler fibrilasyon
VT	: Ventriküler taşikardi
2-AG	: 2-araşidonil gliserol

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Kalp kasını besleyen damarların kısmi ya da tam tıkanması sonucu oluşan hastalıklar genel olarak kalp damar hastalıkları (KDH) olarak bilinir. Miyokardiyal enfarktüs, kalp yetmezliği ve hipertansiyon gibi halk arasında yaygın olarak görülen hastalıkları kapsamaktadır (Roger et al., 2012). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre dünyada her yıl yaklaşık olarak onyedimilyon insan kalp ve dolaşım sistemi hastalıkları sonucunda hayatını kaybetmektedir. KDH sadece yaşlı bireylerde ortaya çıkmamaktadır. Avrupada 65 yaş öncesi erkek ölümlerinin %31'ini ve 65 yaş öncesi kadın ölümlerinin %27'sini KDH oluşturmaktadır (Nichols et al., 2013). Kalp krizi sonrası ölümler bu oranların büyük bir kısmını teşkil etmektedir. Ani ölümler büyük oranda kalp krizi sonrası meydana gelen ventriküler aritmiler sonucu gerçekleşmektedir (Luna et al., 1989).

Koroner damarların tıkanması sonucunda meydana gelen iskemi miyokardiyal dokuda hasara ve ventriküler aritmilere neden olur. Hastaneye ulaştırılabilen hastalarda tıkalı koroner damar trombolik tedavi ile açılarak miyokardiyal hasarın büyümesi önlenmeye çalışılır. Ancak reperfüzyon adını alan bu girişim ölümcül aritmilere de neden olabilmektedir. Bu tür aritmilere iskemi/reperfüzyon (I/R) aritmileri denir. İskemi ve iskemi/reperfüzyon aritmilerinin oluşumunun önlenmesi ile hasta ölümlerinin azaltılması hedeflenmektedir. Bu nedenle deneysel hayvan modellerinde akut miyokart enfarktüsü sonucu meydana gelen ventriküler aritmileri önlemek için daha yeni ve etkili tedavi yolları bulmak amacıyla araştırmalar yapılmaktadır.

Kannabinoidler, çeşitli kimyasal yapılarda bulunan farmakolojik olarak aktif moleküllerdir. Bitkisel kannabinoid, endokannabinoid ve sentetik kannabinoidler olmak üzere üç ana gruba ayrılırlar. Endojen kannabinoidler araşidonat temelli lipidler olup eikozanoitlerdir. Anandamid (AEA) ve 2-araşidonil gliserol (2-AG) iyi bilinen endojen kannabinoidlerdir (Pertwee 2006). Etkilerini hücrelerdeki kannabinoid reseptörlerini modüle ederek gösterirler. Kannabinoid 1(KB₁) ve kannabinoid 2 (KB₂) olmak üzere iki ayrı reseptörü tespit edilmiştir (Bisogno et

al., 2001). Her iki reseptör de sıçan kalbinde yaygın olarak dağılım göstermektedirler (Gebremedhin et al., 1999; Liu et al., 2000; Di Marzo 2009). Bunlar 7 transmembran domaini olan ve G-protein reseptör ailesine ait olan reseptörlerdir (Howlett 2005). Kannabinoidler G-proteini aracılığıyla birçok dokuda adenin siklazı inhibe ederek fosfolipaz A ve C' yi uyarabilir. Böylece içlerinde kalsiyum ve potasyumunda bulunduğu birçok iyon kanalının çalışmasını düzenlerler (Turu and Hunyady, 2010; Li 2012; Al Kury et al., 2014). Kannabinoidler bu reseptörlerin yanısıra GPR-55 gibi kannabinoid olmayan reseptörler üzerinden de etkilerini gerçekleştirebilirler (Wagner et al., 2006; Ryberg et al., 2007; Cunha et al., 2011). Kannabinoid reseptörleri, endokannabinoidler ve endokannabinoidlerin sentez ve yıkımını düzenleyen sistem endokannabinoid sistem (EKS) olarak adlandırılır. EKS iştah, ağrı duyumu, duygu durum ve bellek gibi etkinliklerde görev alır (Howlett et al., 2004). EKS kardiovasküler sistemde önemli roller üstlenir. EKS'in aterosklerotik plak oluşumu, kalp atımı, kan basıncı, damar aktivitesi ve enerji metabolizması üzerine etkileri olduğu gösterilmiştir (Wagner et al., 2003; Cunha et al., 2011). Kannabinoidlerin, KB₁ reseptörleri aracılığıyla miyokardial kasılmayı azaltıcı, koroner kan akımını artırıcı ve hipotansiyon etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Randall et al., 2002, 2004; Batkai et al., 2004; Pacher and Haskó 2008). KB₂ reseptörleri üzerinden ise inflamatuvar hücrelerin kemotoksisini, endotel aktivasyonu, hücrelerin adezyon ve migrasyonunu önlerler (Di Filippo et al., 2004).

Kardiyak endokannabinoid üretimi miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon periyotlarında devam eder (Wagner et al., 2001; Mukhopadhyay et al., 2007). Bir bitkisel kannabinoid olan kanabidiol'ün I/R ile uyarılan aritmileri azalttığı gösterilmiştir (Gonca and Darıcı, 2014). Endokannabinoid sistem ve endojen kannabinoidlerin miyokardiyal I/R hasarı ve aritmilerin oluşum mekanizmasındaki rolü araştırılmakta olup konu ile ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. İskemi reperfüzyon aritmi modelinin uygulandığı bir *in vivo* çalışmada ekzojen olarak verilmiş endojen kannabinoid olan anandamidin sıçanlarda ventriküler aritmilere karşı direnci artırdığı gösterilmiştir (Krylatov et al., 2001a). Bu grubun yaptığı bir başka çalışmada seçici olmayan KB₁ ve KB₂ reseptör agonisti HU-210'un antiaritmik etkisinin KB₂ aktivasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (Krylatov et al., 2001b). Yapılan bir *in vivo* çalışmada seçici KB₁ reseptör antagonisti olan AM251'in miyokardiyal iskemi ile uyarılan aritmileri anestezi altındaki sıçanlarda azalttığı gösterilmiştir (Hepburn et al., 2011). İzole sıçan kalbinde yapılan bir çalışmada ise KB₁ antagonisti AM251'in ventriküler fibrilasyon sıklığını akut iskeminin geç döneminde artırdığı gösterilmiştir (Andrag and Curtis, 2013). Endojen kannabinoidlerin

iskemi ile uyarılan aritmiler üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiş olup konu tartışmalıdır.

Bu tezde endojen kannabinoidlerin I/R ile uyarılan aritmiler üzerine etkisi ilk kez araştırılacaktır. Çalışmamızın temel amacı endojen kannabinoidlerin iskemi/reperfüzyon (I/R) ile uyarılan aritmilerin oluşumundaki olası rolünü KB₁ ve KB₂ reseptörleri üzerinden açıklamaktır.

1.1 KALP FİZYOLOJİSİ

Kardiyovasküler sistemin temel işlevi vücuttaki homeostazı korumaktır. Vücut homeostazı oksijen ve besin maddelerinin etkili bir şekilde sağlanması ve dokulardan hücrel metabolizma ürünlerinin çıkarılmasıyla sağlanır. Kalp ikili bir pompa görevi görerek sistematik ve pulmoner dolaşımda kanın taşınmasını sağlar.

Kalbin impuls iletim sistemi kalbin senkron pompalamasını başlatıp sürdürmekten sorumludur. İmpuls iletim sistemi sinatriyal (SA) düğüm, atriyoventriküler (AV) düğüm ve his bandı ile purkinje liflerinden oluşur. İmpuls iletim sisteminin her bileşeninin elektrofizyolojik özellikleri farklıdır. Bu durum etkili pompalama için miyokardiyal kasılmanın kademeli olarak gerçekleşmesine imkan vermektedir.

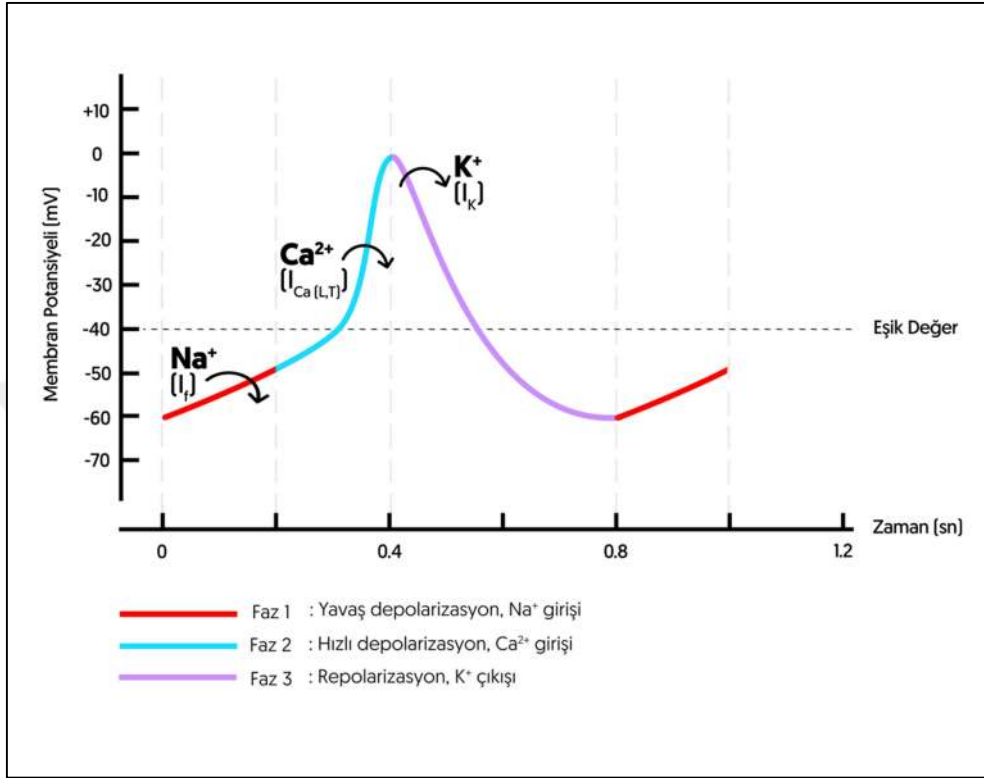
1.1.1 Kalbin Elektrofizyolojik Özellikleri

Kalbin senkron kasılması impuls iletim sistemi aracılığıyla elektriksel uyarıların düzenli olarak iletilmesi ile sağlanır. Kardiyak dokuda elektriksel uyarı sağlayabilen üç hücre tipi vardır; SA ile AV düğümlerde bulunan pacemaker hücreleri ve impuls iletim sisteminin özelleşmiş dokuları (His-Parkinje lifleri).

SA düğümde aksiyon potansiyelinin üç evresi vardır. SA düğüm hücreleri harici bir aktivasyon olmadan kendiliğinden depolarizasyon (impuls) dalgası üretir. Bu impuls dalgası iletim sistemindeki hücrelerin, sırasıyla depolarize olmasına neden olur. SA düğümünden çıkan impulsların sıklığı kalp atım hızını belirler (Satoh, 2003; Mangoni and Nargeot, 2008).

1.1.1.1 Sinoatriyal (SA) Düğüm Aksiyon Potansiyeli

SA düğümün zar potansiyeli kararsızdır. Zamana bağlı üç temel faz iyonik kanal akımlarında değişime neden olur (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Sinoatriyal aksiyon potansiyelinde zamana bağlı iyonik kanal akımlarındaki değişiklikler. Faz₁: funny akımı (I_f) ile içeri yönde sodyum (Na^+) girişi, Faz₂: kalsiyum akımı (I_{Ca}) ile içeri yönde kalsiyum (Ca^{+2}) girişi, Faz₃: potasyum akımı (I_K) ile dışarı yönde potasyum (K^+) çıkışı.

Faz 1: Hiperpolarizasyon ile aktive olan siklik nükleotid kapılı (HCN) kanalların alt birimleri olan HCN2 ve HCN4 kanallarıyla funny (I_f) olarak adlandırılan akım tarafından içeriye doğru küçük bir sodyum (Na^+) iyonu akışı sağlanır (Bucchi et al., 2012). Bu alt birimlerin sayısı SA düğümde sağ atriyumun geri kalan bölümüne göre çok daha fazladır (Yeh et al., 2009). Bu akımın farmakolojik olarak bloke edilmesi kalp hızını yavaşlatır, angina ve kalp yetmezliği tedavisinde klinik olarak kullanılır. HCN kanalları aracılığıyla gerçekleşen bu Na^+ akımı (I_f) sadece hiperpolarizasyon ile aktive olur (DiFrancesco and Camm, 2004; Bucchi et al., 2012).

Faz 2: T-tipi Ca^{2+} kanalı akımları ($I_{\text{Ca,T}}$) ve L-tipi Ca^{2+} kanalı akımları ($I_{\text{Ca,L}}$) depolarizasyona katkıda bulunur. T-tipi Ca^{2+} kanalı zar potansiyeli $\sim -55\text{mV}$ değerine ulaştığında aktive olur (Levick, 2003; Mangoni and Nargeot, 2008). T-tipi Ca^{2+} 'ın aksiyon potansiyeline küçük bir

katkısı vardır. Asıl katkı L-tipi Ca^{2+} kanalının aktivasyonu yoluyla gerçekleşir. L-tipi Ca^{2+} kanalı aktivasyonu ise zar potansiyeli -40mV eşik değerine ulaştığında gerçekleşir (Satoh, 2003). SA düğümde ağırlıklı olarak ifade edilen altbirimler; $I_{\text{Ca,T}}$ akımı için $\text{Ca}_v3.1$ ve $\text{Ca}_v3.2$ (Cribbs et al., 1998, Satoh, 2003), yüksek voltaj aktivasyonlu $I_{\text{Ca,L}}$ kanalı için $\text{Ca}_v1.2$ 'dir (Bohn et al., 2000, Satoh, 2003).

Faz 3: I_K akımı dışarı yönde potasyum (K^+) akımıdır. Hızlı (I_{K_r}) ve/veya yavaş (I_{K_s}) aktivasyon kanal akımları nodal hücrelerdeki gecikmiş K^+ akımına katkıda bulunur. Bu iki akımın SA düğümlerde spontan repolarizasyona olan katkısı türler arasında değişkenlik göstermektedir. Örneğin sıçan SA düğümünde I_{K_r} blokeri E-4031 SA düğüm hücresinin önder odak potansiyelini baskılayabilir fakat I_{K_s} blokeri ile benzer bir etki elde edilemez (Shinagawa et al., 2000; Lei et al., 2001). Bu durumun aksine domuz nodal hücrelerinde ise I_{K_r} ve I_{K_s} akımlarının repolarizasyona katkısı eşit orandadır (Matsuura et al., 2002).

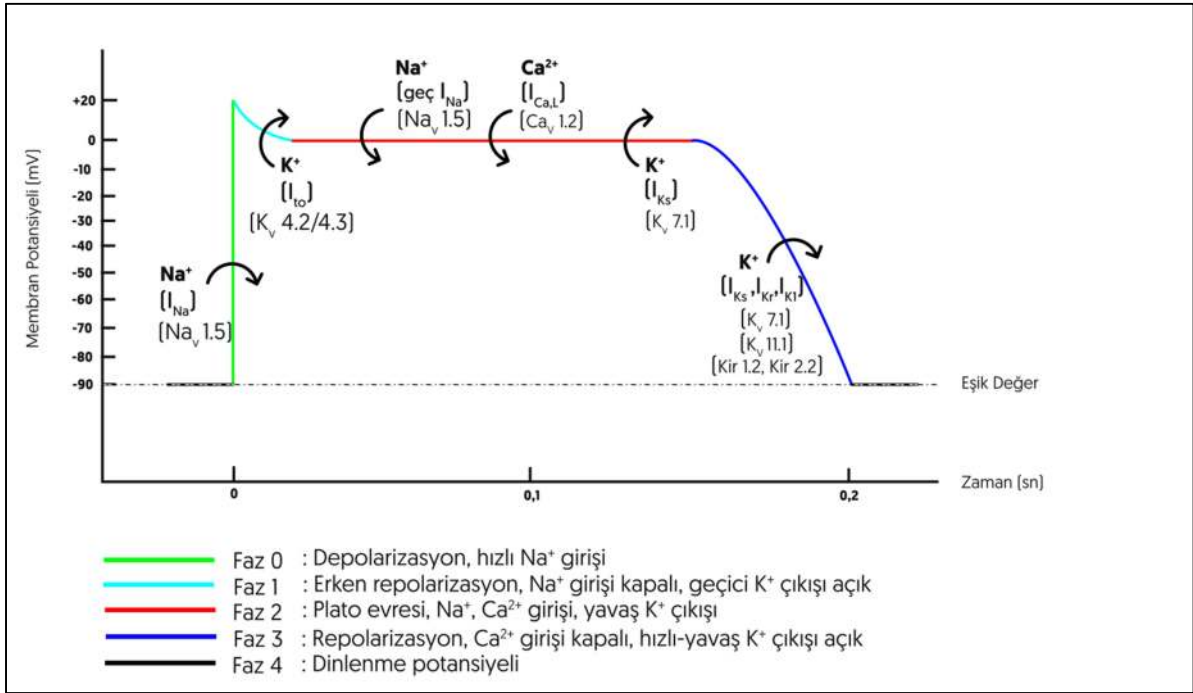
SA düğümü tarafından üretilen otomatik aktivite ventriküler miyositleri de içeren impuls iletim sisteminin tümünde aksiyon potansiyelinin iletilmesini sağlar.

1.1.1.2 Ventriküler Miyosit Aksiyon Potansiyeli

Ventriküler miyositlerin aksiyon potansiyelinin dalga formu morfolojisi kalbin otomatik hücrelerinden farklıdır. Ventriküler hücre depolarizasyonunun beş fazı şekil 1.2'de gösterilmiştir.

- **Faz 0:** Bu faz membran potansiyelinin hızlı depolarizasyonu ile karakterizedir. Hücre içine I_{Na} akımı bu fazdan sorumludur. Kanal aktivasyonu yaklaşık -90mV'de gerçekleşir.
- **Faz 1:** Faz 0 takiben geçici erken repolarizasyon görülür. Bu repolarizasyon dalgasından sorumlu I_{to} akımı hücre zarının hızlı depolarizasyonuna tepki olarak hücre dışına K^+ iyonlarını taşır ve geçici olarak açılır. Bu faz Ca^{2+} bağımlı iyon kanallarının aktivasyonunu belirler ve bu sayede aksiyon potansiyelinin plato fazını modüle eder. I_{to} akımının fazla olduğu sıçanlarda aksiyon potansiyellerinin normalden kısa olma eğilimi vardır. Bu sıçanların miyosit aksiyon potansiyelinde belirgin bir plato eksikliği gözlemlenir (Gussak et al., 2000; Niwa and Nerbonne, 2010). I_{to} akımının hem hızlı ($I_{\text{to,f}}$) hem yavaş ($I_{\text{to,s}}$) akımları vardır (Oudit et al.,

2001). $I_{to,f}$ akımından K_v 4.2/4.3 kapıları sorumluyken $I_{to,s}$ akımlarından K_v 1.4 kapıları sorumludur (Niwa and Nerbonne, 2010).



