

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

RATLARDA LEVOSİMENDANIN MİYOKARD
İSKEMİ REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Nadide DEMİR AMAÇ

TEZ DANIŞMANI
DOÇ.DR. Gürsel Levent OKTAR

ANKARA

2012

TEZ TUTANAĞI

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı
Araştırma Görevlisi Dr. Nadide Demir Amaç'ın **“Ratlarda Levosimendanın
Miyokard İskemi/Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi”** konulu uzmanlık tezi
anabilim dalımızda incelenmiştir.

Adı geçen araştırma görevlisi tarafından hazırlanan ve 02.10.2012 tarihinde
teslim edilen tez, aşağıda adı yazılan tez değerlendirme jüri üyeleri tarafından
incelenerek oy birliği ile **“uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.”**

BAŞKAN

Prof. Dr. Ali Yener

Kalp Damar Cerrahisi ABD Başkanı

ÜYE

Doç. Dr. Levent Oktar
Kalp Damar Cerrahisi ABD
Öğretim Üyesi
Tez Danışmanı

ÜYE

Doç. Dr. Dilek Erer
Kalp Damar Cerrahisi ABD
Öğretim Üyesi

İçindekiler

Tez Tutanağı	1
KISALTMALAR	3
1. GİRİŞ	4
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. İskemi	7
2.2. Reperfüzyon	10
2.3. İnflamatuvar mediyatörler	12
2.4. Serbest Radikaller	13
2.4.1. Hücresel hasar oluşumu	15
2.4.2. Radikallere karşı savunma sistemleri	16
2.5. Miyokardiyal iskemi/reperfüzyon (I/R)	21
2.6. No-reflow fenomeni	23
2.7. Miyokardiyal stunning (sersemleme)	24
2.8. Miyokardiyal hibernasyon	24
2.9. Levosimendan	26
2.9.1. Kimyasal özellikleri	26
2.9.2. Farmakokinetik özellikleri	27
2.9.3. Vasküler ve miyokardial etkileri	28
2.9.4. Klinik profili, kullanımı ve güvenilirliği	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Denekler ve çalışma grupları	37
3.2. Cerrahi yöntem	38
3.3. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler	40
3.4. Biyokimyasal değerlendirmeler	40
4. BULGULAR	41
5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	46
6. TARTIŞMA	47
7. KAYNAKLAR	54
8. ÖZET	67
9. SUMMARY	69
10. ETİK KURUL ONAYI	71
11. ÖZGEÇMİŞ	72

KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
CABG	: Koroner arter baypas cerrahisi
FDE	: Fosfodiesteraz
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	: GlutatyonPeroksidaz
GSSH	: Yükseltgenmiş glutatyon
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
IL	: İnterlökin
IP	: İntraperitoneal
I/R	: İskemi/Reperfüzyon
MDA	: Malondialdehit
MI	: Miyokard İnfarktüsü
Na⁺-K⁺ ATP'az	: Sodyum-Potasyum Adenozin trifosfataz
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NO	: Nitrik oksit
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TNF	: Tümör nekrozis faktör

1. GİRİŞ

İskemik kalp hastalığı, günümüzde tüm dünyada mortalite ve morbidite nedenlerinin başında gelmektedir ve gelişmiş ülkelerde ölüm nedenlerinin yaklaşık yarısı kardiyovasküler sistem hastalıklarına bağlıdır.

Kardiyovasküler sistem hastalıkları içinde en sık görülen klinik durum koroner aterosklerotik kalp hastalığıdır. Bu hastalıkta miyokardı besleyen koroner kan akımı klinik ve patolojik belirti verecek kadar azalır. İskemi/reperfüzyon (I/R) hasarı ise, koroner arter hastalıkları, anjina pektoris, miyokard enfarktüsü (MI), balon anjioplasti, kardiyopulmoner bypass, trombotik stroke, oklüzif arter hastalıkları, aort/periferik arter klempleme, serebral iskemi, miyokütanöz doku transferi, hemorajik şok, organ transplantasyonu ve ampute olmuş dokunun reimplantasyonu gibi cerrahi girişimler ve trombolitik tedaviye bağlı oluşan patofizyolojinin temelidir.

İskemi, bir organın damar yatağındaki bir ya da daha fazla arterde kan akımının azalması veya kesilmesine bağlı olarak ortaya çıkar. İskemik dokularda enerji anaerobik metabolizma yoluyla sağlanmaya çalışılır ve oluşan metabolitler doku perfüzyonu olmadığından doku içinde birikir. Hipoksi sürdükçe hücre içi asidozis gelişir. Hücre zarındaki ATP bağımlı Na-K ATPaz pompasının fonksiyon kaybı ile hücre içine Ca^{++} , Na^{+} ve su girerek hücrel geçirgenlik bozulur. İskemi sonrasındaki reperfüzyon, inflamatuvar yanıt ile ilişkili intrasellüler adhezyon molekülü-1 (ISAM-1), interlökin 1-beta (IL-1 β), IL-8, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) gibi birçok transkripsiyon faktörlerinin

aktivasyonunu tetikler. Reperfüzyon sonrası kan akımının normale döndürülmesi ile metabolitlerin oksidasyonu sonucu oluşan maddeler sistemik dolaşım ile tüm vücuda yayılır (1).

İskemik sahanın reperfüzyonu ile oluşan en önemli toksik madde serbest oksijen radikalleridir (SOR) (2). Normal fizyolojik koşullarda, SOR oluşumu ve koruyucu antioksidan mekanizmaların bunları temizlemesi denge halindedir ve eğer antioksidan savunma sistemleri yetersiz olursa reperfüzyon hasarı gelişir. Mitokondriyal disfonksiyon ve hücre zarı hasarının şiddeti, doku hasarının geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olduğunu belirler (3).

Kalp, uzamış oksijen yokluğunda metabolik aktivitesini koruyan organizmadaki tek sistemdir. Ancak, koroner akım kesintisinin sürekli olması miyokardiyal iskemiye neden olmaktadır. Uzamış ciddi iskemi öncesindeki kısa süreli iskemi dönemlerinin hücre hasarını azalttığı gösterilmiştir ve bu durum iskemik ön koşullama olarak adlandırılır. Bu ön koşullamaya maruz kalan kalpte apoptotik hücre ölümünün azaldığı belirlenmiştir.

Reperfüzyon hasarı by-pass cerrahisi sonrasında sıklıkla görülür. Özellikle arteriyal kan akımının restorasyonu sırasında; yapısal, fonksiyonel ve biyokimyasal lezyonlar meydana geldiği saptanmıştır. Bu lezyonlar kimi zaman post-operatif aritmiyi başlatmaktadır ki bu da sıklıkla ciddi ölüm nedeni olarak gösterilmiştir.

Levosimendan bir kalsiyum duyarlaştırıcısı ve K-ATP kanal açıcısı olup, diğer kalsiyum hassaslaştırıcılarından farklı olarak sadece sistol başında kalsiyum

hassasiyeti yaptığından diastolik fonksiyonlar da korunur. Ek olarak ATP duyarlı K^+ kanallarını açarak koroner vazodilatasyon ve kalpte ön-art yük azalması sağlar. Hücre içi kalsiyum artışına bağlı hücre zedelenmesine yol açmaz. Levosimendan uzun etkili bir inodilatördür. Sol ve sağ ventrikül fonksiyonlarını iyileştirir. Yirmi dört saatlik infüzyonla kullanılır, infüzyon tamamlandıktan sonraki etkisi yedi güne kadar devam edebilir. Kontraktilite artışı ile birlikte vazodilatasyon yapar. Kalp debisi ve atım hacmi artar, pulmoner kapiller “wedge” basıncı ve pulmoner arter basıncı düşer, sistemik ve pulmoner damar direnci azalır, koroner vazodilatasyon oluşur. Levosimendan yüksek afinite ile troponin-C ye bağlanır ve Ca^{++} -troponin C kompleksini stabilize ederek kontraksiyona neden olur. Buradaki afinite, dolayısıyla hassasiyet hücre içi Ca^{++} konsantrasyonlarıyla pozitif korelasyon gösterir, dolayısıyla Ca^{++} düzeylerinin düştüğü relaksasyon fazını zayıflatmaz, lusitropiyi bozmaz. Konvansiyonel inotroplardan farklı olarak oksijen tüketimini, aritmojenik etkiyi ve nörohormonal aktiviteyi arttırmaz. İnotropik etkisinin yanı sıra anti-iskemik etkisi olan ATP bağımlı K^+ kanallarını açar. Bu özelliğinden dolayı da iskemik kalp açısından riskli olan konvansiyonel inotroplara üstünlük sağlar. Bu çalışmanın amacı sol ön inen koroner arter (LAD) iskemisi öncesi, intravenöz olarak uygulanan levosimendanın miyokardı iskemi ve reperfüzyon hasarına karşı daha iyi koruyup korumadığının gösterilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

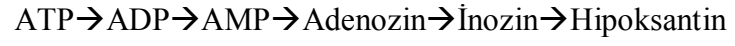
Kalp beslenmesi kardiyak cerrahilerde intraoperatif olarak kesintiye uğrar. Bu nedenle miyokardiyal iskemi ve miyositlerde olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır. Kardiyak beslenmenin kesilmesinden itibaren yaklaşık 20 dakika içinde irreversible miyokardiyal hasar oluşmaya başlar (4). İ/R hasarına en sensitif sellüler yapılar zar lipidleri, nükleik asitler, proteinler ve DNA molekülleridir (5).

2.1. İskemi

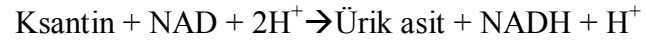
İskemi tam olarak, dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin uzaklaştırılamamasıdır. İskemi ile birlikte oksijen bağımlı hücrelerde hipoksik veya anoksik hasar oluşur. İskemi ve hipoksiste mitokondrideki oksidatif fosforilasyon engellenir ve ATP gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (5). Anaerobik glikoliz sonucu oluşan laktat ve hasarlanmış lizozomlardan salınan H^+ iyonu etkisiyle hücre içi pH düşer, ATP oluşumu yavaşlar ve durur. ATP azlığı, hücre zarında aktif Na^+-K^+ ATP'az pompasında yetmezliğe neden olarak hücre içinde Na^+ tutulmasına ve hücre dışına K^+ atılmasına neden olur ve neticede hücrel şişme meydana gelir. ATP sentezinin azalması ile glikoliz aktivitesi artar ve redüksiyon sistemleri aktive olur. Labil demir redükte formu ve intrasellüler Ca^{++} artar (6). Bu artışa paralel olarak, fosfolipazlar, proteazlar ve endonükleazlar gibi enzimler aktifleşir.

Neticede plazma ve mitokondri membranlarının permeabilitesi artar ve membran potansiyeli kaybolur. Sonuçta anoksik hasara bağlı nekrotik hücre ölümü gerçekleşir (2).

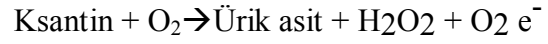
Hipoksik hücrelerde ATP kullanımı hala devam ettiği için ADP ve adenozin oluşur ve adenozin hücre dışına çıkarak hipoksantine dönüşür (7).

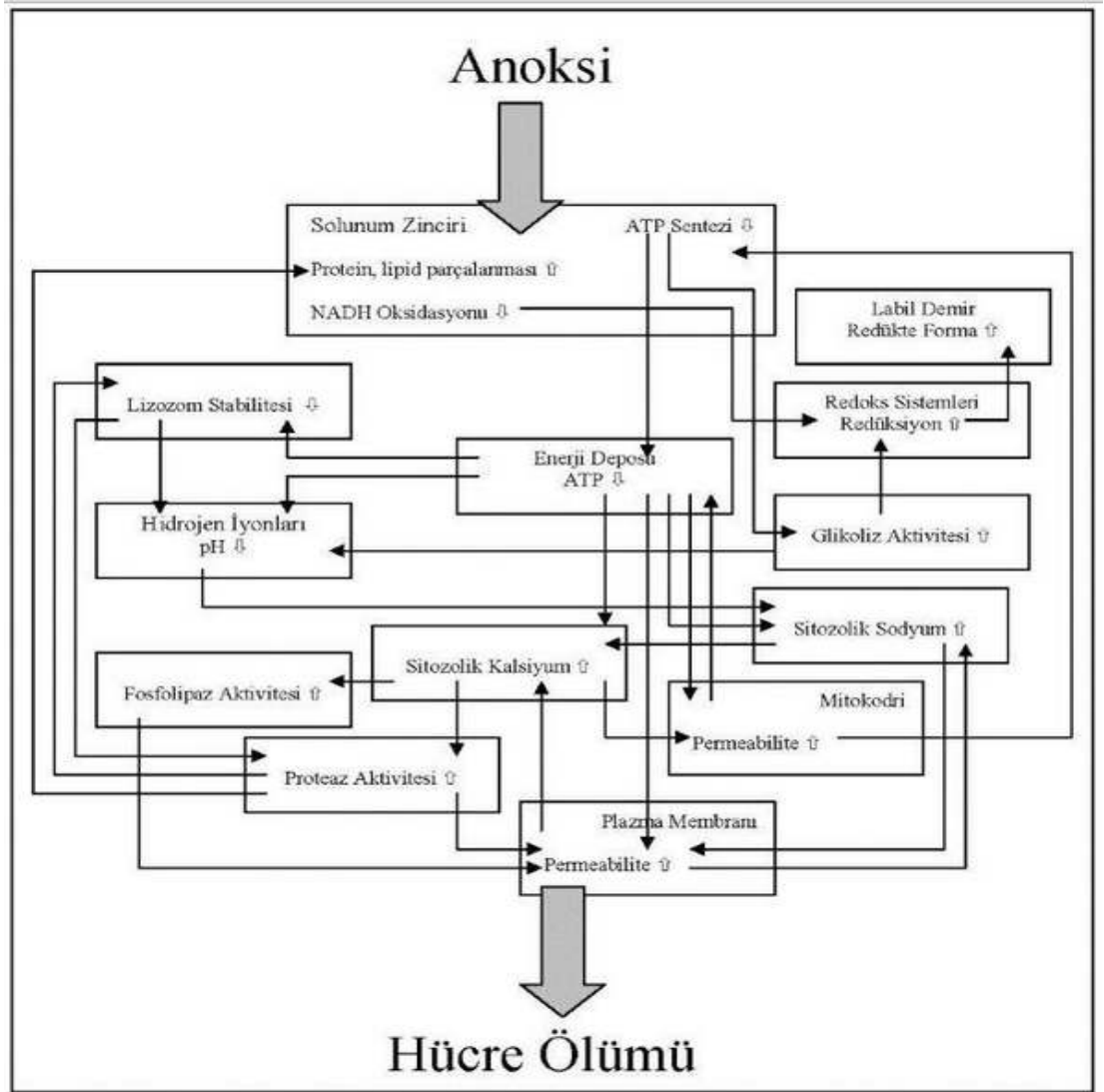


Hipoksi ya da iskemide, ortamda oksijen (O_2) olmadığı için;



reaksiyonu oluşur. Non-iskemik ortamda, ortamdaki O_2 nedeniyle;





