

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

**İZOLE SIÇAN KALBİNDE KARDİYOPLEJİ SONRASINDAKİ İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARINDA RENİN ANJİYOTENSİN SİSTEMİNİN ROLÜNÜN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Merve SONGUR

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Bilgen BAŞGUT

ANKARA
MART-2013

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

**İZOLE SIÇAN KALBİNDE KARDİYOPLEJİ SONRASINDAKİ İSKEMİ
REPERFÜZYON HASARINDA RENİN ANJİYOTENSİN SİSTEMİNİN ROLÜNÜN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. Merve SONGUR

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Bilgen BAŞGUT

ANKARA
MART-2013

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

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

Tez Savunma Tarihi : 07/03/2013



**İmza
Prof. Dr. Tanju Özçelikay
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı**



**İmza
Doç. Dr. Nilüfer Turan Dural
Gazi Üniversitesi**



**İmza
Doç. Dr. Bilgen Başgut
Doğu Akdeniz Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay

İçindekiler	I
Şekiller	IV
Tablolar	VII
Kısaltmalar	VIII

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. İskemi-Reperfüzyon Hasarı	5
2.1.1. Miyokardiyal İ/R Hasarının Patofizyolojik Mekanizması	6
2.1.2. Akut MI'da İskemi Reperfüzyon	9
2.1.3. Akut MI'da İ/R Hasarına Karşı Terapötik Uygulamalar	9
2.1.4. Kardiyak Cerrahi Süresince İ/R Hasarı	11
2.1.5. Kardiyoplejik Arrest Sonrası İ/R Hasarına Müdahale	12
2.2. Kardiyak Anjiyotensin Reseptör Blokörleri	15
2.2.1. AT-1 Reseptörleri ve Miyokardiyal İ/R Hasarı	16
2.3. RAS ve Miyokardiyal İ/R Hasarı	17
2.4. Kardiyak Renin Anjiyotensin Sistemi	18
2.5. Kandesartan Sileksetil	21
3. GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1. Gereçler	25

3.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları	25
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	25
3.1.3. Kullanılan Deney Araçları	27
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Sıçan İzole Kalp Preparatının Hazırlanması	28
3.2.2. İskemi Reperfüzyon Protokolü	30
3.2.3. Deney Grupları	30
3.2.4. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	33
4.1. 40 dk global iskemi 30 dk reperfüzyon protokolünün kontraktıl fonksiyon üzerindeki etkileri	33
4.2. Kardiyoplejik solüsyonla kardiyak arrestin İ/R ile indüklenen kontraktıl disfonksiyon üzerindeki etkileri	34
4.3. Kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan ilavesinin İ/R ile indüklenen kontraktıl disfonksiyon üzerindeki etkileri	35
4.4. Kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsünün (DMSO) İ/R ile indüklenen kontraktıl disfonksiyon üzerindeki etkileri	36
4.5. Krebs solüsyonu içerisinde kandesartan uygulanmasının İ/R ile indüklenen kontraktıl disfonksiyon üzerindeki etkileri	37
4.6. Koroner akış ve koroner direnç üzerine İ/R protokolünün, kardiyoplejik solüsyon ve kandesartan uygulanmasının etkileri	38
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ	51
7. ÖZET	52

8. SUMMARY	54
9. KAYNAKLAR	56
10. ÖZGEÇMİŞ	94

ŞEKİLLER

Şekil 1: Sabit basınçlı Langendorf düzeneği

29

Şekil 2: İ/R uygulanmış izole kalplerde, kaydedilen SVB'na ait orjinal traseler A. krebs çözeltisi (Kontrol), B. tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), C. kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), D. kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO), E. tek başına kandesartan (KAN)

41

Şekil 3: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen kalp hızının (KH) başlangıç değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9).

42

Şekil 4: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen sol ventrikül gelişen basıncının (SVGB) başlangıç

değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9). **43**

Şekil 5 : 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen hız-basınç ürünü (HBÜ) başlangıç değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9). **44**

Şekil 6 : 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen kasılma hızının (dp/dt_{max}) başlangıç değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9). **45**

Şekil 7 : 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon

sonunda kaydedilen gevşeme hızının (dp/dt_{min}) başlangıç değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9). **46**

TABLÖLAR

Tablo 1: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında ilaç uygulanmamış (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde dengelenme periyodu boyunca kaydedilen SVDSB: sol ventrikül diyastol sonu basıncı, SVGB: sol ventrikül gelişen basıncı, KH: kalp hızı, HBÜ: hız-basınç ürünü, dp/dt_{min} : gevşeme hızı, dp/dt_{max} : kasılma hızı, KA: koroner akış, PB: perfüzyon basıncı, KR: koroner direnç. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=2-9).

39

Tablo 2: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında ilaç uygulanmamış (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen SVDSB: sol ventrikül diyastol sonu basıncı, SVGB: sol ventrikül gelişen basıncı, KH: kalp hızı, HBÜ: hız-basınç ürünü, dp/dt_{min} : gevşeme hızı, dp/dt_{max} : kasılma hızı, KA: koroner akış, PB: perfüzyon basıncı, KR: koroner direnç. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=2-9).

40

KISALTMALAR

PTCA:	Perkütanöz koroner anjiyoplasti
RAS:	Renin anjiyotensin sistemi
Ang II:	Anjiyotensin 2
Ang I:	Anjiyotensin 1
ATP:	Adenozin trifosfat
ROT:	Reaktif oksijen türleri
ACE:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ACEI:	Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
İ/R:	İskemi Reperfüzyon
mPTP :	Mitokondri membranının içe bakan tarafındaki geçiş poru
MI:	Miyokard infarktüsü
EPO:	Eritropoetin
IL-1:	İnterlökin-1 Reseptör
IC:	İntrakoroner
STEMİ:	ST yükselmeli MI
MC-1:	Pridoksal-5-fosfat
NE:	Norepinefrin
H ₃ R:	H ₃ reseptörü
NET:	NE taşıyıcı
LV:	Sol ventrikül
CPK:	Kreatin fosfakinaz
DMSO:	Dimetil sülfoksit

SVGB:	Sol ventrikül gelişen basınç
SVDSB:	Sol ventrikül diyastol sonu basınç
$\pm dp/dt$:	Sol ventrikül kasılma ve gevşeme hızları
SH:	Standart hata
ANOVA:	Tek yönlü varyans analizi
KH:	Kalp hızı
HBÜ:	Hız basınç ürünü
MKUZ:	Maksimum kontraktüre ulaşma zamanı
MK:	Maksimum kontraktür
NO:	Nitrik oksid
KAN:	Kandesartan
KP:	Kardiyoplejik solüsyon

1. GİRİŞ

Trombusun neden olduğu koroner arter oklüzyonu sekonder olarak akut miyokard infarktüsüyle sonuçlanabilen akut koroner sendromun gelişmesine yol açar. Bu sendromun ve olası akut miyokard infarktüsünün standart tedavisi trombusun çözülmesi esasına dayanan trombolitik tedavi ve oklüde koroner arterin dilatasyonunu sağlayan perkütanöz koroner anjiyoplastidir (PTCA). Risk altında kalan iskemik miyokardiyal alanda kan akımının restorasyonu ve reperfüzyonu miyokardiyal hücrelerin ve kardiyak fonksiyonun iskemik hasardan kurtarılabilmesi için ön koşul olmasına rağmen reperfüzyon, iske miyle indüklenen doku hasarına ilave bir hasar oluşmasına yol açar. Reperfüzyon hasarı miyokardiyal infarktüsün tedavisiyle başlar. Böylece trombolitik tedavi başlangıcında ve perkütanöz koroner angioplasti sonrası oluşabildiğı gibi bypass cerrahisi sırasında kalbin kardiyoplejik arrestinden sonraki iyileşme periyodunda da oluşabilir. Reperfüzyon hasarının sonuçları aritmiler, geri dönüşümlü kontraktıl disfonksiyon (miyokardiyal sersemleme (stunning)), yeniden akışın olmaması (no-reflow) fenomenine yol açan endotelyal disfonksiyon ve hücre ölümüdür. Bu nedenle miyokardiyal infarktüsün tedavisi sırasında gelişen reperfüzyon hasarının şiddetinin azaltılması veya sınırlandırılması morbidite ve mortalitenin azaltılması açısından oldukça önemlidir ^{1,2}.

Gerek deneysel gerekse klinik birçok çalışmada farmakolojik ajanlarla reperfüzyon hasarının önlenmesi amaçlanmıştır. Mevcut çalışmaların aynı ya da benzer farmakolojik ajanlar için çelişkili sonuçları da literatürde genişçe yer almaktadır. Çalışmaların tasarımı sonuçların

çeşitliliğine yol açan en önemli etkidir ki ilaç uygulama zamanı, kullanılan hayvanın türü, kolateral akımın derecesi ve uygulanan iskemi süresi sonuçları etkileyen başlıca faktörlerdendir. Serbest radikal süpürücüleri, antioksidanlar, kalsiyum kanal blokörleri, nötrofil inhibitörleri, nitrik oksit, adenozin, renin-anjiyotensin sistemi (RAS) inhibisyonu, endotelin reseptör antagonistleri, Na^+/H^+ antiport inhibitörleri ve anti-apoptotik ajanlar gibi birçok farmakolojik bileşik farklı deneysel miyokardiyal iskemi reperfüzyon modellerinde incelenmiştir. Bütün bu ajanların infarkt alanını azaltarak, miyokardiyal ve endotelial fonksiyonu düzelterek veya aritmi insidansını azaltarak reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkili oldukları gösterilmiştir. Protektif etkinin mekanizması farklı ilaç gruplarında farklı olmakla birlikte, birçoğu kardiyoprotektif etkide ortak sinyal yollarını da kullanabilmektedir ¹.

Kardiyak RAS, koroner akım ve kardiyak fonksiyonun sürdürülmesinde normal kalpte ve patolojik koşullarda önemli rol oynar ⁴. Gerek dolaşımdaki gerekse kardiyak RAS hipertansiyon, kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklarda ve miyokard infarktüsü sonrasında yeniden yapılanma (remodelling) sırasında aktive olur ⁵. RAS sisteminin anahtar komponenti olan anjiyotensin II (Ang II), NADPH oksidaz aktivasyonu aracılığıyla reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna yol açar. ROT düzeylerindeki artış, nüklear transkripsiyon faktörleri, adhezyon molekülleri, kemoatraktan sitokinler ve proinflamatuvar sitokinler gibi mediyatörlerin aktivasyonu veya up-regülasyonu aracılığıyla inflamatuvar cevabı indükleyerek kardiyak ve vasküler hasarın patogeneze katılır. Bu olaylar, progresif yapısal kardiyak remodellingi başlatır ⁵. Koroner ligasyondan sonra gelişen infarkt alanında renin, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) ve AT-1 reseptör ekspresyonuyla birlikte NADPH oksidaz altünitelerinden gp91phox ekspresyonunun arttığının ve bu artışın AT-1

reseptör blokörü losartanla önlendiğinin gösterilmesi de iskemi reperfüzyona bağlı miyokardiyal hasarda AII ile indüklenen oksidatif stres artışının rolü olduğunu göstermektedir ^{3,6}. Bununla birlikte, RAS aktivasyonunun eşlik ettiğii kardiyak bozuklukların AT-1 reseptör blokörleri ^{7,8}, serbest radikal süpürücüleri ^{9,10} ve NADPH oksidaz inhibitörleriyle azaldığının birçok çalışmada bulgulanması da RAS aktivasyonunun kardiyak patolojik etkilerine primer olarak NADPH oksidaz aracılı ROT artışının ^{11,12,13} veya Ang II ile indüklenen Ca^{2+} artışı aracılı iNOS aktivasyonunun rolü olabileceğii saptanmıştır ¹⁴. Serbest radikal mekanizmasının yanı sıra literatürde iskemi reperfüzyon hasarında ADE inhibitörlerinin ve Ang II reseptör blokerlerinin koruyucu etkisinde bradikininin rol oynadığının destekleyen çalışmaları da bulunmaktadır. Bu çalışmalarda ADE inhibitörlerinin (ADEI) bradikinin akümülyasyonuna neden olarak, Ang II reseptör blokerlerinin ise AT-2 reseptör aktivasyonuyla bradikinin saliverilmesine yol açarak koruyucu etki gösterdikleri ortaya konmuştur ^{15,16,17,18}.

Kardiyak cerrahi sonrasında ortaya çıkan İ/R hasarının önlenmesinde en önemli adım cerrahi sırasında uygulanan global iskemiden önce ve iskemi sırasında kalbin kardiyoplejik arreste maruz bırakılmasıdır. Kardiyoplejik solüsyonla sağlanan kardiyoprotektif etkinin artırılmasında da birçok ajan bu solüsyon içerisinde uygulanarak denenmekle birlikte yukarıda bahsedilen bilgiler ışığında çalışmaların bir kısmı RAS'ı etkileyen ilaçlar üzerinde yoğunlaşmıştır.

ADEI kaptoprilin kardiyoplejik solüsyonla birlikte uygulandığı izole sıçan kalbinde yapılan bir çalışmada, iskemi döneminde kardiyoplejik solüsyon içerisinde ve reperfüzyon boyunca kaptopril uygulanmasının

hemodinamik performansı artırdığı, koroner akışı ve miyokardiyal oksijen tüketimini artırdığı ve miyokardiyal hasarı anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir¹⁹. Bir diğer ADEI madde olan zofenoprille yapılan çalışmada ise global iskemi reperfüzyon periyodundan önce sıçanlara bir hafta boyunca oral zofenopril uygulanmasının kardiyoplejik solüsyon içerisinde ilacın uygulanmasına göre daha iyi kardiyoprotektif etki sağladığı saptanmıştır²⁰.

Anjiyotensin reseptör blokörü (ARB) losartanla yapılan bir çalışmada iskemi sırasında kardiyoplejik solüsyon içerisinde losartan uygulanmasının kalbin kontraktıl performansını artırdığı ve miyokardiyal doku hasarını azalttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada reperfüzyon döneminde ilave losartan uygulanmasının kardiyoprotektif etkiyi daha fazla artırdığı gözlenmiştir²¹. Bir diğer ARB valsartanın neonatal sıçan miyositlerine kardiyoplejik solüsyon içerisinde uygulanmasının iskemiyle indüklenen inflamatuvar cevabı azalttığı belirlenmiştir²².

AT-1 reseptör afinitesinin mevcut diğer AT-1 reseptör blokörlerine göre daha yüksek olduğu bilinen kandesartanın ise diğer iskemi reperfüzyon modellerinde koruyucu etkisi gösterilmiş olmasına rağmen, kardiyoplejik arrest modelinde denendiği gerek klinik gerekse hayvan çalışması bulunmamaktadır.

Bütün bu bilgiler doğrultusunda, bu çalışmada anjiyotensin reseptör blokörü kandesartanın izole sıçan kalbinde uygulanan kardiyoplejik arrest modelinde, iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Literatürde, kandesartanın kardiyoplejik

solüsyon içerisinde uygulandığı herhangi bir hayvan çalışması veya klinik çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma sonrasında elde edilecek bulguların, ilacın kardiyopulmoner bypass ya da PTCA sırasında uygulanmasının kardiyoplejik arrestin kardiyoprotektif etkisini potansiyelize edip etmediğini ortaya koyarak, yeni klinik çalışmaların tasarlanmasına olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İskemi - Reperfüzyon Hasarı

Miyokardiyal reperfüzyon hasarı, uzun süreli iskemiye takip eden reperfüzyon sırasında meydana gelen hasarı ifade etmektedir^{23,24}. Reperfüzyon hasarının patofizyolojisinin anlaşılmasındaki zorluk, iskemik fazda meydana gelen hasarla reperfüzyon fazında oluşan hasarın tam ayrımının yapılmasının güç olmasıdır.

Deneyisel çalışmalar 4 tip reperfüzyon hasarının olduğunu göstermiştir²⁵.

- a) Ölümcül reperfüzyon hasarı:** Reperfüzyondan hemen önce canlı olan kardiyak miyositlerin, koroner kan akımı yeniden sağlandığında reperfüzyona bağlı olarak ölmesi,

b) Vasküler reperfüzyon hasarı: Yeniden akışın olmaması 'No-reflow' fenomeni ve koroner vazodilatör rezervin azalması ile sonuçlanan ilerleyici mikrovasküler hasar,

c) Miyokardiyal sersemleme (Miyokardiyal stunning): Anormal intraselüler metabolizmanın neden olduğu azalmış enerji üretimine bağlı olarak, reperfüzyon sırasında meydana gelen geri dönüşümlü mekanik disfonksiyon,

d) Reperfüzyon aritmileri: Reperfüzyonu takip eden saniyelerde ventriküler taşikardi veya fibrilasyon gelişmesidir.

2.1.1. Miyokardiyal İ/R Hasarının Patofizyolojik Mekanizması

İskemi; doku asidozu ile sonuçlanan, intraselüler sodyum, hidrojen ve kalsiyum iyonlarının birikmesine neden olur ^{26,27}. İskemi süresince meydana gelen anaerobik solunumun sonucu olarak hücre içinde H^+ birikir ²⁸. Reperfüzyon sırasında ise, iyon akışında hızlı bir değişim meydana gelir ve pH'nın normale dönüşü sırasında sitotoksisite oluşur ^{26,27}. Na^+-H^+ ve $Na^+-HCO_3^-$ transportunu içeren sodyum bağımlı pH düzenleme mekanizmaları aktive olur ki, bu olay hücre içi Na^+ birikimine yol açar. Yüksek Na^+ konsantrasyonu, Na^+-Ca^{2+} değişimi ile intraselüler Ca^{2+} konsantrasyonunu artırır ²⁹. Sarkolemmal L-tipi Ca^{2+} kanalları ^{30,31} ile sitoplazmaya Ca^{2+} geçişinin artması ve SERCA Ca^{2+} -ATPaz kanalının yetersiz çalışması sonucu Ca^{2+} aşırı yüklenmesi (overload) meydana gelir ^{32,33}. Hücre içinde Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun artışı hücre için

sitotoksiktir ³⁴. Hücre içi kalsiyum artışı mitokondriyal kalsiyumun da aşırı yüklenmesine neden olur ve ATP üretimi azalır. Bununla birlikte, hücre içi Ca^{2+} ATPaz'ların aktivasyonu, ATP kullanımını artırır ve sarkolemmal fosfolipidleri aktive eder. Deterjan özelliğindeki fosfolipid ürünleri ortaya çıkarak hücre membranının bütünlüğünü bozarlar ³⁵. Sonuçta miyofibriler hiperkontraksiyon, ATP azalması, mitokondri yapısında hasar ve miyokardiyal sersemleme meydana gelir ³⁶⁻³⁸.

Kardiyak miyositler yüksek miktarda enerji tüketirler. Bu ihtiyacı karşılamak için çok sayıda mitokondri içerirler. Enerji üreten bu organellerde İ/R hasarı ile yakından ilişkili reaktif ara ürünler ve apoptoza neden olan yapılar yer alır. Bunun bir parçası mitokondriyal geçiş porudur (mPTP). Mitokondriyal membran normalde iyon ve proteinlere geçirgen değildir. Bu porun veya kanalın açılması elektrokimyasal gradientin kaybına, serbest oksijen radikallerinin ve apoptoza neden olan yapıların hücre içine salıverilmesine neden olur. mPTP'nin açılması, Ca^{2+} aşırı yüklenmesine ³⁹, pH'nın hızlı bir şekilde normale dönmesine ⁴⁰ ve oksidatif strese yol açar ⁴⁰⁻⁴².