Şekil 1.2 Ventriküler miyosit aksiyon potansiyelinin zamana bağlı iyon hareketleri ile ilgili kanallar ve akımlar. (Na⁺): Sodyum , (I_{Na}): Sodyum akımı, (Na_v 1.5): Sodyum kanalı, (K⁺): Potasyum, (I_{to}): Geçici potasyum akımı, (K_v 4.2/4.3): Geçici potasyum kanalları, (Ca²⁺): Kalsiyum, ($I_{Ca,L}$): Kalsiyum akımı, (Ca_v 1.2): Kalsiyum kanalı, (I_{Ks}): Yavaş potasyum akımı, (K_v 7.1): Yavaş potasyum kanalı, (I_{Kr}): Hızlı potasyum akımı, (K_v 11.1): Hızlı potasyum kanalı, (I_{K1}): Doğrultucu potasyum akımı, (Kir 2.1, Kir 2.2): Doğrultucu potasyum kanalları.

- **Faz 2:** Kardiyak aksiyon potansiyeline özgün olan bu fazda, hücre içine Ca²⁺ akımı gerçekleşir ve I_{Ca} ile simgelenir. Bu safha hızlı repolarizasyonun önlenmesinde önemlidir (Bers and Guo, 2005). Bu fazda Ca²⁺ girişinin çoğu L-tipi Ca²⁺ kanallarıyla sağlanırken (LTKK, $Cav1.2$) az miktarda T-tipi Ca²⁺ kanalları ($Cav3.1$ ve $Cav3.2$)'da rol oynar. Hücre içine Ca²⁺ girişi sarkoplazmik retikulumdan (SR) kalsiyum salınmasını kolaylaştırır. Sonuç olarak kardiyak aksiyon potansiyeline özgü olan bu faz miyositin kasılmasının gerçekleştiği evredir (Grant et al., 2009; Meza et al., 2013).
- **Faz 3:** Faz 2 platosu tamamlandıktan sonra repolarizasyon fazı iyon hareketine bir kez daha hakim olmaya başlar. Repolarizasyon, K⁺ akışında zamana bağlı artış süreci olup, K⁺ kanallarının açılmasıyla uyarılır. I_{Kr} ve I_{Ks} olmak üzere iki ayrı

kanal sırasıyla hızlı ve yavaş doğrultucu akımlar taşır (Natell 2008). Geçikmiş dışa doğrultucu potasyum akımlarının repolarizasyon sürecine çok az etkisi bulunmaktadır (Varro et al., 1997).

- **Faz 4:** Bu faz istirahat fazı olarak adlandırılır. Ventriküler miyositlerin I_{K1} akımı, $K_{ir2.1}$ ve $K_{ir 2.2}$ voltaj bağımlı iyon kanallarının bir bileşimidir ve repolarizasyonunu belirler (Biliczki et al., 2002; Nagy et al., 2013). I_{K1} kanal akımı sonraki aksiyon potansiyelinin dinlenme potansiyelini ayarlar.

1.1.2 Kardiyak Uyarım-Kasılma Bağlantısı

Kardiyak uyarım-kasılma eşleşmesi, bir aksiyon potansiyeli üretilmesinden kalpteki kasların kasılmasına kadar bir dizi olayı tanımlar. Bu süreç, hücre içi kalsiyum (Ca^{2+}) iyonu konsantrasyonlarındaki geçici değişikliklere dayanır. Bir bütün olarak kalbin senkron ve zamanında kasılmasını garantilemek için kritiktir (Stern and Lakatta, 1992).

Fizyolojik koşullarda, kardiyomiyositlerde aksiyon potansiyelleri SA düğümünün pacemaker hücreleri tarafından başlatılır. SA düğümünden yayılan impuls dalgası miyokardiyal kas hücrelerinin depolarizasyonuna neden olur. Hücre içine giren Ca^{2+} iyonları sarkoplazmik redikulum (SR)'den hücre içi Ca^{2+} iyon mobilizasyonunu uyarır. Bu süreç, kalsiyumun uyardığı kalsiyum salınımı olarak adlandırılır. Serbest sitozolik Ca^{2+} aktin-troponin tropomyozin kompleksinde troponin C moleküllerine bağlanır. Bu da aktin filamentleri üzerindeki miyozin bağlanma bölgesinin ortaya çıkmasına yol açan troponin C'de konformasyonel bir değişikliğe neden olur. Böylece protein etkileşimlerinin kompleks bir dizisi meydana gelir. Bu süreç miyositlerin kasılma döngüsünü kolaylaştıran bir aktin-miyozin çapraz köprü oluşumu ile sonuçlanır (Stern and Lakatta, 1992; Levick 2003).

1.2 MİYOKARDİYAL İSKEMİ

Miyokardiyal iskemi (MI) koroner arterin tıkanmasıyla, miyokardiyal hücrelere oksijen ve besin maddelerinin karşılanamaması ve kardiyak miyositlerde üretilen metabolik atıkların uzaklaştırılmasının yetersiz kalmasına neden olan bir süreçtir. İskeminin erken sonuçları iyon homeostazında bozulma ve buna bağlı olarak elektrofizyolojik değişikliklerin eşlik ettiği metabolik değişimlerdir. Geç değişiklikler ise kontraktıl işlev bozuklukları ve hücrel nekrozun başlamasını içerir (Carmeliet 1999).

1.3 İSKEMİNİN SONUÇLARI

İskeminin sonuçları erken veya gecikmeli olarak ortaya çıkabilir. Ani olarak ortaya çıkan sonuçlar koroner arter tıkanma sonucu enerji bakımından zengin fosfat depolarının tükenmesiyle dakikalar içinde gerçekleşir. Azalan adenosin trifosfat (ATP) depolarına iyon dengesizliği eşlik eder. Bu sonuçların tümü kontraktıl işlev kaybına ve aritmi oluşumuna sebep olur.

1.3.1 Enerji Üretiminin Bozulması

Koroner kan akımındaki uzun süreli bir azalma miyokarddaki substrat metabolizmasını bozmaktadır. MI hem yağ asidi oksidasyonunda azalmaya hem de glikolizde artışa neden olmaktadır (Knuuti and Tuunanen, 2010). Bu da ATP gibi enerji açısından zengin fosfatların üretimini azaltır (Jaswal et al., 2011). Miyokardın kasılma gücündeki azalma atım hacminin azalmasına neden olur. İyon homeostazı ve miyokardiyal elektriksel homojenite kaybı ile gerçekleşen kaskat kardiyovasküler performansı önemli ölçüde azaltır. ATP'deki akut azalma iyon homeostazında bir değişikliğe ve miyokard hücre zarı boyunca K^+ ve Ca^{2+} sızıntılarına neden olur. Bu durum kardiyomiyositlerin elektrofizyolojik özelliklerini önemli ölçüde bozar. ATP üretiminin bozulması sonucu ortaya çıkan purin öncüllerinin artan konsantrasyonları ksantine ve hipoksantine yıkılır. Bu metabolitler iskemi sırasında ksantin oksidaz enzimi için bir süperoksit üretimini sağlayan önemli substratlardır (Maxwell and Lip, 1997).

1.3.2 Normal İyon Dengesinin Bozulması

İskemide kardiyomiyositlerin elektrofizyolojik özelliklerinin bozulmasından sorumlu başlıca iyon dengesizlikleri sodyum (Na^+), potasyum (K^+), kalsiyum (Ca^{2+}) ve hidrojen (H^+) iyon konsantrasyonlarının değişmesi ile ilgilidir. İyon homeostazının dengesizliği ani hücre ölümlerine neden olabilir. Hasara uğramış hücrelerin iyileşmesini engelleyebilir (Carmeliet 1999; Piper et al., 2003).

1.3.2.1 Sodyum (Na^+)

İskemi sırasında enerji üretiminin azalması sonucu hücre içindeki Na^+ konsantrasyonu artar. Bu değişiklik hücre dışına aktif Na^+ akışının azalmasıyla hücre içine doğru artan Na^+ akımı sonucu meydana gelir (Hoyer et al., 2011). Koroner tıkanma sonrası enerji üretimindeki azalmanın bir sonucu olarak Na^+/K^+ -ATPaz pompasının çalışmaması, Na^+ iyonlarının sitoplazmadan uzaklaştırılamamasına neden olur. Na^+ daki bu birikme asidoz ile daha da

kötüye gider. Hücre içi Na^+ birikimine ve bundan kaynaklanan depolarizasyona karşı koymak amacıyla $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ değişimi ters çevrilir (Soliman et al., 2012). Na^+ aşırı yüklenmesini önlemek isterken Ca^{2+} yüklenmesini tetikler. Bu gelişme kontraktüre (kasın kalıcı ve sürekli kasılması) neden olur. Kontraktür miyosellüler hasarı oluşturmalarının yanında proaritmiktir (Carmeliet 1999; Piper et al., 2003). İzole ventrikül miyositlerindeki geç I_{Na} nın azaltılması aritmik aktiviteyi baskıyalabilir, geç ard-depolarizasyon (DAD) ve tetiklenmiş aktivite buna bir örnektir (Song et al., 2008). Bu akımı izole edilmiş kobay kalpte bloke etmek enerji kaybında bir azalmaya ve kasılma işlevinde bir iyileşmeye neden olmuştur (Hoyer et al., 2011).

1.3.2.2 Potasyum (K^+)

Koroner kan akımının birkaç dakikalığına kesilmesi iskemiye uğrayan bölgede iskemik hücrelerin depolarize olmasına sebep olur (Janse and Kleber, 1981). Bu depolarizasyon konsantrasyonu 20 mmol l^{-1} 'ü aşabilen K^+ iyonlarının hücre dışında birikmesinden kaynaklanır (Janse and Kleber, 1981; Janse and Wit, 1989; Wilde and Aksnes, 1995; Carmeliet 1999; Miura et al., 2012). İskemi sırasında hücre dışındaki K^+ oluşumu tipik olarak üç aşamada gerçekleşir; ilk 20 saniyede hızlı birikim, tıkanma sonrası 3 ila 10 dakika arasında ortaya çıkan bir plato ve tıkanmadan sonra 15-30 dakika boyunca daha yavaş gerçekleşen üçüncü bir birikim (Carmeliet 1999).

Fizyolojik koşullar altında miyositlerden pasif bir K^+ akımı vardır, Na^+/K^+ pompası tarafından K^+ alımı aktif olarak dengelenmekte iken iskemi bu homeostatik mekanizmayı bozmaktadır (Carmeliet 1999). K^+ homeostazının bozulmasından sorumlu olan üç ana faktör vardır. Bunlar değişken ozmoz, Na^+/K^+ pompa fonksiyonunun bozulmasına bağlı azalmış içe doğru K^+ akışı ve ATP bağımlı K^+ kanallarının açılması ile dışa doğru K^+ akımıdır. İskemik bölgede metabolik atıkların birikmesi hücrelerin hücre zarlarında ozmatik dengeyi değiştirir. Hücre içinde biriken metabolik atıklar aynı zamanda ekstraselüler ortamda bulunan suyun hücre içerisine girmesine neden olur. Bu durum hücre dışı hacmi azaltır. İskemik miyositlerin sitoplazmasında ozmotik yüklü parçacıkların birikmesi hücre içinden dışına doğru K^+ akımına neden olur. Na^+/K^+ pompası fizyolojik koşullarda K^+ homeostazının korunmasından sorumludur. Koroner tıkanmada hücre içi ATP seviyeleri azaldığından bu ATP gerektiren pompanın işlevi de azalır. Bozulan Na^+/K^+ pompa fonksiyonunun direk bir sonucu, hücre içine K^+ iyonlarının geçememesi sonucu ekstraselüler K^+ konsantrasyonunun ($[\text{K}^+]_e$)

artmasıdır. Pompa aktivitesinin zayıflaması normal K^+ iyon dengesini bozmak için yeterlidir. Serbest radikaller ATP ilişkili etkilerinin yanısıra pompa aktivitesinin baskılanmasında rol oynamaktadırlar (Matsuura and Shattock, 1991; Carmeliet 1999). K^+ birikiminin son etkeni ise ATP miktarında azalmaya bağlı olarak ATP bağımlı K^+ kanallarının açılarak hücre dışına doğru K^+ akımının artmasıdır.

Ekstraselüler ortamda artan K^+ normal kardiyomiyositlerin depolarizasyonuna neden olur (Carmeliet 1999). $[K^+]_e$ artış iskemik miyositlerin elektrofizyolojik özelliklerini de akut olarak etkileyebilir. İskemik miyokardiyal hücrelerin aksiyon potansiyelinin genişliği ve süresinde azalmaya neden olur. Bu durum re-entry tipi aritmilerin meydana gelmesine neden olur (Carmeliet 1999). $[K^+]_e$ artışı iskemi olmaksızın iskeminin elektrofizyolojik sonuçlarını taklit ettiği gösterilmiştir (Hill and Gettes, 1980; Hirche et al., 1980). Araştırmacılar bölgesel $[K^+]_e$ artışının aritmileri başlatabileceğini göstermiştir (Miura et al., 2012).

1.3.2.3 Kalsiyum (Ca^{2+})

İskemi sırasında Ca^{2+} iyonu dengesizliğinin meydana geliş süresi üzerinde tam bir konsensüs bulunmaktadır. Ancak iskemi sırasında sitozolik serbest Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) birikmesinin hücre dışı K^+ iyon birikiminin gözlemlendiği zaman aralığından daha sonra gerçekleştiği bilinmektedir (Carmeliet 1999).

Sitozoldeki serbest Ca^{2+} iyon konsantrasyonundaki ilk artış hücre içi asidoza bağlı artmış intraselüler H^+ iyonları ile ekstraselüler Ca^{2+} iyonlarının yer değiştirmesi sonucu ortaya çıkar (Carmeliet 1999). Artmış intraselüler H^+ konsantrasyonu Na^+/H^+ kanallarını aktive ederek intraselüler Na^+ konsantrasyonunu artırır. Bunun sonucunda Na^+/Ca^{2+} kanalları ters yönde aktive olur. Na^+/Ca^{2+} değişiminin ters çevrilmesi hücre içi Na^+ seviyesini düşürmek için işlev görür. Bunun sonucunda hücre içinde aşırı Ca^{2+} iyon yüklenmesi meydana gelir. Bununla birlikte sarkoplazmik retikulum (SR) tarafından Ca^{2+} iyon alımı azalır. SR tarafından azaltılan Ca^{2+} iyon alımı, hem düşük ATP seviyeleri hem de serbest oksijen radikal kaynaklı disülfid köprüsü oluşumunun bir sonucu olan Ca^{2+} -ATPaz'ın V_{max} 'ının azalmasından kaynaklanmaktadır (Griese et al., 1988; Kukreja et al., 1991; Carmeliet 1999; Ottolia et al., 2013). Ca^{2+} 'daki dengesizliğin iskeminin ardından K^+ 'nın bölgesel birikmesinden kaynaklandığı gösterilmiştir (Miura et al., 2012).

Kardiyomiyositin uyarı ve kasılmayı koordine etme yeteneği Ca^{2+} 'nın yoğunluğuna göre değişir. Bunun sonucunda iletim hızında bir azalma ve uzun süreli dinlenme periyodu değişiklikleri aritmi oluşumuna zemin hazırlayan bir ortamın oluşmasına yol açabilir (Downar et al., 1977). İzole miyositlerde Ca^{2+} birikiminin spontan fibrilasyon başlamadan önce gerçekleştiği gösterilmiştir (Thandroyen et al., 1991). İskemi sırasında hücre içinde aşırı Ca^{2+} iyonu birikmesi iskemi sonrası geri kazanılabilecek hücrelerde nekrozu uyarabilir (Piper, Meuter and Schafer, 2003). İskemi sonucu artış gösteren intraselüler Ca^{2+} konsantrasyonunun yükselmesinin etkileri iskeminin yanısıra reperfüzyon periyodunda da kardiyomiyositleri etkilemeye devam eder. Mitokondriyal geçiş poru (mPTP) iç ve dış mitokondriyal membranları kapsayan spesifik olmayan iletim gözenekleridir. İskemi sırasında artan intraselüler Ca^{2+} , mPTP'nin açılmasına ve mitokondri içi Ca^{2+} birikmesine neden olur. Bu durum mitokondriyal zar yıkımını ve dolayısıyla hücre ölümünü hızlandırır (Crompton et al., 1999; Hausenloy et al., 2003; Halestrap et al., 2004).

1.3.2.4 Hidrojen (H^+)

Miyokardiyum iskemiye uğradığında CO_2 konsantrasyonunda ve proton üretiminde artış meydana gelir. Bu artış hücre içi pH ve asidozda net değişikliklere neden olur (Carmeliet 1999). İskeminin sonuçlarına bağlı olarak hücre içi asidoz, artan H^+ üretimi ve bu H^+ 'nin uzaklaştırılamamasından kaynaklanır. Hücre içi H^+ seviyesi iskemi sırasında üç ana mekanizma nedeniyle artmaktadır; (1) iskemi sırasında ATP üretiminin glikolitik yolla yer değiştirmesinden kaynaklı H^+ üretimi (2) ATP hidrolizi ile H^+ üretimi ve (3) CO_2 artışına bağlı H^+ uzaklaştırılmasının yetersizliği (Watson et al., 1984; Allen et al., 1985; Eisner et al., 1989; Dennis et al., 1991; Carmeliet 1999). Hücre içi asidoz hücre dışı boşluklarda K^+ birikmesine katkıda bulunabilecek bir etkidir. Deneyler iskemik miyokarddaki pH değişikliğinin K^+ 'yı hemen değiştirdiğini göstermiştir (Kleber et al., 1987; Janse and Wit, 1989). İskemik miyokardda gözlenen asidozun elektrofizyolojik sonuçları; zarın dinlenme potansiyelinde düşüş, faz 0 depolarizasyonun hızında azalma ve bunların sonucunda aksiyon potansiyelinin süresinde eş zamanlı artıştır. İskemik alandaki hücrelerin kardiyak aksiyon potansiyelinde gözlenen bu akut değişimler asidoza bağlı iyon kanal fonksiyonundaki bozulmayla açıklanabilir. Kardiyak aksiyon potansiyelindeki bu değişimler impuls iletiminde yavaşlamaya neden olarak aritmi oluşumuna zemin hazırlar (Coraboeuf et al., 1979; Carmeliet 1999).