Şekil 1. İskemi (1)

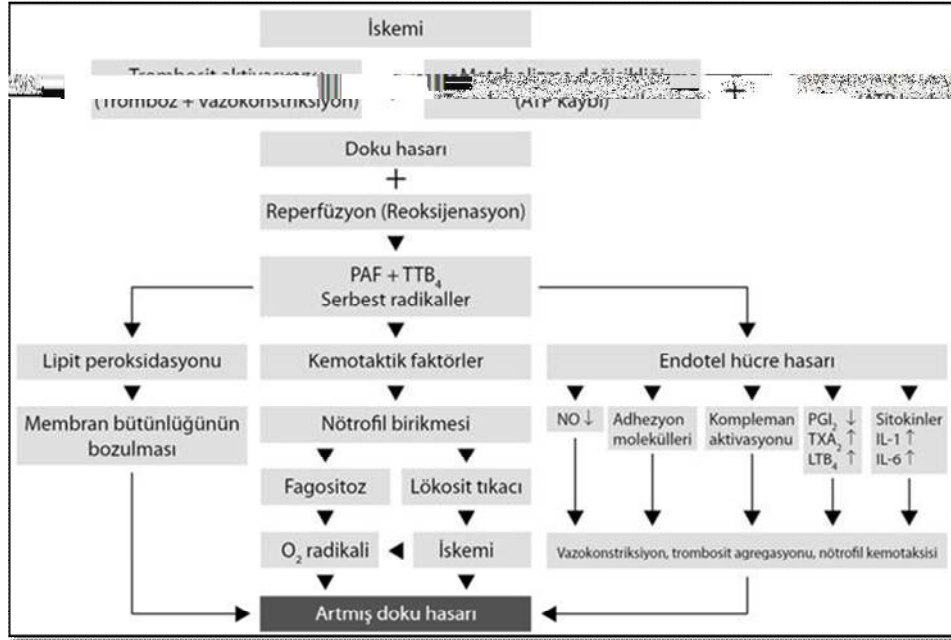
2.2. Reperfüzyon

Reperfüzyon, iskemiye neden olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuya kan akımının yeniden düzenlenmesidir. Reperfüzyon iskemik hasarın düzeltilebilmesi için gereklidir. Ancak oksijenize kanın iskemik dokuya dönüşü dokuyu daha da fazla zedeleyen bir süreci başlatır. Reperfüzyon sürecinde oluşan hasarın büyüklüğü iskemi süresi ve şiddeti ile doğru orantılıdır.

Miyokard veya diğer hücrelerde iskemi sırasında oluşan toksik hasar oksijenin dokulara yeniden verilmesi ile daha da şiddetlenmektedir. Dokuya oksijen sunulması sonucu oluşan bu duruma oksijen paradoksu denir (8).

İskemik dokunun reperfüzyonu ile toksik metabolitler uzaklaştırılır. Ancak, bu kısmen oksijenasyonu azalmış metabolitlerin sistemik dolaşıma geçmesi sonucu hücrenin membranı ve diğer yapılarında hasara neden olur. Toksik oksijen türevlerinin büyük ölçüde reperfüzyon sırasında iskemi alanına infiltre olan polimorfonükleer lökosit (PNL) tarafından yapıldığı düşünülmektedir (9). Reperfüzyon oluşmazsa öldürücü iskemik hasar gelişir fakat toksik oksijen türevleri görülmez.

Reperfüzyonu takiben inflamatuvar yanıt meydana gelir (10). İnflamatuvar yanıtta endotel hücreleri, nötrofiller, makrofajlar, lenfositler, plateletler aktive olur. Koagülasyon kaskatının aktivasyonu ve mediatörlerin salınımı sonucu mikrovasküler perfüzyon disfonksiyonu oluşur. Reaktif oksijen molekülerinin oluşumu artar.



Şekil 3. I/R hasarında yer alan olaylar dizisi

İskemi/reperfüzyon hasarından korunma yöntemleri (2)

1. Kademeli reperfüzyon
2. İskemik önkoşullama
3. Nötrofillerin temizlenmesi
4. Hipoksik reperfüzyon
5. Antioksidanlar
 - a. SOD
 - b. Katalaz
 - c. Tioller
 - d. E vitamini
6. İlaçlar ve diğer terapötik girişimler
 - a. Kalsiyum antagonistleri
 - b. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü (ACEİ)
 - c. Allopurinol

- d. Demir şelasyon
- e. Fosfokreatin
- f. Lidoflazin

2.3. İnflamatuar mediyatörler

Histamin, inflammatuar yanıtı aracılık eden kimyasal mediyatörlerden ilk keşfedilendir. Günümüzde ise bu araçların sayıları giderek artmaktadır. Mediyatörler, hasarlı dokudan, hücrelerden veya plazmadan köken alan çeşitli kimyasal maddelerdir. Bunların bazı genel özellikleri şunlardır (11):

1. Plazmadan kaynaklı mediyatörler (örn. komplemanlar) biyolojik olarak aktif hale geçmek için bazı proteolitik değişikliklere uğrarlar. Sellüler mediyatörler normalde granüllerde bulunur ve ihtiyaç olduğunda salınır veya sentez edilirler (örn. prostoglandinler).
2. Aktivasyon veya salınma sonrasında çoğu kimyasal değişikliğe uğrar (örn. araşidonik asit metabolitleri) veya inaktive edilir (örn. Bradikininin kininaz ile inaktivasyonu).
3. Hedef hücredeki spesifik reseptörler aracılığıyla aktivite gösterirler.
4. Hedef hücrede aynı veya karşıt etkili sekonder mediyatör çıkışını uyarabilirler.

Spesifik kimyasal mediyatörler

1. Vazoaktif aminler: Histamin, serotonin
2. Plazma proteazları
 - a. Kininler

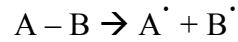
- b. Kompleman sistemi
 - c. Koagülasyon-fibrinolitik sistem
- 3. Araşidonik asit metabolitleri
 - a. Siklooksijenaz yolu
 - b. Lipoksijenaz yolu
- 4. Lökosit ürünleri
- 5. Trombosit Aktive Eden Faktör (TAF)
- 6. Sitokinler
- 7. Growth Faktörler
- 8. Diğer mediyatörler

2.4. Serbest Radikaller

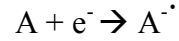
Serbest oksijen radikalleri, tüm aerobik hücrelerde oluşan, moleküler oksijen ve onun parçalarını içeren, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunan, bu nedenle çok reaktif olan, stabil olmamaları nedeniyle çok kısa ömürlü olan yapılardır (12). Unstabil yapıları nedeniyle diğer moleküllerle kolaylıkla elektron alışverişi yaparak onların kararlı yapılarını bozarlar (13). Elektriksel yükleri pozitif, negatif veya nötr olabilir ve diğer moleküllerle reaksiyona girme olasılıkları, elektriksel yüklerine bağlıdır (14). Hücre bileşenlerinin yapılarında değişiklik oluşturarak hücre ölümüne dahi neden olabilirler. Serbest radikallerin oluşum ve yıkım hızı dengede kaldığı sürece organizmada hasar oluşturmazlar (15, 16).

Serbest radikaller üç şekilde meydana gelmektedir: (2)

- a. Homolitik ayrılma: Molekölün kovalent bağının ayrılması sonucu her iki atomun, bağı oluşturan elektronlardan birini alması:



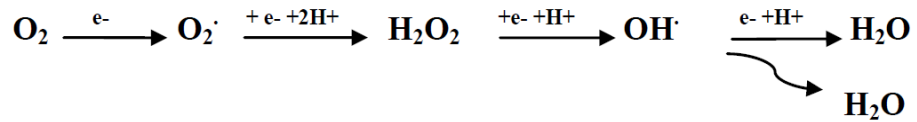
- b. Normal bir moleküle elektron eklenmesi:



- c. Normal bir molekülden elektron kaybı:



Serbest oksijen radikalleri, moleküler oksijen ile H₂O arasındaki reaksiyonda üç ara basamakta oluşur. Bir elektronun oksijene transferi ile süperoksit radikali oluşur. Oksijen, iki elektron ve iki hidrojen ile reaksiyona girerek hidrojen peroksit (H₂O₂) oluşturur. İki süperoksit molekülü iki hidrojenle reaksiyona girerek H₂O₂ ve oksijen oluşturur.



Tablo 1. Oksijen bileşikleri (2)

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	OH[·]	Hidrojen Peroksit	H₂O₂
Hidroperoksil	H O₂[·]	Singlet Oksijen	O₂
Peroksil	ROO[·]	Ozon	O₃
Süperoksit	O₂^{·-}	Hipoklorid	HOCl
Nitrik oksit	NO	Hidroperoksit	LOOH
Azot dioksit	NO₂	Peroksinitrit	ONOO[·]
Alkoksil	RO[·]		

2.4.1. Hücresel hasar oluşumu

Serbest oksijen radikalleri, apoptozis ve hücre nekrozunu uyarabilir. Hücre membranları doymamış yağ asitlerinden zengindir ve radikaller tarafından hasara uğratılır. Membran yapısının değişmesi sonucu akışkanlık kaybı, elektriksel gradient kaybı ve zar fonksiyonlarında bozulmalar oluşur (17-19).

Proteinler ve nükleik asitler doymamış yağ asitlerine göre daha az hasara uğramaktadır. Proteinlerin oksidasyonu ile yapı ve fonksiyonları önemli ölçüde değişmektedir. Aşırı miktardaki serbest radikaller kardiyomiyositlerin homeostazisinde önemli rol alan pek çok proteini etkilemektedir. Membran iyon kanallarındaki değişiklik sonucu K⁺, Ca⁺⁺, ve daha az olarak Na⁺ geçirgenliğinde değişiklikler oluşmaktadır. Na⁺/ Ca⁺⁺ değişimi SOR varlığında uyarılabilmektedir.

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP'az ve Ca^{++} ATP'az aktiviteleri oksidatif strese azalmaktadır. Kontraktil proteinlerin oksidatif modifikasyonu hemodinamik yetmezlikle sonuçlanır. Protein oksidasyonu sonucu glutatyon sentetazda azalma, protein karbonilde artış gözlenmektedir (17-19). İyonize edici serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açabilir (19-21). Hücresel makro moleküllerdeki hasarlanma mekanizmaları şunlardır:

1. Lipid peroksidasyonu
2. Protein oksidasyonu
3. DNA
4. Kovalen bağlanma
5. Kalsiyum

2.4.2. Radikallere karşı savunma sistemleri

Memeli hücrelerini oksidanlara karşı savunan beş mekanizma önemlidir (19, 23):

1. Metal iyonlarının bağlanması ile toksik radikal oluşumunun önlenmesi
2. Oluşan radikallerin toplanması ve bastırılması
3. Radikal zincir reaksiyonlarının kırılması
4. Hedef molekülün hasar sonrası tamiri veya tamir edilemeyecek durumdaki moleküllerin uzaklaştırılması
5. Antioksidan kapasitenin artırılması

Tablo 2. Major endojen antioksidanlar ve etkileri (19)

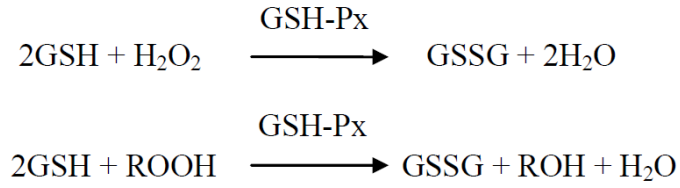
Adı		Etkisi
SOD -Cu, ZnSOD -MnSOD	Sitoplazma Hücre yüzeyi Mitokondri	Oksijenin hidrojenperoksit'e dismutasyonunu katalizler $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Katalaz	Peroksizom Mitokondri membranı	$H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Glutasyon peroksidaz	Sitoplazma	$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSH$
Glutasyon	Hücre içi	Hücrel indirgen
Koenzim Q10	Hücre membranı	Aktif elektron taşıyıcısı
E vitamini (α-tokoferol)	Sitoplazma ve plazma	Lipid peroksidasyon zincirlerini kırma ve LDL reaksiyonu
β karoten (pro-vitamin A)	Plazma	LDL oksidasyonunun inhibisyonu
C vitamini (askorbik asit)	Sitoplazma ve plazma	Antioksidan olarak direkt veya E vitamini için kofaktör olarak

Antioksidanlar iki gruba ayrılır (2):

1. Enzimatik olanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutasyon peroksidaz
2. Enzimatik olmayanlar: C vitamini, E vitamini, melatonin, bazı β -blokerler (metoprolol, karvedilol), amiodaron, karotenoidler, tiyol antioksidanlar (glutasyon, tiyoredoksin ve lipoik asit), naturel flavanoidler

Glutasyon peroksidaz

Daha çok sitozollerde bulunur. H_2O_2 ve organik peroksitleri redükte ederek membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif hasara karşı korur. Glutasyon peroksidazlar peroksitlere iki elektron ekleyerek selenoller (Se-OH) oluştururlar. Selenoenzimler, antioksidan özellikleri sayesinde peroksitleri Fenton reaksiyonu aracılığıyla elimine ederler. GSH-Px'in aracılık ettiği katalitik reaksiyonun substratları H_2O_2 ve organik peroksit ROOH'dır (23).



GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli görevlere sahiptir. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkin antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, H_2O_2 'nin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur (24).

Glutasyon

Tiyol grubu antioksidanlardan biridir. Tripeptit yapıda olup sitozol, çekirdek ve mitokondride yüksek oranda bulunur. Redükte formu GSH (glutasyon); okside formu GSSH (glutasyon disulfid)'dir. GSH çekirdekte DNA yapımı ve onarımı

için gerekli olan sülfhidril proteinlerinin redükte durumunun sürdürülmesinde görev alır (23).

Süperoksit dismutaz (SOD)

Başlıca endojen antioksidan olarak görev yapar. Oksijen üreten tüm mikroorganizmalarda bulunan metalloproteindir ve oksijen tkerimi yüksek dokularda aktivitesi artmıştır. Substratı olan süperoksitin H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar (2).

İnsanlarda SOD'ın üç tipi vardır:

SOD₁: Cu-Zn SOD: Sitoplazmada bulunur.

SOD₂: Mn-SOD: Mitokondride bulunur ve antitümör aktivitede etkindir.