İ/R boyunca oksijenin tamamlanmamış redüksiyonu sonucu serbest radikal üretim mekanizmasının tetiklendiği bilinmektedir. Serbest oksijen radikalleri yüksek reaktif özelliktedir ve aşırı miktarda üretilmeleri hücrenin endojen serbest radikal süpürücü sistemini hızlı bir şekilde baskılanmasına yol açar. Bu radikaller lipid, protein ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek hücre hasarı tetikler. Ksantin oksidaz enzimi, reperfüze kalpte serbest radikal üretimine önemli ölçüde katkı sağlar ve substratları olan ksantin ve hipoksantin iskemi boyunca birikir ^{43,44}. Ayrıca serbest radikallerin nükleer ve sitozolik elementlerde meydana getirdiği

hasar sonucu mPTP kanalının açılışı tetiklenir ⁴⁵. Bu olay pozitif feedback mekanizması ile mitokondriden daha fazla ROT saliverilmesi ile sonuçlanır (ROT bağımlı ROT saliverilmesi) ⁴⁶.

İ/R hasarı, sadece kardiyomiyositlerde gelişen olaylara bağlı değildir, endotel de aktif olarak bu olaya katkı sağlar. Endotel NO'nun başlıca kaynağıdır. Normal şartlarda NO üretimi vazodilatasyona neden olur ki bu olay oksijen tüketimi⁴⁷, platelet agregasyonu⁴⁸, lökosit adhezyonu⁴⁹ ve serbest radikal temizlenmesi⁵⁰ gibi olaylar üzerinde etki ederek İ/R boyunca koruyucu etkinlik sağlar. Paradoksal olarak NO yüksek konsantrasyonda peroksinitrit gibi reaktif ürünlerin oluşumuna katkı sağlayarak ROT bağımlı toksisiteye neden olabilir ^{50,51}. Koroner endotel, vazoaaktif maddelerin kaynağı olarak çalışır ve sitokin, kemokin ve adhezyon molekülleri vasıtasıyla immün sistemin aktivasyonuna katkıda bulunarak inflamatuvar cevaba aracılık eder. Son yıllardaki çalışmalar İ/R patolojisinde otofajinin de rolü olduğunu öne sürmektedir ^{52,53}. Bu mekanizmanın kalp hastalıkları üzerinde yararı olup olmadığı tartışmalıdır.

Endotel aktivasyonu ve hasarı, vasküler permeabiliteyi artırır. Hasar görmüş endotelden saliverilen hücresel adhezyon molekülleri (ICAM-1, UCAM-1, E-selektin) inflamatuvar hücrelerin dokuya invazyonuna aracılık eder. Nötrofilleri de içeren bu infiltrate hücreler, proteaz salgılanması, ROT üretimi ve mikrodamarların tıkanmasına yol açarak miyokard üzerinde direkt olarak toksik etki gösterir ^{54,55}.

2.1.2. Akut MI'da İskemi Reperfüzyon

Reperfüzyon hasarı, ilk olarak köpeklerde, koroner ligasyonla oluşturulan miyokardiyal iskemi modelinde tanımlanmıştır ⁵⁶. Akut MI'nın en korkulan komplikasyonlarından biri olarak görülen reperfüzyon hasarının, vakaların %30'dan fazlasında görüldüğü ve kötü prognozla ilişkili olduğu belirtilmiştir ⁵⁷⁻⁶⁰. Genel olarak, reperfüzyon hasarı, epikardiyal büyüme ve anterograd kan akımının normale dönmesiyle ilişkili infarksiyon sürecinin bir bileşeni olmasına rağmen, kateterizasyon sırasında, İ/R hasarı sık sık yeniden akışın olmaması (no-reflow) fenomeni olarak kendini gösterir. No-reflow'un vazoaktif birikintiler tarafından tıkanmış mikrodamarlar ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir ve bu fenomen akut MI'da İ/R hasarının anjiyografik bir görüntüsüdür ⁶¹.

2.1.3. Akut MI'da İ/R Hasarına Karşı Terapötik Uygulamalar

Deneyisel İ/R modellerinde koruyucu etkisi olduğu gösterilen umut verici birçok kardioprotektif ajanın hastalar üzerinde uygulanmasıyla elde edilen klinik sonuçlar büyük hayal kırıklığıyla sonuçlanmıştır. Buna rağmen, gerek deneysel olarak gerekse klinikte İ/R'nin patofizyolojisinde rol oynayan mekanizmalar ve bu mekanizmaları hedefleyen ajanlarla yapılan araştırmalar devam etmektedir. Klinik çalışmalarda kullanılan ajanlar aşağıda kısaca özetlenmiştir.

Eritropoetin (EPO), miyokardda EPO reseptörlerinin varlığı keşfedildiğinden beri akut MI'nın klinik çalışmalarında kullanılmaktadır ^{62,63}.

Halen klinikte kullanılan diğer terapötik stratejiler ise; interlekin-1 (IL-1) reseptör antagonisti anakinra⁶⁴ ve glukagon benzeri peptid-1 analoglarıdır⁶⁵.

Sistemik yolla uygulanan birçok farmakolojik müdahaleye rağmen, primer perkütanoz koroner revaskülarizasyon, ilacın direkt olarak koroner endotele ve miyokarda uygulanmasını mümkün kılar. Bu yolla uygulanan ve yaygın olarak bu tip çalışmalarda yer alan vazodilatör etkili adenozinin, mPTP reseptörlerinin açılmasını inhibe ederek hem ön hem de art-koşullamaya neden olduğu gösterilmiştir⁶⁶⁻⁶⁹. AMISTAD-II çalışmasında, sistemik adenozin infüzyonunun mortaliteyi azaltmamasına rağmen, infarkt alanı üzerine olumlu etkileri saptanmıştır.⁷⁰ Daha küçük çaplı başka bir çalışmada, adenozinin intrakoroner (IC) uygulamasının rolü incelenmiş ve akut MI'da meydana gelen elektrokardiyografik ve anjiyografik değişiklikleri olumlu yönde düzelttiği gösterilmiştir^{71,72}. Bu çalışmadaki yöntem benzer olarak, NO donörü olan nitroprussidin IC olarak uygulandığı çalışmalarda da bu ajanın no-reflow fenomeninin tedavisinde yararlı olabileceği⁷³⁻⁷⁵ ve IC adenozinle kombine uygulandığında ise etkinin kısmen potansiyelize olabileceği gösterilmiştir⁷⁶.

İskemik art-koşullama klinikte, akut MI geçirmekte olan hastalarda, miyokardiyumun tekrarlayan iyatrojenik İ/R nöbetlerine maruz kaldığı süreç olarak tanımlanır ve art-koşullama prosedürü, kısa süreli intrakoroner balon şişirilmesiyle uygulanır. Hayvan modellerinden elde edilen bilgiler bu strateji ile infarkt alanının azaldığını göstermektedir⁷⁷⁻⁷⁹. İnsanlardan elde edilen ilk veriler de umut vericidir⁸⁰⁻⁸². Yarar mekanizması tam olarak belirgin değildir, fakat miyokardiyumda kademeli

bir şekilde pH deęiřimi, ROT azalması ve Ca^{2+} baęımlı mPTP kanallarının kapanmasının rol oynadıęı dūřūnūlmektedir ^{78,83-85}.

İ/R hasarında, mPTP'nin rolū gitgide artan bir öneme sahiptir. mPTP açılımının uzun sürmesi mitokondri dış membranının yırtılmasıyla sonuçlanır ve mitokondriden apoptotik proteinlerin salıverilmesine yol açar. Bunun sonucunda hücre programlı ölüme (apoptozis) gider, bu evrede enerji üretimi yeterli düzeydedir. mPTP açılımı daha da yaygınlaşır ve uzarsa, mitokondri önemli derecede hasar görür, ATP üretimi azalır ve hücre ölümü nekroz aracılığıyla olur ^{86,87,88}. Non-spesifik mPTP inhibitörü siklosporin A'nın (i.v.), ST yükselmeli MI (STEMİ) sırasındaki etkisinin incelendiği çalışmaların sonuçları da oldukça umut vericidir ⁸⁹⁻⁹².

2.1.4. Kardiyak Cerrahi Süresince İ/R Hasarı

Kardiyak cerrahi sonucu ortaya çıkan İ/R, spontan MI'ya bağlı olan İ/R'den farklıdır. Kardiyak cerrahide iskemi, aortik kros klemp konularak oluşturulur. Miyokard koruma stratejileri bu noktada önemli rol oynar. Kardiyopleji; hiperkalemik ve hipotermik kardiyak arrest sağlar ve glikoz içerikli kardiyoplejik solūsyon (genellikle kanla karıştırılarak) aralıklı olarak anterograd olarak aort köküne ve/veya retrograd olarak koroner sinüsten verilebilir. Bu uygulamalar, miyokardiyal metabolik aktiviteyi ve oksijen ihtiyacını azaltarak miyokardiyal hassasiyeti azaltır.

Cerrahi tamamlandığında kros klemp kaldırılır, kalp birden bire yüksek oranda antikoagulan içeriği olan, kardiyopulmoner bypass

cihazının immünolojik etkilerine maruz kalmış ve yüksek oranda parsiyel oksijen miktarı olan kan ile reperfüze olur. Sonuç olarak, kardiyak cerrahi sonrası miyokard, aşırı iskemi ve reperfüzyona maruz kalır. Kardiyak cerrahiye maruz kalan kalpler oldukça heterojen gruplardır. Aortik arkus cerrahisi geçiren hastalar, genellikle normal kalp fonksiyonuna sahiptir. Ancak diğer hastalar, kronik iskemik ve kontraktil disfonksiyonu olan hastalar olabilir ⁶¹.

Klinik olarak ameliyat sonrası İ/R hasarı; aritmi, miyokardiyal sersemleme, düşük kalp debisi veya ameliyat sonrası MI ile kendini gösterebilir. Koroner bypass cerrahisi sonrası kaybedilen hastaların ancak %25-45'ine otopsi yapıp histolojik kesitler elde edilebilmiştir ⁹⁰⁻⁹². Bununla birlikte, miyokard hasarına ba lı biyokimyasal bazı veriler (yükselmiş CK-MB ve/veya troponin düzeyi) kalp cerrahisi sonrası advers etkilerin bir göstergesidir ^{93,94}.

2.1.5. Kardiyoplejik Arrest Sonrası İ/R Hasarına Müdahale

Kardiyak cerrahide kalp korunmasında en önemli bileşen kardiyoplejik solüsyondur. Bu solüsyon potasyum, mannitol ve glukoz içerir. Arrest edilmiş ve soğutulmuş kalpte metabolik ihtiyaçlar minimize edilmiş olur. Yıllar içinde gelişen tecrübeyle birlikte, kardiyoplejik solüsyonların içeriklerinde ufak değişiklikler meydana gelmiştir. Tüm bunlara rağmen kardiyopleji sonrası İ/R hala gözlemlenmektedir ⁶¹.

Pirüvat⁹⁵ ve glutamat/aspartatın^{96,97} metabolik katkılarının incelendiği çalışmalarda, tüm bu metabolik bileşenlerin arrest edilmiş miyokardiyumda enerji kaynaklarının, yağ asidi oksidasyonundan kaçınarak kullanılmasını sağladığı öne sürülmüştür. Ancak bu ajanlar tam olarak klinik kullanıma girememiştir.

İskemik önkoşullama konsepti, kardiyak cerrahi boyunca uygulanmaktadır. Kardiyopulmoner bypassı takiben ya da öncesinde, aortaya birkaç dakikalığına kros klemp konur, sonra birkaç dakikalığına akım sağlanır ve tekrar kardiyopleji sağlamak amacıyla kros klemp konur. Walsh SR ve arkadaşlarının derlemesi, bu yöntemin post operatif ventriküler aritmi, inotrop ihtiyacı ve yoğun bakım kalış süresinin kısalması gibi yararlı etkilerini destekleyen bazı küçük çalışmaları içermektedir ⁹⁸.

I/R hasarında immün sistem aktivasyonu, cerrahinin kendisi ve bypass cihazının ekipmanlarına maruz kalması ile ilişkilendirilmiştir. Bazı araştırmacılar dikkatlerini immün cevap üzerine yoğunlaştırmıştır. Lökosit filtresi kullanımı, steroidler ⁹⁹⁻¹⁰¹, spesifik uçucu anestezi ^{102,104} ajanların kullanımı birtakım çalışmalarda test edilmiş ancak yararlı sonuçlara ulaşamamıştır. PRIMO-CABG çalışmasında¹⁰⁵ anti-C5a antikoru ve pexelizumabın MI ve ölüm oranını azalttığı gösterilmiş olmasına rağmen, bu çalışmanın devamı olan PRIMO-CABGII çalışmasında¹⁰⁶ bu sonuçlar doğrulanamamıştır. Bunun yanı sıra, bir antifibrinolitik protein olan aprotinin, miyokardiyal I/R üzerindeki olumlu etkileri insan ve hayvan çalışmalarında belgelenmiş ancak kullanımı sonucu ortaya çıkan zararlı etkileri nedeniyle bu ilaç piyasadan çekilmiştir ¹⁰⁷⁻¹⁰⁹.

Doğal olarak oluşan piridoksin metaboliti ve pürinerjik reseptör antagonisti, piridoksal-5-fosfat (MC-1) iki büyük klinik CABG çalışmasında kullanılmıştır. Bir faz 2 çalışması olan MEND-CABG1 çalışmasında operasyon sonrasında daha düşük infarkt alanını gözlenmiş¹¹¹ ancak bir faz 3 çalışması olan MEND-CABG2 çalışmasında ise infarkt alanı karşılaştırmasında bir fark bulunamadığı gibi MC-1 ile erken mortalite oranında çok hafif bir artış da saptanmıştır¹¹².

Ca²⁺ yüklenmesini önlemedeki bir diğer strateji ise sodyum-hidrojen değişimini antagonize etmektir. Kariporid, bu transportun etkin bir antagonistidir¹¹³. 11590 hastada yapılan GUARDIAN denemesinde, kariporid uygulanmasının koroner arter bypass graft cerrahisi geçiren hastalarda sekonder olarak miyokard infarktüsü geçirme riskini ve mortalite oranını azalttığı gösterilmiştir. Benzer olarak EXPEDITION denemesinde de, kariporid uygulanmasının miyokard infarktüsü insidansını azalttığı saptanmıştır¹¹⁴.

Cerrahiye bağlı İ/R'da belki de en ayrıntılı çalışılmış ilaç akadesindir. Akadesin bir pürin analogudur ve enerjiden yoksun dokuda adenosin düzeyini artırır^{115,116}. mPTP kanalının açılımını düzenleyerek, İ/R süresince adenosin reseptör stimülasyonu yoluyla etkili bir kardiyak koruma sağladığı gösterilmiştir^{69,117}. Akadesin, kardiyoplejik solüsyon içerisine eklenerek birkaç küçük çalışmada¹¹⁸⁻¹²⁰ ve yaklaşık 2700 hasta içeren bir faz 3 çalışması olan Akadesin 1024 çalışmasında araştırılmıştır¹²¹. Bu çalışmaların meta analizi sonucunda akadesinin MI'da %27 azalma sağladığı ve inme/MI ve kardiyak ölüm riskinde ise %26 azalma sağladığı gösterilmiştir¹²².

2.2. Kardiyak Anjiyotensin Reseptör Blokörleri

Kardiyak renin-anjiyotensin sistemi (RAS), koroner akışın, kardiyak fonksiyonların, normal ve patolojik durumlardaki yapının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar⁴. Ang II, RAS'ın primer mediyatörüdür ve kardiyovasküler homeostazda önemli rolü vardır ¹²³.

Ang II, fizyolojik etkileri nedeniyle İ/R hasarını kötüleştirebilir ¹²⁴. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, Ang I'den Ang II oluşumunu azaltarak, hipertansiyonlu, kalp yetmezliği olan ve MI geçirmiş hastalarda kullanılmaktadır ¹²⁵. ADE inhibitörleri seçici olmayan Ang II inhibitörüdür ve sadece Ang II'yi azaltmakla kalmaz, miyokard koruma kapasitesi olan ¹²⁶ bradikininin yıkımını da inhibe eder ¹²⁷. Ang II'nin tip 1 (AT-1) ve tip 2 (AT-2) olmak üzere iki farklı alttipi tanımlanmıştır ¹²⁸. Kalpte hem AT-1 hem AT-2 reseptörlerinin olduğu ve İ/R hasarını hafiflettiği ifade edilmiştir ^{129,130}. Ang II'nin kardiyovasküler etkisinin AT-1 reseptörünün aktivasyonu ile bağlantılı olduğu bilinmekle birlikte, AT-2 reseptörlerinin fonksiyonu belirsizdir ¹²⁸. Losartan, irbesartan ve kandesartan gibi çeşitli spesifik AT-1 reseptör antagonistleri geliştirilmiştir¹³¹.

Losartan, geliştirilmiş ilk aktif oral AT-1 reseptör antagonistidir ve bu sınıf bileşiklerin yoğun bir biçimde araştırılmasına öncü olmuştur. Losartan ve aktif metaboliti, domuzlar üzerinde yapılan çalışmalarda infarkt alanını azaltmış¹³² fakat tavşan¹³³ ve köpekler¹³⁴ üzerinde yapılan çalışmalarda infarkt alanını azaltıcı yönde bir etkisinin olmadığı rapor edilmiştir. Ayrıca izole sıçan kalbi üzerinde, İ/R hasarını iyileştirici etkisinin yanında¹³⁵ etkisiz olduğu da¹³⁶ rapor edilmiştir. Bu

Çelişkili sonuçlar nedeniyle madde çabucak kullanılabilir hale gelememiştir. Losartana kıyasla, daha yeni bir AT-1 reseptör antagonisti olan kandesartan, AT-1 reseptörlerine yüksek afinite gösterir ve reseptörden ayrılması yavaş olduğundan daha uzun süreli bir blokaja neden olur ¹³⁷. Kandesartanın domuzlarda¹³⁸ ve sıanlarda¹³⁹ miyokardiyal İ/R hasarını azaltarak yarar gösterdiği kanıtlanmıştır.

2.2.1. AT-1 Reseptörleri ve Miyokardiyal İ/R Hasarı

Ang II ve AT-1 reseptör aktivasyonunun miyokardiyal iskemi prosesinin patofizyolojik sürecine katkıda bulunduğu düşünülmektedir ¹⁴⁰⁻¹⁵⁷. Miyokardiyal İ/R sonrası AT-1 reseptörlerinin ortaya çıkışını ve miyokardiyal İ/R'nin patofizyolojisinde bu reseptörlerin rol oynadığını göstermek amacıyla birtakım çalışmalar yapılmıştır ¹⁵⁸.

Sun ve Weber¹⁵⁹ AT-1 reseptör ekspresyonunun, MI sonrasındaki 3. gün ile 1, 2, 4 ve 8. haftalarda belirgin olarak infarkt bölgesinde arttığını ifade etmişlerdir. Bazı araştırmacılar ¹⁶⁰, sıçanlarda, in vivo Ang II infüzyonundan sonra Ang II reseptörlerinin kalp ve böbrekte belirgin bir şekilde azaldığını göstermişlerdir. Bu durum, kalp ve böbrekteki Ang II reseptörler miktarı ile dolaşımdaki Ang II düzeyinin ters ilişkili olduğunun göstergesidir ki bu olay, reseptörü down regülasyonu olgusuyla açıklanmaktadır ¹⁵⁸.