1.3.3 Hücre Nekrozu

Koroner damarın tıkanması iskemiye ve risk alanındaki kardiyomiyositlerin nekrozuna yani geri dönüşü olmayan hücre ölümlerine neden olur. Tıkanma sonrası hücresel nekroz oranı enfarkt alan ile ilişkilendirilir. İskemiden kaynaklanan hücresel değişiklikler sonuç olarak hücresel ödem ile birlikte miyositlerin kasılma mekanizması ve mitokondriyal yapıdaki değişiklikleri içerir. Tıkanma sırasında oksijen tüketiminin seviyesi ve kolleteral akışın miktarı reperfüzyonda hücresel nekroz sürecinin hızını etkileyen faktörleri ve nekroz oluşma ihtimalini belirler (Schaper and Schaper, 1988). Nekrotik hücre ölümü tipik bir plazma zar bütünlüğünün bozulması olayıdır. Bu durumun reperfüzyonun birinci saatinde ortaya çıkıp yirmidört saate kadar sürdüğü gösterilmiştir. Plazma zar bütünlüğünün bozulmasını reperfüzyon sonrası ilk üç saat içinde reaktif oksijen türlerinin devam ettirdiği düşünülmektedir. Sonrasında ise bu süreç kompleman birikimi ile sürmektedir. Araştırmacılar bu birikimden özellikle komplement 3 proteinini sorumlu tutmaktadırlar (Charlagorla et al., 2013).

1.3.4 İskemiden Kaynaklı Fonksiyonel Değişiklikler

MI sonrası gelişen en belirgin fonksiyonel değişiklik aritmilerdir. Aritmiler koroner tıkanmanın birkaç dakikası içinde gerçekleşir ve ölüm oranını yükseltir (Janse and Wit, 1989). Kan akımının azalmasından sonra ortaya çıkan elektrofizyolojik değişiklikler aritmilerin başlaması için ana itici güçtür (Janse and Kleber, 1981). Artmış Ca^{2+} ile birlikte kardiyak aksiyon potansiyelinin uzaması, kasılma sonrası gevşeme periyodunda olumsuz etkilere neden olur. Sol ventrikül diyastol sonu basıncı ve kardiyak sertliği artırır (Bers et al., 2003; Madonna et al., 2013).

1.4 VENTRİKÜLER ARİTMİLERİN ELEKTROFİZYOLOJİSİ

Deneyssel koroner oklüzyon dakikalar içinde elektrofizyolojik değişiklikleri meydana getirir. En belirgin değişim iskemik bölgedeki hücrelerin depolarizasyonu ile birlikte transmembran iyon dengesindeki değişikliklerdir (Janse and Wit, 1989). Bu elektrofizyolojik değişiklikler kardiyak aksiyon potansiyelinin süresinde kısalma ve genişliğinde azalmayı içerir (Janse and Kleber, 1981; Janse and Wit, 1989). Nihayetinde süreklilik gösteren iskemik olaylar dizisinin sonucunda aritmilerin görülmesinde bir artış olur. Deneyssel koroner tıkanmanın ardından iskemi esnasında iki aritmi periyodu tespit edilmiştir; ilk 2-10 dakika içinde ortaya çıkanlara erken dönem ventriküler aritmiler (ErkenVA veya faz 1a) ve 12-30 dakika arasında meydana

gelen aritmilere geç ventriküler aritmiler (GeçVA veya faz 1b) denilmektedir (Harris, 1948; Kaplinsky et al., 1979; Janse and Wit, 1989). Bu iki fazın ikisine birden Harris faz I aritmileri denir. Bu aritmilerin bimodal görünüşü sıçan ve domuz gibi bir çok türde tanımlanmıştır (Harris, 1948; Kaplinsky et al., 1979; Hirche et al., 1980; Janse and Wit, 1989). Reperfüzyonda ise belirgin bir faz ayrımı yapılmaz. Aritmiler reperfüzyondan hemen sonra şiddetli bir şekilde başlar (Gonca et al., 2016).

1.4.1 Değişmiş Kardiyak Aksiyon Potansiyelleri

Koroner tıkanmayı takiben iskemik bölge içindeki hücrelerin depolarizasyonu ile birlikte aksiyon potansiyeli morfolojisinde değişiklikler ortaya çıkar. Bu değişiklikler, aksiyon potansiyel süresinin ve iskemik bölgedeki hücrelerin yanıtsız dönem içinde oldukları periyodun uzamasına neden olur. Aksiyon potansiyelinin morfolojisindeki bu değişiklikler ile birlikte $[K^+]_e$ ve Na^+ akımındaki geçici değişiklikler ile katekolamin deşarjı aynı zamanda gerçekleşir. Bu değişiklikler iletim hızını azaltır (Waldo and Kaiser, 1973; Janse and Wit, 1989; Carmeliet 1999; Noble D and Noble P, 2006; Madonna et al., 2013).

İskemik bölgedeki kardiyak aksiyon potansiyeli değişikliklerinin homojen olmaması aritmilerin oluşumunda kritik bir etkidir (Madonna et al., 2013). İskemik bölgenin sınırındaki hücreler ile sağlıklı miyokard hücrelerinin birleşim bölgelerindeki iyon dengesizliğine bağlı olarak aksiyon potansiyel morfolojisinde farklılıklar görülür. Bu durum miyositlerin repolarizasyonunda düzensizliklere neden olur (Pollard et al., 2002). Aksiyon potansiyellerinde patolojik ve homojenliği bozan değişiklikler aritmilerin oluşumu için elverişli bir ortam sağlar. Erken ard-depolarizasyon (EAD) ve re-entry buna örnektir (Carmeliet 1999; Madonna et al., 2013).

1.4.2 Otomatisite

Otomatik depolarizasyon SA ve AV düğümlerindeki pacemaker hücrelerinin tipik karakteristik bir özelliğidir. Otomatik aktivitedeki değişim ventriküler aritmilerin oluşumuna neden olan bir faktördür (Mangoni and Nargeot, 2008). Kalpte iskemiye maruz kalan hücreler spontan depolarizasyon göstererek otomatik aktivite oluşturur (Wit and Bigger, 1975). Spontan depolarizasyon gösteren atriyal miyositlerde geç I_{Na} kanalları bloke edilerek Na^+ girişi engellenirse spontan aktivitenin azaldığı gösterilmiştir (Song et al., 2008). İmpuls iletim sistemi içinde SA düğüm dışında diğer dokular da otomatisite özelliğine sahiptir. Fizyolojik

koşullarda SA düğümün depolarizasyonu daha hızlıdır. Bu durum kalbin otomatizitesini korurken alternatif odakların hakimiyetini engellemektedir. İskemi bu alternatif odakların depolarizasyon hızını artırmaktadır. Böylece bu alanların kalp için yeni otomatik odak olma olasılığını artmaktadır (Carmeliet 1999).

1.4.3 Tetikleme Aktivitesi

Tetikleme aktivitesi EAD ve DAD olmak üzere iki şekilde meydana gelir (Janse and Wit, 1989; Carmeliet 1999).

EAD aksiyon potansiyelinin repolarizasyon veya plato evresinde ortaya çıkar. Faz 2'de Na^+ ve Ca^{2+} kanallarının aşırı aktivasyonundan kaynaklanan repolarizasyon süresinin uzaması ile meydana gelir (Hoey et al., 1994; Song et al., 2008; Hoyer et al., 2011; Shryock et al., 2013).

DAD, repolarizasyon tamamlandıktan hemen sonra ortaya çıkan geç ard-depolarizasyondur. Bu aritmi tipi iskemik kardiyomiyositlerdeki aşırı Ca^{2+} konsantrasyonu tarafından tetiklenir (Song et al., 2008; Shryock et al., 2013). Bunun için gerekli koşullar iskemiye takiben tipik koşulların yanı sıra, SR'den spontan Ca^{2+} salınımı, aşırı katekolamin deşarjı ve düşük intraselüler K^+ konsantrasyonudur (Luo and Rudy, 1994; Carmeliet 1999; Shryock et al., 2013).

1.4.4 Re-entry Döngüsü

Re-entry, sonlanması gereken bir ileti ile dokunun tekrar uyarılması sonucu ortaya çıkar (Shryock et al., 2013). Re-entry oluşumu için gereken koşullar; (1) fonksiyonel tek yönlü iletim bloğunun olması, (2) kısa refrakter periyotlar ile eşlenmiş yavaş impuls akımları ve (3) kalbin dilatasyonu sonucu iletinin izleyeceği yolun uzamasıdır (Quan and Rudy, 1990). İskemi sonrası ilk 30 saniye boyunca aksiyon potansiyeli refrakter periyotlarında var olması gereken homojenlik önemli ölçüde bozulur. Bunun bir nedeni, iskemik bölge miyositleri ile normal hücreler arasındaki $[\text{K}^+]_e$ farklılıkları nedeniyle uyarılabilirliğin değişkenliğidir (Wit and Janse, 2001; Sidorov et al., 2011). İmpuls iletimindeki gecikmeler re-entry için zemin hazırlayan önemli etkenlerdir (Levites et al., 1975; Ferrier et al., 1985).

1.5 REPERFÜZYON HASARI

Patolojik değişiklikler geçirmiş ancak yine de geri kazanılabilecek durumdaki hücrelerin kurtarılmasının en etkili yolu iskemiden sonra oksijen bakımından zengin kanın miyokardiyuma geri verilmesidir (Litt et al., 1989; Maxwell and Lip, 1997). Reperfüzyon olarak bilinen bu süreç iki tarafı keskin bir bıçaktır. Reperfüzyon potansiyel olarak canlı hücreleri kurtarabilir, ancak endotel hasarı, lipid peroksidasyonu ve ventriküler taşikardi şeklinde aritmilere neden olabilir (Ferrier et al., 1985; Pogwizd and Corr, 1987; Maxwell and Lip, 1997). Reperfüzyon iskemide hasara uğramış olmasına rağmen henüz ölmemiş olan hücrelerin kesin ölümüyle neticelenen olaylar dizisini içerir (Kloner et al., 1989; Park and Lucchesi, 1999). Reperfüzyon hasarı klinikte, reperfüzyonun ilk 3 saatindeki hasar ve 3 saatten sonra gerçekleşen hasar olarak tanımlanmıştır. İki dönem için farklı patolojik mekanizmalar önerilmiştir (Litt et al., 1989; Entman et al., 1991; Jordan et al., 1999). Çalışmalarda reperfüzyonun patogenezinin, oksijen türevi serbest radikallerden ve/veya Ca^{2+} 'dan kaynaklandığı gösterilmiştir (Maxwell and Lip, 1997).

Mitokondri, iskemi ve reperfüzyona maruz kalan miyositlerin canlılığını belirlemede kritik bir rol oynamaktadır. İskemide mitokondrial serin-treonin protein kinaz'ın kaybı mPTP'nin açılmasına yol açarak iskemi sonrası hücre ölümünü artırabilir. İskemik miyokardın reperfüzyonu sonucu hücre ölümünde de mPTP'nin açılmasının rol oynadığı düşünülmektedir (Siddall et al., 2013).

1.5.1 Reperfüzyon Aritmileri

İskemik miyositlerin yeniden oksijenlenmesiyle saniyeler içerisinde aritmilerin meydana gelmesi ilk kez Tennant ve Wiggers tarafından 1935'te tespit edildi (Tennant and Wiggers, 1935). Reperfüzyonda ventriküler taşikardi (VT), ventriküler fibrilasyon (VF) ve ventriküler prematüre kontraksiyon (VPK) sıklıkla görülen aritmi tipleridir (Levites et al., 1975; Naimi et al., 1977; Penkoske et al., 1978; Pogwizd and Corr, 1987). İskemik aritmilerin yavaş başladığı ve reperfüzyon aritmilerinin neredeyse anında ortaya çıktığı için reperfüzyon aritmilerinin gelişme mekanizmaları iskemik aritmilerin mekanizmalarından farklı olduğu düşünülmektedir (Kaplinsky et al., 1981). İskemik periyot süresi ile reperfüzyon sonrası ritim bozukluğunun şiddeti ve sıklığı arasında bir ilişki vardır (Janse and Wit, 1989). Reperfüzyon aritmilerinin başlangıcı ve sürdürülmesinden sorumlu olan kesin mekanizmalar hala belirsizdir. Ancak önerilen mekanizma; otomatikliğin artması, aksiyon potansiyelinin depresyonu ve homojen

olmama durumudur (Murdock et al., 1980; Kaplinsky et al., 1981; Pogwizd and Corr, 1987; Janse and Wit, 1989). Reperfüzyon başlatıldıktan hemen sonra VF daha baskındır (Janse and Wit, 1989). İskemiden bir süre sonra, aksiyon potansiyelleri baskılanabilir ve bazı hücreler uyarılamaz duruma gelebilir. Tekrar oksijenasyon transmembran aksiyon potansiyellerinin iyileşmesine yardımcı olur. Ancak yine de aksiyon potansiyelinde bozulmalara neden olur. Aksiyon potansiyelinin iskemik miyokardda homojen olmama durumu vardır. Bu homojen olmama durumu, metabolitlerin ve iyonların intra ve ekstraselüler birikimi ile birleşince, re-entry olasılığını artırır (Janse and Wit, 1989). Sinus düğümünden uyarı çıkmadığı veya çıkan uyarı ventrikülü depolarize edemediği zaman devreye giren ritme kaçış ritmi (idioventriküler ritm) denir. Reperfüzyonun idioventriküler hızdaki bir artışla ilişkili olduğu gösterildikten sonra, re-entry olmayan bir mekanizmanın da var olabileceği bildirildi (Pogwizd and Corr, 1987). İdioventriküler hızdaki bu değişiklik ventriküler otomatikliği ve dolayısıyla aritmik aktivite olasılığını artırır, örneğin ventriküler taşikardi (Kaplinsky et al., 1981). Son olarak reperfüzyon sonrası refrakter periyot süresinin uzamasının, EAD ve DAD gibi ventriküler ektopik aktivitedeki artışlarla birlikte görüldüğü bildirilmiştir (Levites et al., 1975).

1.6 KANNABİNOİDLERİN FARMAKOLOJİSİ

Kannabinoidler neredeyse 4000 yıldır tıbbi olarak kullanılmaktadır. *Cannabis sativa* bitkisinin doğal biyoaktif ligandlarıdır (Brown, 2007; Ryberg et al., 2007). Bu bitki 80'den fazla cannabinoid üretir ve temel olarak KB₁ ve KB₂ reseptörleri üzerinde etki gösterir, bununla birlikte GPR55 reseptörü, TRPV1 iyon kanalı ve 5-HT₃ reseptörleri de dahil olmak üzere farklı reseptörlere etkisi tespit edilmiştir (Brown 2007; Pertwee 2007; Console-Bram et al., 2012). *Cannabis sativa*'dan türetilen en yaygın bileşikler, (-) - Δ⁹-tetrahidrokanabinol (Δ⁹-THK) ve kanabidiol (KBD)'dür (Chen and Buck, 2000). Sentetik cannabinoid ligandlar, seçici KB₁ ve KB₂ reseptörlerin elde edilebilmesi ümidiyle üretilmiştir.

1.6.1 Reseptörler

Kannabinoidlerin hedef reseptörleri KB₁ ve KB₂ reseptörleridir (Munro et al.,1993; Pertwee 2006; Brown 2007; Pertwee 2007). KB₁ ve KB₂ reseptörlerin her ikisi de, bazal aktivite sergileyen G-proteinine bağlı 7-transmembran içeren (GPCRs) reseptörlerdir (Chen and Buck, 2000; Lepicier et al., 2006; Pertwee 2006).

1.6.2 KB₁

KB₁ reseptörleri esas olarak nöronal dokularda özellikle merkezi ve periferik sinir sisteminin sinir terminallerinde bulunmaktadır. Δ^9 -THK'nin psikotropik etkilerine aracılık ederken, asetilkolin ve noradrenalin gibi eksitator ve inhibitör nörotransmitterlerin salımını düzenlemektedir (Szabo and Schlicker, 2005; Pertwee 2006; Brown 2007; Ralevic and Kendall, 2009). Merkezi sinir sisteminde KB₁ reseptörlerinin yoğun olduğu yer, kannabinoidlerin psikotropik etkilerini ürettiği beyin bölgesi ile ilişkilidir (Devane et al., 1988; Pertwee 1997).

Merkezi sinir sisteminin (MSS) yanısıra, KB₁ reseptörlerinin miyokarda mevcut olduğu ve kardiyomiyositlerin sitoplazmik ve perinükleer alanında yoğun olarak bulunduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, kannabinoidlerin hemodinamik etkileri de periferik sinir sisteminin sempatik sinir terminallerindeki KB₁ reseptörlerinin aktivasyonu ile ilişkilidir (Ishac et al., 1996; Pertwee 1997; Weis et al., 2010).

KB₁ reseptörleri ve endokannabinoid ligandların kardiyovasküler sistem içerisinde önemli bir modulator rol oynadığı düşünülmektedir. Özellikle, anandamid (AEA) endokannabinoid sisteme yüksek dozda verildiğinde, anestezi altındaki sıçanlarda ve farelerde kardiyovasküler parametrelerde üç fazlı değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Bu değişiklikler, faz I kardiyak kasılmada bir azalma ve toplam periferik dirençte (TPD) bir artış ile birlikte kan basıncında önemli ancak geçici düşüş ile karakterizedir. Faz II, basınca ani bir tepki ve kardiyak kasılmada bir artış ile belirgindir. Faz III, kalp kasılmasında bir azalma, toplam periferik direnç (TPD) ve kalp atış hızı ile birlikte kan basıncında uzamış bir düşüş ile karakterize edilir (Lake et al., 1997; Malinowska et al., 2001; Pacher et al., 2004). AEA kaynaklı etkilere iki farklı reseptör aracılık etmektedir. Vaniloid TRPV1 reseptörlerinin uyarılması işaret eden kapsazepin ve rutenyum kırmızısının, faz I'in AEA kaynaklı karakteristik etkilerini bloke ettiği gösterilmiştir. KB₁ antagonisti SR141617A (rimonabant), KB₁ reseptörlerini bloke etmede etkili olan dozlarda faz III'ün uzatılmış hipotansiyonunu ortadan kaldırdığı belirtilmiştir (Lee and Lundberg, 1994; Szolcsanyi 2000; Malinowska et al., 2001). Faz II'den sorumlu reseptörler arasında TRPV1 (Pacher et al., 2004); kalsiyum kanalları (Kwalek et al., 2005) ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri, β -adrenoseptörler ve tromboksan A₂ reseptörlerinin bir kombinasyonu (Malinowska et al., 2010)

bulunmaktadır. Diğer kannabinoidler, AEA'nın uyarıcı etkilerinin sadece bir bölümünü harekete geçirir (Malinowska et al., 2012).