SOD₃: ES-SOD: Ekstrasellüler sıvıda bulunur. Heparin ve heparin sülfat gibi glukozaminoglikanlara afinitesi yüksektir. Memeli dokularında regülasyonu primer olarak sitokinlerce sağlanır (34).

SOD aktivitesi ile ortaya çıkan hidrojen peroksit H_2O_2 'ya GSH-Px veya katalaz tarafından dönüştürülür. SOD aktivitesinde artış olduğunda nötralizasyon için gerekli GSH-Px aktivitesinin de artması gerekir. Bu enzimlerin aktivitelerinin denge içinde sürdürülmesi hücreyi oksidatif hasardan korur. SOD, hücredeki SOR toksisitesinin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Süperoksit iyonlarının artmış oluşumuna yanıt olarak SOD aktivitesi artar. Bu enzimlerin aktiviteleri arasındaki dengesizliklerin hücrelerdeki oksidatif stresi yansıttığı öngörülmektedir

Katalaz

Bütün memeli hücrelerinde bulunan peroksizom enzimidir. Aktif merkezinde dört adet hem grubu içeren tetramerik yapılı bir hemoproteindir. Hidrojen peroksiti H_2O ve moleküler oksijene metabolize ederek reperfüzyon hasarından korur, lipid peroksidasyonunu ve vasküler hasarı baskılar (6). Uzun süreli I/R'de antioksidan enzim eksikliğinin kompanse edilememesine bağlı olarak bu enzimin aktivitesinde azalma ve hasar oluşur.

Malondialdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonunu değerlendirmekte kullanılan ve serbest radikal hasarını gösteren bir lipid peroksidasyon yan ürünüdür. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelir Günümüzde oksidatif stresin bir belirteci olarak kullanılmakta olup, doku hasarının en iyi göstergesidir (19,42). İskemi/reperfüzyon hasarının şiddetini değerlendirmede yaygın kullanılan geleneksel yöntemlerden biridir, ancak duyarlılığı ve özgünlüğü düşüktür (43).

Hücre membranları yağ asitleri ve fosfolipidlerden oluşmaktadır. Serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonuna yol açarak fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olabilir. Lipid peroksit, hücre membranlarında rüptür, iyon kanallarında ve pompalarda değişikliğe neden olur. İntrasellüler Ca^{++} konsantrasyonundaki artış, Ca^{++} bağımlı fosfolipaz, proteaz ve endonükleaz gibi bazı enzimlerin aktivasyonuna neden olmaktadır.

2.5. Miyokardiyal iskemi/reperfüzyon (I/R)

Miyokardiyal iskemi ile ateroskleroz veya tromboembolizm sonucu gelişen akut MI, perkütan translüminal koroner anjiyoplasti (PTCA), koroner arter baypas cerrahisi (CABG), aort cerrahisi, kardiyak transplantasyonlar gibi çeşitli fizyolojik veya terapötik girişim durumlarında sıklıkla karşılaşılmaktadır.

İskemik miyokardda enerji dengesi kısa sürede bozulur ve sekiz saniye içinde anaerobik metabolizmaya geçilir. İskemik sahada kontraksiyonlar azalır ve membran potansiyelinin azalması ile EKG değişiklikleri ortaya çıkar (25). Miyokardiyal iskemi için kritik zaman 20 dk olarak kabul edilir. 20 dk'dan daha kısa süreli olan iskemilerden sonra sağlanan reperfüzyon durumlarında doku hasarının kanıtı olan herhangi bir yapısal veya biyokimyasal bulgu saptanmamıştır. 20 dk'dan daha kısa süreli iskemiler sonrasındaki reperfüzyonda, etkilenen dokularda hücre yapısı, fonksiyonu ve metabolizmasında geçici değişiklikler oluşur. Bu değişiklikler miyokardiyal kontraktilitede depresyona yol açar (26). 10 dk'lık iskemi sonrasında intrasellüler laktat ve H^+ birikimi ile pH 5,8'e kadar düşer. Hücre içinde osmotik olarak aktif maddelerin birikimi ile hücrel şişme oluşur. Miyokard hücresinde biriken adenosin difosfat (ADP), adenosin ve inozine kadar hidrolize uğrar. Bu işlem sırasında ortamda büyük oranda proton üretilir. Hücre pH'sının azalması (asidoz) sırasında glikoliz inhibe olur. Genellikle ciddi ve uzun süreli iskemi ile ATP depolarının %80 veya daha fazlası kaybolursa, hücre membranının iyon bütünlüğünü koruma ve idame

ettirme mekanizması kaybolur. İskemik alana kan akımı yeniden sağlanmazsa geriye dönüşümsüz miyokard hasarı (nekroz) meydana gelir (27).

Yirmi dk'dan daha uzun süren iskemiden sonra oluşan reperfüzyon hasarında miyokardiyal hücreler ölür. Doku nekrozu iskemik miyokardın subendokardiyal bölgesinden başlar ve subepikardiyal bölgeye doğru uzanır. Koroner kan akımının yeniden sağlanması sonucu iskemik dokudan toksik oksijen metabolitleri salınır. Serbest oksijen radikalleri tarafından oluşturulan hücre membran ve sarkoplazmik retikulum hasarı intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu artırır, kontraktil elemanların kalsiyuma karşı duyarlılığı azalır ve miyosit kontraktilitesi deprese olur (7, 21, 28).

Kalp kasında uzamış iskemiden sonra yaşayan hücrelerde reperfüzyon ile aerobik metabolizmaya geçilir. Hücrede serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasıyla medikal tedaviye dirençli ciddi aritmi, mikrovasküler hasar, miyokardiyal stunning ve miyokardiyal hibernasyon meydana gelir (29).

Miyokardiyal I/R olaylarında serbest oksijen radikali oluşumunda ksantin oksidaz, mitokondriyal sitokrom oksidaz yolu, siklooksijenaz, lipoksijenaz ve katekolamin oksidasyonu gibi intrasellüler enzimatik mekanizmalar gerçekleşir. İskemik dokunun reperfüzyonu ile hasarlı bölgede nötrofiller hızlıca birikir ve ekstravasküler sahaya geçerek serbest oksijen radikali oluşumu ile proteolitik enzimlerin salınımına yol açar ve canlı hücreler üzerinde olumsuz etki oluştururlar. GSH redoksu, en önemli kardiyak antioksidan savunma mekanizmasıdır. GSH-Px elektron vericisi olarak GSH'ı kullanarak H_2O_2 ve lipid

peroksitleri metabolize eder. Oluşan reaktif oksijen radikalleri ile GSH'ın reaksiyonu GSSH oluşumuna öncülük eder. Oluşan GSSH, glutatyon redüktaz tarafından GSH'a dönüştürülür. Miyokardiyum reperfüzyonla birlikte fazla miktarda oluşan oksijen radikallerine maruz kalır, bu durum koruyucu sistemleri baskılayabilir (7, 19, 20).

Miyokardda iskemi sonrası reperfüzyon ile inflamatuvar süreç de başlar. Aktive lökositler iskemik doku içine girerler. Aktive nötrofiller aktive plateletlerle birlikte hasarlanmış damar duvarına yapışırlar ve membrana bağımlı NADPH oksidaz tarafından süperoksit oluştururlar (30). Aktive nötrofiller, IL-1 β ve TNF- α gibi iki önemli proinflamatuvar sitokinin kaynağıdır. Reperfüzyondan sonra hücre içi pH'da azalma sonucu endotel hücrelerinde ödem ve önemli şekil değişiklikleri oluşur. Endotelde yapılan fonksiyonel çalışmalarda, hipoksinin endotel hücrelerinde hasar oluşturduğu görülmüştür. Arterin yeniden açılmasından sonraki 150 sn. içinde NO'nın endotelden salınımında belirgin artış gözlemlenmektedir. NO, platelet agregasyonunu ve plateletlerde GMP-siklaz'da direkt etki ile degranülasyonu inhibe eder. Aktive endotel, lökositler ve monositlerde adezyon moleküllerinin oluşumu azalır (31).

2.6. No-reflow fenomeni

Kan akımı duran koroner arterde yeterli antegrad akımın tekrar sağlanmasına karşın miyokardda gerekli perfüzyonun sağlanamadığı durumdur (32) ve mikrovasküler perfüzyonun yetersizliğini gösterir (2). İskemik dokudaki en hassas

bölgelerden biri damar endotelidir ve iskemi uzadıkça no-reflow gelişme olasılığı artar.

2.7. Miyokardiyal stunning (sersemleme)

Miyokardiyal stunning, iskemi sonrasında oluşan, kontraktıl disfonksiyondaki geçici uzamadır. Reperfüzyon sonrası irreversibl hasar olmamasına ve koroner perfüzyonun normal veya normale yakın olmasına rağmen devam eden mekanik disfonksiyondur (33). Oluşumuna yönelik çeşitli hipotezler vardır (21, 33) ve bunlardan en geçerlisi oksijen ve kalsiyum toksisitesidir. Reperfüzyonda serbest oksijen radikalleri savunma mekanizmalarının kapasitesini aşar ve bu durum oksidatif stres ile sonuçlanır. Sarkoplazmik retikulum veya sarkolemmal seviyede membran hasarı oluşur ve kalsiyum homeostazisi değişir. Hücresel seviyede histopatolojik anormallikler saptanmaz. Tekrarlayan stunning'e bağlı sol ventrikül disfonksiyonunda; koroner arter hastalarında aynı bölgede sık tekrarlayan iskemi atakları sonucu miyokardiyal hibernasyon gelişmektedir.

2.8. Miyokardiyal hibernasyon

Uzun süreli azalmış kan akımı veya artmış oksijen talebi ile seyreden uzamış kontraktıl disfonksiyondur. Miyokardiyal stunning'in tekrarlayıcı ataklarından sonra ortaya çıkar. Başlangıçta kronik stunning olarak değerlendirilmiştir. Stunning ve hibernasyonun ortak özelliği sol ventrikül disfonksiyonunun reversibl olmasıdır. Tekrarlayan stunningin son safhası ve daha az stabil, daha az reversibl bir formu olarak kabul edilir. Biyopsilerde miyofibril içeriğinin kaybı, hücresel

şişme ve artmış glikojen içeriği, kontraktil proteinlerde bozulma ve miyokardiyal apoptoziste artış saptanmıştır.

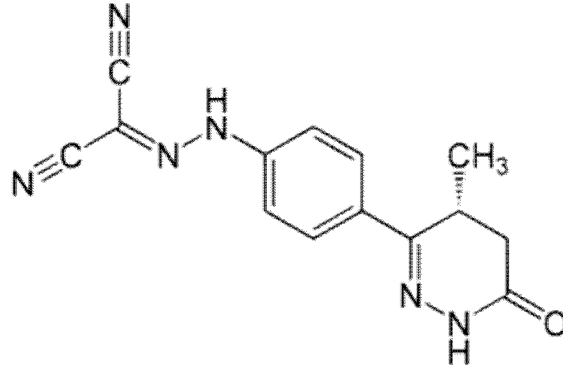
Tablo 3: Miyokardiyal stunning ve hibernasyon arasındaki farklar

	Miyokardiyal stunning	Miyokardiyal hibernasyon
Özellikleri	a) Şiddetli iskemiye izleyen saatler, günler veya haftalar içinde oluşan geçici kontraktil disfonksiyondur b) Koroner kan akımı normal olsa bile kontraktil fonksiyonlar depresedir	a) Kronik bir olaydır b) Koroner kan akımı azalmıştır c) Reversibl miyokard vardır d) Kan akımı normale döndürüldüğünde anormallik geriye döner
Mekanizması	a) Oksijen kaynaklı serbest radikaller b) Kalsiyum homeostazisinde bozulma	a) Koroner kan akımındaki şiddetli azalma b) Miyokardda tekrarlayan reperfüzyon olayları
Tedavisi	a) Oksijen radikal temizleyiciler(scavenger) b) Ca kanal blokerleri c) Adenozin agonistleri d) KATP kanal açıcıları Volatil anestetikler (izofluran)	a) Hastanın semptomatik durumu önemlidir b) Koroner anatomisinin angioplasti veya cerrahiye uygunluğu önemlidir c) Canlı miyokard dokusunun varlığının gösterilmesi önemlidir d) Revaskülarizasyonsuz medikal tedavi hibernasyonda yetersiz kalmaktadır e) Gen tedavisi f) İskemik kalp hastalığına bağlı sol ventrikül fonksiyonlarındaki bozulma KABG ile düzeltilmektedir

2.9. Levosimendan

2.9.1. Kimyasal özellikleri

Levosimendan, orta derecede lipofilik bir piridazinon dinitril türevidir. Kimyasal formülü $C_{14}H_{12}N_6O$ ve yazılımı $(-)-(R)-[[4-(1,4,5,6-tetrahydro-4-metil-6-okso-3-piridazinil)fenil]hidrazono]propanedinitril$ 'dir (Şekil 2.2). Moleküler ağırlığı 280.285 g/mol'dür.



Şekil 4. Levosimendanın kimyasal formülü

Kalsiyum duyarlaştırıcı, kardiyotonik, pozitif inotropik, vazodilatatör, orta derecede lipofilik ve zayıf asidik özelliklerde bir ilaçtır. Doza bağımlı olarak kalp debisi ve stroke volümünde artışa, pulmoner kapiller uç basınçta, ortalama arteriel basınçta ve toplam periferik rezistansta azalmaya yol açar. Önerilen doz aralığında levosimendan, hemodinamik etkileri kendisi ile benzer olan ve terapötik aktiviteye sahip bir metabolit ortaya çıkarır (OR- 1896). Dolayısıyla bu etkiler, 24 saatlik levosimendan infüzyonunun kesilmesinden sonra 7-9 gün kadar devam eder. Tavsiye edilen infüzyon hızlarında plazma ketakolamin düzeylerini yükseltmez (34).