2.3. RAS ve Miyokardiyal İ/R Hasarı

RAS, iskemik koroner olaylarda önemli bir rol oynar ¹⁴⁰⁻¹⁴⁵. Yüksek ADE plazma düzeyi ile birlikte ADE geninde polimorfizmin MI ve ani ölüm riskini artırdığı bilinmektedir ¹⁴⁰⁻¹⁴³. Diet ve arkadaşları, insan aterosklerotik koroner arter dokusunda ADE birikiminin arttığını göstermiştir ve atherosklerotik plaklarda ADE birikiminin, lokal olarak Ang II üretimini artırabileceği sonucuna varılabileceğini ifade etmiştir ¹⁴⁶. Plazma renin aktivitesinin, serum kolesterol düzeyine bakılmaksızın, hipertansiyonlu hastalarda akut MI'nın göstergesi veya habercisi olabileceği saptanmıştır ¹⁴⁷. Ang II, çeşitli yollarla iskemik koroner olayların gelişimine katkı sağlar. İlk olarak, damar düz kas hücrelerini Ca^{2+} kanallarını aktive ederek büzdüğü ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ ve ikinci olarak insanlarda ve kültür hücrelerinde plazminojen aktivatör inhibitör 1'in sentezini stimüle ettiği gözlenmiştir ¹⁵⁰. Ang II'nin bu etkileri, homeostatik aktiviteyi etkileyerek iskemik olayların şiddetini artırabilir. Hem ADE inhibitörlerinin hem de Ang II reseptör antagonistlerinin deneysel hayvan modellerinde İ/R hasarından miyokardı koruduğu gösterilmiştir ^{161,152-154}. Perondi ve arkadaşları, ADE inhibitörlerinin, koroner arter hastalığı olan hastalarda, sempatik koroner vazokonstriksiyonu azalttığını rapor etmiştir. Klinik çalışmalar, ADE inhibitörlerinin, MI'nın nüksünü ve MI sonrası sol ventrikül disfonksiyonunun kalp yetmezliğine dönüşümünü engellediğini doğrulamaktadır ^{156,157}. Tüm bu gözlemler, MI hasarının tayininde RAS'ın ilişkisini güçlü bir şekilde belirtmektedir ¹⁶².

2.4. Kardiyak Renin Anjiyotensin Sistemi

Bilindiği gibi renin, böbrek jukstaglomerüler hücrelerinden salıverilir, karaciğer türevi anjiyotensinojeni inaktif dekaeptid olan Ang I formuna dönüştürür. Ang I, vasküler endotelin lümenal bölgesinde lokalize olan anjiyotensin dönüştürücü enzim ile biyolojik olarak aktif ürün olan Ang II'ye dönüştürülür. Sirkülasyona giren Ang II kan basıncını, plazma hacmini, sempatik sinir aktivitesini ve susama cevabını düzenler^{163,164}.

Lokal RAS kavramı hakkında da dolaşımdaki RAS^{163,164} kavramı kadar bilgi sahibi olunmuştur¹⁶⁵⁻¹⁶⁸. Bütün RAS bileşenlerine kardiyak hücrelerde de rastlanmıştır^{165,169-172}. Dolaşımdaki Ang I'den sentezlenen Ang II'den ziyade, kalpte Ang II'nin lokal olarak daha çok üretildiği bulunmuştur¹⁷³⁻¹⁷⁵. Kardiyak interstisyel sıvıda anjiyotensinojen, Ang I, ADE ve Ang II'ye rastlanmıştır^{176,177}. Lokal Ang II kardiyak fonksiyonların kontrolünde önemli rol oynar¹⁷⁸, hipertrofi ve infarktüs¹⁷⁹⁻¹⁸⁰ gibi kardiyak patofizyolojik durumlarda ve aterosklerozdan aortik anevrizmaya geçişte¹⁸¹ aşırı plazma düzeyine çıkabilir¹⁷⁸.

Mast hücrelerindeki aspartil proteaz enziminin reninin önemli bir kaynağı olduğu rapor edilmiştir¹⁸². İ/R de açığa çıkan renin, lokal RAS'ın aktivasyonunu başlatır. Ang II'nin lokal formu norepinefrinin (NE) sempatik sinirlerden salıverilmesini şiddetlendirir ve reperfüzyon aritmileri ortaya çıkar¹⁸³. Mast hücrelerinin renin deposu tükendiğinde veya farmakolojik olarak dengelendiğinde, renin ve NE salıverilmesi ve reperfüzyon aritmileri belirgin derecede azalır¹⁸³. Böylelikle, mast

hücrelerinden salıverilen renin, iskemik kardiyak disfonksiyon tedavisinde yeni bir hedef olmuştur ¹⁸⁴.

Kardiyak miyositlerin aralarında reninin de bulunduğu birçok RAS bileşenini içerdiği bilinmektedir ^{185,186}. Renin mRNA'sı, koroner damarların düz kas hücresi ve endotelinde bulunmasının yanı sıra kalp fibroblastlarında da bulunmuştur ¹⁸⁵. Böylece kardiyak mast hücreleri yanı sıra, miyositlerin ve kalpteki diğer hücrelerin de İ/R de renin üretimine ve RAS aktivasyonuna katkı sağladıkları düşünülebilir. Mast hücrelerinden yoksun fare izole kalplerinde ve mast hücre stabilize edici ajanla perfüze edilmiş kobay kalplerinde reperfüzyon aritmilerinin sıklığı azalmış fakat tam olarak ortadan kalkmamıştır ¹⁸³. Bu durum kalpteki diğer hücrelerin de İ/R de renin salıverdiklerini akla getirmektedir ¹⁸⁴.

Lokal Ang II üretimi iskemik miyokardda artar ¹⁸⁷. Bazı araştırmacılar böbreğin majör kardiyak renin kaynağı olduğunu savunurlar çünkü dolaşıma katılan renin, koroner kapillerden kardiyak dokuya geçebilme yeteneğine sahiptir ¹⁸⁸. Bazı araştırmacıların, bilateral nefrektomiden 2 gün sonra kardiyak reninin kaybolduğunu belirtmelerine karşın ^{189,190} bazı araştırmacılar bilateral nefrektomiden 5 gün sonra plazmada Ang II saptamışlardır ¹⁹¹.

Miyokardiyal iskemi boyunca kardiyak sempatik sinirden patolojik miktarda NE salıverilmesi, aritmi ve ani kardiyak ölüm ile sonuçlanabilir ¹⁹²⁻¹⁹⁵.

Mast hücre yoğunluğu kalp yetmezliğinde artar. İdiyopatik ve iskemik kardiyomiyopatik hastalarda önemli sayıda mast hücresine rastlanmıştır ¹⁹⁶⁻¹⁹⁸. Sempatik sinirleri hedef alarak NE salıverilmesini modüle eden iki tane mast hücre bağımlı efektör vardır. Birincisi; mast hücresinden renin salıverilmesinin başlamasıyla pozitif modülatör görevi gören lokal Ang II'dir ¹⁹⁹⁻²⁰³. Diğeri; mast hücrelerinden direkt olarak salıverilen ve negatif modülatör görevi gören histamindir ^{194,204}. Renin, lokal RAS sistemini aktive eder ve Ang II oluşur ²⁰⁰⁻²⁰². Ang II AT-1 reseptörlerine bağlanırken ¹⁹⁹ histamin de H₃ reseptörlerini (H₃R) aktive eder ^{205,206}. AT-1 ve H₃R, NE salıverilmesinde ters etkilere sahiptir, renin ve histamin salıverilmesindeki dengesizlik miyokardiyal iskemideki aritmik disfonksiyonu belirleyebilir ²⁰⁷.

İskeminin derecesine bağlı olarak, NE ekzositozla (veziküler salıverilme) ve/veya geri dönüşümlü NE taşıyıcı (NET) (veziküler olmayan veya taşıyıcı aracılı salıverilme) yoluyla dışa doğru salıverilir ^{194,205,209,210}. İskemi süresince intranöronal metabolik asidoz oluşumu ve ATP tüketimi artar. Sonuç olarak Na⁺/H⁺ pompası aktive olur, ATP bağımlı Na⁺/K⁺ ATPaz pompasının aktivitesi azalır ve sempatik sinirlerde Na⁺ birikir. ATP azalması veziküler H⁺ATPaz pompasının bozukluğuna neden olur ve bu olay NE'nin depolanmasını bozar ve böylece serbest sitozolik NE artar. Yüksek intranöronal Na⁺ ve yüksek sitozolik NE kombinasyonu, NE taşıyıcısının modunu geri dönüşümlü olarak, alımdan salıverilmeye dönüştürür. Sonuç olarak, patolojik miktarda, veziküler olmayan, taşıyıcı aracılı NE salıverilmesi meydana gelir ^{194,211,212}.

Sempatik sinirden ekzositozla ve taşıyıcı aracılığıyla NE salıverilmesi AT-1 aktivasyonu ile artırılırken H₃R aktivasyonu ile azaltılır

^{194,199,213}. Miyokardiyal iskemide reperfüzyon aritmileri direkt olarak NE saliverilmesinin şiddetiyle bağlantılıdır ¹⁹⁴. Sonuç olarak miyokardiyal iskemide, mast hücre sayısı, Ang II formasyonu ve histamin saliverilmesi artar ^{196,187,197,198}.

2.5. Kandesartan Sileksetil

Ang II reseptörünün seçici nonpeptid blokörüdür. Ön ilaç olan kandesartan sileksetil, absorpsiyon sırasında aktif metaboliti kandesartana dönüşür. Yüksek oranda proteinlere bağlanır ve yarılanma ömrü 9 saattir ²¹⁴.

İn vitro çalışmalar, kandesartanın reseptör afinitesinin diğer AT-1 reseptör blokörlerinden daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, Ang II'nin yüksek konsantrasyonlarında da ilaç reseptörden kolayca ayrılmaz. Reseptöre sıkı ve uzun süreli bağlanma etkili blokaj sağlar ve Ang II'nin olumsuz kardiyovasküler etkilerini azaltır ²¹⁵.

Kandesartan, Ang II'nin maksimum cevabını azaltarak neredeyse tamamen ortadan kaldırır. Bu inhibisyon, Ang II'nin konsantrasyon artışıyla kaldırılamaz ^{216,217}.

İlk olarak 1992'de hayvan modelleri üzerinde uygulanan kandesartan, 2 yıl sonra da klinik çalışmalarda kullanılmıştır ^{230,231}. Felç, kalp yetmezliği, diyabetik renal hastalıklar ve son zamanlarda diyabetik

retinopatinin gelişiminin geciktirilmesinde, çarpıcı bir şekilde ilacın kullanımı artmıştır²¹⁸⁻²²¹.

Mortalite ve morbiditedeki azalmanın değerlendirildiği CHARM-Ekli çalışmasında, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu %40'tan az ve kronik kalp yetmezliğinden dolayı bir ADE inhibitörü uygulanmış 2548 hasta üzerinde plaseboya karşı 32 mg kandesartan sileksetil araştırılmıştır²²². Hastalar, ortalama 41 ay boyunca gözlenmiştir. Kandesartan uygulanmış grupta plasebo grubuna kıyasla kronik kalp yetmezliğine bağlı kardiyovasküler ölüm ve hastanede kalma süresi anlamlı olarak azalmıştır.

32 mg kandesartan sileksetilin denendiği CHARM-Alternatif çalışması, konjestif kalp yetmezliği ve sol ventrikül sistolik disfonksiyonu (ejeksiyon fraksiyonu %40'tan az) olan ve ADE inhibitörlerine intolerans gösteren 2028 hasta üzerinde yapılmıştır²²³. Plasebo grubuna kıyasla kandesartan sileksetil, kalp yetmezliğine bağlı mortaliteyi ve hastanede kalışı %23 oranında azaltmıştır.

Chen M. ve ark., kandesartanın İ/R sonrası sıçan miyositlerinde meydana gelen apoptozis üzerine etkilerini incelemişlerdir. İskemiden 30 dk önce iv yoldan 0,015 mg/kg (grup 1) ve 0,03 mg/kg (grup 2) kandesartan uygulanmış sıçanlar, 30 dk koroner oklüzyondan sonra 3 saat reperfüzyona maruz kalmıştır. Sol ventrikül (LV) sistolik basıncı ve +dp/dt, kandesartan uygulamasından sonra azalmış fakat grup 2'de grup 1 ve plasebo grubuna kıyasla, reperfüzyondan sonra artmıştır. -dp/dt grup 2'de, kandesartan uygulamasından sonra azalmıştır. Apoptotik hücre sayısının kandesartan grubunda kontrol grubuna göre daha fazla olduğu

belirlenmiştir. İnfarkt alanı bakımından her üç grupta da önemli bir farklılık bulunamamıştır. Ancak, plazmada kreatin fosfokinaz (CPK) düzeyinin, kandesartan grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlenmiştir ²²⁴.

Weidenbach R. ve ark. çalışmalarında ADE inhibitörü ramiprilat, AT-1 reseptör antagonisti kandesartan ve bu iki ilacın kombinasyonunun, domuzlarda, miyokardiyal iskemi sonucu meydana gelen infarkt alanı üzerine etkisini incelemişlerdir. 46 domuz üzerinde yapılan çalışmada, hayvanlar, 90 dk düşük akımlı iskemi ve 120 dk reperfüzyona maruz kalmışlardır. Hemodinamik parametreler, subendokardiyal kan akımı ve infarkt alanı kaydedilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, infarkt alanının kandesartan uygulanan grupta diğer gruplara göre belirgin olarak daha az olduğu saptanmıştır ²²⁵.

Jugdutt B. I. ve ark., yaşlarına göre 3 gruba ayırdıkları ST-segment yükselmeli MI'lı köpeklerde 90 dk iskemi 2 saat reperfüzyon uygulaması yapmışlardır. Reperfüzyondan 30 dakika önce kandesartan ve plasebo uygulanmıştır. Plasebo grubunda reperfüzyon sonucu meydana gelen hasarın belirteci olan iskemik hasarda, infarkt alanında, kardiyomiyosit apoptozisinde artma, kan akışında azalma, no-reflow, sol ventrikül açıklığında ve disfonksiyonunda artma, proinflamatuvar sitokin interlökin-6 miktarında artma, antiinflamatuvar sitokin interlökin-10 miktarında azalma meydana gelmiş ve bu belirteçler hayvanların yaşına bağlı olarak değişiklikler göstermiştir. Plasebo grubuna kıyasla kandesartan grubunda, bu gibi yaşa bağlı değişiklikler daha seyrek meydana gelmiştir ²²⁶.

Suzuki H. ve ark., MI sonrası sol ventrikül yeniden yapılanması üzerine kandesartanın etkisini incelemişlerdir. Başarılı koroner müdahaleden sonra MI'lı hastalar kandesartan ve ADE inhibitörü (ADEI) (lisinopril, enalapril ve trandolapril) gruplarından birine atanmışlardır. Kandesartan grubundaki hastalara 6 ay boyunca 4 mg kandesartan uygulanmıştır. ADEI grubundaki hastaların %52,%27 ve %21'ine sırasıyla lisinopril, enalapril ve trandolapril uygulanmıştır. Kardiyak ölüm, nonfatal MI ve kalp yetmezliğine bağlı hospitalizasyonda gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Kandesartan grubunda ADEI grubuna kıyasla, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun artışında daha fazla yükselme, sol ventrikül sistol ve diyastol sonu hacminde önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. Sonuçta, kandesartanın ADEI'a kıyasla MI sonrası sol ventrikül yeniden yapılanmasında daha etkin olduğu gösterilmiştir ²²⁷.

Kusuyama T. ve arkadaşları çalışmalarında, MI'lı sıçanlarda kardiyak yeniden yapılanma belirteci osteopontin ile Doppler ekokardiyografi değerlerine göre, ADEI perindopril ile AT-1 blokörü kandesartanın kardiyak fonksiyonları üzerine etkisini karşılaştırmışlardır. MI sonrası 4 hafta boyunca perindopril ve kandesartan uygulaması sonrasında kardiyak fonksiyonlar ve infarkte olmamış miyokard mRNA'sı analiz edilmiştir. Her iki ilaç da, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun azalmasına ve sol ventrikül dilatasyonuna karşı eşit ölçüde koruyucu etkinlik göstermişler ayrıca kardiyak fibrozisi önemli ölçüde önlemişlerdir ²²⁸.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Deneylerde, Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı A.Ş. tarafından üretilen 300-400 g ağırlığında Wistar albino erkek sıçanlar kullanılmıştır.

Bu çalışma için, Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'ndan G.Ü.ET-12.050 kod numaralı ve 79-10831 sayılı etik kurul izni alınmıştır.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Ketamin (Ketasol %10 Enjektabl, 60mg/kg): Anestezi oluşturmak amacıyla intraperitoneal (i.p.) olarak kullanılmıştır. Doz ayarlaması, kullanılan ticari preparattan hacim hesaplanarak yapılmıştır.

Ksilazin (Alfazyne %2 Enjektabl, 10mg/kg): Anestezi oluşturmak amacıyla i.p. olarak kullanılmıştır. Doz ayarlaması, kullanılan ticari preparattan hacim hesaplanarak yapılmıştır.

Kandesartan sileksetil (Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş., M.A: 610,67): Dimetil Sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülerek 10^{-4} M stok çözeltisi hazırlandıktan sonra, ilaç uygulanacağı zaman 10^{-7} M'a, kandesartan grubunda kardiyoplejik solüsyon, Krebs+kandesartan grubunda Krebs Henseleit çözeltisi ile dilüe edilmiştir. Dilüe çözelti, ilaç uygulanacağı zaman taze olarak hazırlanmıştır.

Krebs-Henseleit Çözeltisinin Bileşimi (mM)

Sodyum Klorür (NaCl) : 120

Sodyum Bikarbonat (NaHCO₃) : 25

Anhidr Glukoz : 11

Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH₂PO₄) : 1.2

Potasyum Klorür (KCl) : 4.8

Magnezyum Sülfat (MgSO₄.7H₂O) : 1.2

Kalsiyum Klorür (CaCl₂.2H₂O) : 2.5

Kardiyoplejik Solüsyon (Meditera İthalat İhracat Ltd. Şti.): PLEGİSOL ticari isimli çözelti (St. Thomas solüsyonu) kullanılmıştır.

Çözeltinin Bileşimi;

Her 100 mL çözeltide;

Kalsiyum Klorür Dihidrat : 17,6 mg

Magnezyum Klorür Heksahidrat : 325,3 mg

Potasyum Klorür : 119,3 mg

Sodyum Klorür : 643 mg

Kalsiyum (Ca^{2+}) : 2,4 mEq
Magnezyum (Mg^{2+}) : 32 mEq
Potasyum (K^{+}) : 16 mEq
Sodyum (Na^{+}) : 110 mEq
Klorür (Cl^{-}) : 160 mEq

3.1.3. Kullanılan Deney Araçları

Langendorff sabit akışlı perfüzyon sistemi (Commat Ltd., Türkiye)
Bilgisayarlı veri kayıt sistemi (BSL Pro36, Commat Ltd., Türkiye)
Amplifier modülü (Biopac Systems, Model MP30, Commat Ltd., Türkiye)
Sirkülasyonlu su banyosu (MAY WBC3446V2, Commat Ltd., Türkiye)
Peristaltik pompa (Peri-Star, WPI)
Kan basıncı transduseri (Commat Ltd., Türkiye)
Sol ventrikül basıncı transduseri (Commat Ltd. , Türkiye)
Vakumlu filtrasyon pompası (KnF Nevberger Type: NO22AN.18)
pH metre (Venco 6173pH)
Vorteks (FIRLABO.sa Type:AGITATEUR)
Hassas terazi (Schimadzu)
Mikropipet (Eppendorf Research)
%95 O_2 %5 CO_2 içeren gaz karışım tüpü
Cerrahi malzeme (makas, forseps, bulldog klemp)

3.2. Yöntem

3.2.1. Sıçan İzole Kalp Preparatının Hazırlanması

Sıçanlar, ketamin (60 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) karışımının i.p. olarak uygulanmasıyla anesteziye edilmiştir. Toraks açılıp perikardiyektomi yapılarak kalp çıkarılmıştır. Çıkarılan kalp, taze hazırlanmış ve +4°C'de soğutulmuş buzlu Krebs Henseleit (pH= 7.4) çözeltisi içerisine alındıktan sonra, 1 dk içerisinde sabit-basınçlı Langendorff perfüzyon sistemine asılmış, sıcaklığı 37°C olan ve %95 O₂ %5 CO₂ gaz karışımı ile havalandırılan Krebs-Henseleit çözeltisi ile aortadan retrograd olarak sabit basınçla (100 cm H₂O) perfüze edilmiştir.