KB₁ reseptörleri G-protein aracılı reseptör ailesinin bir parçasıdır ve A Sınıfı rhodopsin α - grubu üyeleridir (Fredriksson et al., 2003). KB₁ reseptör dizisi, sıçanlar ve insanlar arasında yüksek oranda korunmaktadır. Sırasıyla, nükleik ve aminoasit seviyelerinde % 93 ve % 97 özdeşliği bulunur (McPartland and Glass, 2003; Console-Bram et al., 2012). KB₁ reseptörleri, G $\alpha_{i/o}$ proteinlerine bağlanırsa negatif olarak, G α_s proteinlerine bağlanırsa pozitif olarak, iki şekilden biri tarafından adenilat siklaz aktivasyonunu etkileyebilir. Bu kararsız KB₁ reseptör eşleşmesi dokuya spesifik olabilir. Böylece kannabinoidler dokuya özgü etki gösterirler (Pertwee 2006).

1.6.3 KB₂

1993'te Munro et al. KB₂ reseptörü olarak adlandırılan ikinci bir kannabinoid reseptör türünü tanımladı. Bu reseptörün KB₁ reseptörüne % 44'lük oranda benzerlik gösterdiği belirtildi (Pertwee 1997). KB₂ reseptörü olarak tanımlanan doyurulabilir bağlanma bölgeleri, inflamatuvar hücrelerde, hematopoietik sistem hücreleri ve merkezi sinir sisteminde nöroinflamasyonla ilişkili patofizyolojik ortamlarda tespit edilmiştir (Pertwee 1997; Brown 2007).

KB₂ reseptörlerinin inflamatuvar hücre göçünü ve sitokin salımını modüle edebildiği yaygın olarak kabul edilmektedir. Ayrıca kanıtlar, KB₂ geni baskılanmış farelerin, bağışıklık hücrelerinin alt tiplerinde Δ^9 -THC'ye karşı T hücresi aktivasyonunun gerçekleşmediği gösterilmiştir (Brown 2007). KB₂ reseptörleri adenilat siklaza negatif olarak bağlanır, MAPK'a pozitif olarak bağlanır ve bu birleşimlere G $\alpha_{i/o}$ proteinleri aracılık eder (Pertwee 2006; Pertwee et al., 2010).

1.6.4 Ligandlar

Klasik kannabinoid reseptör agonistleri, *Cannabis sativa*'nın sentetik veya doğal ligandlarını ve endojen kannabinoidleri içerir. Her reseptör için stereoseçicilik meydana gelir. Bu ligandların KB₁ ve KB₂ reseptörlerinden farklı bölgelere de bağlanma kapasitesi vardır. Seçici kannabinoid reseptör antagonistlerinin geliştirilmesi kannabinoid bağlanma yerlerinin

keşfedilmesiyle hız kazanmıştır. AM251, AM630 ve SR141617A bunlara birer örnektir (Pertwee 1997; Howlett et al., 2002; Pertwee et al., 2010).

1.6.5 Agonistler

Klasik kannabinoid reseptörlerinin agonistleri tipik olarak kimyasal yapılarına göre sınıflandırılır. Bunlar klasik kannabinoidler, klasik olmayan kannabinoidler, aminoalkilindole ve eikozanoid kanabionitlerlerdir.

KB₁ reseptörünün tanımlanmasından sonra KB₁ reseptöründe aktif olan bir endojen ligand Anandamid (AEA) keşfedildi (Di Marzo et al., 1998). Endokannabinoid sentezi ve salınması, hücre içi kalsiyum artışıyla post-sinaptik olarak başlatılır (Pertwee 2007). Kannabinoid reseptör agonistlerinden bazıları, her iki reseptör için de stereoseçiciliğe sahiptir. KB₁ için araşidonil-2'-kloroetilamit (ACEA), AM411 ve KB₂ için L-759633 seçici agonistleri geliştirilmiştir. KB₁ seçici agonistleri başlıca AEA analogları ve KB₂ seçici agonistleri tetrahidrokannabinol (Δ^9 -THC) analoglarıdır (Pertwee 1997; Howlett et al., 2002).

1.6.6 Antagonistler

Kannabinoid reseptörlerinin antagonistleri sentezlenmiştir. Bunların arasında SR141716A, WIN 56.098, AM251 ve AM630 bulunur. Bunların bazıları reseptör seçiciliğine sahiptir (Pertwee 1997; Howlett et al., 2002; Pertwee 2006).

KB₁ ve KB₂ reseptörlerinin aktivasyonunu bloke eden seçici kannabinoid reseptör antagonistleri geliştirilmiştir. Bunlar KB₁ seçici reseptör antagonisti için AM251 (N-(Piperidin-1-il) -5- (4-iyodofenil) -1- (2,4-diklorofenil) -4-metil-1 H-pirazol-3-karboksamit) ve KB₂ seçici reseptör antagonisti için AM630 (6-İyodo-2-metil-1 - [2- (4-morfolinil) etil] - 1H-indol-3-il] (4-metoksifenil) metanon)'dur. Kannabinoid reseptörlerinin antagonistleri klinikte obezitenin tedavisi için kullanılmaktadır (Despres et al., 2005; Van Gaal et al., 2005; Pertwee 2006).

1.7 KARDİOVASKÜLER SİSTEM ve ENDOKANNABİNOİD SİSTEM

Sağlıklı miyokarda KB₁ ve KB₂ reseptörleri bulunur (Weis et al., 2010). Son zamanlarda kardiyovasküler sistemde meydana gelen çeşitli patolojik durumlar için potansiyel bir hedef olarak endokannabinoid sistem (EKS)'in modülasyonu ile ilgili tartışmalar artmıştır

(Montecucco and Di Marzo, 2012; Stanley et al., 2012; Pacher and Kunos, 2013; Pertwee 2013). EKS patofizyolojik uyaranlara yanıt olarak endokannabinoidler üretir. Bu sentezin başlaması, oksidatif stres ve inflamasyon, taşiaritmi atakları sırasında ortaya çıkan koşullar altında gerçekleşir. Aşırı $[Ca^{2+}]_i$ yüklenmesiyle çok fazla uyarılmış olan nöronal dokular, endokannabinoid sentezinin artmasıyla karakterizedir (Barana et al., 2010). Kannabinoidlerin hipertansiyon dışındaki hemodinamik etkileri, uyanık hayvanlarda daha az belirgindir (Gardiner et al., 2002; Batkai et al., 2004; Wheal et al., 2007). Sağlıklı hayvanlarda bile KB_1 reseptörlerinin aktivasyonu miyokardın kasılma gücünde azalmaya neden olur (Pacher et al., 2008). KB_2 reseptörünün HU-210 ile uyarılması, deneysel miyokardiyal iskemide nekroz alanını azalttığı ve anti-aritmik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Krylatov et al., 2001; Durst Et al., 2007). Klinik çalışmalarda KB_1 reseptörlerinin seçici antagonizması, obez bireylerde kardiyovasküler risk faktörlerini azaltan bir etki göstermiştir (Despres et al., 2005; Van Gaal et al., 2005; Scheen et al., 2006; Nissen et al., 2008; Rosenstock et al., 2008; Pacher and Kunos, 2013).

BÖLÜM 2

MATERYAL METOD

2.1 CERRAHİ İŞLEMLER

Bu deneyde 59 adet 300 ± 5 gram ağırlığında Wistar albino türü erkek sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi'nden temin edildi. Hayvanlar kafes başına 4 hayvanı geçmeyecek şekilde gruplara bölünerek muhafaza edildi. Deney hayvanları 12 saat karanlık ve aydınlık olan, $19-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ısıda ve nem oranı $\%55\pm 10$ aralığındaki odalarda muhafaza edildi. Hayvanlar standart pelet yem ile *ad libitum* beslenerek şebeke suyu verildi. Bu çalışmada uygulanan tüm cerrahi operasyonlar Bülent Ecevit Üniversitesi Yerel Etik Kurul şartlarına uygun olarak yürütüldü (2015-18-02/09).

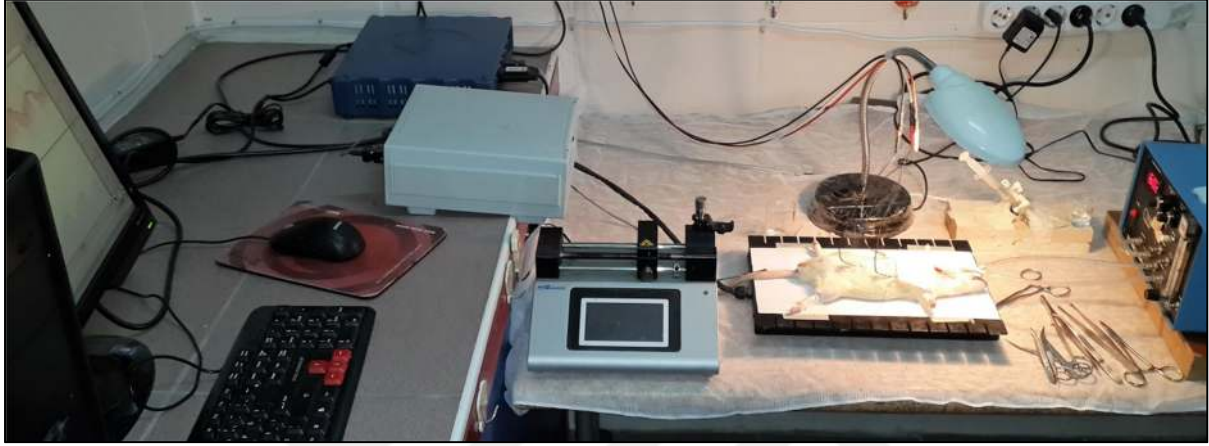
Clark et al. (1980) tarafından tanımlanan *in vivo* deneysel iskemi/reperfüzyon aritmi modeli uygulandı. Hayvanlar ip. yolla verilen 1.5 g/kg dozda ürethan ile anestezi edildi. Deney süresince vücut sıcaklığını $37\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ tutmak için rektal sıcaklık ölçümü yapan ısı tablası üzerinde cerrahi işlemler yapıldı (RTC 9404-A, Commat Ltd, Ankara, Türkiye).

Traketomi yapıldı. Arteriyal kan basıncının ölçümü için sol karotid arter içinde 50 IU heparin sodyum/1mL SF olan polietilen tüp ile kanüle edildi (Kan basıncı ölçüm cihazı, SS 13 L, Biopac Sistemleri, Kaliforniya, ABD). Elektrokardiyogram (EKG) ölçümü için deri altına elektrodlar yerleştirildi (Veri Ölçüm Sistemleri MP35, Veri Toplama ve Analiz Biopac Sistemleri, Goleta, Kaliforniya, ABD).

Göğüs kafesi sternumun yaklaşık 2 mm altından üçüncü ve dördüncü interkostal boşuklar arasından açıldı. Deney hayvanının göğüs kafesi açıldıktan sonra suni solunum cihazına bağlandı (60 atım/dk, 1.5 ml/100g; Küçük hayvan solunum cihazı, SAR 830, Life Science, Kaliforniya, ABD). Kalbi çevreleyen perikardiyum dikkatlice alındı. Göğüs kafesinin sağ tarafına hafifçe baskı uygulayarak kalp nazikçe dışarı alındı. Aort kökünde yaklaşık olarak 2-3 mm uzaklığındaki bir noktada sol ana koroner arterin altından 5/0'lık ipek sutür geçirildi.

Kalp tekrar göğüs kafesine koyularak kalp atımının ve kan basıncının normale dönmesi için 10 dakika beklenildi.

Koroner arter ligasyonu için damar altından geçilen ipek sutür fiyonk yapıldı ve bağlandı (Şekil 2.1). Bütün hayvanlara 6 dakika iskemi ve fiyonkun çözülmesi ile 10 dakika reperfüzyon yapıldı.



Şekil 2.1 Anestezi altındaki sıçanda iskemi/reperfüzyon aritmi modeli.

2.2 RİSK ALANI TESPİTİ

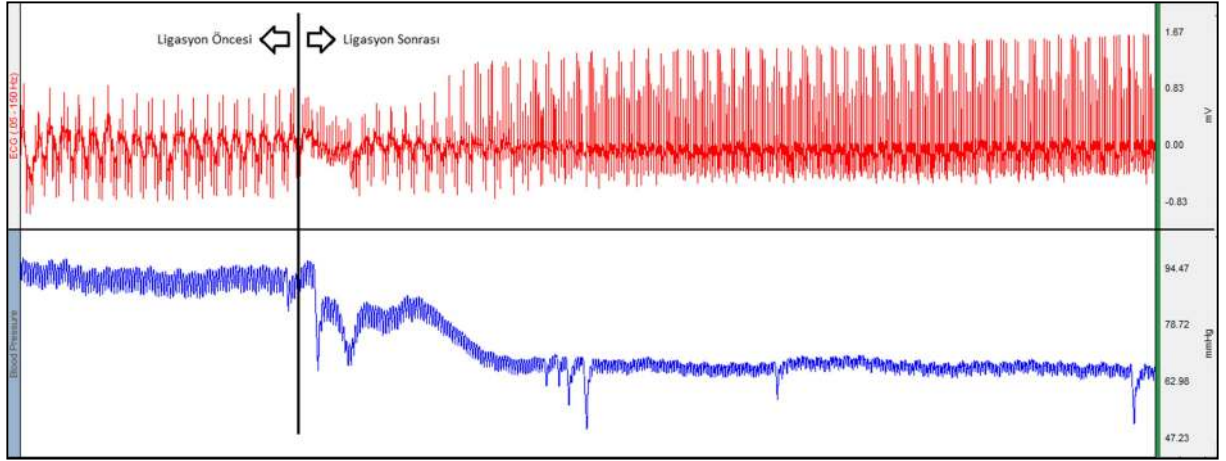
Ligasyon yapılan koroner arterin beslediği alana risk alanı denilmektedir. Risk alanının toplam ventriküle olan oranının ölçümü Gonca ve Bozdoğan (2010)'nın önceki çalışmalarındaki gibi yapılmıştır. Bu metod ilk kez Lepran et al. (1983) tarafından tanımlanmıştır. Reperfüzyon sonunda canlı kalan deneklerin kalpleri çıkarılarak içerisinde 5 ± 2 °C'lik serum fizyolojik (SF) olan 50 ml behere alındı. Daha sonra kalp aort yoluyla 37 ± 1 °C' lik 2ml SF ile perfüze edildi. İpek sutür tekrar bağlandıktan sonra 2ml %96'lık etanol ile perfüze edildi. Böylece alkol ile perfüze olan bölge beyaz bir renk alırken, tıkalı damarın beslediği alan (risk alanı) orijinal doku renginde (kırmızı) kaldı (Şekil 2.2). Tıkalı koroner arterin beslediği bu miyokardiyal alan ile etanol ile perfüze olmuş alan ince uçlu bir makas ile birbirinden ayrıldı. Kulakçıklar ile bağ doku kesilip ayrıldıktan sonra risk alanının ağırlığı ve toplam ağırlık hassas terazide tartıldı. Risk bölgesinin ağırlığı ventrikülün toplam ağırlığına yüzde oranı hesaplandı. Risk alanı %40'ın altında olan hayvanlar deney dışı bırakıldı.



Şekil 2.2 Risk alanının belirlenmesi. Doku renginde olan bölge risk alanı, etanol ile perfüze olan beyaz bölge.

2.3 DENEY BAŞARI KRİTERLERİ

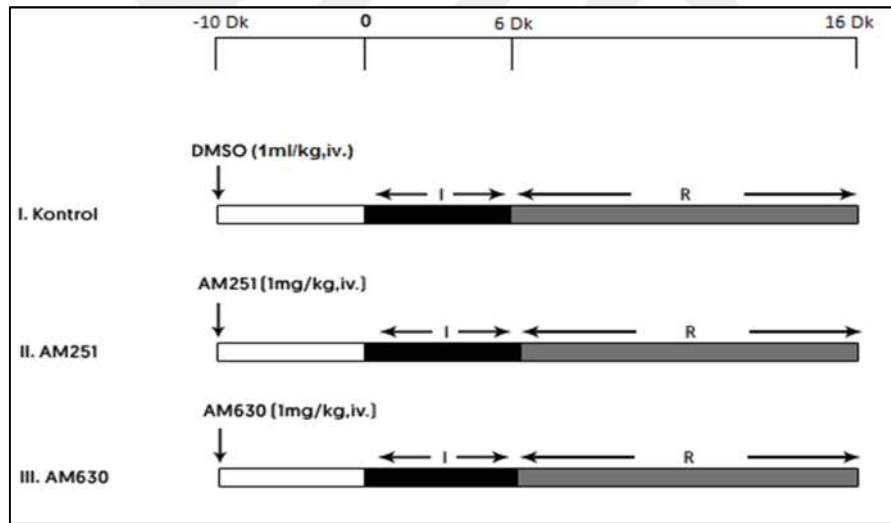
Operasyon sonrası tespit edilen risk alanı değeri tüm deneklerde %40'ın altında olduğu tespit edilen 10 sıçan deney dışı bırakılmıştır. Koroner arter ligasyonunun başarılı bir şekilde uygulandığı tüm deneklerde EKG'de ST-segment yükselmesi ve QRS dalgasının genişliğinde daralma gözlemlenmiştir. Ligasyonu takiben OAKB'de ligasyon öncesine göre % 20-25 oranında bir azalma görülmüştür (Şekil 2.3). Bu deneklerde 10 dakika stabilizasyon süresi sonunda, OAKB 70 mmHg değerinin üzerine çıkmış ve hiçbir denekte süreklilik gösteren ventriküler aritmi gözlemlenmemiştir. Bu kriterlere uymayan 2 hayvan deney dışı bırakılarak ligasyon uygulanmamıştır. Buna göre bu çalışmada toplam 12 hayvan deney dışı bırakılmıştır.



Şekil 2.3 Ligasyon öncesi ve sonrası EKG (üst) ve kan basıncının (alt) kaydı.

2.4 DENEY GRUPLARI ve İLAÇ UYGULAMASI

Çalışmaya başlamadan önce hayvanlar tesadüfi olarak seçilerek 3 grup oluşturulmuştur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 İlaç uygulamalarının veriliş zamanı ve dozu. I: iskemi periyodu, R: reperfüzyon periyodu.