2.9.2. Farmakokinetik özellikleri

Levosimendan, hem sağlıklı gönüllülerde hem de kalp yetmezliği hastalarında hızlı ve 0.05-0.2 µg/kg/dk terapötik doz aralığında lineer bir farmakokinetik seyir gösterir. Etkisi hemen başlar, sürekli sabit dozda infüzyon yapıldığında 4. saatte, yükleme dozunun infüzyonuyla 12. dakikada pik plazma seviyelerine ulaşır. Başta albümin olmak üzere %97-98 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Klirensi 3.0 ml/dk/kg olup, doza bağımlı değildir. Karaciğerde inaktif sistein ve sisteinilglisin türevlerine konjugasyonla ve böbreklerden ekskresyon yoluyla elimine olur. Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 1 saattir (35). Dozun %95'ten fazlası 1 hafta içinde elimine edilir, %54'ü idrar ve %44'ü feçesle atılır. Levosimendan, tamamen metabolize olur, ihmal edilebilir miktardaki değişmemiş ilaç (dozun < %0.05'i) idrarla atılır. Levosimendan dozunun yaklaşık %5'i bağırsaklarda indirgenerek aktif aminofenilpiridazinon'a (OR-1855) ve daha sonra daha aktif olan OR-1896'ya asetile edilir. OR-1896'nın potent inotropik, kronotropik ve vazodilatatör etkileri vardır (36). OR-1855 ve OR-1896 metabolitleri yavaş oluşur ve yavaş atılır. Plazma doruk konsantrasyonuna levosimendan infüzyonunun kesilmesinden sonraki 2 gün içinde ulaşırlar ve plazma proteinlerine bağlanma oranları %40'dır. OR-1855 ve OR-1896 metabolitlerinin yarı ömrü yaklaşık 75-80 saattir (36). Böylece, levosimendanın hemodinamik etkileri ilacın infüzyonu kesildikten sonra bile uzun süre devam eder. Tüm hemodinamik etkilerin süresi tam olarak bilinmese de kan basıncı üzerine etkileri genellikle 3-4 gün, kalp hızı üzerindeki etkisi 7-9 gün devam eder. Hafif-orta derecede böbrek ve karaciğer bozukluğu olan hastalarda eliminasyonu azalacağı için levosimendan

dikkatli kullanılmalıdır. Levosimendanın miyokard ve vasküler yatak üzerine olan etkileri birbirinden farklı fakat birbirini tamamlayan mekanizmalarla meydana gelir. Sonuçta bu iki sistem üzerindeki etkiler, kalp yetmezliği tedavisini olumlu yönde etkiler.

2.9.3. Vasküler ve miyokardial etkileri

Levosimendan kalp yetersizliğinin akut alevlenmesinin kısa dönem tedavisi için geliştirilmiş, myokardın kalsiyuma olan duyarlılığını artıran ve vazodilatatör etkiye sahip bir inotropik ajandır (37). Teorik olarak bu ajanlar, hücre içi kalsiyum ve cAMP düzeylerini artırmaksızın, troponin C'ye bağlanarak kontraktıl proteinlerin kalsiyuma duyarlılığını artırarak kardiyak performansı iyileştirirler (38). Bu nedenle cAMP bağımlı ajanların olumsuz etkilerini taşımadıkları ileri sürülmüştür (39). Ayrıca levosimendan fosfodiesterazı selektif olarak inhibe eder. Diğer kalsiyum duyarlılaştırıcıların fosfodiesteraz inhibisyonu terapötik dozlarda izlenirken, levosimendanın bu etkisi yalnızca terapötik düzeyin üzerindeki dozlarda izlenmektedir (39). Levosimendanın pozitif inotropik etkisi kalsiyum konsantrasyonuna bağlıdır. Sitolik kalsiyum konsantrasyonunun daha fazla olduğu sistolde troponin C'nin N-terminal ucuna bağlanıp, levosimendan bağlanma yerinin ortaya çıkmasına neden olur. Böylece kalsiyum-troponin C bağlantısının stabilize eder (40). Buna karşın, kalsiyum konsantrasyonu ve sensitizasyonu diyastolde azaldığı için diyastolik relaksasyonun etkilenmediği ya da iyileştiği ileri sürülmüştür. Sonuçta levosimendan proaritmojenik etki göstermeden ve enerji tüketimini artırmadan kontraktiletiyi artırmaktadır (41).

Levosimendan miyosit ve damar duvarındaki ATP bağımlı potasyum kanallarını açarak, sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona, miyokardial ön yük ve ard yükte azalmaya neden olur (42). Ayrıca koroner arterlerde de vazodilatasyon yaparak miyokard kan akımını artırdığı, buna karşın miyokardı oksijen tüketimini artırmadığı tesbit edilmiştir (42). Levosimendanın ATP bağımlı potasyum kanal açıcı etkisi ilacın iskemiye karşı koruyucu etkileri olmasını da sağlamaktadır (43). İskemi reperfüzyonun apopitozisi tetikleyerek doku kaybına neden olduğu bilinmektedir. Miyosit kültürleri üzerinde yapılan bir çalışmada, oksidatif strese bağlı apopitozis, levosimendan ile engellenmiştir (44). Ayrıca oksijen tüketimi üzerine olumlu etkilerinin olması ve iskemi reperfüzyon sonrası enerji dengesi üzerinde nötral etkisinin olması bileşiğin antiiskemik etkisine katkıda bulunmaktadır (41).

Levosimendan in vitro ve in vivo olarak vazodilatasyon oluşturmaktadır. Levosimendanın insan internal mammarian arter, insan internal torasik arter, domuz koroner arteri ve sıçan mezenterik arterinde gevşeme oluşturduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (45-49).

Levosimendanın vazodilatatör etkinliği yapılan çalışmalarda iki yönlü olarak ortaya konmuştur. Birincisi ATP bağımlı potasyum kanallarını uyararak etkili olmaktadır (50). İkinci yol ise levosimendanın vasküler düz kasta desensitizasyon yaptığı düşünülmektedir. Kontraktil agonistler protein kinaz C aktivasyonu yolu ile damar düz kasında kalsiyum duyarlılığını artırır. Potasyum kanallarının açılması ile meydana gelen hiperpolarizasyonun agonist ile

indüklenen fosfatidil inositol difosfat hidrolizini azaltarak hem inositol trifosfata duyarlı depolardan kalsiyum mobilizasyonunu hem de protein kinaz C aktivasyonunu baskıladığı öne sürülmüştür. Böylece potasyum kanallarının açılması hem kalsiyum miktarını hem de kontraktıl proteinlerin kalsiyum duyarlılığını azaltarak kalsiyum duyarsızlaşması yaratmaktadır (51). Deneysel olarak domuz koronerinde levosimendanın kontraktıl proteinlerin kalsiyum duyarlılığını azalttığı gösterilmiştir. Levosimendanın relaksasyon etkisinin endoteli sağlam arterlerde daha az olduğu da çalışmada gösterilmiştir (48). Levosimendanın aktif metaboliti olan OR-1896'nda vazodilatatör etkinlikte olduğu saptanmıştır (52).

Kalp kasının kontraksiyonu miyofibrillerin kısılması ile olur. Aktin proteininin ince filamentleri ve miyozin proteininin kalın lifleri, minik çapraz bağlarla iletişime girer ve kasılma sırasında, bu çapraz bağların etkileşmesi ile birbirinin yanından kayarak çekilirler. Bu işlem için gerekli olan enerji ATP'nin hidrolizinden sağlanır. Tropomyozin ve C, T ve I troponinleri gibi yardımcı proteinlerde etkileşimi düzenler. Tropomyozin her yedi aktin monomeri boyunca uzanır ve gevşeme sırasında aktin ve miyozin arasındaki reaksiyonları engelleyecek bir pozisyonda bulunur. Troponin I ile birlikte spesifik aktin bölgelerini kapatır. Tropomyozin ve troponin I arasındaki güçlü bağlantılar bu pozisyonun devamını sağlar. Böylece aktinin miyozin çapraz bağları ile etkileşmesini engeller. Aktivasyonla hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve kalsiyum iyonları troponin C'ye bağlanır. Bu, troponin/ tropomyozin kompleksinde konformosyonel bir değişikliğe yol açar. Troponin/tropomyozin kompleksinin,

aktin-miyozin interaksyonu üzerindeki inhibisyonu ortadan kalkar. Aktine bağlanmak üzere miyozin lifinin baş kısmını serbestleştirerek kontraktıl kayma için köprüleşmelere olanak tanır. Levosimendan, kardiyak troponin C'ye kalsiyuma bağımlı bir mekanizmayla bağlanarak miyofibrilleri kalsiyuma karşı daha duyarlı bir hale getirir. Bu etkileşim tropomiyozinde kalsiyumun tetiklediği konformosyonel değişiklikleri stabilize ederek aktin-miyozin çapraz bağlarını güçlendirir. Levosimendan bu etkiyi, hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarını yükseltmeden, troponin C'nin hücre içi kalsiyuma duyarlılığını arttırarak gerçekleştirir ve düşük enerjide miyokard kontraksiyon gücünü artırır (53). Beta adrenerjik ajanlar ise, inotropik etkilerini hücre içi kalsiyum miktarını arttırarak gösterirler (54). Diyastol sırasında, sitoplazmik kalsiyum düzeyi azalır. Levosimendan diğer adrenerjik ajanlar gibi diyastolik kalsiyum miktarında artışa neden olmaz, böylece miyokardiyal relaksasyonu bozmaz, miyokardın oksijen gereksinimini arttırmaz (55).

Levosimendan, vasküler düz kaslardaki ATP bağımlı potasyum kanallarına bağlanarak bu kanalları açar. Vasküler düz kaslarda vazodilatasyon sağlayarak pulmoner kapiller kama basıncını, sistemik vasküler direnci ve ven tonüsünü azaltır (56). Böylece kalbin ön yük ve ard yükünü azaltır, renal kan akımını iyileştirir (57). Vazodilatasyon koroner kan akımını da arttırmaktadır (58). Levosimendanın pozitif inotropik ve vazodilatatör etkileri, miyokardın oksijen ihtiyacını arttırmaksızın kontraksiyonu iyileştirir, kardiyak debiyi arttırır (59). Ayrıca levosimendan yüksek dozlarda FDE III'ü selektif olarak inhibe eder. Deneysel ortamda, levosimendanın,

düşük dozlarda kalsiyum duyarlılaştırıcı, yüksek dozlarda da FDE inhibitör özelliği ön plandadır (60).

Özetle, levosimendan, özgün iki mekanizmasıyla (miyokardiyal kalsiyuma karşı duyarlılaştırma ve ATP- bağımlı vasküler potasyum kanallarında açılma) miyokardın oksijen ihtiyacını arttırmaksızın kardiyak performansı iyileştirir, ön yük ve ard yükü azaltır, diyastolik fonksiyonda bozulma yaratmaz, koroner kan akımını artırır, düşük aritmi riski taşır ve stres altındaki miyokardın fonksiyonlarını iyileştirir.

2.9.4. Klinik profili, kullanımı ve güvenilirliği

Levosimendanın pozitif inotropik etkisi pek çok klinik ve deneysel çalışmalarla değerlendirilmiştir. Levosimendanın, kobay kardiyak doku miyofibrillerinde (61), köpeklerde (62) ve pacemaker'ın indüklediği dilate kardiyomiyopatide (63) miyokard kontraktilitesini belirgin arttırdığı gösterilmiştir. İzole edilmiş kobay ventrikül miyositlerinde levosimendanın dobutaminle benzer oranda hücrede kısalmaya neden olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, levosimendan kullanıldığında kasılma sonrasında yükselmiş olan hücre içi kalsiyum konsantrasyonu azalırken dobutamin kullanıldığı zaman artmış hücre içi kalsiyum seviyesi devam etmiştir (64). Bu nedenle, hücre içi kalsiyum yükselmesine bağlı oluşan diyastolik fonksiyonda bozulma ve kardiyak aritmiler levosimendan ile daha az beklenmektedir. Levosimendanın, diyastolik fonksiyonu düzelttiği deneysel ortamlarda gösterilmiştir (62, 65). Yine, kobay kalplerinde dobutamine kıyasla levosimendan, iskemi-reperfüzyon aritmilerini indüklememiştir (66).

Levosimendan, pozitif inotropik etkisini miyokardın oksijen ihtiyacını arttırmadan sağlarken beta adrenerjik ajanlar kardiyak debiyi arttırırken miyokard oksijen tüketimini de belirgin arttırırlar (54, 67). Bu sebeple, beta adrenerjik ajanlar koroner arter hastalığı olanlarda iskemiye alevlendirebilir, akut miyokard infarktüsü sırasında infarkt büyüklüğünü arttırabilir (68). Levosimendanın ise yapılan bazı deneysel çalışmalarda iskemik miyokardı koruduğu (66), miyokard iskemisi öncesinde ve sırasında verildiğinde infarkt boyutunu küçülttüğü gösterilmiştir (69).

Levosimendan, kalp yetmezlikli hastalarda pozitron emisyon tomografi kullanılarak yapılan çalışmada kardiyak debiyi ve miyokardiyal kan akımını oksijen tüketimini arttırmadan yükselttiği (59), yine başka bir çalışmada akut miyokard iskemisi olan hastalarda perkütan translüminal anjioplasti sonrasında miyokard fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir (70). Tüm bu etkileri levosimendani diğer inotropik ilaçlara kıyasla iskemik dekompanze kalp yetmezliğinde tercih edilecek, oldukça yararlı bir ajan yapmaktadır. Bununla birlikte, birkaç deneysel çalışmada, iskemi sırasında levosimendanın ventrikül aritmilerini arttırdığı (71) ve miyokard kontraktilitesini azalttığı görülmüştür (72). Yine iskemik kardiyomiyopatili hastalarda ventrikül aritmilerinde artış bildirilmiştir (73), özellikle de bu etki terapötik dozun 3 katından fazla olan 0.6 µg/kg/dk hızında daha çok görülmüştür (74).

Beraberinde konjesyon olsun veya olmasın, periferik perfüzyon bozukluğu (hipotansiyon, böbrek fonksiyonlarında bozulma) geliştiğinde ya da uygun dozdaki diüretik ve vazodilatatör tedaviye dirençli pulmoner ödem varlığında intravenöz

pozitif inotropik ajanların kullanılma endikasyonu vardır (75). Avrupa Kardioloji Derneği tarafından 2005 yılında yayınlanan akut kalp yetmezliği tanı ve tedavi kılavuzuna göre, kardiyak sistolik disfonksiyon sonucu düşük debili kalp yetmezliği olan ve hipotansiyonu olmayan ciddi semptomatik hastalarda levosimendan tedavi önerisi sınıf IIa ve kanıt düzeyi B olarak yer almıştır. Büyük çalışmalara bakıldığında, NYHA sınıf III-IV, EF <30-35, intravenöz diüretik ve nitratları da içeren yeterli medikal tedaviye rağmen ciddi semptomatik akut dekompanse kalp yetmezliği olan hastalara levosimendan verilmiştir (76-80).

Levosimendan, ventrikül doluşu ve çıkışını etkileyen önemli mekanik obstrüksiyonlar, ciddi hipotansiyon (sistolik kan basıncı <85 mmHg) ve taşikardi, ciddi böbrek bozukluğu (kreatinin klirensi <30ml/dk), ciddi karaciğer bozukluğu ve torsade de pointes geçmişi olan hastalarda kontrendikedir. Hafif-orta derecede böbrek ve karaciğer bozukluğu, aneminin eşlik ettiği iskemik kalp hastalığı, taşikardi veya hızlı ventrikül yanıtli atriyal fibrilasyon, devam eden koroner iskemi, etyolojisine bakmaksızın uzamış QTc varlığında levosimendan dikkatle ve yakın monitörizasyon eşliğinde uygulanmalıdır.