Retrograd olarak perfüze edilen kalpte sol ventrikül basıncı ölçümü için, ucunda streç film kullanılarak yapılmış balon bulunan ve diğer ucu basınç transdüseri ile bağlantılı olan kanül, sol ventriküle yerleştirilmiştir. Ventrikül içerisine yerleştirilen balon, distile suyla şişirilerek, kalbin sol ventrikül diyastol sonu basıncı 5-10 mmHg'a ayarlanmıştır.

Laboratuvarımızda kullandığımız Langendorff düzeneği şekil-1'de gösterilmiştir.



Şekil 1 : Sabit-Basıncı Langendorff düzeneği

3.2.2. İskemi-Reperfüzyon Protokolü

Deney protokolü, literatür bilgisi²²⁹ doğrultusunda seçilmiş olup, kendi laboratuvar şartlarımıza göre optimize edilmiştir. 15 dk.lık dengelenme periyodundan sonra aortadan perfüzyon kesilerek, 40 dk süreyle global iskemi yapılmıştır. 40 dk.lık global iskemi sonunda perfüzyon açılarak 30 dk süreyle kalpler reperfüze edilmiştir. İskemi ve reperfüzyon süresince perfüzyon basıncı, sol ventrikül basıncı ve kalp hızı kaydedilmiştir.

Çalışma ilacı ve solüsyonları, iskemiden önce ve iskeminin 20. dk'sında uygulanmışlardır.

3.2.3. Deney Grupları

Çalışmada 5 grup deney yapılmıştır. Her bir deney grubunda 2-9'ar adet sıçan kullanılmıştır.

1. *Grup (kontrol I/R):* İzole-perfüze sıçan kalbi, uygun deneysel koşullar altında perfüzyon cihazına takılmış ve 15 dk'lık dengelenme periyodunu takiben 2 ml bolus krebs çözeltisi uygulanmış, 40 dk'lık uzun süreli global iskemiye maruz bırakılmış ve iskeminin 20. dk'ında tekrar 1 ml Krebs çözeltisi uygulanmış ve bu uygulamanın ardından 30 dk'lık reperfüzyona maruz bırakılmıştır. Deney boyunca koroner perfüzyon basıncı, sol ventrikül basıncı, kasılma ve gevşeme hızları (+dp/dt) kaydedilmiştir. (n=9)

2. *Grup (kardiyoplejik arrest-KP):* İzole-perfüze sıçan kalbi, uygun deneysel koşullar altında perfüzyon cihazına takılmış ve 15 dk'lık dengelenme periyodunu takiben 2 ml bolus soğuk kardiyoplejik solüsyon uygulanmış, daha sonra kalpler 40 dk'lık uzun süreli global iskemiye maruz bırakılmış ve iskeminin 20. dk sında tekrar 1 ml kardiyoplejik solüsyon bolus uygulanmıştır ve iskeminin ardından 30 dk'lık reperfüzyon yapılmıştır. Deney boyunca koroner perfüzyon basıncı, sol ventrikül basıncı, kasılma ve gevşeme hızları (+dp/dt) kaydedilmiştir. (n=8)

3. *Grup (kardiyoplejik solüsyon+kandesartan-KP+KAN):* kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan iskemi öncesi 2 ml ve iskeminin 20. dakikasında 1 ml bolus olarak uygulanmıştır. Deney boyunca koroner perfüzyon basıncı, sol ventrikül basıncı, kasılma ve gevşeme hızları (+dp/dt) kaydedilmiştir. (n=9)

4. *Grup (krebs+kandesartan-krebs+KAN):* Krebs çözeltisi içerisinde 100nM kandesartan iskemi öncesinde 2 ml ve iskeminin 20. dakikasında 1 ml bolus olarak uygulanır. Deney boyunca koroner perfüzyon basıncı, sol ventrikül basıncı, kasılma ve gevşeme hızları (+dp/dt) kaydedilmiştir. (n=4)

5. *Grup (kandesartanın çözücüsü-DMSO):* Kandesartanın çözücüsü %0,1'lik DMSO kardiyoplejik solüsyon içerisinde uygulanmıştır. Deney boyunca koroner perfüzyon basıncı, sol ventrikül basıncı, kasılma ve gevşeme hızları (+dp/dt) kaydedilmiştir. (n=2)

Her bir deney boyunca perfüzyon basıncı, sol ventrikül basıncı ve kalp hızı kaydedilmiştir. Kaydedilen sol ventrikül basıncı değerlerinden sol ventrikül gelişen basıncı (SVGB), sol ventrikül diyastol sonu basıncı (SVDSB), sol ventrikül kasılma ve gevşeme hızları ($\pm dp/dt$), hız-basınç ürünü (HBÜ) hesaplanmıştır. Bu değerlerle ilgili yapılan analizlerde, 30 dk'lık reperfüzyon sonunda ölçülen değer, dengelenme sırasında ölçülen değere göre yüzdesi hesaplanarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar, ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası (SH) şeklinde ifade edilmiştir. Reperfüzyon sonunda ölçülen kontraktıl parametrelere ilişkin değerlerin başlangıç değere göre yüzdesi açısından gruplar arasındaki farklılık, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılarak karşılaştırılmıştır. Hangi gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı ise, Tukey'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Reperfüzyon sonundaki değerle dengelenme sırasında ölçülen değer arasındaki farklılık ise eşleştirilmiş (paired) Student's t testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel analiz için Graphpad Prism 6 programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. 40 dk global iskemi 30 dk reperfüzyon protokolünün kontraktıl fonksiyon üzerindeki etkileri:

15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesi ve iskeminin 20.dk'sında bolus olarak krebs solüsyonu uygulanmış kontrol kalplere ilişkin SVB'nin kaydedildiği orjinal traseler Şekil 2'de verilmiştir.

Kontrol kalplerde, reperfüzyon sonunda kalp hızı başlangıç değerine göre anlamlı olarak değişmezken (şekil 3) reperfüzyon sırasında bu kalplerde şiddetli aritmi gözlenmiştir. Bu çalışma kapsamında aritmiler spesifik olarak tanımlanmamıştır ancak kalp hızındaki değişkenlik aritminin bir göstergesidir. SVGB, reperfüzyon sonunda belirgin olarak azalmış ve başlangıç değerine göre kalplerin % 33.7 ± 7.4 oranında kontraktıl fonksiyonunu koruduğu gözlenmiştir (Şekil 4). Bu bulguyla paralel olarak, reperfüzyon sonunda kalplere ilişkin hız-basınç ürünü, kasılma ve gevşeme hızlarının ($\pm dp/dt$) da reperfüzyon sonunda azaldığı saptanmıştır. Reperfüzyon sonunda hız-basınç ürünü % 23.8 ± 8.1 , kasılma hızı % 36.9 ± 8.2 , gevşeme hızı ise % 34.8 ± 6.1 oranında korunmuştur (Şekil 5, 6, 7). Bu parametrelere ilişkin iskemi öncesinde (bazal) ve reperfüzyonun 30.dk'sında (rep30) ölçülen değerler Tablo-1 ve 2'de verilmiştir.

İ/R hasarı sonrasında gözlenen miyokardiyal disfonksiyonun tanımıyla uyumlu olarak da kontrol kalplerde beklendiği gibi kalbin gevşeme yanıtına ilişkin SVDSB'nin reperfüzyon sonunda başlangıç değerine göre anlamlı olarak arttığı gözlemlenmiştir (Tablo 1, 2).

4.2. Kardiyoplejik solüsyonla kardiyak arrestin İ/R ile indüklenen kontraktıl disfonksiyon üzerindeki etkileri

15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesi 2 ml ve iskeminin 20.dk'sında 1 ml bolus olarak kardiyoplejik solüsyon uygulanmış kalplere ilişkin SVB'nin kaydedildiği orjinal traseler Şekil 2'de verilmiştir.

Kardiyoplejik solüsyon uygulanan kalplerde kalp hızının reperfüzyon sonunda başlangıç değerine göre anlamlı olarak değişmediği, SVGB'nin 84.4 ± 3.4 oranında düzeldiği ve bu düzelmenin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (şekil 3, 4). Bununla birlikte HBÜ, kasılma ve gevşeme hızları da ($\pm dp/dt$) sırasıyla 82.4 ± 4.6 , 87.5 ± 4.0 ve 83.8 ± 4.4 oranında korunmuştur (şekil 5, 6, 7). Bu parametreler açısından da kontraktıl fonksiyondaki iyileşmenin kontrol kalplere göre anlamlı olarak daha iyi olduğu belirlenmiştir. Kardiyoplejik solüsyon uygulanan kalplerde ölçülen kontraktıl parametrelere ilişkin değerler tablo 1 ve 2'de verilmiştir.

Kardiyoplejik solüsyon uygulanması reperfüzyon sonunda SVDSB'nı başlangıç değerine göre anlamlı olarak değiştirmemiştir (Tablo

1, 2). Reperfüzyon sonunda ölçülen SVDSB'nin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir.

4.3. Kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan ilavesinin I/R ile indüklenen kontraktıl disfonksiyon üzerindeki etkileri

15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesi 2 ml ve iskeminin 20.dk'sında 1 ml kardiyoplejik solüsyon içerisinde 100 nM kandesartan bolus olarak kalplere uygulanmıştır. Kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan uygulanan kalplerde kaydedilen SVB'ye ilişkin trase örneği şekil 2'de verilmiştir.

Kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanla tedavi edilen kalplerde, kalp hızının reperfüzyon sonunda başlangıç değerine göre değişmediği ve kontrol kalplerde reperfüzyon sonunda gözlenen aritmik profilin gerek kardiyoplejik solüsyonun tek başına uygulandığı gerekse kardiyoplejik solüsyonla birlikte kandesartan uygulanan kalplerde oluşmadığı ve kalp hızının reperfüzyon sırasında kontrole göre daha stabil olduğu saptanmıştır. Kandesartan uygulanan kalplerde SVGB, başlangıç değerine göre 96.8 ± 5.3 , HBÜ 91.8 ± 1.2 , dp/dt max 95.03 ± 4.9 , dp/dt min 97.4 ± 4.2 oranında düzelmiştir. Bu parametrelerdeki düzelme tek başına kardiyoplejik solüsyon uygulanan kalplerdekine göre belirgin olarak yüksek olmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Ancak kontrol grubuyla ve krebs solüsyonu içerisinde tek başına kandesartan uygulanan grupla karşılaştırıldığında kardiyoplejik

solüsyon içerisinde kandesartan uygulanması anlamlı olarak kontraktıl fonksiyonda iyileşme sağlamıştır.

Kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan uygulanması reperfüzyon sonunda SVDSB'nı başlangıç değerine göre anlamlı olarak değıştirmemiştir (Tablo 1, 2). Reperfüzyon sonunda ölçülen SVDSB'nin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu ve bu değerin yalnızca KP uygulanan gruba göre benzer olduğu saptanmıştır.

4.4. Kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsünün (DMSO) I/R ile indüklenen kontraktıl disfonksiyon üzerindeki etkileri

15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesi 2 ml ve iskeminin 20.dk'sında 1 ml kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü olarak kullanılan DMSO (%0.1) bolus olarak kalplere uygulanmıştır. Kardiyoplejik solüsyon içerisinde dilüe edilen DMSO'nun SVB üzerine etkisini gösteren trase örneği şekil 2'de verilmiştir. KP ile birlikte DMSO (%0.1) uygulanması reperfüzyon sonunda başlangıç değerine göre SVGB'da 81.9 ± 0.9 , HBÜ'de 82.5 ± 0.3 oranında düzelme sağlamıştır. $\pm dp/dt$ üzerine olan etkisi de SVGB ve HBÜ üzerine olan etkisiyle paralel bulunmuştur. KP içerisinde %0.1 DMSO'nun I/R uygulanmış kalplerde kardiyak parametreler üzerindeki etkisi sadece KP uygulanan grupla benzer olarak bulgulanmıştır. Ayrıca daha önce laboratuvarımızda yapılan benzer I/R protokolünün kullanıldığı başka bir çalışmada, aynı oranda DMSO'nun krebs içerisinde uygulanmasının kontrol kalplerdekine benzer

şekilde I/R hasarını indüklediği gösterilmiş olduğundan²³² bu tez çalışmasında bu grup ayrıca denenmemiştir.

Kardiyoplejik solüsyon içerisinde DMSO uygulanması (%0.1) reperfüzyon sonunda SVDSB'nı başlangıç değerine göre anlamlı olarak değiştirmemiştir (Tablo 1, 2). Reperfüzyon sonunda ölçülen SVDSB'nin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu ve bu değer yalnızca KP uygulanan gruba göre benzer olduğu saptanmıştır.

4.5. Krebs solüsyonu içerisinde kandesartan uygulanmasının İ/R ile indüklenen kontraktıl disfonksiyon üzerindeki etkileri

15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesi 2 ml ve iskeminin 20.dk'sında 1 ml krebs solüsyonu içerisinde 100 nM kandesartan bolus olarak kalplere uygulanmıştır. Krebs solüsyonu içerisinde kandesartan uygulanan kalplerde kaydedilen SVB'ye ilişkin trase örneği şekil 2'de verilmiştir.

İ/R protokolünde, iskemi öncesinde ve iskemi sırasında kalplere krebs solüsyonu içerisinde 100 nM kandesartan uygulanmasının kalbin kontraktıl fonksiyonuna ilişkin parametreleri üzerine etkisinin kontrol İ/R uygulanan kalplerdekine benzer olduğu, tek başına iskemi öncesinde ve sırasında kandesartan uygulanmasının kardiyoprotektif etki

oluşturmadığı saptanmıştır. Tek başına kandesartan uygulanmasının SVGB, HBÜ, $\pm dp/dt$ üzerine etkileri Şekil 4-7’de gösterilmiştir.

Krebs solüsyonu içerisinde kandesartan uygulanan grupta reperfüzyon sonunda SVDSB başlangıç değerine göre anlamlı olarak artmıştır (Tablo 1, 2). Reperfüzyon sonunda ölçülen SVDSB’nin kontrol grubundakine benzer olduğu gözlenmiştir.

4.6. Koroner akış ve koroner direnç üzerine İ/R protokolünün, kardiyoplejik solüsyon ve kandesartan uygulanmasının etkileri

15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesi ve iskeminin 20.dk’sında bolus olarak krebs solüsyonu uygulanmış kontrol kalplerde koroner akış reperfüzyon sonunda başlangıç değerine göre azalırken, koroner direnç belirgin olarak artmıştır. Ancak bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

İskemi öncesinde ve iskemi sırasında kardiyoplejik solüsyon, kandesartan+kardiyoplejik solüsyon, tek başına kandesartan veya kandesartanın çözücüsü dimetilsülfoksit uygulanması reperfüzyon sonunda koroner akış veya koroner dirençte başlangıca göre herhangi bir değişiklik oluşturmamıştır.

Tablo-1: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında ilaç uygulanmamış (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde dengelenme periyodu boyunca kaydedilen SVDSB: sol ventrikül diyastol sonu basıncı, SVGB: sol ventrikül gelişen basıncı, KH: kalp hızı, HBÜ: hız-basınç ürünü, dp/dt_{min} : gevşeme hızı, dp/dt_{max} : kasılma hızı, KA: koroner akış, PB: perfüzyon basıncı, KR: koroner direnç. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=2-9).

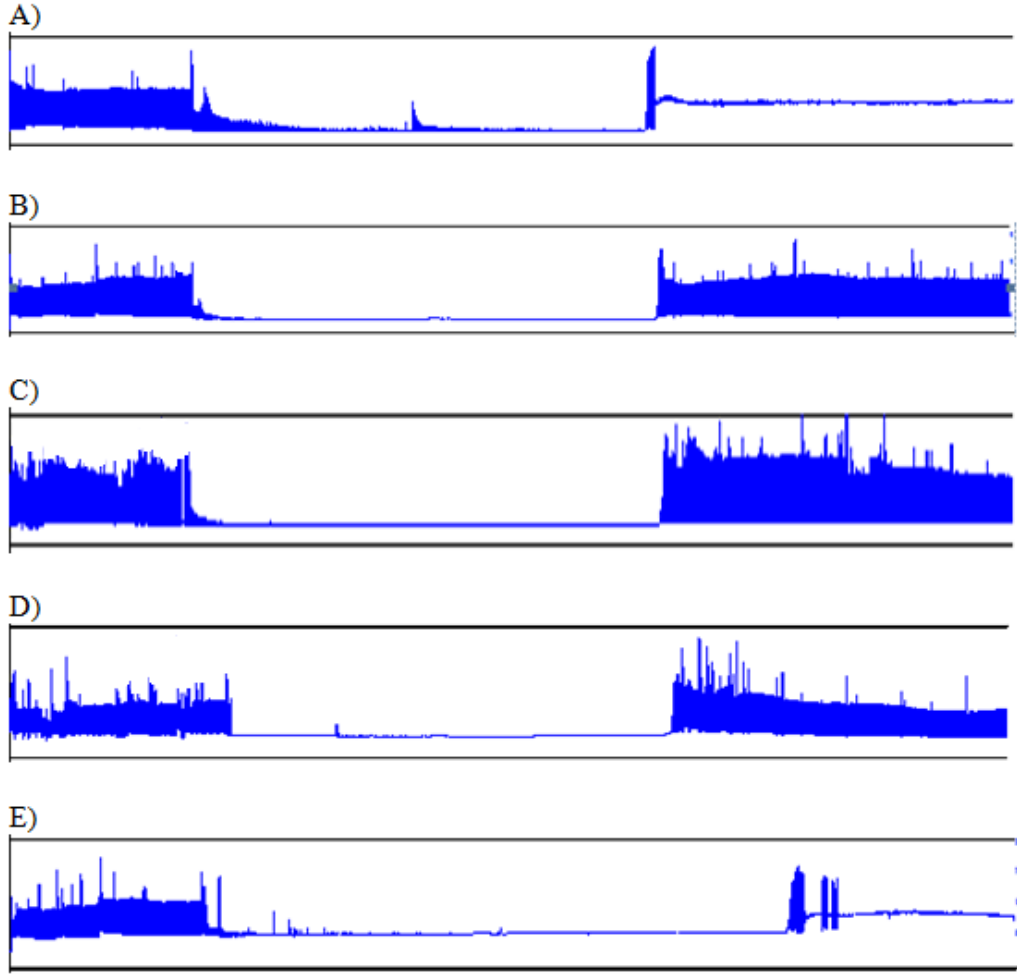
BAZAL	Kontrol	KP	KP+KAN	KAN	KP+DMSO
SVDSB (mmHg)	3.9 $\pm$ 0.8	5.7 $\pm$ 0.5	3.4 $\pm$ 0.7	5.5 $\pm$ 1.5	8.9 $\pm$ 1.05
SVGB (mmHg)	84.6 $\pm$ 8.5	82.2 $\pm$ 5.8	82.4 $\pm$ 4.5	88.5 $\pm$ 6.7	68.6 $\pm$ 7.4
KH (bpm)	217.4 $\pm$ 22.8	213.5 $\pm$ 10.1	191.3 $\pm$ 7.6	238.8 $\pm$ 13.8	226.0 $\pm$ 38
HBÜ (mmHgxbpm)	17182 $\pm$ 896	17624 $\pm$ 1582	16439 $\pm$ 939	18871 $\pm$ 413.6	15785 $\pm$ 4268
dp/dt_{min} (mmHg/sn)	-1324 $\pm$ 94.5	-1118 $\pm$ 83.7	-1156 $\pm$ 87.7	-1581 $\pm$ 162.7	-948.9 $\pm$ 197.1
dp/dt_{max} (mmHg/sn)	1423 $\pm$ 103	1317 $\pm$ 114.6	1320 $\pm$ 93.6	1627.0 $\pm$ 6.4	1010 $\pm$ 193.3
KA (ml/dk)	18.5 $\pm$ 1.7	15.1 $\pm$ 1.8	16.0 $\pm$ 2.2	20.3 $\pm$ 4.2	21.2 $\pm$ 7.8
PB (mmHg)	72.5 $\pm$ 0.3	74.1 $\pm$ 0.3	73.7 $\pm$ 0.4	73.4 $\pm$ 0.4	74.6 $\pm$ 0.4
KR (mmHgxdk/ml)	4.1 $\pm$ 0.4	4.6 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.6	3.8 $\pm$ 0.8	4.1 $\pm$ 1.5

Tablo-2: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında ilaç uygulanmamış (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen SVDSB: sol ventrikül diyastol sonu basıncı, SVGB: sol ventrikül gelişen basıncı, KH: kalp hızı, HBÜ: hız-basınç ürünü, dp/dt_{min}: gevşeme hızı, dp/dt_{max}: kasılma hızı, KA: koroner akış, PB: perfüzyon basıncı, KR: koroner direnç. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=2-9).