I. Kontrol: (n=13)

İlaç çözücüsü DMSO 1ml/kg, iv. ligasyondan 10 dakika önce verildi.

II. KB₁ reseptör antogonisti (AM251) ligasyondan 10 dakika önce: (n=17)

AM251 1mg/kg,iv. ligasyondan 10 dakika önce verildi.

III. KB₂ reseptör antogonisti (AM630) ligasyondan 10 dakika önce: (n=17)

AM630 1mg/kg,iv. ligasyondan 10 dakika önce verildi..

AM251 KB₁ ve AM630 KB₂ seçici reseptör antagonistidir (Hoschata et al., 1997,a,b; Lan et al., 1999). Çalışmamızda KB₁ ve KB₂ reseptörlerini bloke etmek için AM251 ve AM630'un uygulanan dozları, veriliş zamanı ve veriliş yolunun seçiminde benzer çalışmalar temel alınmıştır (Hajrasouliha et al., 2007; Hepburn et al., 2011). İlaçlar ve çözücüler sağ femoral venden 1ml'lik insülin enjektörü kullanılarak verilmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Anestezi altındaki sıçanlara intravenöz enjeksiyon orijinal görüntüsü.

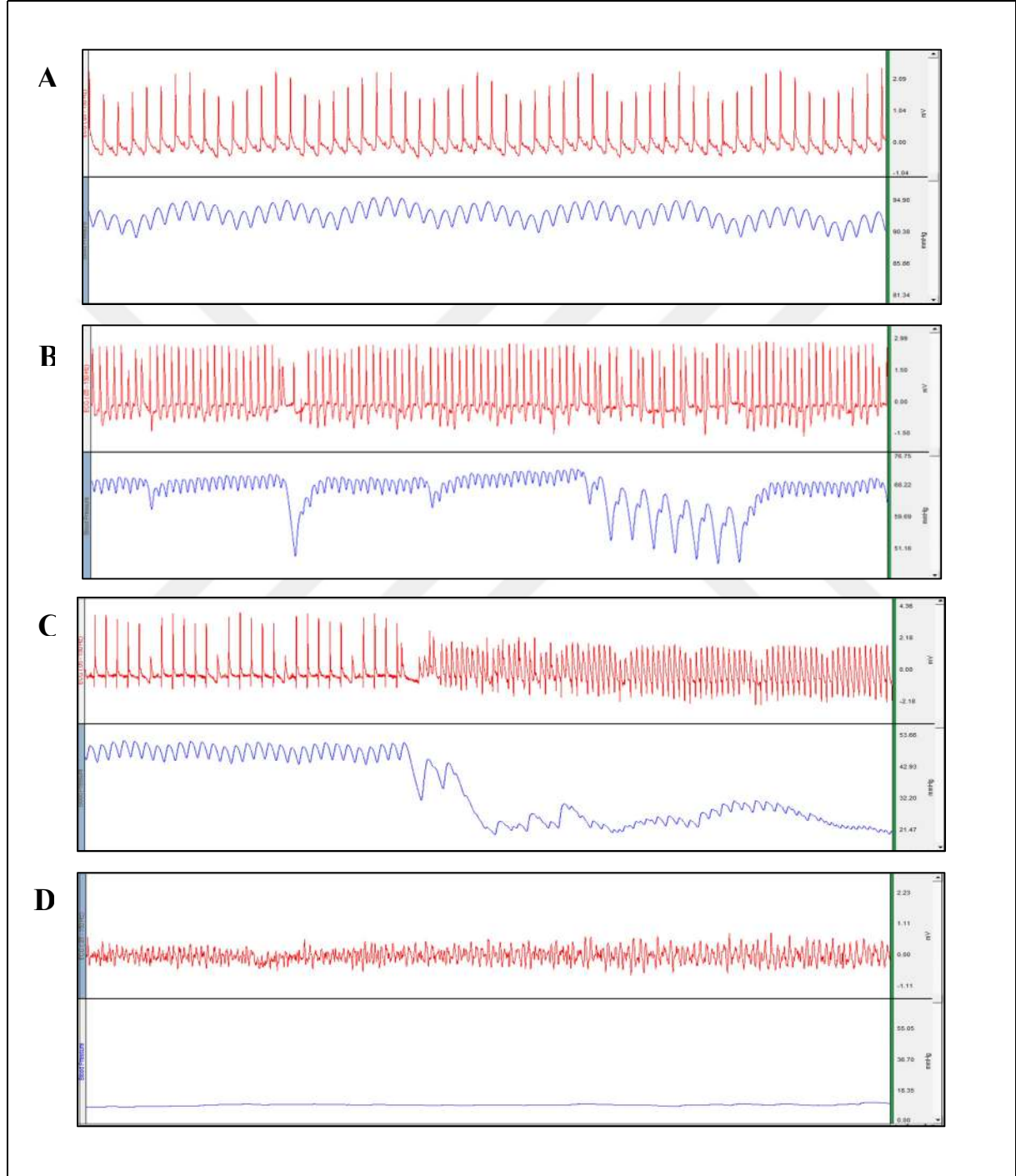
2.5 ARİTMİ ANALİZİ

Reperfüzyon periyodu sonunda ölüm oranı hesaplanmıştır. İskemi ve reperfüzyon periyodunda kayıt edilen aritmiler her iki periyot için ayrı ayrı analiz edilmiştir. Bu analizlerde ventriküler aritmiler, ventriküler fibrilasyon (VF), ventriküler taşikardi (VT) ve ventriküler prematüre kasılma (VPK) (Şekil 2.6) olarak Lambeth antlaşmasına göre tespit edilmiştir (Curtis et al., 2013).

Aritmi tiplerinin oluşum sıklığı ayrı ayrı tespit edilmiş olup her aritmi tipinin görüldüğü toplam süre ayrı ayrı hesaplandı. Ayrıca, toplam aritmi süresi tüm aritmi tiplerinin süresi toplanarak hesap edildi. Reperfüzyon periyodunda aritmilerin başladığı süre sonlandığı süre ve bu iki süre arasındaki zaman aralığı aritmik periyod olarak tespit edilmiştir. Aritmi şiddetinin ölçüsü olan aritmi skoru, her denek için gözlenen aritminin tipi ve görüldüğü sürenin uzunluğu dikkate alınarak Lepran et al. tarafından belirlenen sıklaya göre şu şekilde belirlendi (Lepran et al.,1983) ;

- (0): Hiç aritmi yok,
- (1): 10 sn den az süreli VPK veya VT,
- (2): 11-30 sn süreli VPK veya VT,

- (3): 31-90 sn süreli VPK veya VT,
(4): 91-180 sn süreli VPK veya VT ya da 10 sn den az süreli VF,
(5): 180 sn den uzun süreli VPK veya 10 sn den uzun süreli VF,
(6): Dönüşümsüz VF,



Şekil 2.6 Orijinal EKG kayıtları ve kan basınçları. **A:** Normal sinüzal atım, **B:** Ventriküler prematüre kasılma (VPK), **C:** Ventriküler taşikardi (VT), **D:** Ventriküler fibrilasyon (VF). Sırasıyla A, B, C ve D kayıtları kontrol, AM630, AM251, AM251 grubuna ait olan sıçanlardan alınmıştır.

2.6 HEMODİNAMİK ANALİZ

Bu çalışmadan elde edilen EKG kayıtlarında tüm gruplarda iskemi ve reperfüzyon periyotları boyunca kalp atımı düzenli aralıklarla tespit edildi. Kan basıncı kayıtlarında ise yine tüm gruplarda iskemi ve reperfüzyon periyotları boyunca ortalama arteriyel kan basıncı, sistolik ve diastolik kan basıncı hesaplandı (Veri toplama ve analiz sistemi, Biopac sistemleri, MP 36). Bu veriler, ligasyon öncesi, iskeminin 1, 3 ve 5'inci ve reperfüzyonun ise 1, 3, 5, 7 ve 9'uncu dakikalarında elde edilmiştir. Ayrıca uygulanan ilaçların hemodinamik etkilerini değerlendirmek için ilaç öncesi ve ilaç sonrası ortalama arteriyel kan basıncı ve kalp atımı değerleri hesaplanmıştır. EKG kayıtlarından QT, PR ve QRS aralıkları ligasyonun 1, 3 ve 5'inci dakikalarında Mitchell et al. (1998)'ın tanımladığı şekilde ölçülmüştür.

2.7 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Ölüm oranı ve aritmi sıklığı fisher kesinlik testi ile analiz edildi. Aritmi skoru gibi parametrik olmayan veriler için Kruskal Wallis ve Dunn post hoc testi kullanıldı. Parametrik verilerin (aritmi tiplerinin süreleri, ortalama arteriyel kan basıncı, kalp atımı sayıları vb.) gruplar arasında karşılaştırılması için veriler önce kolmogorov simirnov testi ile analiz edilerek normal dağılıma uyup uymadığı saptandı. Normal dağılım gösteren grupların karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi ve Tukey post hoc testi kullanıldı. Diğerleri için, Kruskal-Wallis test ile Dunn post hoc testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verildi. $P<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BÖLÜM 3

BULGULAR

3.1 HEMODİNAMİK PARAMETRELER

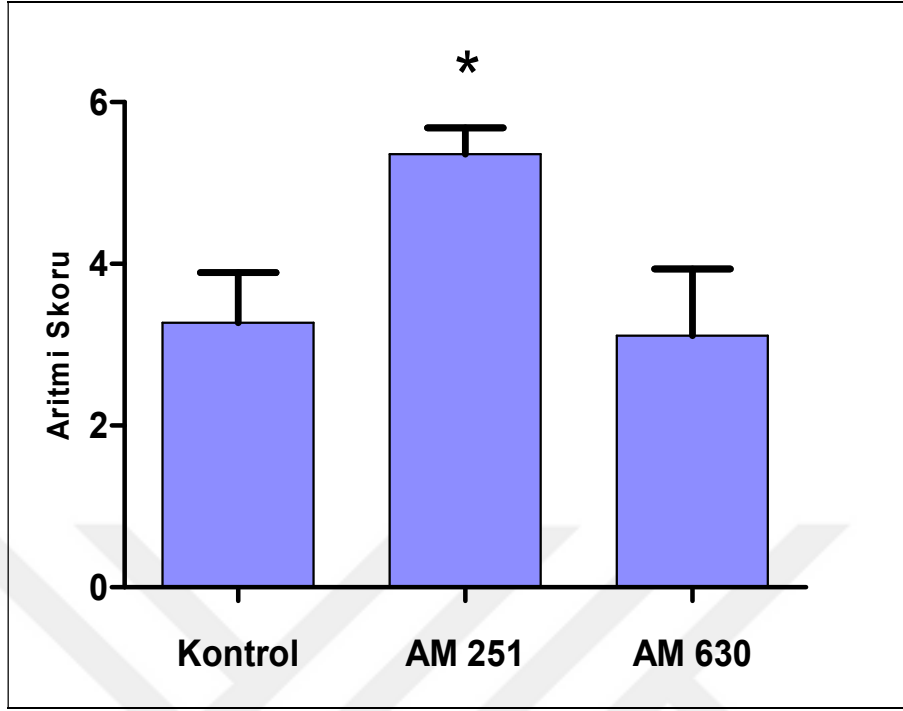
Çizelge 3.1 kullanılan ilaçların iskemi ve reperfüzyon boyunca OAKB'na etkilerini göstermektedir. Tüm gruplarda ligasyonun 1.dakikasında ölçülen OAKB değerleri ligasyon öncesine göre anlamlı azalmıştır ($P<0.05$). AM251 verilen grupta bazalda ölçülen kan basıncı değeri ilaç öncesine göre anlamlı olarak artmıştır. İskemi ve reperfüzyon boyunca ölçülen kan basıncı değerlerinde kontrol grubuna göre bir farklılık görülmemiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.2'de kullanılan ilaçların iskemi ve reperfüzyon boyunca kalp atımına olan etkileri verilmiştir. AM630 verilen grupta ligasyonun 3. ve 5.dakikalarında kalp atımı bazal kalp atımına göre anlamlı olarak azalmıştır ($P<0.05$). Ligasyon öncesi, ligasyon ve reperfüzyon boyunca ölçülen kalp atım değerleri gruplar arasında anlamlı bir değişim göstermemiştir.

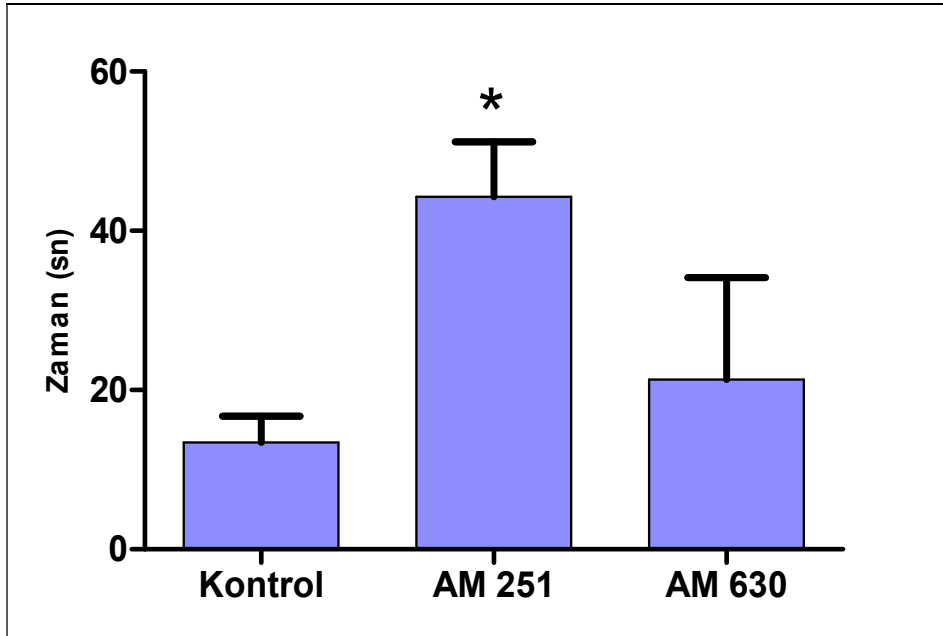
3.2 İSKEMİ VE REPERFÜZYON ARİTMİLERİ

Hayvan ağırlıkları ve risk alanı değerlerinde gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Ligasyonu takiben tüm hayvanlarda ventriküler aritmiler gözlemlenmiştir. Aritmiler 3. ve 5. dakikalar arasında yoğunlaşmıştır. Ancak bu periyottaki aritmilerin süresi ve sıklığında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3.3).

Reperfüzyonu takiben kontrol grubunda şiddetli aritmiler oluşmuştur. Bu aritmiler reperfüzyonun 1. ve 15. saniyeleri arasında başlamıştır. AM251 verilen grupta reperfüzyon periyodu sonunda hesap edilen ölüm oranı kontrol grubuna göre anlamlı artmıştır (Çizelge 3.4). Reperfüzyon periyodu boyunca gözlenen VF ve VT görülme sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (Çizelge 3.4). Toplam VF süresi, toplam aritmi süresi ve aritmi skoru kontrol grubuna göre anlamlı artmıştır (Çizelge 3.4; Şekil 3.1, Şekil 3.2).



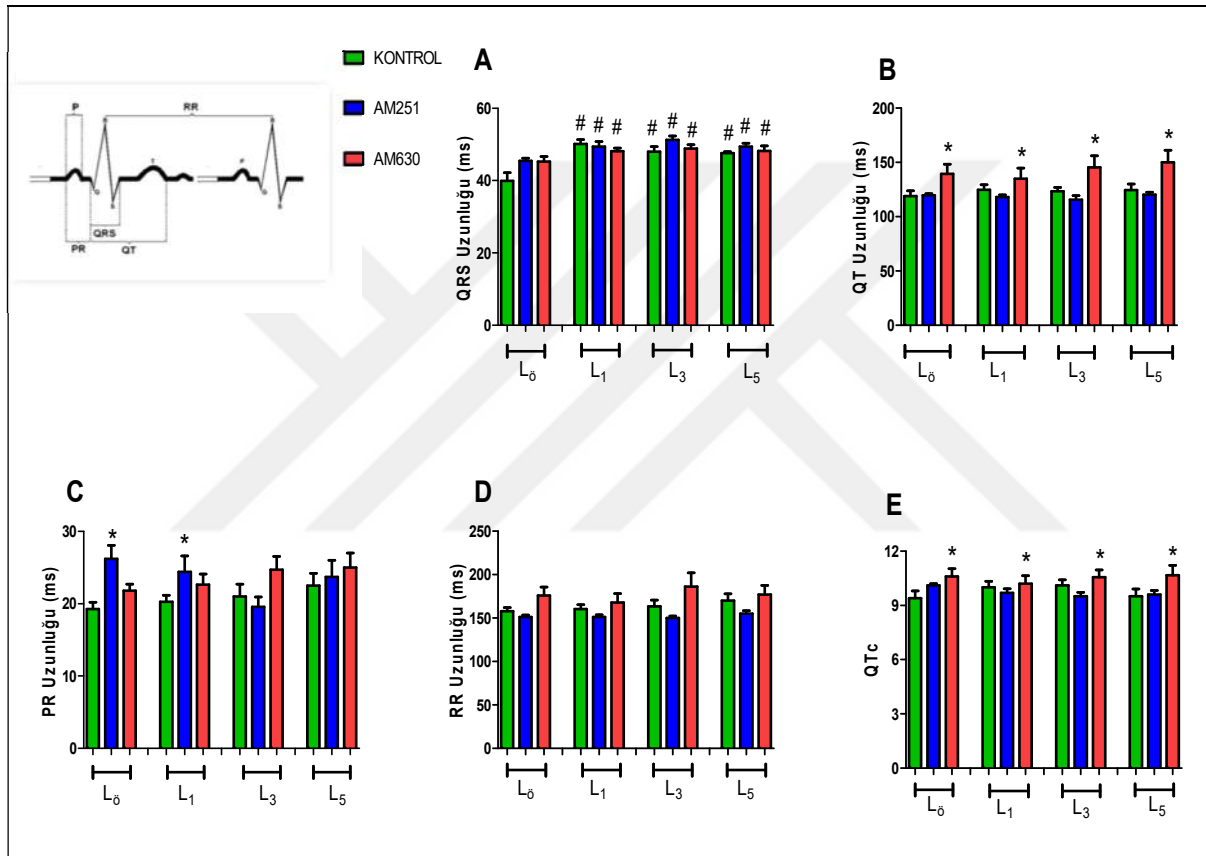
Şekil 3.1 AM251 ve AM630'un aritmi skoruna etkisi. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre.