Önerilen tedavi dozu, 10 dakika 6-24 µg/kg yüklemeyi takiben 24 saat boyunca 0.05-0.2 µg/kg/dk sürekli infüzyon şeklindedir (75). Tartışılan nokta, levosimendan tedavisine başlanırken yükleme dozu yapılıp yapılmamasıdır. Sürekli infüzyonla tam terapötik etkinliğe yaklaşık 4 saatte ulaşılabilirdi için, hızlı etkinliğin istendiği hastalarda yükleme dozu önerilmektedir. Ayrıca, sistolik kan basıncı <90 mmHg olan hastalarda yükleme dozundan kaçınılmalıdır (75). Hipotansiyon ve

taşikardi oluşması halinde doz 0.05 µg/kg/dk'ya düşürülür ya da tedavi sonlandırılır. Eğer başlangıç dozu tolere edilmiş ve daha fazla hemodinamik yanıtı ihtiyaç duyuluyorsa doz 0.02 µg/kg/dk'ya çıkarılabilir. Levosimendan tedavisi boyunca kalp hızı, kan basıncı, EKG ve idrar çıkışı yakından takip edilmelidir. Levosimendanın hemodinamik etkileri aktif metabolitleri nedeni ile infüzyon kesildikten sonra da devam etmektedir. Tüm hemodinamik etkilerin süresi tam olarak belirlenmemiştir. Ancak, kan basıncı üzerine etkileri genellikle 3-4 gün ve kalp hızı üzerindeki etkisi 7-9 gün devam eder. Bu sebeple, infüzyon bittikten sonra en az 3 gün veya hasta klinik açıdan stabil olana kadar non-invazif monitörizasyon önerilir. Hafif-orta derecede karaciğer veya böbrek bozukluğu olanlarda bu sürenin 5 güne uzatılması önerilmektedir (81).

Levosimendan, kalsiyum duyarlılaştırıcı ve ATP bağımlı potasyum kanallarını açıcı etkisiyle miyokardiyal kontraktileti artırarak, vazodilatasyon ve periferik rezistansı azaltarak ve dekompanse kalp yetmezliği olgularında dopamin ve dobutamine alternatif olarak önerilen yeni bir pozitif inotropik ajan olmuştur. Levosimendanın, kalp debisi, pulmoner kapiller kama basıncı gibi hemodinamik parametreler, klinik semptomlardaki değişiklikler, mortalite üzerine etkisinin ve yan etkilerinin incelendiği büyük klinik çalışmalar olmakla birlikte hem sistolik hem de diyastolik fonksiyonlar üzerine etkisinin incelendiği sınırlı sayıda klinik çalışma mevcuttur.

Levosimendan, orta-şiddetli kalp yetmezliği olan hastalar tarafından genellikle iyi tolere edilmiştir. Dobutamin ya da plasebo kontrollü klinik çalışmalarda en sık

bildirilen yan etkiler hipotansiyon, başağrısı, ventriküler taşikardi ve atriyal fibrilasyondur (76-80). Sonuçları yakın zamanda açıklanan REVIVE-2 çalışmasında plaseboya kıyasla (%35.5 ve %49.2) ve SURVIVE çalışmasında dobutamine kıyasla (%14 ve %16) levosimendan tedavisi ile daha fazla hipotansiyon görülmüştür. Üç yüz seksen altı hastanın incelendiği 10 klinik çalışmada levosimendan veya plasebo verilen hastalar arasında devamlı olmayan ventriküler taşikardi açısından anlamlı fark saptanmamıştır (82). Ancak, yine son çalışmalarda levosimendana bağlı aritmik yan etki sıklığında artış dikkati çekmektedir (79, 80). REVIVE çalışmasında ventriküler taşikardi ve atriyal fibrilasyon plaseboya göre daha fazla, SURVIVE çalışmasında da atriyal fibrilasyon dobutamine göre daha sık izlenmiştir. LIDO çalışmasında, anjina pectoris, miyokard iskemisi ve hız/ritm bozuklukları dobutamin alanlarda levosimendan alanlara göre anlamlı derecede daha fazla izlenmiştir (76). Levosimendan, hemoglobin, hematokrit ve serum potasyum seviyelerinde hafif düşmeye neden olabilir (83).

Klinik çalışmaların çoğunda, levosimendan ile kalp yetmezliği tedavisinde rutin kullanılan ilaçlar (ADE inhibitörleri, beta-blokerler, digoksin, furosemid ve spirinolakton) arasında ciddi etkileşim bildirilmemiştir (78-80). Fakat levosimendan ile birlikte nitrat tedavisi vazodilatasyona neden olup sistolik kan basıncını düşürebilir ve ortostatik hipotansiyona yol açabilir (74). Levosimendan infüzyonu kesildikten sonra rebound olayı bildirilmemiştir. Çocuklarda, 18 yaş altı adolesanlarda ve gebelerde kullanımına ilişkin herhangi bir deneyim mevcut değildir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından, G.Ü. ET-11.078 kod numarası ile etik kurul izni alındıktan sonra Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (GÜDAM) Mayıs 2012 tarihinde gerçekleştirildi.

3.1. Denekler ve çalışma grupları

Araştırma amacı ile 24 adet erişkin erkek Wistar-Albino rat kullanıldı. Hayvanlar rastgele 4 gruba ayrıldı. Yapılacak tüm cerrahi işlemler ketamin ve xylazine anestezisi altında steril koşullarda gerçekleştirildi.

Sham grubu (Gr S, n=6): Bu gruptaki ratlara miyokart iskemisi yapılmaksızın sadece sol torokotomi yapıp kapatılarak, işlemten iki saat sonra anestezi altında ratların miyokart kasları çıkartıldı ve bu dokularda immünohistokimyasal ve serumda biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

İskemi grubu (Gr II, n=6): Bu gruptaki ratlarda sol torokotomi sonrasında 60 dakika süre ile sol ana koroner (LAD) ligasyonu ile miyokard kasında iskemi gerçekleştirilerek, 60 dakikalık iskemiye takiben LAD ligasyonu kaldırıldı. İşlemden iki saat sonra anestezi altında ratların miyokart kasları çıkartıldı ve bu dokularda immünohistokimyasal ve serumda biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

İskemi ve iskemi öncesi Levosimendan grubu (Gr III, n=6): Bu gruptaki ratlarda iskemiden 5 dakika önce levosimendan intravevenöz bolus olarak 24 µg/kg olacak şekilde uygulandı. Ratlarda sol torakotomi sonrasında 60 dakika süre ile LAD ligasyonu ile miyokardiyal iskemi gerçekleştirildi ve 60 dakikalık iskemiye takiben ligasyon kaldırıldı. İşlemi takiben ikinci saatte anestezi altında ratların miyokartları çıkartılarak bu dokularda immünohistokimyasal ve serumda biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

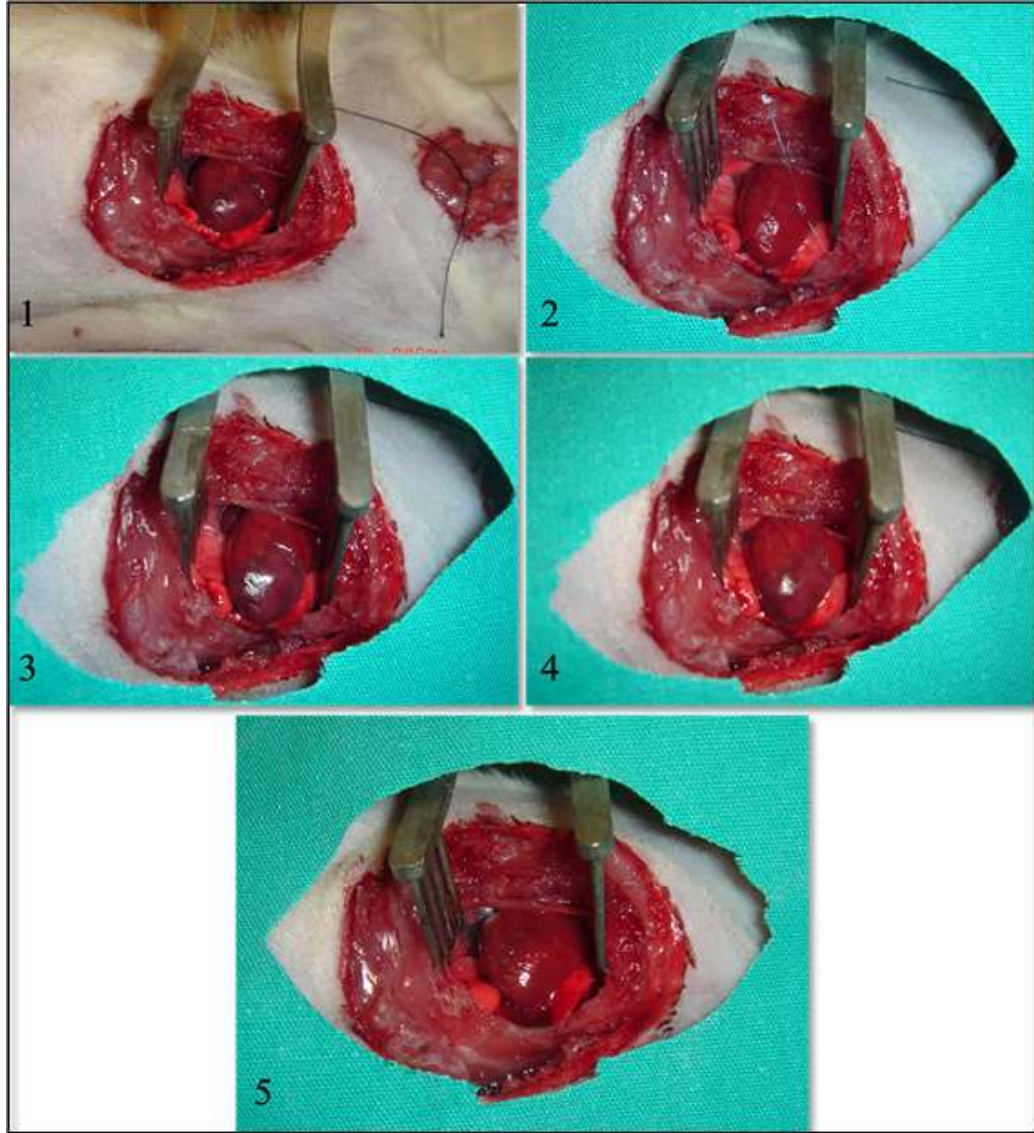
İskemi ve iskemi sonrası Levosimendan grubu (Gr IV, n=6): Bu gruptaki ratlarda reperfüzyondan 5 dakika önce levosimendan intravevenöz bolus olarak 24 µg/kg olacak şekilde uygulandı. Ratlarda sol torakotomi sonrasında 60 dakika süre ile LAD ligasyonu ile miyokardiyal iskemi gerçekleştirildi. 60 dakikalık iskemiye takiben ligasyon kaldırıldı. İşlemi takiben ikinci saatte anestezi altında ratların miyokartları çıkartılarak bu dokularda immünohistokimyasal ve serumda biyokimyasal değerlendirmeler yapıldı.

3.2. Cerrahi yöntem

Deney başlangıcında; intramusküler enjeksiyonla, 50 mg/kg dozda ketamine hydrochloride (Ketalar® flakon, Parke-Davis, USA) ve 10 mg/kg'dan xylazine hydrochloride (Alfazyne, %2, Ege Vet) verilerek anestezi sağlandı. İşlem, bir ısıtma lambası altında, ratlar supin pozisyonda iken gerçekleştirildi. Supin pozisyonda yatırılıp cerrahi sahaları tıraş edildikten sonra boyun orta hatta yaklaşık 1 cm'lik vertikal insizyon yapıldıktan sonra künt diseksiyonlarla trakeaya ulaşıldı ve 16G intraket (Medipro Nova Cath® İstanbul, Türkiye) ile

trakeostomi açıldı. Mekanik ventilatöre (Harvard Apparatus Rodent Model Ventilator, Inspira asv, Hollstone, ABD) bağlanan ratlara işlem süresince %100 oksijen ile tidal volüm 15 ml/kg ve solunum frekansı 80/dk olacak şekilde ratların sakrifikasyonuna kadar inspiratuar %0,8-1 konsantrasyondan izofluran anestezisi uygulanarak anestezinin devamı sağlandı.

Şıçanlarda iskemi reperfüzyon modelinin oluşturulması Şekil 5’de gösterilmiştir.



Şekil 5. Şıçan myokardında iskemi/reperfüzyon modelinin oluşumu (1-4: İskemi, 5: Reperfüzyon)

3.3. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler

Örnekler %10 luk formolde fikse edildi. Farklı seviyelerdeki lezyonları görebilmek için kalp dokusu apekten itibaren dilimlenerek tümüyle örneklendi. Doku takibinden sonra 4 mikronm'lik kesitler alınarak hemotoksilen eozin ile boyandı ve ışık mikroskopunda myonekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve ödem değerlendirildi. Bulgular değişikliklerin derecesine göre 0: yok, +1: hafif, +2: orta, ve +3: şiddetli olarak sınıflandırıldı.(95)

3.4. Biyokimyasal değerlendirmeler

Alınan serum örnekleri -80 °C'de sıvı azotta dondurup saklandı. Çalışma sonunda tüm serumlarda; katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), malondialdehid (MDA) ve glutatyon-S-transferaz (GST) seviyeleri Biyokimya Anabilim dalında çalışıldı.

4. BULGULAR

Gruplar kalp kas dokusu myonekroz açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.002$). Myonekroz İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p=0.007$). Ayrıca, İR-İÖL ve İR-İSL gruplarında myonekroz İR grubuna göre anlamlı düşük olarak tespit edildi ($p=0.019$, $p=0.019$), (Tablo 4).

Gruplar kalp kas dokusu hücre infiltrasyonu açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.030$). Hücre infiltrasyonu İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p=0.009$), (Tablo 4).

Gruplar kalp kas dokusu ödem açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.002$). Ödem İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p=0.002$). Ayrıca, İR-İÖL ve İR-İSL gruplarında ödem İR grubuna göre anlamlı düşük olarak tespit edildi ($p=0.006$, $p=0.002$), (Tablo 4).