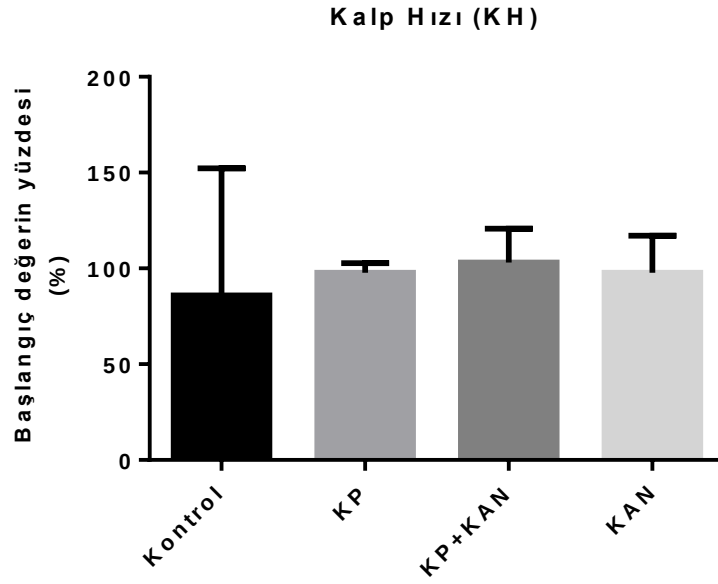
REP30	Kontrol	KP	KP+KAN	KAN	KP+DMSO
SVDSB (mmHg)	24.0 $\pm$ 8.2 ^{Δ}	4.2 $\pm$ 1.1	4.1 $\pm$ 1.0 [#]	37.2 $\pm$ 16.4	4.5 $\pm$ 1.8
SVGB (mmHg)	28.6 $\pm$ 7.2 ^{Δ}	65.8 $\pm$ 5.4 ^{*Δ}	79.9 $\pm$ 6.8 ^{*#}	23 $\pm$ 13.4 ^{Δ}	56.3 $\pm$ 6.6
KH (bpm)	184.8 $\pm$ 39.4	216.0 $\pm$ 7.5	187.8 $\pm$ 15.1	232.3 $\pm$ 23.0	227.5 $\pm$ 36.5
HBÜ (mmHgxbpm)	3902 $\pm$ 1118 ^{Δ}	14493 $\pm$ 1489 ^{*Δ}	15009 $\pm$ 1079 ^{*#Δ}	4664 $\pm$ 2476 ^{Δ}	13038 $\pm$ 3562
dp/dt _{min}	-453 $\pm$ 85.4 ^{Δ}	-980.6 $\pm$ 98.5 ^{*Δ}	-1121 $\pm$ 107.8 ^{*#}	-482 $\pm$ 238.7 ^{Δ}	-823.1 $\pm$ 173.7
dp/dt _{max}	520.5 $\pm$ 126.1 ^{Δ}	1159 $\pm$ 113.6 ^{*Δ}	1255 $\pm$ 116.3 ^{*#}	554.5 $\pm$ 355 ^{Δ}	921.7 $\pm$ 155.5
KA (ml/dk)	14.2 $\pm$ 3.0	13.8 $\pm$ 1.5	15.3 $\pm$ 1.8	14.0 $\pm$ 4.0	16.8 $\pm$ 7.3
PB (mmHg)	73.8 $\pm$ 0.4	73.8 $\pm$ 0.6	73.4 $\pm$ 0.3	73.1 $\pm$ 1.4	73.0 $\pm$ 0.6
KR (mmHgxdk/ml)	5.9 $\pm$ 1.6	5.7 $\pm$ 0.7	4.9 $\pm$ 0.7	5.0 $\pm$ 1.5	5.4 $\pm$ 2.4

* p<0.05 Kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı, # p<0.05 Kandesartan (KAN) grubuna göre anlamlı olarak farklı.

^{Δ} p<0.05 Bazal değerine göre anlamlı olarak farklı

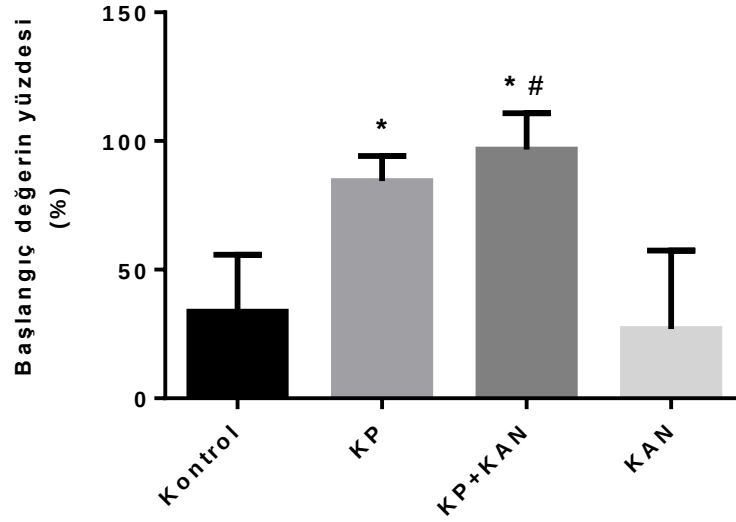


Şekil 2: İ/R uygulanmış izole kalplerde, kaydedilen SVB'na ait orjinal traseler A. krebs çözeltisi (Kontrol), B. tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), C. kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), D. kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO), E. tek başına kandesartan (KAN)



Şekil 3: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen kalp hızının (KH) başlangıç değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9).

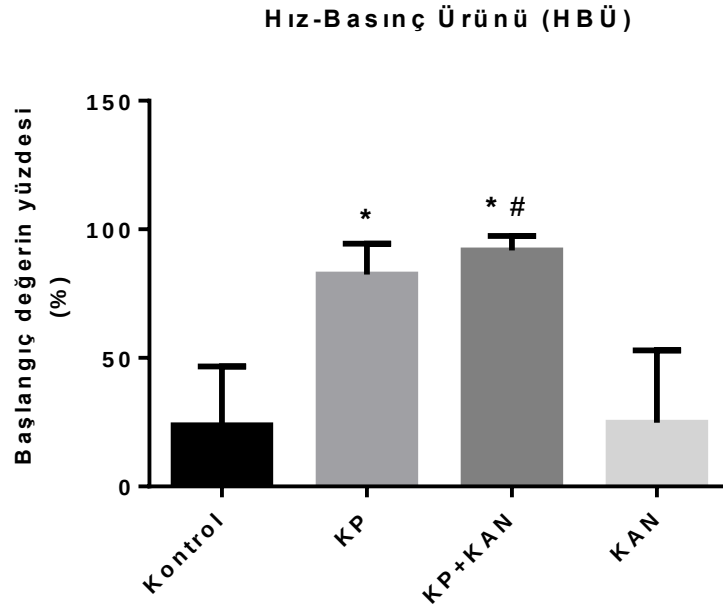
Sol ventrikül gelişen basıncı (SVGB)



* $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı

$p < 0.05$ Kandesartan (KAN) grubuna göre anlamlı olarak farklı

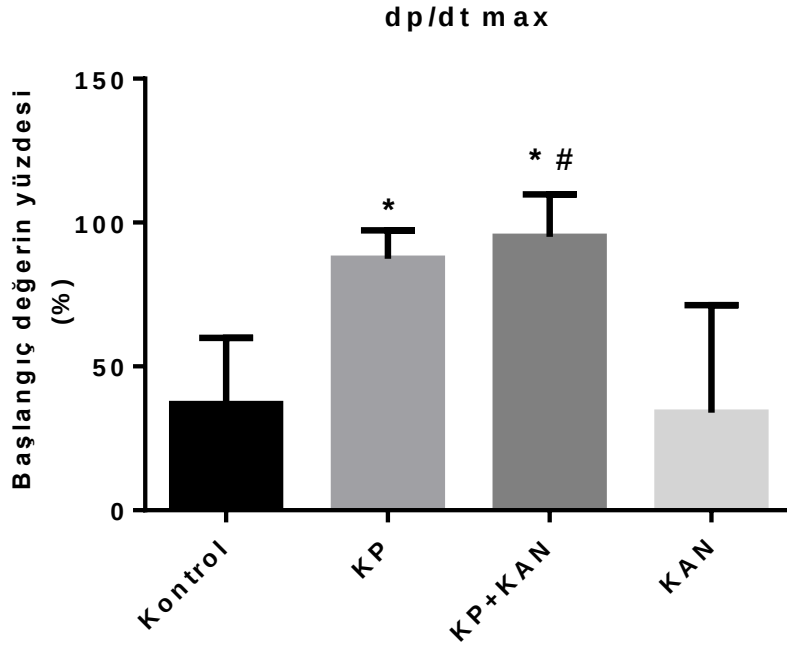
Şekil 4: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen sol ventrikül gelişen basıncının (SVGB) başlangıç değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9).



* $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı

$p < 0.05$ Kandesartan (KAN) grubuna göre anlamlı olarak farklı

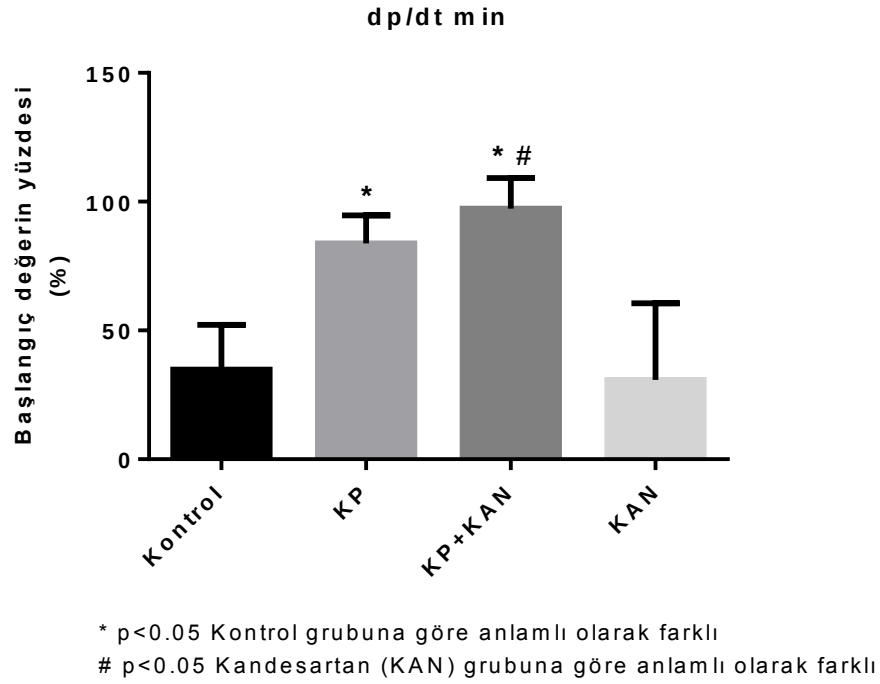
Şekil 5: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen hız-basınç ürünü (HBÜ) başlangıç değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9).



* $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı

$p < 0.05$ Kandesartan (KAN) grubuna göre anlamlı olarak farklı

Şekil 6: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen kasılma hızının (dp/dt_{max}) başlangıç değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9).



Şekil 7: 15 dk dengelenme periyodundan sonra, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolünde iskemi öncesinde ve iskeminin 20.dk'sında krebs çözeltisi (Kontrol), tek başına kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN), tek başına kandesartan (KAN) ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartanın çözücüsü (KP+DMSO) uygulanmış izole perfüze kalplerde reperfüzyon sonunda kaydedilen gevşeme hızının (dp/dt_{min}) başlangıç değerine göre % değişimi. Sonuçlar ortalama $\pm$ S.H. şeklinde ifade edilmiştir (n=4-9).

5. TARTIŞMA

Kardiyak cerrahi sonucu ortaya çıkan İ/R, spontan MI'ya bağlı olan İ/R'den farklıdır. Kardiyak cerrahide iskemi, aortik kros klemp konularak oluşturulur. Cerrahi tamamlandığında kros klemp kaldırılır, kalp birden bire yüksek oranda antikoagülan içeriği olan, kardiyopulmoner bypass cihazının immünolojik etkilerine maruz kalmış ve yüksek oranda parsiyel oksijen miktarı olan kan ile reperfüze olur. Sonuç olarak, kardiyak cerrahi sonrası miyokard, aşırı iskemi ve reperfüzyona maruz kalır. Kardiyak cerrahide kalp korunmasında en önemli bileşen olan kardiyoplejik solüsyon potasyum, mannitol ve glukoz içerir. Kardiyoplejik solüsyonun (genellikle kanla karıştırılarak) aralıklı olarak anterograd olarak aort köküne ve/veya retrograd olarak koroner sinüsten uygulanması, kalpte hiperkalemik ve hipotermik kardiyak arrest sağlar. Bu uygulama, miyokardiyal metabolik aktiviteyi ve oksijen ihtiyacını azaltarak miyokardiyal hassasiyeti azaltır. Tüm bunlara rağmen kardiyopleji sonrası İ/R hala gözlemlenmektedir ⁶¹.

Kardiyopleji sonrasında oluşan İ/R hasarının en aza indirilmesi için kardiyoplejik solüsyonla birlikte çeşitli ajanlar gerek klinik gerekse hayvan çalışmalarında denenmiştir. İ/R hasarına ilişkin mekanizmalardan biri olan kardiyak RAS'ın inhibe edilmesi de bu hasarı önleme stratejilerinden biridir. Literatürde özellikle ADE inhibitörlerinin kardiyoplejik solüsyon içerisine katılarak kardiyak cerrahi sırasında uygulanmasının reperfüzyon sonunda miyokard fonksiyonu üzerindeki olumlu etkileri ile birlikte, bu ajanların reperfüzyon hasarının klinik sonuçlarından olan biyokimyasal parametrelerdeki (kreatin kinaz MB, laktat dehidrogenaz ve Troponin-T) değişimi, reperfüzyon aritmilerini ve

infarkt alan oluşumunu önlediği gösterilmiştir ¹⁹⁻²². Ayrıca, kardiyoplejik solüsyonla birlikte ARB'nin kardiyak korumayı artırdığını gösteren kısıtlı sayıda çalışma bulunmasına rağmen, ARB'lerden kandesartanın kardiyoplejik solüsyon içerisinde I/R hasarına karşı denendiği herhangi bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bütün bu bilgiler ışığında bu çalışmada ARB'ü kandesartanın izole sıçan kalbinde uygulanan kardiyoplejik arrest modelinde, iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarına etkisi incelenmiştir.

Bu amaçla çalışmada, İ/R hasarının indüklenmesi için 15 dk dengelenme, 40 dk global iskemi ve 30 dk reperfüzyon protokolü kullanılmıştır. Kardiyoplejik solüsyon (KP), kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan (KP+KAN) ve krebs içerisinde kandesartan çözeltisi (KAN) ve kandesartanın çözücüsü iskemiden hemen önce ve iskeminin 20. dk'sında bolus olarak kalplere uygulanmıştır. Reperfüzyon sonunda deney boyunca kaydedilen kontraktıl parametrelerin başlangıç değerlerine göre % düzelme değerleri hesaplanmış ve sonuçların değerlendirilmesinde bu değerler kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen kontrol kalplere ilişkin bulgular daha önce laboratuvarımızda benzer yöntem kullanılarak yapılan tez çalışması²³² sonuçlarıyla uyumludur. Buna göre kontrol kalplerde reperfüzyon sonunda SVGB, HBÜ, kasılma ve gevşeme hızları azalmıştır. Koroner akışın da reperfüzyon sonunda başlangıca göre azaldığı ve koroner direncin de arttığı gözlenmesine rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Bu bulgu, literatürde global iskemi metodunun kullanıldığı ve iskemi süresinin 1 saatin altında olduğu çalışmaların sonuçlarıyla da uyumludur^{233,234}.

Kardiyoplejik solüsyon ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan uygulanması kontrol grubunda reperfüzyon sonunda gözlenen miyokardiyal hasarı kontrole göre anlamlı olarak azaltmıştır. Kardiyoplejik solüsyon uygulanmasının reperfüzyon sonunda hız-basınç ürününü ve SVGB'nı, kasılma ve gevşeme hızlarını kontrol grubuna göre anlamlı olarak koruduğu bulgusu literatürdeki diğer çalışmaların bulgularıyla da uyumludur^{19,20}. Bununla birlikte, kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan uygulanan gruplarda kontraktıl fonksiyonun belirteci olan parametreler (SVGB, HBÜ, $\pm dp/dt$) reperfüzyon sonunda başlangıç değerine göre anlamlı olarak değişmemiştir. Miyokardiyal kontraktılitedeki düzelme bu grupta yalnızca KP uygulanan gruba göre daha iyi olmasına rağmen, reperfüzyon sonunda başlangıç değerine göre kontraktılitedeki % değişim açısından her iki tedavi grubu arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Bu çalışmada, kandesartanın KP ile birlikte uygulanmasının yalnızca KP uygulanmasına ilave bir koruma sağlamamasının nedeni, ilacın uygulanma zamanı ve sıklığı olabilir. Kandesartan bu çalışmada iskemi öncesinde ve iskemi sırasında tek doz uygulanmıştır ve buna ek olarak reperfüzyon sırasında da uygulanmasının kardiyoprotektif etkiyi nasıl değiştirdiği de incelenmemiştir. Uygulama zamanının yanı sıra doz taraması yapılmamış olması da çalışmada bir diğer kısıtlayıcı faktördür.