Şekil 3.2 AM251 ve AM630'un toplam aritmi süresine etkisi. * $p < 0.05$ kontrole göre.

3.3 İLAÇ UYGULAMALARININ ELEKTROFİZYOLOJİK ETKİSİ

QRS uzunlukları tüm gruplarda ligasyonu takiben ligasyonun 1, 3, ve 5. dakikalarında ligasyon öncesine göre anlamlı olarak artmıştır (Şekil 3.3 A). Ligasyon öncesi ve ligasyon boyunca ölçülen QT uzunluğu ve QTc, AM630 verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (Şekil 3.3 B,E). PR uzunluğu AM251 verilen grupta ligasyon öncesinde ve ligasyonun 1. dakikasında kontrole göre anlamlı artmıştır (Şekil 3.3 D).



Çizelge 3.1. AM251 ve AM630'un ligasyon öncesi ve iskemi/ reperfüzyon periyotlarında ölçülen ortalama arteriyal kan basıncı (mmHg) değerlerine etkisi.

Kan Basıncı (mmHg)	I. Kontrol	II. AM251	III. AM630
Zaman(dk.)			
-10	82±4	90±9	81±4
-5	80±5	117±4	80±4
0 (bazal)	86±3	118±4 [#]	83±4
Lig 1	60±6*	93±3*	57±6*
Lig 3	50±7	100±4	49±8
Lig 5	50±6	97±10	47±8
Rep 1	62±4	94±14	49±8
Rep 3	65±3	76±16	62±10
Rep 5	63±3	81±10	65±10
Rep 7	60±6	76±9	63±10
Rep 9	52±6	82±8	61±9

Lig: Ligasyon, **Rep:** Reperfüzyon, **AM251:**Kanabinoid reseptör 1 antagonisti, **AM630:** Kannabinoid reseptör 2 antagonisti. *P<0.05 bazala göre. [#]P<0.05 ilaç öncesi(-10) ilaç sonrasına (bazal) göre. Değerler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir.

Çizelge 3.2. AM251 ve AM630'un ligasyon öncesi ve iskemi/reperfüzyon periyotlarında ölçülen kalp atımı (atım/dakika) değerlerine etkisi.

Kalp Atımı	I. Kontrol	II. AM251	III. AM630
Zaman(dk.)			
-10	464±14	434±13	419±26
-5	461±16	481±11	427±27
0 (bazal)	467±18	485±14	435±25
Lig 1	457±19	473±21	414±41
Lig 3	438±21	481±11	360±63*
Lig 5	437±18	480±12	345±62*
Rep 1	409±22	457±12	379±52
Rep 3	409±22	464±10	394±66
Rep 5	408±24	459±11	370±50
Rep 7	401±21	449±15	372±55
Rep 9	401±22	440±23	360±52

Lig: Ligasyon, **Rep:** Reperfüzyon, **AM251:** Kanabinoid reseptör 1 antagonisti, **AM630:** Kannabinoid reseptör 2 antagonisti. *P<0.05 bazala göre. Değerler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir.

Çizelge 3.3. AM251 ve AM630'un iskemi periyodu boyunca görülen aritmiler üzerine etkisi.

Gruplar	n	Risk Bölgesi (%)	Ölüm Oranı (N/%)	Aritmilerin görülme sıklığı (N/%)			Aritmi Süreleri (sn)			
				VF	VT	VPK	VF	VT	VPK	Toplam
Kontrol	13	45±1	0/0	1/8	3/23	12/92	1±1	2±1	4±1	8±4
AM251	17	44±1	1/6	2/12	6/35	17/100	1±1	4±2	6±2	11±3
AM630	17	44±1	0/0	0/0	0/0	15/88	0	0	2±1	2±1

n: Ligasyon öncesi hayvan sayısı **N:** Ligasyon periyodundan sonra ölen hayvan sayısı. **N:** Aritmilerin görülme sayısı **VF:** Ventriküler fibrilasyon; **VT:** Ventriküler taşikardi; **VPK:** Ventriküler premature kasılma (ekstra sistol, salvos, bigemini); **Toplam:** VF, VT ve diğer tip aritmilerin toplam uzunluğu.

Çizelge 3.4. AM251 ve AM630'un reperfüzyon periyodu boyunca görülen aritmiler üzerine etkisi.

Gruplar	n	Risk Bölgesi (%)	Ölüm Oranı (N/%)	Aritmilerin görülme sıklığı (N/%)			Aritmi Süreleri (sn)				Aritmi Skoru
				VF	VT	VPK	VF	VT	VPK	Toplam	
Kontrol	13	45±1	1/8	2/15	6/46	12/92	1±1	12±6	5±2	19±7	3.2±0.6
AM251	17	44±1	9/53*	12/71*	17/100*	17/100	12±9*	26±9	7±2	44±11*	5.3±0.3*
AM630	17	44±1	2/12	4/24	4/24	16/94	5±4	18±11	2±1	25±16	2.8±0.8

n: Ligasyon öncesi hayvan sayısı **N:** Ligasyon periyodundan sonra ölen hayvan sayısı. **N:** Aritmilerin görülme sayısı **VF:** Ventriküler fibrilasyon; **VT:** Ventriküler taşikardi; **VPK:** Ventriküler premature kasılma (ekstra sistol, salvos, bigemini); **Toplam:** VF, VT ve diğer tip aritmilerin toplam uzunluğu. ^{*}P<0.05 kontrole göre. Değerler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir.

BÖLÜM 4

TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, KB₁ antagonisti AM251 1mg/kg dozda miyokardiyal iskemi reperfüzyon sonucunda ölüm oranını, ventriküler aritmilerin süre ve sıklığını artırdı. Bulgularımızdan farklı olarak, Hajrasouliha et al. (2008) anestezi altındaki sıçanlarda yapmış olduğu çalışmada KB₁ reseptör antagonisti AM251'in ventriküler aritmiler üzerine bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Hepburn et al. (2011) ise aynı modelde yapmış olduğu çalışmada AM251'in iske miyle uyarılan ventriküler aritmilerin sayı ve sıklığını azalttığını bildirmiştir. Bu çalışmalarda çalışmamızdan farklı olarak AM251'in özellikle iskemi ile uyarılan aritmiler üzerine etkisi araştırılmıştır. İzole sıçan kalbinde yapılan başka bir çalışmada ise AM251 reperfüzyon periyodunda aritmi oluşumunu etkilememiştir. İskeminin geç periyodunda ise VF süre ve sıklığını artırmıştır (Andrag and Curtis, 2013). Hajrasouliha et al. (2008) ve Andrag and Curtis (2013) çalışmalarında iskemi sürelerini sırasıyla 30 dakika ve 1 saat olarak belirlemişlerdir. Ancak reperfüzyon aritmilerinin araştırıldığı çalışmalarda reperfüzyon periyodundan önce uygulanan iskemik periyodun süresi reperfüzyon aritmileri için gerekli koşulları sağlayabilecek uzunlukta tutulmaktadır. Bu tür deneysel çalışmalarda iskemi periyodunun uzunluğu, 5, 6, 7 ya da 20 dakika olarak uygulanmaktadır (Gonca 2013). Bizim çalışmamızda AM251'in reperfüzyonla uyarılan aritmiler üzerine etkisi ilk kez araştırılmıştır.

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada kalp iskemisi sırasında endojen olarak meydana gelen kannabinoidlerin sempatik sinir liflerinde bulunan KB₁ reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla noradrenalin salınımını bloke ettiği gösterilmiştir (Rudz et al., 2012). Çalışmamızda AM251 ile sağlanan KB₁ reseptör blokajı aşırı noradrenalin salınımına neden olmuş olabilir. Noradrenalin salınımındaki artış DAD tetikleme aktivitesi yoluyla ventriküler aritmilerin oluşumunu artırmış olabilir.

Endojen kannabinoidlerin klasik reseptörlerinin dışında etki gösterdiği G proteinine bağlı reseptör 55 (GPR55) tespit edilmiştir (Brown 2007). Miyokardiyal iskemi reperfüzyon sırasında meydana gelen lisofosfatidilinositol (LPI) GPR55 reseptörlerinin ligantıdır. LPI

GPR55 reseptör aktivasyonuna neden olarak hücre içi Ca^{2+} miktarını artırır. Ca^{2+} aşırı yüklenmesinin ise nekroz, apoptoz ve aritmileri artırdığı bilinmektedir (Robertson-Gray et al., 2014). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda AM251'in de LPI'ya benzer şekilde GPR55 reseptörlerini aktive ettiği gösterilmiştir (Rayberg et al., 2007; Walsh et al., 2015). Çalışmamızda da AM251 GPR55 reseptör aktivasyonu yoluyla miyokardiyal hücrelerde Ca^{2+} iyonunun aşırı yüklenmesine neden olmuş olabilir. Hücrelerde meydana gelen aşırı Ca^{2+} iyon yüklemesi DAD tipi tetikleme aktivasyonu yoluyla aritmi oluşumunu artırmış olabilir (Faber and Rudy, 2007).

Çalışmamızda AM251 ile sağlanan KB_1 reseptör blokajı reperfüzyon ile uyarılan aritmileri arttırıcı etki gösterirken, Hajrasouliha et al. (2008) ve Hepburn et al. (2011) yapmış oldukları çalışmalarda AM251'in iske miyle uyarılan aritmileri arttırmadığını bildirmişlerdir. İskemi ve iske mi reperfüzyon ile uyarılan aritmilerin mekanizmalarının farklı oluşu sonuçlardaki bu farklılığı açıklayabilir (Pogwizd and Corr, 1987). Tetikleme aktivitesi yoluyla aritmi oluşumu özellikle reperfüzyon aritmilerinin oluşumunda etken olan bir mekanizma iken iske mi aritmilerinin oluşumunda ise daha çok re-entry mekanizması sorumludur. Çalışmamızda gösterilen AM251'in proaritmik etkisinde Ca^{2+} aşırı yüklenmesi ve epinefrin deşarjına bağlı tetikleme aktivitesi belirleyici rol oynamış olabilir.

Krylatov et al., (2001b) seçici olmayan KB_1 ve KB_2 reseptör agonisti HU-210'un anti-aritmik etkisinin KB_2 aktivasyonuna bağlı olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde Lepicier et al. (2007) de yapmış oldukları çalışmada egzojen olarak verilen bir KB_2 reseptör agonisti olan JWH015 reperfüzyon aritmilerine karşı koruyucu etki gösterdiğini bildirmiştir. Ancak KB_2 reseptör antagonistlerinin kullanıldığı çalışmalarda KB_2 reseptör blokajının ventriküler aritmilerin oluşumuna herhangi bir etkisinin olmadığı ileri sürülmüştür. Bu çalışmalarda, Hajrasouliha et al. (2008), KB_2 reseptör antagonisti AM630'un iske miyle uyarılan aritmiler üzerine bir etkisinin olmadığını rapor etmişlerdir. Bir *in vitro* çalışmada ise AM630'un iske mi periyodunda ventriküler aritmilerin süresini etkilemediğini göstermiştir (Andrag and Curtis, 2013). Benzer şekilde çalışmamızda da KB_2 antagonisti AM630 iske mi reperfüzyonla uyarılan ventriküler aritmilerin oluşumu üzerine anlamlı bir etki göstermemiştir. Bu sonuç KB_2 reseptörlerinin endojen kannabinoidler yoluyla uyarılmasının ventriküler aritmi patofizyolojisinde rolü olmadığını göstermektedir.

Rat ventriküler miyositlerinde geçici dışa doğru K^+ akımları (I_{to}) ve içeri doğrultucu (IK_1) potasyum akımları repolarizasyon sürecinden sorumludur. Geçikmiş dışa doğrultucu potasyum akımlarının (IK) repolarizasyon sürecine çok az etkisi bulunmaktadır (Varro et al., 1997). AM251'in I_{to} ve IK_1 üzerine etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Tez çalışmamızda AM251 ve AM630'un aritmiler üzerine etkisinde olası elektrofizyolojik etkilerini değerlendirmek için QRS, QT ve PR aralıkları ölçülmüştür. AM251 PR uzunluklarını anlamlı artırmıştır. Farkas et al., (1999) L-tipi Ca^{2+} kanal blokajının, PR uzunluğunu artırdığı bildirmiştir. KB_1 reseptör blokajının, endojen kannabinoid olan AEA'nın L-tipi kanalları aktive edici etkilerini bloke ettiği ileri sürülmüştür (Li et al., 2009). Çalışmamızda da AM251 AEA'nın L-tipi kanalları aktive edici etkisini bloke ederek, L-tipi kanal blokajına yol açabilir. Böylece çalışmamızda AM251 L-tipi kanal blokajı yoluyla PR uzunluğunu artırmış olabilir. Çalışmamızda AM630 QT uzunluklarını kontrole göre anlamlı artırdı. Reperfüzyon periyodundan sorumlu olan K^+ kanallarının blokajını sağlayan ilaçların aksiyon potansiyel süresini uzatarak akut koroner ligasyonda ventriküler aritmileri baskıladığı bildirilmiştir (Tamargo et al., 2004). Ancak AM630 QT uzunluklarını artırmamasına rağmen çalışmamızda ventriküler aritmileri azaltmamıştır. İskemik miyokardiyal hücrelerde aksiyon potansiyel süresinin uzamasına bağlı olarak miyokardiyal kas kitlesi içinde impuls iletimi yavaşlar. Bunun sonucunda iskemiye bağlı olarak QRS aralıklarında artış beklenir (Gonca E ve Darıcı F, 2015). Çalışmamızda da beklenildiği gibi koroner ligasyonu takiben iskeminin belirli aralıklarında QRS uzunlukları ligasyon öncesine göre anlamlı artış göstermiştir

Kannabinoidler, KB_1 ve gama-aminobütrik asit (GABA) reseptör mekanizması ile nükleus traktüs solitariusundan (NTS) sempatik impuls akımını baskılayabilir (Seagard et al. 2004; Brozoski et al. 2005). Sempatik impuls akımında azalma ve beraberinde vagal sinirlerdeki impuls akımı artışının kardiyovasküler depresyonu uyardığı gösterilmiştir (Niederhoffer et al. 2003). KB_1 reseptörleri miyokardiyumda ifade edilir ve koroner vasodilasyondan sorumludur (Wagner et al., 2001; Mukhopadhyay et al., 2007). KB_1 reseptör aktivasyonu nöradrenalin salınımını engeller ve dolayısıyla sinirsel basınç cevabının ve taşikardinin azalmasına neden olur (Rudz et al., 2012). Çalışmamızda ligasyon öncesi ve iskemi/reperfüzyon boyunca ölçülen kan basıncı değerlerinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ancak ligasyon öncesinde AM251 verilen grupta OAKB değeri ilaç öncesi bazal değerlere göre anlamlı artmıştır (Çizelge 3.1). Endojen kannabinoidlerin hipotansif etki gösterdiği bildirilmiştir (Wagner et al., 2001). Sonuçlarımızla uyumlu olarak Wagner et al. (1999) bir

KB₁ antagonisti olan rimonabant'ın kan basıncını artırdığı göstermiştir. Çalışmamızda AM251 KB₁ reseptörlerini bloke ederek hipertansif etki göstermiş olabilir. Ancak son zamanlarda yapılan bir çalışmada AM251'in GPR55 reseptörlerini aktive ederek hipotansif etki gösterebileceği ileri sürülmüştür (Walsh et al., 2015).

Endojen kannabinoidler kalbi inerve eden sempatik sinirlerin terminal uçlarında bulunan KB₁ ve KB₂ reseptörleri aracılığıyla kalp fonksiyonunu modüle eder. Kalp atım hızındaki yavaşlama sinoatriyal düğüm üzerine doğrudan bir etki ya da kardiyak sempatik sinirlerin kontrolü ile olur. KB₂ reseptörleri miyokardiyumda kardiyomiyositlerde bulunur (Weis et al., 2010; Mukhopadhyay et al., 2010). Çalışmamızda AM630 verilen grupta ligasyon periyodunda kalp atımı ligasyon öncesi bazal değerlere göre anlamlı azalma göstermiştir (Çizelge 3.2). Tsuchihashi and Curtis (1991) yapmış oldukları çalışmada reperfüzyon periyodunun uzaması ile sonuçlanan I_{to} akım blokajının kalp hızını yavaşlatabileceğini ileri sürmüştür. K⁺ akımlarını bloke eden ilaçlar (I_{to}, I_{KATP}, I_{K1}) sıçan kalbinde QT süresini uzatır (Tsuchihashi ve Curtis, 1991; Rees and Curtis, 1995; 1996). Çalışmamızda da AM630 QT aralığını artırmıştır. AM630'un kalp atımını azaltıcı etkisi repolarizasyon periyodunun uzamasına neden olan sorumlu bir kanalın blokajıyla gerçekleşmiş olabilir.

BÖLÜM 5

SONUÇLAR

Bu çalışma ile bir KB₁ reseptör antagonisti olan AM251'in reperfüzyonla uyarılan aritmileri artırdığı ilk kez gösterilmiştir. KB₂ reseptör antagonisti AM630 ise reperfüzyonla uyarılan aritmelerin oluşumuna herhangi bir etkisi olmamıştır. Bu sonuçlar iskemi reperfüzyon periyodunda meydana gelen endojen kannabinoidlerin KB₁ reseptör aktivasyonu yoluyla aritmeleri azaltıcı etki yapabileceğini ve KB₂ reseptör aktivasyonunun aritmi patofizyolojisinde herhangi bir etkisinin olmadığını düşündürmektedir. Ancak her iki ilacın da kannabinoid reseptörleri dışında farklı hedef reseptörleri olabilir. Bu nedenle endojen kannabinoidlerin aritmi patofizyolojisindeki rolünü aydınlatmak amacıyla KB₁ ve KB₂ reseptör delesyonu yapılarak elde edilen hayvanlarda deneysel araştırmalar, farklı seçici agonist ve antagonistleri içeren kapsamlı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.



KAYNAKLAR

AlKury L T, Voitychuk O I, Yang K H, Thayyullathil F T, Doroshenko P, Ramez A M, Shuba Y M, Galadari S, Howarth F C, Oz M, (2014). Effects of the endogenous cannabinoid anandamide on voltage-dependent sodium and calcium channels in rat ventricular myocytes. *British Journal of Pharmacology*, 171(14): 3485-3498.

Allen D G, Morris P G, Orchard C H and Pirolo J S, (1985). A nuclear magnetic resonance study of metabolism in the ferret heart during hypoxia and inhibition of glycolysis. *The Journal of Physiology*, 361: 185-204.

Andrag E and Curtis M J, (2013). Feasibility of targeting ischemia-related ventricular arrhythmias by mimicry of endogenous protection by endocannabinoids. *British Journal of Pharmacology*, 169(8): 1840-1848.