Tablo 4. Sıçanların kalp kas dokusunda histopatolojik veriler

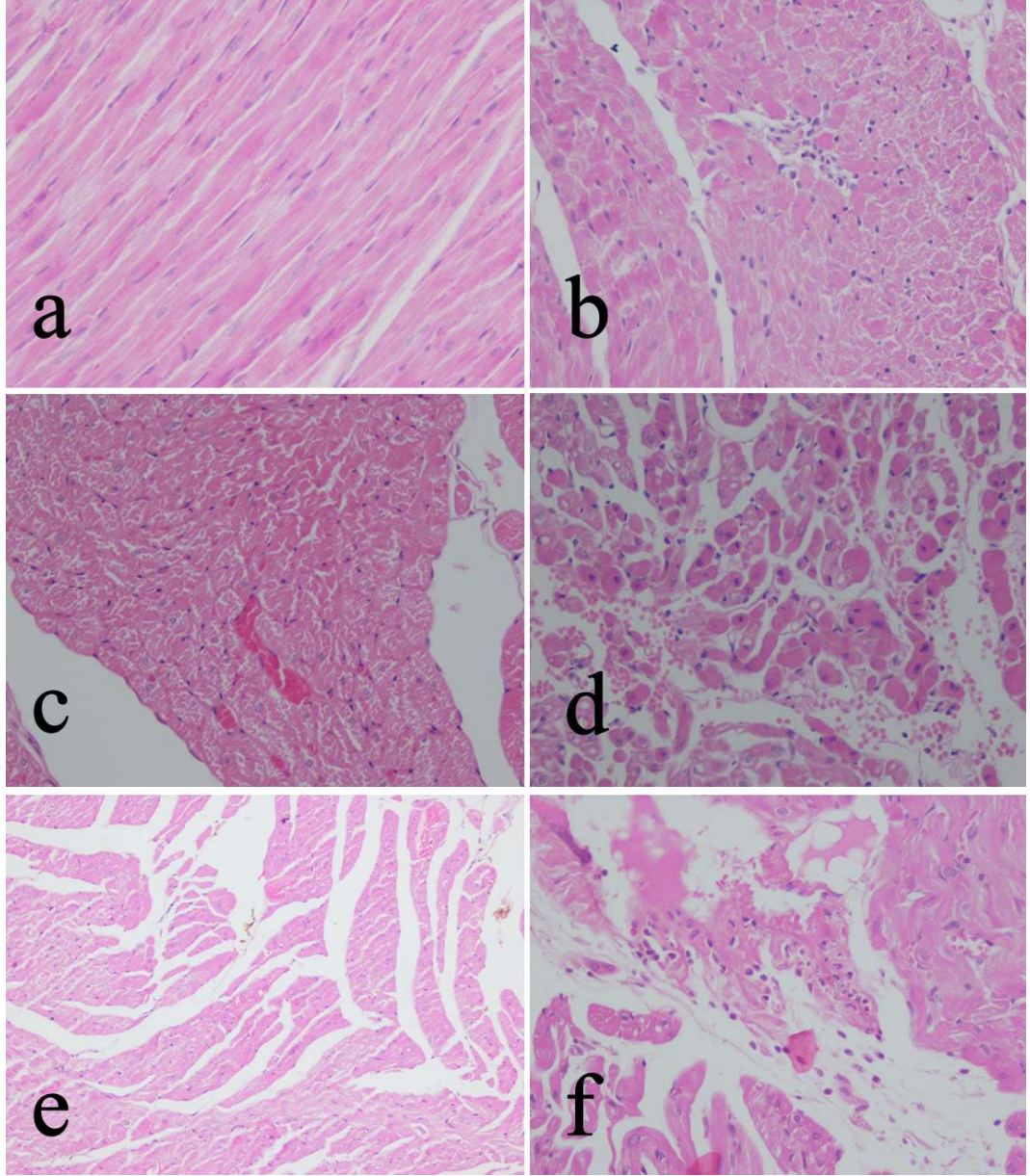
[Ortanca (% 25-75), (En az-En çok)]

	Grup K	Grup İR	Grup İR-İSL	Grup İR-İÖL	P**
	(n=6)	(n=6)	(n=6)	(n=6)	
Miyonekroz	0,00 (0-1) (0-1)	2,00 (1-2)* (1-2)	1,00 (1-1) & (1-1)	1,00 (1-1) & (1-1)	0,002
Hücre infiltrasyonu	0,00 (0-0,25) (0-1)	1,00 (1-2)* (1-2)	0,50 (0-1) (0-1)	0,50 (0-0,125) (0-2)	0,030
Ödem	0,00 (0-1) (0-1)	2,00 (2-2)* (2-2)	1,00 (0,75-1,25) & (0-2)	1,00 (0-1) & (0-1)	0,002

P**: Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p < 0.05$

* $p < 0.05$: Grup K ile ile karşılaştırıldığında; & $p < 0.05$: Grup İR ile karşılaştırıldığında

Sıçanların miyokard dokularının immünohistokimyasal preparatlarının ışık mikroskopundaki görüntüleri Şekil 6’de gösterilmiştir.



Şekil 6. a) Kontrol grubu; **b)** Hafif inflamasyon; **c)** Hafif myonekroz; **d)** Hafif ödem ve myonekroz; **e)** Orta derecede ödem; **f)** Orta derecede ödem ve hafif inflamasyon.

Gruplar serum MDA enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.037$). MDA enzim aktivitesi İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu ($p=0.042$). Ayrıca, İR-İÖL grubunda MDA enzim aktivitesi İR grubuna göre anlamlı düşük olarak tespit edildi ($p=0.013$), (Tablo 5).

Gruplar serum SOD enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p=0.035$). SOD enzim aktivitesi IR grubunda K grubuna göre anlamlı düşük olarak bulundu ($p=0.018$). Ayrıca, İR-İÖL grubunda SOD enzim aktivitesi İR grubuna göre anlamlı yüksek olarak tespit edildi ($p=0.017$), (Tablo 5).

Sıçanlara ait gruplar serum GST ve CAT enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında gruplar arasında fark bulunmadı ($p=0.0146$, $p=0.091$, sırasıyla), (Tablo 5).

Tablo 5. Sıçanların serum örneklerinde oksidan durum parametreleri[Ort $\pm$ SS (En az-En çok)]

	Grup K (n=6)	Grup İR (n=6)	Grup İR-İSL (n=6)	Grup İR-İÖL (n=6)	P**
MDA (nmol/L)	2.00 $\pm$ 0.32 (1.67-2.34)	3.65 $\pm$ 2.38* (1.84-8.35)	2.09 $\pm$ 0.23 (1.67-2.34)	1.87 $\pm$ 0.19 & (1.67-2.17)	0,037
CAT (IU/L)	168.36 $\pm$ 83.20 (87.80-322.10)	90.28 $\pm$ 46.45 (43.90-161.00)	135.42 $\pm$ 40.56 (80.50-183.00)	207.89 $\pm$ 99.64 (51.20-307.40)	0,091
SOD (U/L)	28.30 $\pm$ 3.30 (23.37-30.99)	18.78 $\pm$ 5.75* (10.41-25.40)	24.13 $\pm$ 5.28 (20.07-30.90)	26.37 $\pm$ 3.76 & (19.81-29.21)	0,035
GST (mIU/L)	88.90 $\pm$ 21.48 (58.80-117.60)	84.00 $\pm$ 11.88 (67.20-96.60)	85.40 $\pm$ 9.82 (75.60-96.60)	70.70 $\pm$ 13.39 (58.80-96.60)	0,146

P**: Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi p< 0.05

*p<0.05: Grup K ile ile karşılaştırıldığında; &p<0.05: Grup İR ile karşılaştırıldığında

5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme SPSS 17,0 bilgisayar programında aşağıda sıralanan testler kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analiz verileri [ortalama $\pm$ standart sapma,Ortanca (% 25-75) (En az-En çok) olarak sunuldu. Yapılan tüm istatistiksel analizlerde,anlamlılık sınırı olarak $p<0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Ölçülebilen parametrelere Shapiro-Wilk testi uygulanarak dağılımın normal ya da anormal olup olmadığı belirlendi. Normal dağılım gösterenler için gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemede bağımsız gruplarda tek yönlü ANOVA testi ile değerlendirildi.Farklılık olması durumunda gruplar arası Bonferroni testi ile karşılaştırılma yapıldı. Normal dağılım göstermeyenler için gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemede bağımsız gruplarda Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Farklılık olması durumunda gruplar arası Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılma yapıldı.

6. TARTIŞMA

Homeostazisin hücresel ve ultrastrüktürel boyutta devamının sağlıklı bir şekilde devam ettirilebilmesi için pro-oksidan ve antioksidan savunma mekanizmalarının denge içinde korunması gerekir. Normal fizyolojik süreçler işler halde tutulduğunda miyokardiyal oksidan ve antioksidan denge mekanizmaları, hücrelerde herhangi bir ciddi hasar oluşumunun önündeki güvenli barikatlardır.

Herhangi bir nedene bağlı olarak iskemi ve takiben reperfüzyon gelişirse, genelde iskeminin süresi ile ilgili olarak antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kalır ve hücrelerde miktarları yükselen SOR'ler çeşitli derecelerde hasar meydana getirir (84). Genellikle miyokard hücreleri reperfüzyon sırasında, iskemiye bağlı hasara yakın derecelerde, bazen de daha fazla oranda hasara uğrarlar. Kardiyak cerrahide iskemik süre, uygulanan prosedüre göre değişmekle birlikte genellikle azaltılamadığından, bu konuda yapılan çalışmalar reperfüzyon esnasında ortaya çıkan hasarı azaltmak üzerine yoğunlaşmıştır. Uzun yıllardır I/R hasarının sonuçları ve korunma yöntemleri birçok araştırmacı tarafından daha detaylı çalışılmıştır ve günümüzde bu çalışmalar yoğunlaşarak devam etmektedir. Reperfüzyon sırasında etkilenen alandaki hasarın dışında, tam olarak netleşmemiş mekanizmalara bağlı olarak uzak organlarda da ciddi hasarlar meydana gelmektedir. Hasara uğrayan bu organların başında akciğer, karaciğer ve böbrek gelmektedir. Bu organların arasında ise en çok etkilenen akciğerlerdir ve bunlarda oluşacak hasarlar post-operatif safhadaki önemli mortalite ve morbidite nedenleridir. Reperfüzyon hasarından serbest oksijen radikallerinin büyük oranda

sorumlu olmaları nedeniyle, iskemik alanda bu moleküllerin azaltılması oluşacak olan doku hasarını da azaltabilecektir.

İskemi/reperfüzyon hasarı prognoz, cerrahi başarı ve hastaların yaşam süresini etkileyen en önemli etkenlerden biridir. Bu hasarın olumsuz sonuçlarının azaltılması için yeni ilaçla ve tekniklerin geliştirilmesi son derecede önemlidir. Günümüzde kalp cerrahisinde uygulanan prosedürlerde genellikle kalp/akciğer pompası kullanımı ile iatrojenik miyokardiyal iskemi ve takiben reperfüzyon oluşturulması, bu konuda yapılan çalışmaların kalp üzerine daha fazla odaklanmasına neden olmuştur. Miyokardiyal koruma alanında çok önemli gelişmeler olmasına rağmen, reperfüzyon sırasında kullanılacak ideal ilaç, teknik, solüsyon veya metod henüz net olarak tanımlanmamıştır. Bu durum, I/R hasarının mekanizmasının tam açıklanamaması ve fizyopatolojisindeki karmaşıklık ile açıklanmaktadır. Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda temel odaklanılan alan, hücrelerin hasarlanmasının patogenezindeki serbest oksijen radikallerinin üretiminin inhibisyonu, antioksidan mekanizmaların rolünün belirlenmesi ve antioksidan serbest radikal yakalayıcı tedavi denemeleridir (19).

Miyokardial iskemi reperfüzyon hasarının etyopatogenezindeki mekanizmaların kısmen açıklanmaya başlanması ile birlikte, I/R hasarından korunmak için birçok ilaç gündeme gelmiştir. Bunların arasında, vitaminler, ACE inhibitörleri, NO-donörleri, adenozin, Na^+/H^+ değiştirici inhibitörleri, glutamat, aspartat, aprotinin, metilprednisolon, Ca^{++} kanal blokerleri, ATP duyarlı K^+ kanal açıcıları, glukoz-insülin- K^+ solüsyonları, prostoglandinler, glutatyon, N-

asetilsistein, pentoksifilin, C1 esteraz inhibitörü, Endotelin-1 reseptör antagonisti ve anestezi ajanları yer alır.

Levosimendan akut ve kronik kalp yetmezliğinde kullanılan, myokardın kalsiyum duyarlılığını artıran ve vazodilatatör etkiye sahip inotropik ajandır. Levosimendan hücre içi kalsiyum ve cAMP düzeylerini artırmaksızın troponin C'ye bağlanarak kontraktıl proteinlerin kalsiyum duyarlılığını artırarak kardiyak performansı olumlu yönde etkiler. Kalsiyum konsantrasyonunu artırmadığı için myokardda nekroz oluşma riskini azaltır. Dolayısıyla cAMP bağımlı ajanların olumsuz etkilerini taşımamaktadır (85, 86).

Levosimendan damar duvarındaki ATP bağımlı potasyum (K⁺) kanallarını açarak sistemik vasküler yatakta vazodilatasyona neden olur (87). Arteriel yapılar üzerinde in vivo ve in vitro vazodilatasyon oluşturduğu çeşitli çalışmalarla saptanmıştır (45-49). Levosimendanın relaksasyon etkisinin endoteli sağlam arterlerde daha az olduğu tesbit edilmiştir (48). İlacın aktif metaboliti olan OR-1896'nın da vazodilatatör etkinlikte olduğu gösterilmiştir (52). Bu etki ilacın iskemiye karşı koruyucu etkileri olmasını da sağlamaktadır (43). Oksijen tüketimi üzerine olumlu etkilerinin bulunması ve iskemi reperfüzyon sonrası enerji dengesi üzerinde nötral etkisinin olması bileşiğin antiiskemik etkisine katkıda bulunmaktadır (41).

Levosimendanın dekompanze kalp yetmezlikli hastalarda proinflatuvar sitokinlerin serum seviyelerini azalttığı ve apoptozise gidişi baskıladığı gösterilmiştir. İlaç kardiyak debiyi dolayısıyla renal perfüzyonu artırarak

proinflatuvar sitokinlerin serum düzeylerinin düşmesine yol açar. Ayrıca periferel doku perfüzyonunu artırarak kalp dışı sitokin üretimini azaltır (90). Kertsen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada köpeklerde sol inen arterin deneysel olarak tıkanmasına bağılı oluşan infarkt alanının levosimendan verilmesi ile sınırlandırığı gözlemlenmiştir (91). Yapılan bir çalışmada levosimendanın portal kan akımını iyileştirdiğı tesbit edilmiştir (92). Levosimendanın K⁺ ATP kanal açıcı etkisi ilacın iskemiye karşı koruyucu etkilerinin olmasını sağlar ve kardiyoprotektif etkiyi ortaya çıkarır (93). Katırcıoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada levosimendanın iskemi reperfüzyona bağılı spinal kord hasarına karşı etkili olduğı ortaya konmuştur (94).