ACE inhibitörlerinin kardiyoplejik solüsyon içerisinde uygulanarak iskemi reperfüzyon hasarına karşı denendiği çalışmalarda da bu ajanların, iskemi öncesinde ve sırasında uygulanmasının kardiyoplejik solüsyona ilave bir koruma sağlamadığı gösterilmiştir ve daha iyi kardiyak koruma zofenoprille ancak 1 haftalık oral tedaviden sonra, kaptoprille ise hem iskemi öncesi hem de reperfüzyon sırasında ilaç uygulandığında sağlanabilmiştir^{19, 20}. Bir başka ARB blokörü losartanla yapılan çalışmada

da ancak yüksek dozda losartanın kardiyoplejik solüsyon içerisinde uygulanmasının kardiyoplejik arreste göre daha iyi bir koruma sağladığı gösterilmiştir²¹. Bu çalışmaların sonuçları da kandesartanın neden kardiyoplejik solüsyon içerisinde uygulandığında kardiyoplejik solüsyona ilave bir koruma sağlamadığını açıklamak için öne sürdüğümüz gerekçeleri destekler niteliktedir.

Çalışmamızda, tek başına kandesartan uygulanması kontrolden farklı bir etki yaratmazken, kandesartanın çözücüsünün kardiyoplejik solüsyon içerisinde uygulanması da kardiyoplejik solüsyonla benzer etki oluşturmuştur. Bu bulgu, kardiyoplejik arrest protokolüne losartan eklenmesinin iskemi reperfüzyona karşı kalbi koruduğunun gösterildiği çalışmada²¹, losartanın düşük konsantrasyonda krebs solüsyonu içerisinde uygulanmasının kontraktıl parametrelerde kontrole göre anlamlı bir düzelme sağlamadığının belirlendiği çalışma bulgularıyla uyumludur. Ayrıca Fukumoto ve arkadaşları tarafından yapılan ve kandesartanın izole sıçan kalbinde iskemiyle indüklenen norepinefrin salıverilmesi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada da bizim bulgularımızla benzer olarak 40 dk.lık global iskemiye maruz kalan kalplerde kandesartan uygulanmasının kontraktıl fonksiyonu iyileştirmede gösterilmiştir. Söz konusu çalışmada iskemi süresine bağlı olarak norepinefrin salıverilmesinin ekzositoz veya taşıyıcı aracılığıyla olduğu, kandesartanın ise ekzositoz aracılı norepinefrin salıverilmesini inhibe ederek sadece kısa süreli iskemiye karşı (20 dk) kalbi koruduğu öne sürülmüştür²³⁵. Bizim çalışmamızda da kandesartanın 40 dk.lık global iskemiye karşı kalbi korumamasının nedeni bu olabilir ancak bunu aydınlatmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak bu çalışmada, kardiyak cerrahi sırasında kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan uygulanmasının İ/R hasarının düzeltilmesinde sadece kardiyoplejik arrest uygulanmasına göre anlamlı bir avantaj sağlamadığı gösterilmiştir.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, kardiyak cerrahi sırasında rutin olarak uygulanan kardiyoplejik arrest protokolüne angiotensin reseptör blokeri olan kandesartanın ilave edilmesinin İ/R hasarına karşı korunmada sadece kardiyoplejik solüsyon uygulanmasına karşı bir üstünlük sağlamadığı gösterilmiştir.

7. ÖZET

Bu çalışmanın amacı; angiotensin reseptör blokörü kandesartanın izole sıçan kalbinde uygulanan kardiyoplejik arrest modelinde, iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarına etkisinin incelenmesidir.

İ/R hasarının oluşturulması için, izole sıçan kalbine 40 dk global iskemi-30 dk reperfüzyon protokolü uygulanmıştır. Deney boyunca kalpler, sabit basınçlı Langendorff düzeneğinde perfüze edilmiştir. Kardiyoplejik solüsyon tek başına ve ilaçla birlikte kalplere, iskemi öncesi ve iskeminin 20. dakikasında uygulanmıştır. Post-iskemik kontraktıl fonksiyonda düzelme, sol ventrikül gelişen basıncı (SVGB), sol ventrikül diyastol sonu basıncı (SVDSB), kasılma ve gevşeme hızlarının ($\pm dp/dt$) ölçülmesiyle değerlendirilmiştir.

Kontrol kalplerde reperfüzyon sonunda SVGB, HBÜ, kasılma ve gevşeme hızları ve koroner akış belirgin olarak azalırken, koroner direnç artmıştır. Kardiyoplejik solüsyon ve kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan uygulanması kontrol grubunda reperfüzyon sonunda gözlenen miyokardiyal hasarı kontrole göre anlamlı olarak azaltmıştır. Tek başına kandesartan uygulanması kontrolden farklı bir etki yaratmazken, kandesartanın çözücüsünün kardiyoplejik solüsyon içerisinde uygulanması da kardiyoplejik solüsyonla benzer etki oluşturmuştur. Kardiyoplejik solüsyon içerisinde kandesartan uygulanması kontraktıl parametrelerde yalnızca kardiyoplejik solüsyon uygulanan gruba göre daha iyi bir düzelme sağlamasına rağmen aradaki fark anlamlı bulunamamıştır.

Bu çalışmada, kardiyak cerrahi sırasında rutin olarak uygulanan kardiyoplejik arrest protokolüne angiyotensin reseptör blokeri olan kandesartanın ilave edilmesinin İ/R hasarına karşı korunmada sadece kardiyoplejik solüsyon uygulanmasına karşı bir üstünlük sağlamadığı gösterilmiştir.

8. SUMMARY

The investigation of the role of renin-angiotensin system in cardioplegia followed by ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart

The aim of this study was to effect of candesartan for ischemia reperfusion injury in isolated rat heart with cardioplegic arrest.

For inducing I/R injury, isolated rat hearts were subjected to 40 min global ischemia and 30 min reperfusion. Hearts were perfused at a constant pressure (100 cmH₂O) of Langendorff apparatus throughout the experiments. Cardioplegic solution was given prior to ischemia and 20 min after the onset of ischemia single and with drug. Recovery of post-ischemic contractile function was assessed by the left ventricular developed pressure (LVDP), left ventricular end diastolic pressure (LVEDP), and the rates of pressure development (+dp/dt) and pressure decay (-dp/dt).

In control hearts, LVDP, HBÜ, diastolic time and coroner flow markedly decreased and coronary resistance increased. Cardioplegic solution and cardioplegia with candesartan were decreased myocardial damage after reperfusion compared to control group. There were not diffrences between group of used single candesartan and control group, similarly there were not diffrences between group of used solvent of candesartan in cardioplegic solution and cardioplegic group. Although

candesartan with cardioplegia provide more correction of contractil parameters than single cardioplegic solution, this difference is not statistically significant.

Our results demonstrate that; adding angiotensin receptor blocker candesartan in cardioplegic solution which is used during cardiac surgery doesn't outperforme.

9. KAYNAKLAR

1. Qing-Dong W, John P, Per-Ove S, Lars R. Pharmacological possibilities for protection against myocardial reperfusion injury. *Cardiovascular Research* 2002; 55: 25–37.
2. George V M, Chakib M A, Antoine B A. Pharmacological therapy for myocardial reperfusion injury. *Current Opinion in Pharmacology* 2004; 4: 147–153.
3. Li L, Mark TQ, Yao S. Oxidative stress in the infarcted heart: role of de novo angiotensin II production. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004; 325: 943–951.
4. Dzau VJ. Cell biology and genetics of angiotensin in cardiovascular disease. *J Hypertens* 1994;12(Suppl): S3.
5. DN Muller, R Dechend, EM Mervaala, JK Park, F Schmidt, A Fiebeler, J Theuer, V Breu, D Ganten, H Haller, FC Luft, NF-kappa B inhibition ameliorates angiotensin II-induced inflammatory damage in rats, *Hypertension* 2000; 35: 193–201.
6. MF Hill, PK Singal, Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure subsequent to myocardial infarction in rats, *Am. J. Pathol* 1996; 148: 291–300.
7. Privratsky JR, Wold LE, Sowers JR, Quinn MT, Ren J. AT1 blockade prevents glucose-induced cardiac dysfunction in

ventricular myocytes: role of the AT1 receptor and NADPH oxidase. *Hypertension* 2003; 42: 206-212.

8. Whaley-Connell A, Govindarajan G, Habibi J, Hayden MR, Cooper SA, Wei Y, Ma L, Qazi M, Link D, Karupathi PR, Stump C, Ferrario C, Sowers JR. Angiotensin II-mediated oxidative stress promotes myocardial tissue remodeling in the transgenic TG (mRen2)²⁷ Ren2 rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293: E355–E363.
9. Nakagami H, Takemoto M, Liao JK. NADPH oxidase-derived superoxide anion mediates angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 35: 851–859.
10. Qin F, Patel R, Yan C, Liu W. NADPH oxidase is involved in angiotensin II-induced apoptosis in H9C2 cardiac muscle cells: effects of apocynin. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 236–246.
11. Bendall JK, Cave AC, Heymes C, Gall N, Shah AM. Pivotal role of a gp91(phox)-containing NADPH oxidase in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in mice. *Circulation* 2002; 105: 293–296.
12. Brown JH, Del Re DP, Sussman MA. The Rac and Rho hall of fame: a decade of hypertrophic signaling hits. *Circ Res* 2006; 98: 730–742.
13. Byrne JA, Grieve DJ, Bendall JK, Li JM, Gove C, Lambeth JD, Cave AC, Shah AM. Contrasting roles of NADPH oxidase isoforms in pressure- overload versus angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Circ Res* 2003; 93: 802-805.

14. Antonio B, Pericle Di N, Alfonso A T, Rita S, Liborio S, Giandomenico P, Renato C B, Raffaele De C, Pio C. MK-954 (losartan potassium) exerts endothelial protective effects against reperfusion injury: evidence of an e-NOS mRNA overexpression after global ischemia. *Atherosclerosis* 2001; 155: 53–59.
15. Liu YH, Yang XP, Sharov VG, Sigmon DH, Sabbath HN, Carretero OA. Paracrine systems in the cardioprotective effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Hypertension* 1996; 27: 7-13.
16. Hartman JC, Wall TM, Hullinger TG, Shebuski RJ. Reduction of myocardial infarct size in rabbits by ramiprilat: reversal by the bradykinin antagonist HOE 140. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 21: 996-1003.
17. Jalowy A, Schulz R, Dorge H, Behrends M, Heusch G. Infarct size reduction by AT1-receptor blockade through a signal cascade of AT2-receptor activation, bradykinin and prostaglandins in pigs. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1787-1796.
18. Weidenbach R, Schulz R, Gres P, Behrends M, Post H, Heusch G. Enhanced reduction of myocardial infarct size by combined ACE inhibition and AT(1)-receptor antagonism. *Br J Pharmacol* 2000; 131:138-144.
19. Gurevitch J, Pevni D, Frolkis I, Matsa M, Paz Y, Mohr R, Yakirevich V. Captopril in cardioplegia and reperfusion: protective effects on the ischemic heart. *Ann Thorac Surg.* 1997 Mar; 63(3): 627-33.

20. Leva C, Mariscalco G, Ferrarese S, Bruno VD, Orrù A, Cattaneo P, Sala A. The role of zofenopril in myocardial protection during cardioplegia arrest: an isolated rat heart model. *J Card Surg* 2006 Jan-Feb; 21(1): 44-9.

21. Paz Y, Gurevitch J, Frolkis I, Matsa M, Kramer A, Locker C, Mohr R, Keren G. Effects of an angiotensin II antagonist on ischemic and nonischemic isolated rat hearts. *Ann Thorac Surg* 1998; 65(2): 474-9.

22. Lucchese G, Cambi GE, Rita FD, Faggian G, Mazzucco A, Modesti PA, Luciani GB. Cardioplegia and angiotensin II receptor antagonists modulate signal transducers and activators of transcription activation in neonatal rat myocytes. *Artificial Organs* 2011; 35(11): 1075–1081

23. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword?. *J Clin Invest* 1985; 76: 1713-19.

24. Kloner R. Does reperfusion injury exist in humans?. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 537.

25. Maxwell SR, Lip GY. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol.* 1997; 58: 95-117.

26. Bond JM, Herman B, Lemasters JJ. Protection by acidotic pH against anoxia/reoxygenation injury to rat neonatal cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 179: 798–803.

27. Lemasters JJ, Bond JM, Chacon E, Harper IS, Kaplan SH, Ohata H, Trollinger DR, Herman B, Cascio WE. The pH paradox in ischemia-reperfusion injury to cardiac myocytes. *EXS* 1996; 76: 99–114.
28. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med* 2007; 357: 1121-1135.
29. Tani M, Neely JR. Role of intracellular Na⁺ in Ca²⁺ overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat hearts. Possible involvement of H⁺-Na⁺ and Na⁺-Ca²⁺ exchange. *Circ Res* 1989; 65: 1045–1056.
30. Bush LR, Romson JL, Ash JL, Lucchesi BR. Effect of diltiazem on extent of ultimate myocardial injury resulting from temporary coronary artery occlusion in dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1982; 4: 285–296.
31. Du Toit EF, Opie LH. Modulation of severity of reperfusion stunning in the isolated rat heart by agents altering calcium flux at onset of reperfusion. *Circ Res* 1992; 70: 960–967.
32. Krause S, Hess ML. Characterization of cardiac sarcoplasmic reticulum dysfunction during shortterm, normothermic, global ischemia. *Circ Res* 1984; 55: 176–184.
33. Kaplan P, Hendrikx M, Mattheussen M, Mubagwa K, Flameng W. Effect of ischemia and reperfusion on sarcoplasmic reticulum calcium uptake. *Circ Res* 1992; 71: 1123–1130.

34. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann Neurol* 1992; 32 Suppl: S33-42.
35. Opie LH: Reperfusion injury and its pharmacologic modification. *Circ* 1989; 80: 1049-62.
36. Kusuoka H, Porterfield JK, Weisman HF, Weisfeldt ML, Marban E. Pathophysiology and pathogenesis of stunned myocardium. Depressed Ca^{2+} activation of contraction as a consequence of reperfusion-induced cellular calcium overload in ferret hearts. *J Clin Invest* 1987; 79: 950–961.
37. Nayler WG. The role of calcium in the ischemic myocardium. *Am J Pathol* 1981; 102: 262–270.
38. Zimmerman ANE, Daems W, Hulsmann WC, Snijder J, Wisse E, Durrer D. Morphological changes of heart muscle caused by successive perfusion with calcium-free and calcium-containing solutions (calcium paradox). *Cardiovasc Res* 1967; 1: 201–209.
39. Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 552–565.
40. Kim JS, Jin Y, Lemasters JJ. Reactive oxygen species, but not Ca^{2+} overloading, trigger pH- and mitochondrial permeability transition-dependent death of adult rat myocytes after ischemiareperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H2024–2034.

41. Rajesh KG, Sasaguri S, Suzuki R, Maeda H. Antioxidant MCI-186 inhibits mitochondrial permeability transition pore and upregulates Bcl-2 expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H2171–2178.
42. Schild L, Reiser G. Oxidative stress is involved in the permeabilization of the inner membrane of brain mitochondria exposed to hypoxia/reoxygenation and low micromolar Ca^{2+} . *FEBS J* 2005; 272: 3593–3601.
43. Thompson-Gorman SL, Zweier JL. Evaluation of the role of xanthine oxidase in myocardial reperfusion injury. *J Biol Chem* 1990; 265:6656–6663.
44. Xia Y, Zweier JL. Substrate control of free radical generation from xanthine oxidase in the postischemic heart. *J Biol Chem* 1995; 270: 18797–18803.
45. Zorov DB, Juhaszova M, Yaniv Y, Nuss HB, Wang S, Sollott SJ. Regulation and pharmacology of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc Res* 2009; 83: 213–225.
46. Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO, Zweier JL, Sollott SJ. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *J Exp Med* 2000; 192: 1001–1014.
47. Loke KE, McConnell PI, Tuzman JM, Shesely EG, Smith CJ, Stackpole CJ, Thompson CI, Kaley G, Wolin MS, Hintze TH.

Endogenous endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide is a physiological regulator of myocardial oxygen consumption. *Circ Res* 1999; 84: 840–845.

48. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987; 2: 1057–1058.
49. Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, Lefer AM. Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium. *Circ Res* 1993; 72: 403–412.
50. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87: 1620–1624.
51. Wang P, Zweier JL. Measurement of nitric oxide and peroxynitrite generation in the postischemic heart. Evidence for peroxynitrite-mediated reperfusion injury *J Biol Chem* 1996; 271: 29223–29230.
52. Matsui Y, Takagi H, Qu X, Abdellatif M, Sakoda H, Asano T, Levine B, Sadoshima J. Distinct roles of autophagy in the heart during ischemia and reperfusion: roles of AMP-activated protein kinase and Beclin 1 in mediating autophagy. *Circ Res* 2007; 100: 914–922.
53. Wang ZV, Rothermel BA, Hill JA. Autophagy in hypertensive heart disease. *J Biol Chem* 2010 In Press.

54. Yang Z, Day YJ, Toufektsian MC, Xu Y, Ramos SI, Marshall MA, French BA, Linden J. Myocardial infarct-sparing effect of adenosine A2A receptor activation is due to its action on CD4+ T lymphocytes. *Circulation* 2006; 114: 2056–2064.
55. Kobara M, Sunagawa N, Abe M, Tanaka N, Toba H, Hayashi H, Keira N, Tatsumi T, Matsubara H, Nakata T. Apoptotic myocytes generate monocyte chemoattractant protein-1 and mediate macrophage recruitment. *J Appl Physiol* 2008; 104: 601–609.
56. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The “no-reflow” phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J Clin Invest* 1974; 54: 1496–1508.
57. Brosh D, Assali AR, Mager A, Porter A, Hasdai D, Teplitsky I, Rechavia E, Fuchs S, Battler A, Kornowski R. Effect of no-reflow during primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction on six-month mortality. *Am J Cardiol* 2007; 99: 442–445.
58. Henriques JP, Zijlstra F, van 't Hof AW, de Boer MJ, Dambrink JH, Gosselink M, Hoorntje JC, Suryapranata H. Angiographic assessment of reperfusion in acute myocardial infarction by myocardial blush grade. *Circulation* 2003; 107: 2115–2119.
59. Gibson CM, Cannon CP, Murphy SA, Marble SJ, Barron HV, Braunwald E. Relationship of the TIMI myocardial perfusion grades, flow grades, frame count, and percutaneous coronary intervention

to long-term outcomes after thrombolytic administration in acute myocardial infarction. *Circulation* 2002; 105: 1909–1913.