Barana A, Amoros I, Caballero R, Gomez R, Osuna L, Lillo M P, Blazquez C, Guzman M, Delpon E and Tamargo J, (2010). Endocannabinoids and cannabinoid analogues block cardiac hKv1.5 channels in a cannabinoid receptor-independent manner. *Cardiovascular Research*, 85(1): 56-67.

Batkai S, Pacher P, Jarai Z, Wagner J A, Kunos G, (2004). Cannabinoid antagonist SR-141716 inhibits endotoxic hypotension by a cardiac mechanism not involving CB1 or CB2 receptors. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 287(2): 595–600.

Bers D M and Guo T, (2005). Calcium signalling in cardiac ventricular myocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1047: 86-98.

Bers D M, Eisner D A and Valdivia H H, (2003). Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ and heart failure: roles of diastolic leak and Ca²⁺ transport. *Circulation Research*, 93(6): 487-490.

Biliczki P, Virag L, Iost N, Papp J G and Varro A, (2002). Interaction of different potassium channels in cardiac repolarization in dog ventricular preparations: role of repolarization reserve. *British Journal of Pharmacology*, 137(3): 361-368.

Bisogno T, Hanus L, De Petrocellis L, Tchilibon S, Ponde D E, Brandi I, Moriello A S, Davis J B, Mechoulam R, Di Marzo V, (2001). Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *British Journal of Pharmacology*, 134(4): 845-852.

Bohn G, Moosmang S, Conrad H, Ludwig A, Hofmann F and Klugbauer N, (2000). Expression of T- and L-type calcium channel mRNA in murine sinoatrial node. *FEBS Letters*, 481(1): 73-76.

Kaynaklar (devam ediyor)

Brown A J, (2007). Novel cannabinoid receptors. *British Journal of Pharmacology*, 152(5): 567-575.

Brozoski D T, Dean C, Hopp F A, Seagard J L, (2005). Uptake blockade of endocannabinoids in the NTS modulates baroreflex-evoked sympathoinhibition. *Brain Res*, 1059: 197– 202.

Bucchi A, Barbuti A, DiFrancesco D and Baruscotti M, (2012). Funny current and cardiac rhythm: Insights from HCN knockout and transgenic mouse models. *Frontiers In Physiology*, 3: 240-240.

Carmeliet E, (1999). Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiological Reviews*, 79(3): 917-1017.

Charlagorla P, Liu J, Patel, M, Rushbrook J I and Zhang M, (2013). Loss of plasma membrane integrity, complement response and formation of reactive oxygen species during early myocardial ischemia/reperfusion. *Molecular Immunology*, 56(4): 507-512.

Chen Y and Buck J, (2000). Cannabinoids protect cells from oxidative cell death: a receptor-independent mechanism. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 293(3): 807-812.

Console-Bram L, Marcu J and Abood M E, (2012). Cannabinoid receptors: nomenclature and pharmacological principles. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 38(1): 4-15.

Coraboeuf E, Deroubaix E and Coulombe A, (1979). Effect of tetrodotoxin on action potentials of the conducting system in the dog heart. *The American Journal of Physiology*, 236(4): 561-567.

Cribbs L L, Lee, J H, Yang J, Satin J, Zhang Y, Daud A, Barclay J, Williamson M P, Fox M, Rees M and Perez-Reyes E, (1998). Cloning and characterization of $\alpha 1H$ from human heart, a member of the T-type Ca^{2+} channel gene family. *Circulation Research*, 83(1): 103-109.

Crompton M, (1999). The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *The Biochemical Journal*, 341(2): 233-249.

Cunha P, Romao A M, Mascarenhas-Melo F, Teixeira H M, Reis F, (2011). Endocannabinoid system in cardiovascular disorders - new pharmacotherapeutic opportunities. *Journal of Pharmacy& Bioallied Science*, 3(3): 350-360.

Curtis M J, Hancox J C, Farkas A, Wainwright C L, Stables C L, Saint D A, Clements-Jewery H, Lambiase P D, Billman G E, Janse M J, Pugsley M K, Ng G A, Roden D M, Camm A J, Walker M J, (2013). The Lambeth Conventions (II): guidelines for the study of animal and human ventricular and supraventricular arrhythmias. *Pharmacology&Therapeutics*, 139(2): 213-248.

Kaynaklar (devam ediyor)

Dennis S C, Gevers W and Opie L H, (1991). Protons in ischemia: where do they come from; where do they go to? *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 23(9): 1077-1086.

Despres J, Golay A and Sjöström L, (2005). Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *The New England Journal of Medicine*, 353(20): 2121-2134.

Devane W A, Dysarz F A, Johnson M R, Melvin L S and Howlett A C, (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular Pharmacology*, 34(5): 605-613.

Di Filippo C, Rossi F, Rossi S, D'Amico M, (2004). Cannabinoid CB2 receptor activation reduces mouse myocardial ischemia-reperfusion injury: involvement of cytokine/chemokines and PMN. *Journal of Leukocyte Biology*, 75: 453-459.

Di Marzo V and Deutsch D G, (1998). Biochemistry of the endogenous ligands of cannabinoid receptors. *Neurobiology of Disease*, 5(6): 386-404.

Di Marzo V, (2009). The endocannabinoid system: its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation. *Pharmacological Research*, 60(2): 77-84.

Difrancesco D and Camm J A, (2004). Heart rate lowering by specific and selective I(f) current inhibition with ivabradine: a new therapeutic perspective in cardiovascular disease. *Drugs*, 64(16): 1757-1765.

Downar E, Janse M J and Durrer D, (1977). The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart. *Circulation*, 56(2): 217-224.

Durst R, Danenberg H, Gallily R, Mechoulam R, Meir K, Grad E, Beeri R, Pugatsch T, Tarsish E and Lotan C, (2007). Cannabidiol, a nonpsychoactive Cannabis constituent, protects against myocardial ischemic reperfusion injury. *American Journal Of Physiology. Heart And Circulatory Physiology*, 293(6): 3602-3607.

Eisner D A, Nichols C G, O'Neill S C, Smith G L and Valdeolmillos M, (1989). The effects of metabolic inhibition on intracellular calcium and pH in isolated rat ventricular cells. *The Journal of Physiology*, 411: 393-418.

Entman M L, Michael L, Rossen R D, Dreyer W J, Anderson D C, Taylor A A and Smith C W, (1991). Inflammation in the course of early myocardial ischemia. *FASEB Journal: Official Publication of The Federation of American Societies for Experimental Biology*, 5(11): 2529-2537.

Faber GM and Rudy Y, (2007). Calsequestrin mutation and catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia: a simulation study of cellular mechanism. *Cardiovasc Research*, 75(1):79-88.

Kaynaklar (devam ediyor)

Ferrier G R, Moffat M P and Lukas A, (1985). Possible mechanisms of ventricular arrhythmias elicited by ischemia followed by reperfusion. Studies on isolated canine ventricular tissues. *Circulation Research*, 56(2): 184-194.

Fredriksson R, Lagerström M C, Lundin L and Schiöth H B, (2003). The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Molecular Pharmacology*, 63(6): 1256-1272.

Gardiner S M, March J E, Kemp P A and Bennett T, (2002). Complex regional haemodynamic effects of anandamide in conscious rats. *British Journal of Pharmacology*, 135(8): 1889-1896.

Gebremedhin D, Lange A R, Campbell W B, Hillard C J, Harder D R, (1999). Cannabinoid CB1 receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca²⁺-channel current. *The American Journal Physiology*, 276: 2085–2093.

Gettes L S and Reuter H, (1974). Slow recovery from inactivation of inward currents in mammalian myocardial fibres. *The Journal of Physiology*, 240(3): 703-724.

Gonca E, (2013). The Effects of Zileuton and Montelukast in Reperfusion-Induced Arrhythmias in Anesthetized Rats. *Current Therapeutic Research*, 75: 27-32.

Gonca E ve Darıcı F, (2014). The effect of cannabidiol on ischemia/reperfusion-induced ventricular arrhythmias: the role of adenosine A1 receptors. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 20(1): 76-83.

Gonca E, Rapposelli S, Darıcı F, Digiacomo M, Yılmaz Z, (2016). Antiarrhythmic activity of a new spiro-cyclic benzopyran activator of the cardiac mitochondrial ATP dependent potassium channels. *Arch Pharm Res.*, 39(9): 1212-1222.

Grant A O, (2009). Cardiac ion channels. *Circulation Arrhythmia And Electrophysiology*, 2(2): 185-194.

Griese M, Perlitz V, Jüngling E and Kammermeier H, (1988). Myocardial performance and free energy of ATP-hydrolysis in isolated rat hearts during graded hypoxia, reoxygenation and high K⁺-perfusion. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 20(12):1189-1201.

Gussak I, Chaitman B R, Kopecky S L and Nerbonne J M, (2000). Rapid ventricular repolarization in rodents: electrocardiographic manifestations, molecular mechanisms, and clinical insights. *Journal of Electrocardiology*, 33(2): 159-170.

Hajrasouliha A R, Tavakoli S, Ghasemi M, Jabehdar-Maralani P, Sadeghipour H, Ebrahimi F, Dehpour A R, (2007). Endogenous cannabinoids contribute to remote ischemic preconditioning via cannabinoid CB2 receptors in the rat heart. *European Journal of Pharmacology*, 579: 246-252.

Kaynaklar (devam ediyor)

- Halestrap A P, Clarke S J and Javadov S A**, (2004). Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion--a target for cardioprotection. *Cardiovascular Research*, 61(3): 372-385.
- Harris A S**, (1948). Terminal electrocardiographic patterns in experimental anoxia, coronary occlusion, and hemorrhagic shock. *American Heart Journal*, 35(6): 895-909.
- Hausenloy D J, Duchen M R and Yellon D M**, (2003). Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening at reperfusion protects against ischemia-reperfusion injury. *Cardiovascular Research*, 60(3): 617-625.
- Hepburn C Y, Walsh S K, Wainwright C L**, (2011). Cannabidiol as an antiarrhythmic, the role of the CB1 receptors. *Heart*, 97(24): 8.
- Hill J L and Gettes L S**, (1980). Effect of acute coronary artery occlusion on local myocardial extra cellular K⁺ activity in swine. *Circulation*, 61(4): 768-778.
- Hirche H, Franz C, Bös L, Bissig R, Lang R and Schramm M**, (1980). Myocardial extra cellular K⁺ and H⁺ increase and noradrenaline release as possible cause of early arrhythmias following acute coronary artery occlusion in pigs. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 12(6): 579-593.
- Hoey A, Harrison S M, Boyett M R and Ravens U**, (1994). Effects of the Anemonia sulcata toxin (ATX II) on intracellular sodium and contractility in rat and guinea-pig myocardium. *Pharmacology & Toxicology*, 75(6): 356-365.
- Hosohata K, Quock R M, Hosohota Y, Burkey T H, Makriyannis A, Consroe P, Roeske W R, Yamamura H I**, (1997a). AM630 is a competitive cannabinoid receptor antagonist in the guinea pig brain. *Life Sciences*, 61(9): 115-118.
- Hosohata Y, Quock R M, Hosohota K, Makriyannis A, Consroe P, Roeske W R, Yamamura H I**, (1997b). AM630 antagonism of cannabinoid-stimulated [35S] GTP gamma S binding in the mouse brain. *European Journal of Pharmacology*, 321(1): 1-3.
- Howlett A C**, (2005). Cannabinoid receptor signaling", *Handbook of Experimental Pharmacology*, 168: 53-79.
- Howlett A C, Barth F, Bonner T I, Cabral G, Casellas P, Devane W A, Felder C C, Herkenham M, Mackie K, Martin B R, Mechoulam R and Pertwee R G**, (2002). Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacological Reviews*, 54(2): 161-202.
- Howlett A C, Breivogel C S, Childers S R, Deadwyler S A, Hampson R E, Porrino L J**, (2004). Cannabinoid physiology and pharmacology:30 years of progress. *Neuropharmacology*, 47: 345-358.

Kaynaklar (devam ediyor)

Hoyer K, Song Y, Wang D, Phan D, Balschi J, Ingwall J S, Belardinelli L and Shryock J C, (2011). Reducing the late sodium current improves cardiac function during sodium pump inhibition by ouabain. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 337(2): 513-523.

Ishac E J, Jiang L, Lake K D, Varga K, Abood M E and Kunos G, (1996). Inhibition of exocytotic noradrenaline release by presynaptic cannabinoid CB1 receptors on peripheral sympathetic nerves. *British Journal of Pharmacology*, 118(8): 2023-2028.

Janse M J and Kleber A G, (1981). Electrophysiological changes and ventricular arrhythmias in the early phase of regional myocardial ischemia. *Circulation Research*, 49(5): 1069-1081.

Janse M J and Wit A L, (1989). Electrophysiological mechanisms of ventricular arrhythmias resulting from myocardial ischemia and infarction. *Physiological Reviews*, 69(4): 1049-1169.

Jaswal J S, Keung W, Wang W, Ussher J R and Lopaschuk G D, (2011). Targeting fatty acid and carbohydrate oxidation--a novel therapeutic intervention in the ischemic and failing heart. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1813(7): 1333-1350.

Jordan J E, Zhao Z Q and Vinten-Johansen J, (1999). The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovascular Research*, 43(4): 860-878.

Kaplinsky E, Ogawa S, Balke C W and Dreifus L S, (1979). Two periods of early ventricular arrhythmia in the canine acute myocardial infarction model. *Circulation*, 60(2): 397-403.

Kleber A G, Riegger C B and Janse M J, (1987). Electrical uncoupling and increase of extracellular resistance after induction of ischemia in isolated, arterially perfused rabbit papillary muscle. *Circulation Research*, 61(2): 271-279.

Kloner R A, Przyklenk K and Whittaker P, (1989). Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion. Resolved and unresolved issues. *Circulation*, 80(5): 1115-1127.

Knuuti J and Tuunanen H, (2010). Metabolic imaging in myocardial ischemia and heart failure. The Quarterly Journal Of Nuclear Medicine And Molecular Imaging. *Official Publication Of The Italian Association of Nuclear Medicine (AIMN)*, 54(2): 168-176.

Krylatov A V, Ugdyzhekova D S, Bernatskaya N A, Maslov L N, Mekhoulam R, Pertwee R G, Stephano G B, (2001). Activation of type II cannabinoid receptors improves myocardial tolerance to arrhythmogenic effects of coronary occlusion and reperfusion. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 131(6): 523-525.

Krylatov A V, Ugdyzhekova D S, Bernatskaya N A, Maslov L N, Mekhoulam R, Pertwee R G and Stephano G B, (2001). Activation of type II cannabinoid receptors

Kaynaklar (devam ediyor)

improves myocardial tolerance to arrhythmogenic effects of coronary occlusion and reperfusion. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 131(6): 523-525.

Kukreja R C, Kearns A A, Zweier J L, Kuppusamy P and Hess M L, (1991). Singlet oxygen interaction with Ca^{2+} -ATPase of cardiac sarcoplasmic reticulum. *Circulation Research*, 69(4): 1003-1014.

Kwolek G, Zakrzeska A, Schlicker E, Göthert M, Godlewski G and Malinowska B, (2005). Central and peripheral components of the pressor effect of anandamide in urethane-anaesthetized rats. *British Journal of Pharmacology*, 145(5): 567-575.

Lake K D, Compton D R, Varga K, Martin B R and Kunos G, (1997). Cannabinoidinduced hypotension and bradycardia in rats mediated by CB1-like cannabinoid receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 281(3): 1030-1037.

Lan R, Liu Q, Fan P, Lin S, Fernando S R, McCallion D, Pertwee R, Makriyannis A, (1999). Structure-activity relationships of pyrazole derivatives as cannabinoid receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry*, 42:769-776.

Lee L Y and Lundberg J M, (1994). Capsazepine abolishes pulmonary chemoreflexes induced by capsaicin in anesthetized rats. *Journal Of Applied Physiology*, 5: 1848-1855.

Lei M, Honjo H, Kodama I and Boyett M R, (2001). Heterogeneous expression of the delayed-rectifier K^{+} currents $i(\text{K}_r)$ and $i(\text{K}_s)$ in rabbit sinoatrial node cells. *The Journal of Physiology*, 535: 703-714.

Lepicier P, Bibeau-Poirier A, Lagneux C, Servant M J and Lamontagne D, (2006). Signaling pathways involved in the cardioprotective effects of cannabinoids. *Journal of Pharmacological Sciences*, 102(2): 155-166.

Lepicier P, Lagneux C, Sirois M G, Lamontagne D, (2007). Endothelial CB1-receptors limit infarct size through NO formation in rat isolated hearts. *Life Science*, 81: 1373-1380.

Lepran I, Koltai M, Siegmund W, Szekeres L, (1983). Coronary artery ligation, early arrhythmias, and determination of the ischemic area in conscious rats. *Journal Pharmacological Methods*, 9(3): 219-230.

Levick J R, (2003). *Introduction to Cardiovascular Physiology*. 4st edition. Great Britian: Arnold.

Levites R, Banka V S and Helfant R H, (1975). Electrophysiologic effects of coronary occlusion and reperfusion. Observations of dispersion of refractoriness and ventricular automaticity. *Circulation*, 52(5): 760-765.

Li Q, Ma H J, Song S L, Shi M, Ma H J, Li D P, Zhang Y, (2012). Effects of anandamide on potassium channels in rat ventricular myocytes: a suppression of $\text{I}(\text{to})$ and

Kaynaklar (devam ediyor)

augmentation of K(ATP) channels. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 302(6): 924-930.

Litt M R, Jeremy R W, Weisman H F, Winkelstein J A and Becker L C, (1989). Neutrophil depletion limited to reperfusion reduces myocardial infarct size after 90 minutes of ischemia. Evidence for neutrophil-mediated reperfusion injury. *Circulation*, 80(6): 1816-1827.

Liu J, Gao B, Mirshahi F, Sanyal A J, Khanolkar A D, Makriyannis A, Kunos G, (2000). Functional CB1 cannabinoid receptors in human vascular endothelial cells. *The Biochemical Journal*, 346: 835-840.

Luna A, Coumel P, Leclercq J, (1989). Ambulatory sudden cardiac death: Mechanisms of production of fatal arrhythmia on the basis of data from 157 cases. *American Heart Journal*, 117: 151-159.

Luo C H and Rudy Y, (1994). A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. II. Afterdepolarizations, triggered activity, and potentiation. *Circulation Research*, 74(6): 1097-1113.

Madonna R, Cevik C and Nasser M, (2013). Electrical plasticity and cardioprotection in myocardial ischemia--role of selective sodium channel blockers. *Clinical Cardiology*, 36(5): 255-261.