Levosimendanın farmakokinetik ve farmakodinamik profili nedeniyle mevcut endikasyonu dışında kullanımı ile ilgili çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Biz de bu çalışmada sol ön inen koroner arter (LAD) iskemisi öncesi, ratlarda intraperitoneal olarak uygulanan levosimendanın miyokardı iskemi ve reperfüzyon hasarına karşı daha iyi koruyup korumadığını göstermeyi hedefledik.

Modelimiz, miyokardın dominant perfüzyonunu sağlayan LAD arterinin oklüde edilmesi, sonra oklüzyon açılarak reperfüzyon sağlanması, bu esnada levosimendan uygulayarak bu ilaçların deneklerde oluşturduğu histopatolojik ve biyokimyasal değışikliklerin tespit edilmesi üzerine kuruludur.

Miyokardiyal I/R çalışmalarında, reperfüzyon sırasında miyokard hücrelerinde SOR'nin önemli derecede arttığı gösterilmiştir. Artan bu SOR'nin en önemli hedef yapılarından biri de lipidlerdir. Bu sebeple lipid peroksidasyonu

kimi çalışmacılar tarafından I/R hasarında anahtar olarak kabul edilmektedir. Dokuda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak farklı metodlar kullanılmakla beraber en çok kullanılan belirteçlerden biri MDA seviyesi tayinidir. MDA seviyesinin yüksekliği, lipid peroksidasyonunun yüksek olduğunun direkt göstergesidir. Yani I/R hasarının azaltılabileceği hipotezinde kullanılan en önemli belirteç MDA’dır.

Çalışma sonunda elde edilen bulgulara MDA nın I/R grubunda yüksek, I/R-İÖL ve İ/R-İSL gruplarında düşük çıkması levosimendanın I/R hasarını azaltmada etkili olduğu yönünde yorumlandı.

İ/R hasarının azaltılabileceği hipotezinde kullanılan belirteçlerden bir diğeri de GSH-Px’dır. Glutasyon, superoksit anyonlarına karşı doğal bir temizleyicilik görevi üstlenir ve oksidasyona karşı hücre bütünlüğünü sağlamaya çalışır. Glutasyon peroksidaz aktivitesinde azalma hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (96). Glutasyon peroksidaz aktivitesindeki artma ise hidrojen peroksit temizleme faaliyetinin arttığının dolayısıyla SOR’ne bağlı hücre membran hasarı oluşma olasılığının azalmasının göstergesidir.

Bizim alışmamızda serum GST ve CAT enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında gruplar arasında fark bulunmadı.

İ/R hasarının azaltılabileceği hipotezinde kullanılan belirteçlerden biri SOD’dır. SOD, serbest oksijen radikallerinin H₂O₂ ve moleküler oksijene dönüşmesini katalize eder ve aerobik tüm hücrelerde bulunur. Hücrelerdeki

oksidatif stresin arttığı durumlarda SOD enzim aktivitesi de artar. SOD aktivitesindeki artış ortamda yoğun miktarda SOR mevcudiyetinin aynı zamanda kuvvetli bir temizleme faaliyetinin göstergesidir.

Çalışmamızda SOD enzim aktivitesi İR grubunda K grubuna göre anlamlı düşük olarak bulundu. Ayrıca, İR-İÖL grubunda SOD enzim aktivitesi İR grubuna göre anlamlı yüksek olarak tespit edildi. Bu durum levosimendanın iskemi öncesi veya sonrasında verilmesinin koruyucu etkisi olarak kabul edilmiş, ancak iskemi öncesinde verilen levosimendanın koruyucu etkisinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda histopatolojik olarak elde edilen verilerde miyonekroz İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulunurken, İR-İÖL ve İR-İSL gruplarında miyonekroz İR grubuna göre anlamlı düşük olarak tespit edildi. Bu bulgular, levosimendanın miyonekroz gelişme yönünden koruyucu etkisinin bulunduğu şeklinde yorumlanabilir.

Hücre infiltrasyonu İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu. İR'nun hücre infiltrasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. İntravenöz uygulanan levosimendanın hücre infiltrasyonunu azalttığı görülmüştür, ancak bu değer istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Ödem İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu. Ayrıca, İR-İÖL ve İR-İSL gruplarında ödem İR grubuna göre anlamlı düşük olarak tespit edildi. Bu sonuçlar, iskemi öncesi veya sonrası uygulanan levosimendanın ratlarda ödem gelişme olasılığını azalttığının göstergesi olarak kabul edilebilir.

Bu sonuç itibarıyla, başka çalışmalarla desteklendiğinde levosimendanın iskemi reperfüzyon hasarındaki protektif etkilerinin ayrıntılı olarak gösterileceği ve kullanım endikasyonlarının genişleyeceği kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Taş, A. Desfluran ve propofol anestezisinin rat hepatik iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki koruyucu etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, Kasım 2010.
2. Duran E. Kalp ve Damar Cerrahisi. 1. Baskı. Edirne: Ekim 2004; cilt 1, 197.
3. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. Free Radic Biol Med. 2000; 15;28(10):1456-62.
4. Steenberger C, Hill ML, Jennings RB. Volume regulation and plasma membrane injury in aerobic, anearobic, and ischemic myocardium in vitro. Circ Res 1987;57: 864-75.
5. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. Acta Univ Carol Med Monogr 1990; 137:1-53.
6. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. Free Radic Res Commun 1989;7: 255-6.
7. Maxwell SRJ, Lip GYH. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. Int J Cardiol 1997; 58: 95- 117.

8. Hearse DJ, Humphrey SM, Chain EB. Abrupt reoxygenation of the anoxic potassium-arrested perfused rat heart: a study of myocardial enzyme release. *J Mol Cell Cardiol* 1973;5: 395-407.
9. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1994;81: 637-47.
10. Groot H, Rauen U. Ischemia-Reperfusion Injury: Processes in Pathogenetic Networks: A Review. *Transplant Proc* 2007;39: 481-4.
11. Kuralay F, Çavdar Z. İnflamatuvar mediyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Dergisi* 2006;16: 143-152.
12. Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol* 1990;68:989
13. Cadenas E. Mechanisms of antioxidant action. In: Tomris Özben, editor. *Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants*. New York: Plenum Press 1998;237-251.
14. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993;49: 481-93.
15. Rangan U, Bulkley GB. Prospects for treatment of free radical-mediated tissue injury. *Br Med Bull* 1993;49: 700-18.
16. Erden M, Serbest radikaller. *T. Klinik Tıp Bilimleri Dergisi* 1992;12: 201-7
17. Hensley K, Robinson KA, Gabbita P, Salsman S, Floyd R, Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radical Biol Med* 2000;28: 1456-1462.

18. Boyle EM, Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED. Ischemia-Reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1997;64:S24-30.
19. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2000;47: 446-456.
20. Becker LB. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiolog. *Cardiovasc Res* 2004;61: 461-470.
21. Anselmi A, Abbate A, Girola F. Myocardial ischemia, stunning, inflammation and apoptosis during cardiac surgery: a review of evidence. *Eur J Cardio-thorac Surg* 2004;25: 304-311.
22. Morin D, Hauet T, Spedding M, Tillement JP, Mitochondria as target for anti- ischemic drugs. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;49: 151-174.
23. Gaeta LM, Tozzi G, Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subjects. *Clin Chim Acta* 2002;322: 117-120.
24. Murrell GA, Francis MJ, Bromley L. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochem J* 1990;265: 659-65.
25. Jennings RB, Reimer KA, Steenbergen C. Myocardial ischemia revisited. The osmolar load, membrane damage, and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 1986; 18:769-780
26. Park JL, Lucchesi BR, Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999;68: 1905-1912.

27. Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res* 1990;66: 913- 931.
28. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of oxygen-derived free radicals in digestive tract diseases. *Surgery* 1983; 94; 415-22.
29. Bolli R. The early and late phases of preconditioning against myocardial stunning and the essential role of oxyradicals in the late phase: an overview. *Basic Res Cardiol* 1996; 91: 57-63.
30. Biglioli P, Cannata A, Alamanni F. Biological effects of off-pump vs on-pump coronary artery surgery: focus on inflammation, hemostasis and oxidative stress. *Eur J. Cardio-thorac Surg* 2003;24: 260-269.
31. Corbucci GG, Lettieri B, Damonti V, Palombari R, Arienti G, Palmerini CA, Nitric oxide in ischemic and reperfused human muscle. *Clin Chim Acta* 2002;318:79-82
32. Murrell GA, Francis MJ, Bromley L. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochem J* 1990;265: 659-65.
33. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest* 1975;56: 978-85.
34. Simdax 2,5mg/ml 5ml Abbott prospektüs.

35. Sandell,E.P.,Hayha,M.,Antila,S. Pharmacokinetics of levosimendan in healthy volunteers and in patients with congestive heart failure. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1995;26(Suppl): S57-S62.
36. Takahashi,R.,Talukder,M.A.,Endoh,M. Inotropic effects of OR- 1896, an active metabolite of levosimendan, on canine ventricular myocardium. Eur. J. Pharmacol.2000;400:103-112.
37. Moiseyev VS, Poder P, Andrejev N, Ruda MY, Golikov AP, Lazebnik LB, Kobalova ZD, Lehteren LA, Laive T, Nieminen MS, L e KI. Safety and efficacy of a novel calcium sensitizer, levosimendan, in patients with left ventricular failure due to an acute myocardial infarction. A randomized,placebo-controlled,double-blind study(RUSSLAN) Eur Heart J 2002;23:1422-32
38. AbrahamWT, Adams KF, Fonarow GC, Costanzo MR, Berkowitz RL, LeJemtel TH, Ching ML, Wynne J. In hospital mortality in patients with acute decompensated heart failure requiring intravenous vasoactive medications: an analysis from the Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE) J Am Coll Cardiol 2005;46:57-64
39. Kivikko M, Lehtonen L, Colucci WS. Sustained hemodynamic effect of intravenous levosimendan. Circulation 2003;107:81-6
40. De Luca L, Colucci WS, Nieminen MS, Massie BM, Gheoghiade M. Evidence-based use of levosimendan in different clinical settings. Eur Heart J 2006;27(16):1908-1920
41. Figgitt DP, Gillies PS, Goa KL. Levosimendan Drugs 2001;61:613-27

42. Michaels AD, Mc Keowin B, Kotsal M, Vakharia KT, Jordan Mv, Gerher IL, Faster E, Chatterjee K. Effects of intravenous levosimendan on human coronary vasomotor regulation, left ventricular wall stress and myocardial oxygen uptake. *Circulation* 2005;111:1504-9
43. Du Toit, E.F.Muller, C.A McCarthy, J et al. Levosimendan: effects of a calcium sensitizer on function and arrhythmias and cyclic nucleotide levels during ischemia-reperfusion in the Langendorff perfused guinea pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;290:505-514
44. Kwon SH, Pimental DR, Rempndio A, Sawyer DB, Colucci WS. H₂O₂ regulates cardiac myocyte phenotype via concentration-dependent activation of distinct kinase pathways. *J Mol Cell Cardiol* 2003;35:615-21
45. Montes FR, Echeverri D, Burtiago L et al. The vasodilatory effect of levosimendan on the human internal mammary artery *Anesth Analg* 2006;103:1094-1098
46. Yildiz O, Seyrek M, Yildirim V et al. Potassium channel related relaxation by levosimendan in the human internal mammary artery *Ann Thorac Surg* 2006;81:1715-1719
47. Usta C, Eksert B, Golhari I et al. The role of potassium channels in the vasodilatory effect of levosimendan in human internal thoracic arteries *Eur J Cardiothorac Surg* 2006;30:329-332
48. Bowman P, Haikala H and Paul R. Levosimendan a calcium sensitizer in cardiac muscle, induces relaxation in coronary smooth muscle through calcium desensitization. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;288:316-325

49. Ozdem S.S, Yalcin O, Meiselman HJ et al. The role of potassium channels in relaxant effect of levosimendan in rat small mesenteric arteries. *Cardiovasc Drugs Ther* 2006;20:123-127
50. Yildiz O. Vasodilating mechanism of levosimendan: Involvement of K Channels. *J Pharmacol Sci* 2007;104:1-5
51. Yokoshiki H and Sperelakis N. Vasodilating mechanism of levosimendan. *Cardiovasc Drugs Ther* 2003;17:111-113
52. Erdei N, Papp Z, Pollesello P, Edes I, Bagi Z. The levosimendan metabolite OR-1896 elicits vasodilation by activating the Katp and BKca channels in rat isolated arterioles. *Br J Pharm* 2006;148:696-702
53. Erhardt, L.R. Is calcium sensitization the best strategy to improve myocardial contractility in acute heart failure? *Ital. Heart. J.* 2003;4 (Suppl 2):27S-33S.
54. Hastillo, A., Taylor, D.O., Hess, M.L. Specific positive inotropic agents. In: *Cardiovascular Drug and Therapy*, 2nd edition. Messerli FH (Ed.), W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1996;1151-1161.
55. Haikala, H., Nissinen, E., Etemadzadeh, E. Troponin C-mediated calcium sensitization induced by levosimendan does not impair relaxation. *J Cardiovasc. Pharmacol.* 1995;25:794-801.
56. Lilleberg, J., Nieminen, M., Akkila, J. Effects of a new calcium sensitizer, levosimendan, on hemodynamics, coronary blood flow and myocardial substrate utilization early after coronary artery bypass. *Eur. Heart. J.* 1998;19:660-668.

57. Bowman.P.,Haikala,H.,Paul,R.J. Levosimendan, a calcium sensitizer in cardiac muscle, induces relaxation in coronary smooth muscle through calcium desensitization. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*1999;288:316-325.
58. Jamali,I.N.,Kersten,J.R.,Pagel,P.S. Intracoronary levosimendan enhances contractile function of stunned myocardium. *Anesth. Analg.*1997;85:23-9.
59. Ukkonen,H.,Saraste,M.,Akkila,J. Myocardial efficiency during levosimendan infusion in congestive heart failure. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2000;68:522-531.
60. Haikala,H.,Kaheinen,P.,Levijoki,J. The role of cAMP- and cGMP-dependent protein kinases in the cardiac actions of the new calcium sensitizer, levosimendan. *Cardiovasc.Res.*1997;34:536-546.
61. Edes,I.,Kiss,E.,Kitada,Y. Effects of levosimendan, a cardiotonic agent targeted to troponin C, on cardiac function and on phosphorylation and Ca²⁺ sensitivity of cardiac myofibrils and sarcoplasmic reticulum in guinea pig heart. *Circ.Res.*1995;77: 107-113.
62. Pagel,P.S.,Harkins,C.P.,Hettrick,D.A. Levosimendan (OR-1259), a myoflament calcium sensitizer, enhances myocardial contractility but does not alter isovolumic relaxation in conscious and anesthetized dogs. *Anesthesiology.*1994;81:974-987.
63. Todaka,K.,Wang,J.,Yi,G.H. Effects of levosimendan on myocardial contractility and oxygen consumption. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1996; 279:120-127.