60. Niccoli G, Burzotta F, Galiuto L, Crea F. Myocardial no-reflow in humans. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 281–292.
61. AT Turer, MD, AH Joseph. Pathogenesis of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury and Rationale for Therapy. *Am J Cardiol* 2010 August 1; 106(3):360–368.
62. Clinical study to examine the effects of erythropoietin on left ventricular function after acute myocardial infarction (HEBEIII)(online). [Cited January 5, 2010]. Available from: URL: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00449488>.
63. EPOMI study: ErythroPOietin in Myocardial Infaction (online). [Cited January 5, 2010]. Available from: URL: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00648089>.
64. Abbate A, Salloum FN, Vecile E, Das A, Hoke NN, Straino S, Biondi-Zoccai GG, Houser JE, Qureshi IZ, Ownby ED, Gustini E, Biasucci LM, Severino A, Capogrossi MC, Vetovec GW, Crea F, Baldi A, Kukreja RC, Dobrina A. Anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist, inhibits apoptosis in experimental acute myocardial infarction. *Circulation* 2008; 117: 2670-2683.
65. Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Miske G, Shah A, Elahi D, Shannon RP. Effects of glucagonlike peptide-1 in patients with

acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation* 2004; 109: 962–965.

66. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson RA, Downey JM. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991; 84: 350–356.
67. Yang X-M, Philipp S, Downey JM, Cohen MV. Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation. *Basic Res Cardiol* 2005; 100: 57–63.
68. Kin H, Zatta AJ, Lofye MT, Amerson BS, Halkos ME, Kerendi F, Zhao Z-Q, Guyton RA, Headrick JP, Vinten-Johansen J. Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. *Cardiovasc Res* 2005; 67: 124–133.
69. Ki J, McIntosh R, Shen X, Lee S, Chanoit G, Criswell H, Zvara DA, Xu Z. Adenosine A2a and A2b receptors work in concert to induce a strong protection against reperfusion injury in rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 47: 684–690.
70. Mahaffey KW, Puma JA, Barbagelata NA, DiCarli MF, Leeser MA, Browne KF, Eisenberg PR, Bolli R, Casas AC, Molina-Viamonte V, Orlandi C, Blevings R, Gibbons RJ, Califf RM, Granger CB. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of a multicenter, randomized, placebo-

controlled trial: the Acute Myocardial Infarction Study of ADenosine (AMISTAD) trial. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 1711–1720.

71. Assali AR, Sdringola S, Ghani M, Denkats AE, Yepes A, Hanna GP, Schroth G, Fujise K, Anderson HV, Smalling RW, Rosales OR. Intracoronary adenosine administered during percutaneous intervention in acute myocardial infarction and reduction in the incidence of “no reflow” phenomenon. *Catheter Cardiovasc Interv* 2000; 51: 27–31.
72. Stoel MG, Marques KM, de Cock CC, Bronzwaer JG, von BC, Zijlstra F. High dose adenosine for suboptimal myocardial reperfusion after primary PCI: a randomized placebo-controlled pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv* 2008; 71: 283–289.
73. Pasceri V, Pristipino C, Pelliccia F, Granatelli A, Speciale G, Roncella A, Pironi B, Capasso M, Richichi G. Effects of the nitric oxide donor nitroprusside on no-reflow phenomenon during coronary interventions for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2005; 95: 1358–1361.
74. Wang HJ, Lo PH, Lin JJ, Lee H, Hung JS. Treatment of slow/no-reflow phenomenon with intracoronary nitroprusside injection in primary coronary intervention for acute myocardial infarction. *Catheter Cardiovasc Interv* 2004; 63: 171–176.
75. Amit G, Cafri C, Yaroslavtsev S, Fuchs S, Paltiel O, Bu-Ful A, Weinstein JM, Wolak A, Ilia R, Zahger D. Intracoronary nitroprusside for the prevention of the no-reflow phenomenon after

primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction. A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Am Heart J* 2006; 152: 814–887.

76. Barcin C, Denktas AE, Lennon RJ, Hammes L, Higano ST, Holmes DR Jr, Garratt KN, Lerman A. Comparison of combination therapy of adenosine and nitroprusside with adenosine alone in the treatment of angiographic no-reflow phenomenon. *Catheter Cardiovasc Interv* 2004; 61: 484–491.
77. Lie RH, Hasenkam JM, Nielsen TT, Poulsen R, Sloth E. Post-conditioning reduces infarct size in an open-chest porcine acute ischemia-reperfusion model. *Acta Anaesthesiol Scand* 2008; 52: 1188–1193.
78. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, Wang NP, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 74–85.
79. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H579–588.
80. Laskey WK. Brief repetitive balloon occlusions enhance reperfusion during percutaneous coronary intervention for acute myocardial

infarction: a pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv* 2005; 65: 361–367.

81. Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'Huillier I, Aupetit JF, Bonnefoy E, Finet G, Andre- Fouet X, Ovize M. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005; 112: 2143–2148.
82. Laskey WK, Yoon S, Calzada N, Ricciardi MJ. Concordant improvements in coronary flow reserve and ST-segment resolution during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a benefit of postconditioning. *Catheter Cardiovasc Interv* 2008; 72: 212–220.
83. Vinten-Johansen J, Zhao ZQ, Jiang R, Zatta AJ, Dobson GP. Preconditioning and postconditioning: innate cardioprotection from ischemia-reperfusion injury. *J Appl Physiol* 2007; 103: 1441–1448.
84. Cohen MV, Yang XM, Downey JM. The pH hypothesis of postconditioning: staccato reperfusion reintroduces oxygen and perpetuates myocardial acidosis. *Circulation* 2007; 115: 1895–1903.
85. Cohen MV, Yang XM, Downey JM. Acidosis, oxygen, and interference with mitochondrial permeability transition pore formation in the early minutes of reperfusion are critical to postconditioning's success. *Basic Res Cardiol* 2008; 103: 464–471.

86. Bartosova L, Frydrych M, Hulakova G, Berankova M., Bebarova M, Opatrilova R, Strnadova V, Mokry P, Brunclik V, Kremar J, Bartosikova L, Florian T, Nejas J. Ultrashort bradycardic effect of newly synthesized compounds. *Acta Vet. Brno* 2006; 75: 295-308.
87. Honda HM, Korge P, Weiss JN. Mitochondria and ischemia/reperfusion injury. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1047: 248-258.
88. Solaini G, Harris DA. Biochemical dysfunction in heart mitochondria exposed to ischaemia and reperfusion. *Biochem J.* 2005; 390(Pt 2): 377-94.
89. Piot C, Croisille P, Staat P, Thibault H, Rioufol G, Mewton N, Elbelghiti R, Cung TT, Bonnefoy E, Angoulvant D, Macia C, Raczka F, Sportouch C, Gahide G, Finet G, Andre-Fouet X, Revel D, Kirkorian G, Monassier JP, Derumeaux G, Ovize M. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2008; 359: 473–481.
90. Weman SM, Karhunen PJ, Penttila A, Jarvinen AA, Salminen US. Reperfusion injury associated with one-fourth of deaths after coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2000; 70: 807–812.
91. Moore GW, Hutchins GM. Coronary artery bypass grafts in 109 autopsied patients. Statistical analysis of graft and anastomosis patency and regional myocardial injury. *JAMA* 1981; 246: 1785–1789.

92. Bulkely BH, Hutchins GM. Myocardial consequences of coronary artery bypass graft surgery. The paradox of necrosis in area of revascularization. *Circulation* 1977; 56: 906–913.
93. Klatte K, Chaitman BR, Theroux P, Gavard JA, Stocke K, Boyce S, Bartels C, Keller B, Jessel A. Increased mortality after coronary artery bypass graft surgery is associated with increased levels of postoperative creatine kinase-myocardial band isoenzyme release: results from the GUARDIAN trial. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1070–1077.
94. Costa MA, Carere RG, Lichtenstein SV, Foley DP, de Valk V, Lindenboom W, Roose PC, van Geldorp TR, Macaya C, Castanon JL, Fernandez-Aviles F, Gonzales JH, Heyer G, Unger F, Serruys PW. Incidence, predictors, and significance of abnormal cardiac enzyme rise in patients treated with bypass surgery in the arterial revascularization therapies study (ARTS). *Circulation* 2001; 104: 2689–2693.
95. Olivencia-Yurvati AH, Blair JL, Baig M, Mallet RT. Pyruvate-enhanced cardioprotection during surgery with cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2003; 17: 715–720.
96. Uyar I, Mansuroglu D, Kirali K, Erentug V, Bozbuga NU, Uysal G, Yakut C. Aspartate and glutamate enriched cardioplegia in left ventricular dysfunction. *J Card Surg* 2005; 20: 337–344.
97. Modi P, Suleiman MS, Reeves B, Pawade A, Parry AJ, Angelini GD, Caputo M. Myocardial metabolic changes during pediatric

cardiac surgery: a randomized study of 3 cardioplegic techniques. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 128: 67–75.

98. Walsh SR, Tang TY, Kullar P, Jenkins DP, Dutka DP, Gaunt ME. Ischaemic preconditioning during cardiac surgery: systematic review and meta-analysis of perioperative outcomes in randomised clinical trials. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008; 34: 985–994.
99. Fabbri A, Manfredi J, Piccin C, Soffiati G, Carta MR, Gasparotto E, Nardon G. Systemic leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 2001; 16(Suppl): 11–8.
100. Koskenkari J, Rimpilainen J, Biancari F, Surcel HM, Kaukoranta P, Kiviluoma K, Ala-Kokko T, Juvonen T. Leukocyte depleting filter attenuates myocardial injury during elective coronary artery bypass surgery. *Scand Cardiovasc J* 2005; 39: 358–368.
101. Leal-Noval SR, Amaya R, Herruzo A, Hernandez A, Ordonez A, Marin-Niebla A, Camacho P. Effects of a leukocyte depleting arterial line filter on perioperative morbidity in patients undergoing cardiac surgery: a controlled randomized trial. *Ann Thorac Surg* 2005; 80: 1394–1400.
102. Liakopoulos OJ, Schmitto JD, Kazmaier S, Brauer A, Quintel M, Schoendube FA, Dorge H. Cardiopulmonary and systemic effects of methylprednisolone in patients undergoing cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2007; 84: 110–8.

103. Fillinger MP, Rassias AJ, Guyre PM, Sanders JH, Beach M, Pahl J, Watson RB, Whalen PK, Yeo KT, Yeager MP. Glucocorticoid effects on the inflammatory and clinical responses to cardiac surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2002; 16: 163–169.
104. Tassani P, Richter JA, Barankay A, Braun SL, Haehnel C, Spaeth P, Schad H, Meisner H. Does high-dose methylprednisolone in aprotinin-treated patients attenuate the systemic inflammatory response during coronary artery bypass grafting procedures? *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1999; 13: 165–172.
105. Verrier ED, Shernan SK, Taylor KM, Van de Werf F, Newman MF, Chen JC, Carrier M, Haverich A, Malloy KJ, Adams PX, Todaro TG, Mojcik CF, Rollins SA, Levy JH. Terminal complement blockade with pexelizumab during coronary artery bypass graft surgery requiring cardiopulmonary bypass: a randomized trial. *JAMA* 2004; 291: 2319–2327.
106. Testa L, Van Gaal WJ, Bhindi R, Biondi-Zoccai GG, Abbate A, Agostoni P, Porto I, Andreotti F, Crea F, Banning AP. Pexelizumab in ischemic heart disease: a systematic review and meta-analysis on 15,196 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 136: 884–893.
107. Shaw AD, Stafford-Smith M, White WD, Phillips-Bute B, Swaminathan M, Milano C, Welsby IJ, Aronson S, Mathew JP, Peterson ED, Newman MF. The effect of aprotinin on outcome after coronary-artery bypass grafting. *N Engl J Med* 2008; 358: 784–793.

108. Schneeweiss S, Seeger JD, Landon J, Walker AM. Aprotinin during coronary-artery bypass grafting and risk of death. *N Engl J Med* 2008; 358: 771–783.
109. Fergusson DA, Hebert PC, Mazer CD, Fremes S, MacAdams C, Murkin JM, Teoh K, Duke PC, Arellano R, Blajchman MA, Bussieres JS, Cote D, Karski J, Martineau R, Robblee JA, Rodger M, Wells G, Clinch J, Pretorius R. A comparison of aprotinin and lysine analogues in high-risk cardiac surgery. *N Engl J Med* 2008; 358: 2319–2331.
110. Kandzari DE, Dery JP, Armstrong PW, Douglas DA, Zettler ME, Hidinger GK, Friesen AD, Harrington RA. MC-1 (pyridoxal 5'-phosphate): novel therapeutic applications to reduce ischaemic injury. *Expert Opin Investig Drugs* 2005; 14: 1435–1442.
111. Tardif JC, Carrier M, Kandzari DE, Emery R, Cote R, Heinonen T, Zettler M, Hasselblad V, Guertin MC, Harrington RA. Effects of pyridoxal-5'-phosphate (MC-1) in patients undergoing high-risk coronary artery bypass surgery: results of the MEND-CABG randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 133: 1604–1611.
112. Alexander JH, Emery RW Jr, Carrier M, Ellis SJ, Mehta RH, Hasselblad V, Menasche P, Khalil A, Cote R, Bennett-Guerrero E, Mack MJ, Schuler G, Harrington RA, Tardif JC. Efficacy and safety of pyridoxal 5'-phosphate (MC-1) in high-risk patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: the MEND-CABG II randomized clinical trial. *JAMA* 2008; 299: 1777–1787.

113. Theroux P, Chaitman BR, Danchin N, Erhardt L, Meinertz T, Schroeder JS, Tognoni G, White HD, Willerson JT, Jessel A, Guard during ischemia against necrosis (GUARDIAN) Investigators. Inhibition of the sodium-hydrogen exchanger with cariporide to prevent myocardial infarction in high-risk ischemic situations. Main results of the GUARDIAN trial. *Circulation* 2000; 102: 3032– 3038.
114. Mentzer RM Jr. Effects of Na⁺/H⁺ exchange inhibition by cariporide on death and nonfatal myocardial infarction in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. The Expedition study (Abstract). *Circulation* 2003; 108: 2723.
115. Mullane K. Acadesine: the prototype adenosine regulating agent for reducing myocardial ischaemic injury. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 43–47.
116. Gruber HE, Hoffer ME, McAllister DR, Laikind PK, Lane TA, Schmid-Schoenbein GW, Engler RL. Increased adenosine concentration in blood from ischemic myocardium by AICA riboside. Effects on flow, granulocytes, and injury. *Circulation* 1989; 80: 1400–1411.
117. Forster K, Paul I, Solenkova N, Staudt A, Cohen MV, Downey JM, Felix SB, Krieg T. NECA at reperfusion limits infarction and inhibits formation of the mitochondrial permeability transition pore by activating p70S6 kinase. *Basic Res Cardiol* 2006; 101: 319–326.
118. Leung JM, Stanley T III, Mathew J, Curling P, Barash P, Salmenpera M, Reves JG, Hollenberg M, Mangano DT, SPI

Research Group. An initial multicenter, randomized controlled trial on the safety and efficacy of acadesine in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Anesth Analg* 1994; 78: 420–434.

119. Menasche P, Jamieson WR, Flameng W, Davies MK, Multinational Acadesine Study Group. Acadesine: a new drug that may improve myocardial protection in coronary artery bypass grafting. Results of the first international multicenter study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110: 1096–1106.
120. Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) Research Group. Effects of acadesine on the incidence of myocardial infarction and adverse cardiac outcomes after coronary artery bypass graft surgery. *Anesthesiology* 1995; 83: 658–673.
121. Mangano DT, Miao Y, Tudor IC, Dietzel C. Post-reperfusion myocardial infarction: long-term survival improvement using adenosine regulation with acadesine. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 206–214.
122. Mangano DT, The Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) Research Group. Effects of acadesine on myocardial infarction, stroke, and death following surgery. A meta-analysis of the 5 international randomized trials. *JAMA* 1997; 277: 325–332.
123. Arakawa K. Serine protease angiotensin II systems. *J. Hypertens* 1996; 14: 3-7.

124. Zughalb ME, Sun JZ, Bolli R. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on myocardial ischemia/reperfusion injury: an overview. *Basic Res Cardiol* 1993; 88: 155.
125. Bermann, M.A., Walsh, M.F., Sowers, J.R., 1997. Angiotensin II biochemistry and physiology: update on angiotensin II receptor antagonists. *Cardiovasc. Drug Rev.* 15, 75-100.
126. Carlsson, L, Abrahamsson, T, 1989. Ramiprilat attenuates the local release of noradrenaline in the ischemic myocardium. *Eur. J. Pharmacol.* 166, 157-164
127. Brown, NJ, Vaughan, DE, 1998. Angiotensin converting enzyme inhibitors. *Circulation* 97, 1411-1420.
128. De Graeff, PA, van Gilst, WH, Wesseling H, 1994. The cardiac renin-angiotensin system in different ischemic syndromes of the heart. In: Lindpainter, K, Ganten, D. (Eds.), the cardiac renin angiotensin system. Futura Publishing, New York, NY, pp. 201-231.
129. Yang BC, Phillips MI, Ambuehl PEJ, Shen LP, Mehta P, Mehta JL. Increase in angiotensin II type 1 receptor expression immediately after ischemia reperfusion in isolated rat hearts. *Circulation* 1997; 96: 922.
130. Ciu AT, Herblin WF, McCall DE. Identification of angiotensin II receptor subtype. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 165: 196.

131. Wang QD, Sjöquist PO. Effects of the insurmountable angiotensin AT1 receptor antagonist candesartan and the surmountable antagonist losartan on ischemia/reperfusion injury in rat hearts. *European Journal of Pharmacology* 1999; 380: 13-21.
132. Ertl G, Kloner RA, Alexander RW, Braunwald E. Limitation of experimental infarct size by an angiotensin converting enzyme inhibitor. *Circulation* 1982; 65: 40-48.
133. Feolde E, Vigne P, Firelin C. Angiotensin 2 receptor subtypes and biological response in the rat heart. *J.Mol.Cell.Cardiol* 1993; 25: 1359-1367.
134. Ferrario CM, Flack JM. Pathologic consequences of increased angiotensin 2 activity. *Cardiovasc. Drug Ther* 1996; 10: 511-518.
135. Ford WR, Clanachan AS, Jugdutt BI. Opposite effects of angiotensin AT1 and AT2 receptor antagonists on recovery of mechanical function after ischemia reperfusion in isolated working rat hearts. *Circulation* 1996; 94: 3087-3089.
136. Hartman JC, Hullinger TG, Wall TM, Shebuski RJ. Reduction of myocardial infarct size by ramiprilat is independent of angiotensin 2 synthesis inhibition. *Eur.J.Pharmacol* 1993; 234: 229-236.
137. Hein L, Barsh G, Pratt RE, Dzau VJ, Kobilka BK. Behavioural and cardiovascular effects of disrupting the angiotensin II type-2 receptor gene in mice. *Nature* 1995; 377: 744-747.

138. Jaloway A, Schulz R, Doërgel H, Behrends M, Heusch G. Infarct size reduction by AT1 receptor blockade through a signal cascade of AT2-receptor activation and bradykinin. *Eur. Heart J. Abstr.* 1998; 19: 399.
139. Kabour A, Henegar JR, Janicki JS. Angiotensin II _All.-induced myocyte necrosis: role of the All receptor. *J. Cardiovasc. Pharmacol* 1994; 23: 547–553.
140. Cambien F, Poirier O, Lecerf L et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 641–44.
141. Raynolds MV, Bristow MR, Bush EW et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1993; 342: 1073–75.
142. Marian AJ, Yu QT, Workman R, Greve G, Roberts R. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet* 1993; 342: 1085–86.
143. Ohishi M, Fuji K, Minamino T et al. A potent genetic risk factor for restenosis. *Nature Genet* 1993; 5: 324–25.
144. Alderman MH, Madhavan S, Ooi WL, Cohen H, Sealey JE, Laragh JH. Association of the renin–sodium profile with the risk of myocardial infarction in patients with hypertension. *N Engl J Med* 1991; 324: 1098–1104.