Malinowska B, Baranowska-Kuczeko M and Schlicker E, (2012). Triphasic blood pressure responses to cannabinoids: do we understand the mechanism? *British Journal Pharmacol*, 165(7): 2073-2088.

Malinowska B, Kwolek G and Göthert M, (2001). Anandamide and methanandamide induce both vanilloid VR1- and cannabinoid CB1 receptor-mediated changes in heart rate and blood pressure in anaesthetized rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 364(6): 562-569.

Malinowska B, Zakrzewska A, Kurz C M, Göthert M, Kwolek G, Wielgat P, Braszko J J and Schlicker E, (2010). Involvement of central beta2-adrenergic, NMDA and thromboxane A2 receptors in the pressor effect of anandamide in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 381(4): 349-360.

Mangoni M E and Nargeot J, (2008). Genesis and regulation of the heart automaticity. *Physiological Reviews*, 88(3): 919-982.

Matsuura H and Shattock M J, (1991). Effects of oxidant stress on steady-state background currents in isolated ventricular myocytes. *The American Journal of Physiology*, 261(5): 1358-1365.

Matsuura H, Ehara T, Ding W, Omatsu-Kanbe M and Isono T, (2002). Rapidly and slowly activating components of delayed rectifier K(+) current in guinea-pig sino-atrial node pacemaker cells. *The Journal of Physiology*, 540: 815-830.

Kaynaklar (devam ediyor)

Maxwell S R and Lip G Y, (1997). Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *International Journal of Cardiology*, 58(2): 95-117.

Mcpartland J M and Glass M, (2003). Functional mapping of cannabinoid receptor homologs in mammals, other vertebrates, and invertebrates. *Gene*, 312: 297-303.

Meza U, Beqollari D, Romberg C F, Papadopoulos S and Bannister R A, (2013). Potent inhibition of L-type Ca^{2+} currents by a Rad variant associated with congestive heart failure. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 439(2): 270-274.

Miura M, Hattori T, Murai N, Nagano T, Nishio T, Boyden P A and Shindoh C, (2012). Regional increase in extracellular potassium can be arrhythmogenic due to nonuniform muscle contraction in rat ventricular muscle. *American Journal of Physiology.Heart And Circulatory Physiology*, 302(11): 2301-2309.

Montecucco F and Di Marzo V, (2012). At the heart of the matter: the endocannabinoid system in cardiovascular function and dysfunction. *Trends Pharmacol Science*, 33(6): 331-340.

Mukhopadhyay P, Batkai S, Rajesh M, (2007). Pharmacological inhibition of CB1 cannabinoid receptor protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Journal American College Cardiology*, 50: 528-536.

Mukhopadhyay P, Batkai S, Rajesh M, Czifra N, Harvey-White J, Hasko G, Zsengeller Z, Gerard N P, Liaudet L, Kunos G, Pacher P, (2007). Pharmacological inhibition of cannabinoid receptor-1 protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Journal of the American Colloge of Cardiology*, 50: 528-536.

Mukhopadhyay P, Rajesh M, Batkai S, (2010). CB1 cannabinoid receptors promote oxidative stress and cell death in murine models of doxorubicin-induced cardiomyopathy and in human cardiomyocytes. *Cardiovasc Research*, 85: 773-784.

Murdock D K, Loeb J M, Euler D E and Randall W C, (1980). Electrophysiology of coronary reperfusion. A mechanism for reperfusion arrhythmias. *Circulation*, 61(1): 175-182.

Nagy N, Acsai K, Kormos A, Sebok Z, Farkas A S, Jost N, Nanasi P P, Papp J G, Varro A and Toth A, (2013). $[Ca^{2+}]_i$ -induced augmentation of the inward rectifier potassium current (IK1) in canine and human ventricular myocardium. *European Journal of Physiology*, 465(11): 1621-1635.

Naimi S, Avitall B, Mieszala J and Levine H J, (1977). Dispersion of effective refractory period during abrupt reperfusion of ischemic myocardium in dogs. *The American Journal of Cardiology*, 39(3): 407-412.

Kaynaklar (devam ediyor)

Nattel S, (2008). Delayed-rectifier potassium currents and the control of cardiac repolarization: Noble and Tsien 40 years after. *The Journal of Physiology*, 586: 5849-5852.

Nichols M, Townsend N, Scarborough P and Rayner M, (2013). European Cardiovascular Disease Statistics 4th edition 2012: EuroHeart II. *European Heart Journal*, 34(39): 3007.

Niederhoffer N, Schmid K, Szabo B, (2003). The peripheral sympathetic nervous system is the major target of cannabinoids in eliciting cardiovascular depression. *Naunyn-Schmieddeberg's Arch Pharmacol* , 367: 434-443.

Nissen S E, Nicholls S J, Wolski K, Rodes-Cabau J, Cannon C P, Deanfield J E, Despres J, Kastelein J J P, Steinhubl S R, Kapadia S, Yasin M, Ruzyllo W, Gaudin C, Job B, Hu B, Bhatt D L, Lincoff A M and Tuzcu E M, (2008). Effect of rimonabant on progression of atherosclerosis in patients with abdominal obesity and coronary artery disease: the STRADIVARIUS randomized controlled trial. *The Journal of The American Medical Association*, 299(13): 1547-1560.

Niwa N and Nerbonne J M, (2010). Molecular determinants of cardiac transient outward potassium current (I_{to}) expression and regulation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 48(1): 12-25.

Noble D and Noble P J, (2006). Late sodium current in the pathophysiology of cardiovascular disease: consequences of sodium-calcium overload. *Heart*, 92(4): 1-5.

Ottolia M, Torres N, Bridge J H B, Philipson K D and Goldhaber J, (2013). Na/Ca exchange and contraction of the heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 61: 28-33.

Oudit G Y, Kassiri Z, Sah R, Ramirez R J, Zobel C and Backx P H, (2001). The molecular physiology of the cardiac transient outward potassium current (I_{to}) in normal and diseased myocardium. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 33(5): 851-872.

Pacher P Á, Batkai S and Kunos G, (2004). Haemodynamic profile and responsiveness to anandamide of TRPV1 receptor knock-out mice. *The Journal of Physiology*, 558: 647-657.

Pacher P and Kunos G, (2013). Modulating the endocannabinoid system in human health and disease--successes and failures. *The FEBS Journal*, 280(9): 1918-1943.

Pacher P, Haskó G, (2008). Endocannabinoids and cannabinoid receptors in ischaemia-reperfusion injury and preconditioning. *British Journal of Pharmacology*, 153(2): 252-262.

Park J L and Lucchesi B R, (1999). Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *The Annals of Thoracic Surgery*, 68(5): 1905-1912.

Kaynaklar (devam ediyor)

- Penkoske P A, Sobel B E and Corr P B**, (1978). Disparate electrophysiological alterations accompanying dysrhythmia due to coronary occlusion and reperfusion in the cat. *Circulation*, 58(6): 1023-1035.
- Pertwee R G**, (1997). Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacology & Therapeutics*, 74(2): 129-180.
- Pertwee R G**, (2006). The pharmacology of cannabinoid receptors and their ligands: an overview. *International Journal of Obesity*, 30(1): 13-18.
- Pertwee R G**, (2007). GPR55: a new member of the cannabinoid receptor clan? *British Journal of Pharmacology*, 152(7):984-986.
- Pertwee R G**, (2010). Receptors and channels targeted by synthetic cannabinoid receptor agonists and antagonists. *Current Medicinal Chemistry*, 17(14): 1360-1381.
- Pertwee R G**, (2014). Elevating endocannabinoid levels: pharmacological strategies and potential therapeutic applications. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 73(1): 96-105
- Piper H M, Meuter K and Schafer C**, (2003). Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *The Annals of Thoracic Surgery*, 75(2): 644-648.
- Pogwizd S M and Corr P B**, (1987). Electrophysiologic mechanisms underlying arrhythmias due to reperfusion of ischemic myocardium. *Circulation*, 76(2): 404-426.
- Pollard A E, Cascio W E, Fast V G and Knisley S B**, (2002). Modulation of triggered activity by uncoupling in the ischemic border. A model study with phase 1b-like conditions. *Cardiovascular Research*, 56(3): 381-392.
- Quan W and Rudy Y**, (1990). Unidirectional block and reentry of cardiac excitation: a model study. *Circulation Research*, 66(2): 367-382.
- Ralevic V and Kendall D A**, (2009). Cannabinoid modulation of perivascular sympathetic and sensory neurotransmission. *Current Vascular Pharmacology*, 7(1): 15-25.
- Randall M D, Harris D, Kendall D A, Ralevic V**, (2002). Cardiovascular effects of cannabinoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 95: 191-202.
- Randall M D, Kendall D A, O'Sullivan S**, (2004). The complexities of the cardiovascular actions of cannabinoids. *British Journal of Pharmacology*, 142: 200-206.
- Robertson-Gray O J, Walsh S K, Gonca E, Cruickshank S F, Jönsson-Rylander A C, Wainwright C L**, (2014). Exogenous Lysophosphatidinositol Exacerbates Myocardial Tissue Injury Via A GPR55 Dependent Mechanism. *Heart*, 100(4).
- Roger V L, Go A S, Lloyd-Jones D, Benjamin E J, Berry J D, Borden W B, Bravata D M, Dai S, Ford E S, Fox C S, Fullerton H J, Gillespie C, Hailpern S M, Heit J A**,

Kaynaklar (devam ediyor)

Howard V J, Kissela B M, Kittner S J, Lackland D T, Lichtman J H, Lisabeth L D, Makuc D M, Marcus G M, Marelli A, Matchar D B, Moy C S, Mozaffarian D, Mussolino M E, Nichol G, Paynter N P, Soliman E Z, Sorlie P D, Sotoodehnia N, Turan T N, Virani S S, Wong N D, Woo D and Turner M B, (2012). Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 125(1): 2-220.

Rosenstock J, Hollander P, Chevalier S and Iranmanesh A, (2008). SERENADE: the Study Evaluating Rimonabant Efficacy in Drug-naïve Diabetic Patients: effects of monotherapy with rimonabant, the first selective CB1 receptor antagonist, on glycemic control, body weight, and lipid profile in drug-naïve type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 31(11): 2169-2176.

Rudz R, Schlicker E, Baranowska U, Marciniak J, Karabowicz P, Malinowska B, (2012). Acute myocardial infarction inhibits the neurogenic tachycardic and vasopressor response in rats via presynaptic cannabinoid type 1 receptor. *Journal Pharmacol Experimental Therapeutics*, 343: 198-205.

Ryberg E, Larsson N, Sjögren S, Hjorth S, Hermanson N O, Leonova J, Elebring T, Nilsson K, Drmota T, Greasley P J, (2007). The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *British Journal of Pharmacology*, 152(7): 1092-2101.

Satoh H, (2003). Sino-atrial nodal cells of mammalian hearts: ionic currents and gene expression of pacemaker ionic channels. *Journal of Smooth Muscle Research*, 39(5): 175-193.

Schaper J and Schaper W, (1988). Time course of myocardial necrosis. *The International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy*, 2(1): 17-25.

Scheen A J, Van Gaal L G, Despres J P, Pi-Sunyer X, Golay A and Hanotin C, (2006). Rimonabant improves cardiometabolic risk profile in obese or overweight subjects: overview of RIO studies. *Revue Médicale Suisse*, 2(76): 1916-1923.

Seagard J L, Dean C, Patel S, Rademacher D J, Hopp F A, Schmeling W T, (2004). Anandamide content and interaction of endocannabinoid/GABA modulatory effects in the NTS on baroreflex-evoked sympathoinhibition. *American Journal Physiology*, 286: 992–1000.

Shinagawa Y, Satoh H and Noma A, (2000). The sustained inward current and inward rectifier K⁺ current in pacemaker cells dissociated from rat sinoatrial node. *The Journal of Physiology*, 523(3): 593-605.

Shryock J C, Song Y, Rajamani S, Antzelevitch C and Belardinelli L, (2013). The arrhythmogenic consequences of increasing late I_{Na} in the cardiomyocyte. *Cardiovascular Research*, 99(4): 600-611.

Siddall H K, Yellon D M, Ong S, Mukherjee U A, Burke N, Hall A R, Angelova P R, Ludtmann M H R, Deas E, Davidson S M, Mocanu M M and Hausenloy D J, (2013).

Kaynaklar (devam ediyor)

Correction: Loss of PINK1 Increases the Heart's Vulnerability to Ischemia-Reperfusion Injury. *Plos One*, 8(6): 10.

Sidorov V Y, Uzelac I and Wikswo J P, (2011). Regional increase of extracellular potassium leads to electrical instability and reentry occurrence through the spatial heterogeneity of APD restitution. *American Journal Of Physiology.Heart And Circulatory Physiology*, 301(1): 209-220.

Soliman D, Wang L, Hamming K S C, Yang W, Fatehi M, Carter C C, Clanachan A S and Light P E, (2012). Late sodium current inhibition alone with ranolazine is sufficient to reduce ischemia- and cardiac glycoside-induced calcium overload and contractile dysfunction mediated by reverse-mode sodium/calcium exchange. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 343(2): 325-332.

Song Y, Shryock J C and Belardinelli L, (2008). An increase of late sodium current induces delayed afterdepolarizations and sustained triggered activity in atrial myocytes. *American Journal Of Physiology.Heart And Circulatory Physiology*, 294(5): 2031-2039.

Stern M D and Lakatta E G, (1992). Excitation-contraction coupling in the heart: the state of the question. *Official Publication of The Federation of American Societies for Experimental Biology*, 6(12): 3092-3100.

Szabo B and Schlicker E, (2005). Effects of cannabinoids on neurotransmission. *Handbook of Experimental Pharmacology*, (168): 327-365.

Szolcsanyi J, (2000). Anandamide and the question of its functional role for activation of capsaicin receptors. *Trends in pharmacological sciences*, 21(6): 203-204.

Tamargo J, Caballero R, Gomez R, Valenzuela C, Delpon E, (2004). Pharmacology of cardiac potassium channels. *Cardiovasc Research*, 62(1): 9-33.

Tennant R and Wiggers CJ, (1935). The effect of coronary occlusion on myocardial contraction. *American Journal of Physiology*, 112:351-8.

Thandroyen F T, Morris A C, Hagler H K, Ziman B, Pai L, Willerson J T and Buja L M, (1991). Intracellular calcium transients and arrhythmia in isolated heart cells. *Circulation Research*, 69(3): 810-819.

Turu G, Hunyady L, (2010). Signal transduction of the CB1 cannabinoid receptor. *Journal of Molecular Endocrinology*, 44:75-85.

Van Gaal L F, Rissanen A M, Scheen A J, Ziegler O and Rössner S, (2005). Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet*, 365(9468): 1389-1397.

Kaynaklar (devam ediyor)

Varro A, Lathrop D A, Hester S B, Nanasi P P, Papp J G, (1993). Ionic currents and action potentials in rabbit, rat, and guinea pig ventricular myocytes. *Basic Research Cardiology*. 88(2): 93-102.

Wagner J A, Jarai Z, Batkai S, Kunos G, (2001). Hemodynamic effects of cannabinoids: coronary and cerebral vasodilatation mediated by cannabinoid CB1 receptors. *European Journal Pharmacol*, 423: 203-210.

Wagner J A, Abesser M, Harvey-White J, Ertl G, (2006). 2-Arachidonylglycerol acting on CB1 cannabinoid receptors mediates delayed cardioprotection induced by nitric oxide in rat isolated hearts. *Journal Cardiovascular Pharmacology*, 47(5): 650-655.

Wagner J A, Hu K, Bauersachs J, Karcher J, Wiesler M, Goparaju S K, Kunos G, Ertl G, (2001). Endogenous cannabinoids mediate hypotension after experimental myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 38: 2048–2054.

Wagner J A, Hu K, Karcher J, Bauersachs J, Schäfer A, Laser M, Han H, Ertl G, (2003). CB(1) cannabinoid receptor antagonism promotes remodelling and cannabinoid treatment prevents endothelial dysfunction and hypotension in rats with myocardial infarction. *British Journal Pharmacology*, 138: 1251-1258.

Waldo A L and Kaiser G A, (1973). A study of ventricular arrhythmias associated with acute myocardial infarction in the canine heart. *Circulation*, 47(6): 1222-1228.

Walsh S K, Hepburn C Y, Keown O, Astrand A, Lindblom A, Ryberg E, Hjorth S, Leslie S C, Greasley P J and Wainwright C L, (2015). Pharmacological profiling of the hemodynamic effects of cannabinoid ligands: a combined in vitro and in vivo approach. *Pharmacol Research Perspect*, 3(3): 1-17.

Watson R M, Markle D R, Ro Y M, Goldstein S R, McGuire D A, Peterson J I and Patterson R E, (1984). Transmural pH gradient in canine myocardial ischemia. *The American Journal of Physiology*, 246(2): 232-238.

Weis F, Beiras-Fernandez A, Sodian R, (2010). Substantially altered expression pattern of cannabinoid receptor 2 and activated endocannabinoid system in patients with severe heart failure. *Journal Molecular Cell Cardiology*, 48: 1187-1193.

Wheal A J, Bennett T, Randall M D and Gardiner S M, (2007). Cardiovascular effects of cannabinoids in conscious spontaneously hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology*, 152(5): 717-724.

Wilde A A and Aksnes G, (1995). Myocardial potassium loss and cell depolarisation in ischaemia and hypoxia. *Cardiovascular Research*, 29(1): 1-15.

Wit A L and Bigger J T J, (1975). Possible electrophysiological mechanisms for lethal arrhythmias accompanying myocardial ischemia and infarction. *Circulation*, 52(6): 96-115.

Kaynaklar (devam ediyor)

Yeh Y, Burstein B, Qi X Y, Sakabe M, Chartier D, Comtois P, Wang Z, Kuo C and Nattel S, (2009). Funny current downregulation and sinus node dysfunction associated with atrial tachyarrhythmia: a molecular basis for tachycardia-bradycardia syndrome. *Circulation*, 119(12): 1576-1585.





ÖZGEÇMİŞ

Salih Erdem 1984’de Çankırı’da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitim-öğretimini Kdz. Ereğli’de tamamladı. 2010 yılında kayıt olduğu Bülent Ecevit Üniversitesi’nin bir yıllık ingilizce hazırlık programını tamamladıktan sonra 2011-2015 yılları arasında Biyoloji Bölümünde lisans eğitimini aldı ve aynı yıl Bülent Ecevit Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans programına başladı.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres : Kemer köprü mahallesi, Sıtmayanı caddesi, A blok No:70/4 Merkez/BARTIN

Tel : (+90) 537 213 09 34

E-posta : s_erdem67@hotmail.com