64. Lancaster,M.,Cook,S. The effects of levosimendan on $[Ca^{2+}]_i$ in guinea-pig isolated ventricular myocytes. *Eur.J.Pharmacol.*1997;339:97-100.
65. Pagel,P.S.,Mcgough,M.F.,Hettrick,D.A. Levosimendan enhances left ventricular systolic and diastolic function in conscious dogs with pacing-induced cardiomyopathy. *J.Cardiovasc.Pharmacol.*1997;29:563-573.
66. Du,Toit,E.F.,Muller,C.A,Mccarthy,J.,Opie,L.H. Levosimendan : effects of a calcium sensitizer on function and arrhythmias and cyclic nucleotide levels during ischemia/reperfusion in the Langerdorff-perfused guinea pig heart. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*1999;290:505-514.
67. Gross,R.,Strain,J.,Greenberg,M. Systemic and coronary effects of intravenous milrinone and dobutamine in congestive heart failure. *J.Am.Coll.Cardiol.*1986;7:1107-1113.
68. Pacold,I.,Kleinman,B.,Gunnar,R. Effects of low-dose dobutamine on coronary hemodynamics, myocardial metabolism and anginal threshold in patients with coronary artery disease. *Circulation.*1983;68:1044-1050.
69. Kersten,J.R.,Montgomery,M.W.,Pagel,P.S. Levosimendan, a new positive inotropic drug, decreases myocardial infarct size via activation of K(ATP) channels. *Anesth.Analg.*2000;90:5-11.
70. Sontagg,S.,Sundberg,S.,Lehtonen,L.A.,Kleber,F.X. The calcium sensitizer levosimendan improves the function of stunned myocardium after percutaneous transluminal coronary angioplasty in acute myocardial ischemia. *J.Am.Coll.Cardiol.*2004;43:2177-2182.

71. Du, Toit, E., Hofmann, D., McCarthy, J., Pineda, C. Effect of levosimendan on myocardial contractility, coronary and peripheral blood flow, and arrhythmias during coronary artery ligation and reperfusion in the in vivo pig model. *Heart*.2001;86:81-7.
72. Tassani, P., Schad, H., Heimisch, W. Effect of calcium sensitizer levosimendan on the performance of ischaemic myocardium in anaesthetized pigs. *Cardiovasc.Drugs.Ther*.2002;16:435-441.
73. Nieminen, M.S., Akkila, J., Hasenfuss, G. Hemodynamic and neurohumoral effects of continuous infusion of levosimendan in patients with congestive heart failure. *J.Am.Coll.Cardiol*.2000;36:1903-1912.
74. Toller, W.G., Stranz, C. Levosimendan, a new inotropic and vasodilator agent. *Anesthesiology*.2006;104:556-569.
75. Nieminen, M.S., Bohm, M., Cowie, M.R. Guidelines on the diagnosis and treatment of acute heart failure. *Eur.Heart.J*.2005;26:384-416.
76. Follath, F., Cleland, J.G., Just, H. Efficacy and safety of intravenous levosimendan compared with dobutamine in severe low-output heart failure (the LIDO study): a randomized double-blind trial. *Lancet*.2002;360:196-202.
77. Moiseyev, V.S., Poder, P., Andrejevs, N. Safety and efficacy of a novel calcium sensitizer, levosimendan in patients with left ventricular failure due to an acute myocardial infarction: A randomized, placebo-controlled, double-blind study (RUSSLAN). *Eur.Heart.J*.2002;23:1422-1432.

78. Garratt,C.,Packer,M.,Colucci,W. Development of a comprehensive new endpoint for the evaluation of new treatments for acute decompensated heart failure: results with levosimendan in the REVIVE 1 study. *Critical.Care.*2004;8 (Suppl 1): P89.
79. Packer,M. REVIVE II: Multicenter placebo-controlled trial of levosimendan on clinical status in acutely decompensated heart failure. In: American Heart Association Scientific Sessions 2005; November 13-16, 2005, Dallas, Texas. Late Breaking Clinical Trials II. *Circulation.*2005;112: 3363.
80. Mebazaa,A.,Nieminen,M.S.,Packer,M.,Cohen-Solal,A. Levosimendan vs dobutamine for patients with acute decompensated heart failure: the SURVIVE Randomized Trial. *JAMA* 2007,297(17):1883-1891.
81. Swedish Medical Products Agency [homepage on the Internet]. Simdax (levosimendan): summary of the product characteristics. Available from: http://www.lakemedelsverket.se/upload/SPC_PIL/Pdf/enhum-spc/Simdax%20conc%20f%20sol%20f%20inf%20ENG.pdf.
82. Singh,B.N.,Lilleberg,J.,Sandell,E.P.Effects of levosimendan on cardiac arrhythmia: electrophysiologic and ambulatory electrocardiographic findings in phase II and phase III clinical studies in cardiac failure. *Am.J.Cardiol.*1999;83:16(I)-20(I).
83. De,Luca,L.,Colucci,W.S.,Nieminen,M.S. Evidence-based use of levosimendan in different clinical setting. *Eur.Heart.J.*2006;27:1908-1920.

84. Robicsek F, Schaper J. Reperfusion injury: Fact or myth?, J Cardiac Surg 1997;12:133-7
85. Aantaa R. Assessment of the sedative effects of dexmedetomidine, an alpha-2 adrenoceptor agonists, with analysis of saccadic eye movements. Pharmacol Toxicol 1991; 68: 394-8.
86. Jalonen J, Hynynen M, Kuitunen A. Dexmedetomidine as an anesthetic adjunct in coronary artery bypass grafting. Anesthesiology 1997;86:331-345.
87. Laudénbach V, Mantz J, Evrard P. Dexmedetomidine protects against neonatal excitotoxic brain injury. 2000 ASA Meeting Abstract number A732
88. Morgan EG, Mikhail SM. Clinical Anaesthesiology Fourth Edition. The McGraw-Hill Companies 2008.
89. Esener Z. Klinik Anestezi. 1. Basım, Samsun: Logos Yayıncılık, 1991.
90. Adamopoulos S, Parissi JT, Iliodromitis EK, et al. Effect of levosimendan versus dobutamine on inflammatory and apoptotic pathways in acutely decompensated chronic heart failure. Am J Cardiol 2006;98(1):102-6
91. Judy R. Kertsen, Matthew W. Montgomery, Paul S. Pagel, David C. Warltier. Levosimendan, a new positive inotropic drug, decreases myocardial infarct size via activation of KATP channels. Anesth Analg 2000;90:5-11

92. Oldmer A, Konrad D, Weitzberg E, et al. Effect of levosimendan, a novel inotropic calcium sensitizing drug, in experimental septic shock. *Crit Care Med* 2001;29:2185-93
93. L. Tritapepe, V. De Santis, D. Vitale, M. Santulli, A. Morelli, I. Nofroni, P.E. Puddu, M. Singer, P. Pietropaoli. Preconditioning effect of levosimendan in coronary artery bypass grafting -a pilot study. *British Journal of Anaesthesia* 2006;96(6):694-700
94. S. Fehmi Katircioglu, Mustafa Seren, Ihsan Parlar, Nilufer N. Turan, Yasemin Manavbasi, Gulden Aydog, Ferit Cicekcioglu, Ufuk Tutun, A. Tulga Ulus. Levosimendan effect on spinal cord ischemia reperfusion injury following aortic clamping. *J Card Surg.* 2008;23:44-48
95. Loh HK, Sahoo KC. *Basic clinical pharmacology and toxicology* 2007, 100:233-239) Effects of Thalidomide on Isoprenaline-Induced Acute Myocardial Injury: A Haemodynamic, Histopathological and Ultrastructural Study
96. Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM, Omaye ST, Korte DW Jr, Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. *Anal Biochem* 1990;184:193-9.

8. ÖZET

Herhangi bir sebeple iskemi ve ardından reperfüzyon olduğunda iskeminin süresine bağlı olarak antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kalır ve hücrelerde artan SOR' lar hasar meydana getirir. İskemik dokuların reperfüzyonu sırasında doku hasarına neden olan ve inflamatuvar reaksiyonlar zincirini aktifleştiren sitokinler salınmaktadır. Bu çalışmada ratlarda myokard iskemi/reperfüzyon hasarında levosimendan'ın etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

Çalışmada deney hayvanı olarak kullanılan 24 rat; Grup K (n=6): kontrol, Grup I/R- (n=6): iskemi-reperfüzyon, Grup I/R-İSL (n=6): iskemi/reperfüzyon-iskemi sonrası levosimendan, Grup I/R-İÖL (n=6): iskemi/reperfüzyon öncesi levosimendan olarak rastgele dört gruba ayrıldı. Kalpte 45 dk iskemi sonrası 90 dk reperfüzyon uygulanan ratların kalplerinden alınan doku örneklerinde, SOD, GST, MDA, CAT düzeyleri ve histopatolojik parametreleri karşılaştırıldı. MDA enzim aktivitesi İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu. Ayrıca, İR-İÖL grubunda MDA enzim aktivitesi İR grubuna göre anlamlı düşük olarak tespit edildi.

SOD enzim aktivitesi IR grubunda K grubuna göre anlamlı düşük olarak bulundu. Ayrıca, İR-İÖL grubunda SOD enzim aktivitesi İR grubuna göre anlamlı yüksek olarak tespit edildi.

Gruplar serum GST ve CAT enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında; gruplar arasında fark bulunmadı.

Gruplar kalp kas dokusu myonekroz açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark vardı. Myonekroz İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu . Ayrıca, İR-İÖL ve İR-İSL gruplarında myonekroz İR grubuna göre anlamlı düşük olarak tespit edildi.

Gruplar kalp kas dokusu Hücre infiltrasyonu açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında, hücre infiltrasyonu İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu.

Ödem İR grubunda K grubuna göre anlamlı yüksek olarak bulundu. Ayrıca, İR-İÖL ve İR-İSL gruplarında ödem İR grubuna göre anlamlı düşük olarak tespit edildi.

Bu sonuç itibarıyla, başka çalışmalarla desteklendiğinde levosimendanın iskemi reperfüzyon hasarındaki protektif etkilerinin ayrıntılı olarak gösterileceği ve kullanım endikasyonlarının genişleyeceği kanaatindeyiz.

9. SUMMARY

The Effect of Levosimendan on Myocardial Ischemia Reperfusion Injury in Rats

Depending on the duration of ischemia, reactive oxygen species (ROS), which are related to cellular injury, may occur after I/R injury of various etiology. As a consequence, structural deterioration is caused by free oxygen radicals increasing within the cell. Cytokines, which activate a series of reactions that cause tissue damage and inflammatory response, are released during reperfusion of ischemic tissues. In this study, we aimed to compare the effects of levosimendan on ischemia/reperfusion injury.

Twenty-four rats are randomly divided into four groups: Group C (n = 6): control; Group I/R (n=6): ischemia/reperfusion; Group I/R-LAI (n=6): ischemia/reperfusion-levosimendan after ischemia; and Group I/R-LBI (n=6):ischemia/reperfusion-levosimendan before ischemia.

Heart tissue samples were obtained following 45 minutes of ischemia and 90 minutes of the reperfusion period to assess MDA, SOD, GSH-, and CAT levels. Histopathological parameters were also compared.

MDA levels were significantly higher in Group IR than in the Group C. Further, MAD levels were significantly lower in Group I/R-LBI than in Group I/R.

SOD levels were significantly lower in Group I/R than in the Group C.

Further, SOD levels were significantly higher in Group I/R-LBI than in Group I/R.

GST and CAT levels were similar in all groups.

Myonecrosis in Group IR was significantly higher than in Group C.

Additionally, myonecrosis in groups IR-LBI and IR-LAI was found to be significantly lower than in Group IR.

Cell infiltration in Group IR were significantly higher than Group C.

Edema was found to be significantly higher in Group IR than in Group C. In addition, edema was found to be significantly lower in groups IR-LAI and I/R-LBI than in Group IR.

Based on the results, we believe that, the protective effects of levosimendan on ischemia-reperfusion injury will be shown in detail and indication for use will be expanded, with support from other studies .

8. ETİK KURUL ONAYI



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

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/212 - 23830
KONU :

22.12/2011

Sayın

Doç.Dr.Levent OKTAR
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

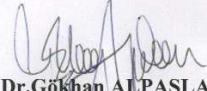
Araştırmacı grubu Levent OKTAR, Nadide DEMİR, Mustafa ARSLAN, Yusuf ÜNAL, Ayşegül KÜÇÜK, Murat TOSUN, Mustafa KAVUTCU ve Mustafa BİLGE'den oluşan, G.Ü.ET-11.107 kod numaralı ve "*Ratlarda Levosimendan'ın Miyokard İskemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Etkisi*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-11.107 and entitled "*The Effect of Levosimendan on Ischemia Reperfusion Injury in Myocart of Rat*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

EK : 1 Liste


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

9.ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Nadide Demir Amaç

Doğum Tarihi: 20 Eylül 1980

Doğum Yeri : Kayseri, Türkiye

Uyruk: TC Vatandaşı

Medeni durum: Evli

YAZIŞMA ADRESİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ Kalp Damar Cerrahisi A.D.

06500 Besevler, Ankara, Türkiye

Tel: 0312 202 6797

Email:nadide-demir@hotmail.com.tr

Eğitim Geçmişi:

	Tarih	Okul
Lise :	1995-1999	Istikbal College (burslu)
Üniversite:	1999-2005	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Uzmanlık Eğitimi:	2006-halen	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi ABD

Mesleki Tecrübe:

Tarih	Yer	Pozisyon
2005-2006	Incek Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Hastanesi	Pratisyen Hekim
2011 Ekim	Medisch Spectrum Twente Hospital Thoracic Surgery Clinic Enschede, Nederland	Gözlemci
2012 Ocak	Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Kliniği Konjenital Kalp Cerrahisi	Gözlemci

Yabancı Dil: İngilizce

Bilimsel Kuruluşlara Üyelik: Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği

CTS-Net