145. Fleetwood G, Boutinet S, Meier M, Wood JM. Involvement of the renin–angiotensin system in ischemic damage and reperfusion arrhythmias in the isolated perfused rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17: 351–56.
146. Diet F, Pratt RE, Berry GJ, Momose N, Gibbons GH, Dzau VJ. Increased accumulation of tissue ACE in human atherosclerotic coronary artery disease. *Circulation* 1996; 94: 2756–67.
147. Alderman MH, Madhavan S, Ooi WL, Cohen H, Sealey JE, Laragh J. Association of the renin–sodium profile with the risk of myocardial infarction in patients with hypertension. *N Engl J Med* 1991; 324: 1098–1104.
148. Koch-Weser J. Myocardial actions of angiotensin. *Circ Res* 1964; 14: 337–44.
149. Katz AM. Angiotensin II: hemodynamic regulator or growth factor? *J Mol Cell Cardiol* 1990; 22: 739–47.
150. Vaughan DE, Declerck PJ, Vanhoutte P, De Mol M, Collen D. Reactivated recombinant plasminogen activator inhibitor-1 (rPAI-1) effectively prevents thrombolysis in vivo. *Thromb Haemost* 1992; 68: 60–63.
151. Rydzewski B, Zelezná B, Tang W, Sumners C, Raizada MK. Angiotensin II stimulation of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression in astroglial cells from the brain. *Endocrinology* 1992; 130:1255–62.

152. Ertl G. Angiotensin converting enzyme inhibitors and ischemic heart disease. *Eur Heart J* 1988; 9: 716–27.
153. Werrmann JG, Cohen SM. Comparison of the effects of angiotensin converting enzyme inhibition with those of angiotensin II receptor antagonism on functional and metabolic recovery in the post-ischemic working rat heart as studied by ³¹P nuclear magnetic resonance. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 24: 573–86.
154. Yoshiyama M, Kim S, Yamagishi H et al. Cardioprotective effect of the angiotensin II type 1 receptor antagonist TCV-116 on ischemiareperfusion injury. *Am Heart J* 1994; 128: 1–6.
155. Perondi R, Saino A, Tio RA et al. ACE inhibition attenuates sympathetic coronary vasoconstriction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1992; 85: 2004–13.
156. Pfeffer M, Braunwald E, Boye L. The Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) Investigators. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1992; 327: 669–77.
157. The Studies on Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) Investigators. Effect of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. *N Engl J Med* 1992; 327: 685–91.

158. Yang B, Li D, Philips MI, Mehta P, Mehta LJ. Myocardial angiotensin 2 receptor expression and ischemia reperfusion injury. *Vascular Medicine* 1998; 3: 121–130.
159. Sun Y, Weber KT. Angiotensin II receptor binding following myocardial infarction in the rat. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1623–28.
160. Sun Y, Weber KT. Angiotensin II and aldosterone receptor binding in rat heart and kidney: response to chronic angiotensin II or aldosterone administration. *J Lab Clin Invest* 1993; 122: 404–11.
161. Yang BC, Phillips MI, Ambuehl PEJ, Shen LP, Mehta P, Mehta JL. Increase in angiotensin II type 1 receptor expression immediately following ischemia-reperfusion in isolated rat hearts. *Circulation* 1997; 96: 922–26.
162. Dzau VJ, Pratt RE. Renin–angiotensin system. In: Fozzard HA, Haber E, Jennings RB, Katz AM, Morgan HE, eds. *The heart and cardiovascular system*. New York: Raven Press, 1991: 1817–50.
163. Peach MJ. Renin-angiotensin system: biochemistry and mechanisms of action. *Physiol Rev.* 1977; 57: 313–70.
164. Campbell DJ. Circulating and tissue angiotensin systems. *J Clin Invest.* 1987; 79: 1–6.
165. Dostal DE, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system - Conceptual, or a regulator of cardiac function? *Circ Res.* 1999; 85: 643–50.

166. Bader M. Role of the local renin-angiotensin system in cardiac damage: a minireview focussing on transgenic animal models. *J Mol Cell Cardiol.* 2002; 34: 1455–62.
167. Carey RM, Siragy HM. Newly recognized components of the renin-angiotensin system: Potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocr Rev.* 2003; 24: 261–71.
168. Campbell DJ. Critical Review of Prorenin and (Pro)renin Receptor Research. *Hypertension* 2008; 51: 1259–64.
169. Silver RB, Reid AC, Mackins CJ, Askwith T, Schaefer U, Herzlinger D, Levi R. Mast cells: A unique source of renin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101: 13607–12.
170. Vane JR. The release and fate of vaso-active hormones in the circulation. *Br J Pharmacol* 1969; 35: 209–42.
171. Barlucchi L, Leri A, Dostal DE, Fiordaliso F, Tada H, Hintze TH, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. Canine ventricular myocytes possess a renin-angiotensin system that is upregulated with heart failure. *Circ Res.* 2001; 88: 298–304.
172. Bader M, Peters J, Baltatu O, Müller DN, Luft FC, Ganten D. Tissue renin-angiotensin systems: new insights from experimental animal models in hypertension research. *J Mol Med.* 2001; 79: 76– 102.
173. Neri-Sernerì GG, Boddi M, Coppo M, Chechi T, Zarone N, Moira M, Poggesi L, Margheri M, Simonetti I. Evidence for the existence of a

functional cardiac renin- angiotensin system in humans. *Circulation*. 1996; 94: 1886–93.

174. Muller DN, Fischli W, Clozel JP, Hilgers KF, Bohlender J, Menard J, Busjahn A, Ganten D, Luft FC. Local angiotensin II generation in the rat heart: role of renin uptake. *Circ Res*. 1998; 82: 13– 20.
175. Van Kats JP, Danser AHJ, Van Meegen JR, Sassen MA, Verdouw PD, Schalekamp MADH. Angiotensin production by the heart - A quantitative study in pigs with the use of radiolabeled angiotensin infusions. *Circulation*. 1998; 98: 73–81.
176. Dell'italia LJ, Meng QC, Balcells E, Wei CC, Palmer R, Hageman GR, Durand J, Hankes GH, Oparil S. Compartmentalization of angiotensin II generation in the dog heart. Evidence for independent mechanisms in intravascular and interstitial spaces. *J Clin Invest*. 1997; 100: 253–8.
177. de Lannoy LM, Schuijt MP, Saxena PR, Schalekamp MADH, Danser AHJ. Angiotensin converting enzyme is the main contributor to angiotensin I-II conversion in the interstitium of the isolated perfused rat heart. *J Hypertens*. 2001; 19: 959–65.
178. Dzau VJ. Implications of local angiotensin production in cardiovascular physiology and pharmacology. *Am J Cardiol* 1987; 59: 59A–65A.
179. Berry C, Touyz R, Dominiczak AF, Webb RC, Johns DG. Angiotensin receptors: signaling, vascular pathophysiology, and

interactions with ceramide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: H2337–H2365.

180. Gavras H, Brunner HR. Role of angiotensin and its inhibition in hypertension, ischemic heart disease, and heart failure. *Hypertension* 2001; 37: 342–5.
181. Kaschina E, Scholz H, Steckelings UM, Sommerfeld M, Kemnitz UR, Artuc M, Schmidt S, Unger T. Transition from atherosclerosis to aortic aneurysm in humans coincides with an increased expression of RAS components. *Atherosclerosis* 2009; 205: 396–403.
182. Silver RB, Reid AC, Mackins CJ, Askwith T, Schaefer U, Herzlinger D, Levi R. Mast cells: A unique source of renin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101: 13607–13612.
183. Mackins CJ, Kano S, Seyedi N, Schafer U, Reid AC, Machida T, Silver RB, Levi R. Cardiac mast cell-derived renin promotes local angiotensin formation, norepinephrine release, and arrhythmias in ischemia/reperfusion. *J Clin Invest*. 2006; 116: 1063–1070.
184. Koda K, Rodriguez MS, Corti F, Chan NYK, Estephan R, Silver RB, Mochly-Rosen D, Levi R. Aldehyde dehydrogenase activation prevents reperfusion arrhythmias by inhibiting local renin release from cardiac mast cells. *Circulation* 2010 August 24; 122(8): 771–781.

185. Dostal DE, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system - Conceptual, or a regulator of cardiac function? *Circ Res.* 1999; 85: 643–650.
186. Barlucchi L, Leri A, Dostal DE, Fiordaliso F, Tada H, Hintze TH, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. Canine ventricular myocytes possess a renin-angiotensin system that is upregulated with heart failure. *Circ Res.* 2001; 88: 298–304.
187. Jalowy A, Schulz R, Heusch G. AT1 receptor blockade in experimental myocardial ischemia/ reperfusion. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(Suppl 11):S129–S136.
188. Hirsch AT, Opsahl JA, Lunzer MM, Katz SA. Active renin and angiotensinogen in cardiac interstitial fluid after myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999; 276: H1818–H1826.
189. Von Lutterotti N, Catanzaro DF, Sealey JE, Laragh JH. Renin is not synthesized by cardiac and extrarenal vascular tissues: A review of experimental evidence. *Circulation* 1994; 89: 458–70.
190. Katz SA, Opsahl JA, Lunzer MM, Forbis LM, Hirsch AT. Effect of Bilateral Nephrectomy on Active Renin, Angiotensinogen, and Renin Glycoforms in Plasma and Myocardium. *Hypertension* 1997; 30: 259.
191. Trolliet MR, Phillips MI. The effect of chronic bilateral nephrectomy on plasma and brain angiotensin. *J Hypertens* 1992; 10: 29–36.

192. Schomig A. Catecholamines in myocardial ischemia. Systemic and cardiac release. *Circulation* 1990; 82: II13–II22.
193. Meredith IT, Broughton A, Jennings GL, Esler MD. Evidence of a selective increase in cardiac sympathetic activity in patients with sustained ventricular arrhythmias. *N Engl J Med.* 1991; 325: 618–24.
194. Levi R, Smith NCE. Histamine H3-receptors: A new frontier in myocardial ischemia. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000; 292: 825–30.
195. Grassi G, Seravalle G, Quarti-Trevano F, Dell'Oro R. Sympathetic activation in congestive heart failure: evidence, consequences and therapeutic implications. *Curr Vasc Pharmacol* 2009; 7: 137–45.
196. Reid AC, Silver RB, Levi R. Renin: at the heart of the mast cell. *Immunol Rev.* 2007; 217: 123–40.
197. Patella V, Marinò I, Arbustini E, Lamparter-Schummert B, Verga L, Adt M, Marone G. Stem cell factor in mast cells and increased mast cell density in idiopathic and ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 1998; 97: 971–8.
198. Chester AH. Mast cells feel the strain. *Cardiovasc Res.* 2002; 55: 13–5.
199. Reid AC, Mackins CJ, Seyedi N, Levi R, Silver RB. Coupling of angiotensin II AT1 receptors to neuronal NHE activity and carrier-

mediated norepinephrine release in myocardial ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H1448–H1454.

200. Mackins CJ, Kano S, Seyedi N, Schafer U, Reid AC, Machida T, Silver RB, Levi R. Cardiac mast cell-derived renin promotes local angiotensin formation, norepinephrine release, and arrhythmias in ischemia/reperfusion. *J Clin Invest.* 2006; 116: 1063–70.
201. Reid AC, Silver RB, Levi R. Renin: at the heart of the mast cell. *Immunol Rev.* 2007; 217: 123–40.
202. Silver RB, Reid AC, Brazin JA, Levi R. Mast Cells and Cardiovascular Disease. Joseph J, editor. Nova Science Publishers, Inc; New York: 2010. p. 5-32.
203. Koda K, Salazar-Rodriguez M, Corti F, Chan NY-K, Estephan R, Silver RB, Mochly-Rosen D, Levi R. Aldehyde dehydrogenase activation prevents reperfusion arrhythmias by inhibiting local renin release from cardiac mast cells. *Circulation* 2010; 122: 771–81.
204. Mackins CJ, Levi R. Therapeutic potential of H3-receptor agonists in myocardial infarction. *Exp Opin Invest Drugs* 2000; 9: 2537–42.
205. Imamura M, Poli E, Omoniyi AT, Levi R. Unmasking of activated histamine H3-receptors in myocardial ischemia: their role as regulators of exocytotic norepinephrine release. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994; 271: 1259–66.

206. Imamura M, Seyedi N, Lander HM, Levi R. Functional identification of histamine H₃-receptors in the human heart. *Circ Res.* 1995; 77: 206–10.
207. Reid AC, Brazin JA, Morrey C, Silver RB, Levi R. Targeting Cardiac Mast Cells: Pharmacological Modulation of the Local Renin-Angiotensin System. *Curr Pharm Des.* 2011 November; 17(34): 3744–3752.
208. Levi R, Smith NCE. Histamine H₃-receptors: A new frontier in myocardial ischemia. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000; 292: 825–30.
209. Imamura M, Lander HM, Levi R. Activation of histamine H₃-receptors inhibits carrier-mediated norepinephrine release during protracted myocardial ischemia - Comparison with adenosine A₁-receptors and α ₂-adrenoceptors. *Circ Res.* 1996; 78: 475–81.
210. Hatta E, Yasuda K, Levi R. Activation of histamine H₃-receptors inhibits carrier-mediated norepinephrine release in a human model of protracted myocardial ischemia. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997; 283: 494–500.
211. Schömig A, Kurz T, Richardt G, Schomig E. Neuronal sodium homeostasis and axoplasmic amine concentration determine calcium-independent noradrenaline release in normoxic and ischemic rat heart. *Circ Res.* 1988; 63: 214–26.

212. 212.Dart AM, Riemersma RA. Effects of acidosis on anoxic and exocytotic noradrenaline release from the heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1989; 21: 75–83.
213. Silver RB, Mackins CJ, Smith NCE, Koritchneva IL, Lefkowitz K, Lovenberg TW, Levi R. Coupling of histamine H₃ receptors to neuronal Na⁺/H⁺ exchange: A novel protective mechanism in myocardial ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98: 2855–9.
214. Ripley TL, Chonlahan JS, Germany ER. Candesartan in heart failure. *Clinical Interventions in Aging* 2006; 1(4) 357–366.
215. De Rosa ML. Cardio classics revisited – focus on the role of candesartan. *Vascular Health and Risk Management* 2010; 6 1047–1063.
216. Vanderheyden PML, Fierens FLP, Vauquelin G. Angiotensin II type 1 receptor antagonists. Why do some of them produce insurmountable inhibition? *Biochem Pharmacol.* 2000; 60: 1557.
217. Vauquelin G, Fierens FLP, Vanderheyden PML. Distinction between surmountable and insurmountable angiotensin II AT₁ receptor antagonists. In: Epstein M, Brunner HR, (Editors). *Angiotensin II receptor antagonists.* Philadelphia, PA: Hanley and Belful, 2000: 105–18.
218. Dahlöf B, Devereux RB, Kjeldsen SE, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint

reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet* 2002;359(9311): 995–1003.

219. Lithell H, Hansson L, Skoog I, et al. The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): principal results of a randomized double-blind intervention trial. *J Hypertens* 2003; 21(5): 875–886.
220. Julius S, Kjeldsen SE, Weber M, et al; VALUE trial group. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomised trial. *Lancet* 2004; 363(9426): 2022–2031.
221. World Health Organization: Cardiovascular disease: prevention and control. Accessed on-line at www.who.int, 2009 Apr.
222. Køber L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE, et al: A clinical trial of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor trandolapril in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Trandolapril Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group. *N Engl J Med.* 1995; 333(25): 1670–1676.
223. McMurray J, Solomon S, Pieper K, et al. The effect of valsartan, captopril, or both on atherosclerotic events after acute myocardial infarction: an analysis of the Valsartan in Acute Myocardial Infarction Trial (VALIANT). *J Am Coll Cardiol.* 2006; 47(4): 726–733.
224. Chen M, Hamada M, Hiasa G, Suzuki M, Ikeda S, Hiwada K. An angiotensin receptor blocker, candesartan, increases myocardial

apoptosis in rats with acute ischemia reperfusion. *Hypertens. Res* Vol.2001; 24: 323-329.

225. Weidenbach R, Schulz R, Gres P, Behrends M, Post H, Heusch G. Enhanced reduction of myocardial infarct size by combined ACE inhibition and AT1-receptor antagonism. *British Journal of Pharmacology* (2000) 131, 138 ± 144.
226. Jugdutt BI, Jelani A, Palaniyappan A, Idikio H, Uweira RE, Menon V, Jugdutt CE. Aging-Related Early Changes in Markers of Ventricular and Matrix Remodeling After Reperfused ST-Segment Elevation Myocardial Infarction in the Canine Model Effect of Early Therapy With an Angiotensin II Type 1 Receptor Blocker. *Circulation* 2010; 122: 341-351.
227. Suzuki H, Kusuyama T, Omori Y, Soda T, Tsunoda F, Sato T et al. Inhibitory Effect of Candesartan Cilexetil on Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction. *Int Heart J* 2006; 47: 715-725.
228. Kusuyama T, Yoshiyama M, Omura T, Nishiya D, Enomoto S, Matsumoto R, Izumi Y et al. Angiotensin Blockade Inhibits Osteopontin Expression in Non-infarcted Myocardium After Myocardial Infarction. *J Pharmacol Sci* 2005; 98: 283 – 289.
229. Hwang H, Arcidi JM, Hale SL, Simkhovich BZ, Belardinelli L, Dhalla AK et al. Ranolazine as an adjunct to cardioplegia: a potential new therapeutic application. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics* 2009; 14: 125-133.

230. Mizuno K, Niimura S, Tani M, et al. Hypotensive activity of TCV-116, a newly developed angiotensin II receptor antagonist, in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci.* 1992; 51: PL183–187.
231. Ogihara T, Nagano M, Mikami H, et al. Effects of the angiotensin II receptor antagonist, TCV-116, on blood pressure and the renin-angiotensin system in healthy subjects. *Clin Ther.* 1994; 16: 74–86.
232. Basgut B., Hiçdurmaz E., Abacıoğlu N. Kimyasal önkoşullayıcı 3-nitropropiyonik asidin kardiyoprotektif etkisinde cox-2'nin rolü. *Türk Farmakoloji Derneği 19. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Trabzon, Türkiye, 24-27 Ekim, Özet Kitabı*, s: 407, P-131, 2007.
233. Pataki T., Bak I., Kovacs P., Bagchi D., Das K. D., Tosaki A. Grape seed proanthocyanidins improved cardiac recovery during reperfusion after ischemia in isolated rat hearts. *Am J Clin Nutr* 2002;75:894–9
234. Shackebaei D., Godini AA., Abolghazi M., Majnoui MB., Hesari M. Protection of Ischemic and Reperfused Rat Heart by Aqueous Extract of *Urtica Dioica*. *Iranian Cardiovascular Research Journal* 2010;4:3.
235. Fukumoto T, Tawa M, Kitada K, Yamashita N, Ohkita M, Okamura T, Matsumura Y. Different effects of AT1 receptor antagonist and ET(A) receptor antagonist on ischemia-induced norepinephrine release in rat hearts. [J Cardiovasc Pharmacol](#) 2012;60(1):55-60.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Merve
Soyadı : SONGUR
Doğum Yeri ve Tarihi : Kırıkkale / 30.03.1986

Eğitimi

2004-2009 : Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
2000-2004 : Kırıkkale Anadolu Öğretmen Lisesi
1991-2000 : Kırıkkale Atatürk İlköğretim Okulu

Yabancı Dili : İngilizce