

758198

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

*İN VİVO* SIÇANDA MİYOKARDİYAL İSKEMİ-  
REPERFÜZYON NEKROZUNDA ANJİOTENSİN II  
RESEPTÖR BLOKERLERİ (AT<sub>1</sub>, AT<sub>2</sub>) VE ANJİOTENSİN  
DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM İNHİBİTÖRÜ KAPTOPRİLİN  
ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

158198

Dr. Hakan PARLAKPINAR  
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Ahmet ACET

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>SAYFA</b>
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER</b>	<b>5</b>
2.1.Kalbin histolojisi	5
2.2.Kalbin anatomisi	6
2.3.Kalbin fizyolojisi	7
2.4.Kalpte iskemi-reperfüzyon hasarı	10
2.4.1.İskeminin elektriksel aktivite üzerine etkileri	11
2.4.2.İskeminin kontraktıl fonksiyonlar üzerine etkileri	12
2.5.Reperfüzyon hasarının mekanizmaları	13
2.5.1.Serbest oksijen radikalleri	14
2.5.2.Nötrofil aktivasyonu	16
2.5.3.Kompleman sisteminin rolü	18
2.6.Kardiyak nekroz	19
2.7.Renin-Anjiyotensin sistemi	21
2.7.1.Sistemik Renin-Anjiyotensin sistemi	22
2.7.2.Lokal Renin-Anjiyotensin sistemi	22
2.7.3.Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE)	24
2.8.Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri	24
2.9.Anjiyotensin II ve reseptörleri	29
2.9.1.Anjiyotensin II Tip 1 reseptörü	30
2.9.2.Anjiyotensin II Tip 2 reseptörü	37
2.9.3.Anjiyotensin II Tip 4 reseptörü	43
<b>3.GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>44</b>
3.1.Deney hayvanları ve gruplar	44
3.2.Cerrahi uygulama	44
3.3.İlaç uygulaması	46
3.4.Hemodinamik parametrelerin değerlendirilmesi	46
3.5.Nekroz alanı tayini	47
3.6.İstatistik	48
<b>4.BULGULAR</b>	<b>49</b>
4.1.Kullanılan ilaçların kan basıncı üzerine etkileri	49
4.2.Kullanılan ilaçların kalp hızı üzerine etkileri	52
4.3.Kullanılan ilaçların nekroz alanına etkileri	55

<b>5.TARTIŖMA</b>	<b>57</b>
<b>6.SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>68</b>
<b>7.ÖZET</b>	<b>70</b>
<b>8.SUMMARY</b>	<b>71</b>
<b>9.KAYNAKLAR</b>	<b>72</b>



## **ŐEKİLLER DİZİNİ:**

**Şekil 1:** Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın ortalama kan basıncına etkilerinin grafiksel olarak gösterimi

**Şekil 2:** Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın ortalama kalp hızına etkilerinin grafiksel olarak gösterimi

**Şekil 3:** Kaptopril, losartan, PD123319 ve PD123319+losartanın *in vivo* sıçan modelinde iskemi ve reperfüzyon esnasında gözlenen nekroz/risk (N/R) alanına etkilerinin grafiksel olarak gösterimi

**Resim 1:** Reperfüzyon aşamasındaki bir deney görüntüsü

**Resim 2:** Kaydedilen EKG, kan basıncı ve kalp hızından bir örnek

**Resim 3:** Kalp dilimlerinde nekrotik sahanın görünümü

**Resim 4:** Floresan ışık altında risk alanının görünümü

## **ÇİZELGELER DİZİNİ:**

**Tablo 1:** AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ve reseptör bağlanma özellikleri

**Tablo 2:** AT2 reseptörünün KVS' deki fizyolojik rolü

**Tablo 3:** Ang II reseptörleri ve etkileri

**Tablo 4:** Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın ortalama kan basıncına etkileri

**Tablo 5:** Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın ortalama kalp hızına etkileri

**Tablo 6:** Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın risk ve nekroz alanına etkileri

## KISALTMALAR

A <sub>0</sub>	Anjiotensinojen
Ang I	Anjiotensin I
Ang II	Anjiotensin II
ADE	Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
AT <sub>1</sub>	Anjiotensin Tip 1 Reseptörü
AT <sub>2</sub>	Anjiotensin Tip 2 Reseptörü
Dk	Dakika
EF	Ejeksiyon Fraksiyonu
GFH	Glomerüler Filtrasyon Hızı
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
I-R	İskemi-Reperfüzyon
IP <sub>3</sub>	İnozitol Trifosfat
CAT	Katalaz
KVS	Kardiyovasküler Sistem
KMP	Kardiyomiyopati
KKY	Konjestif Kalp Yetmezliği
CP	Kreatin Fosfat
MAK	Membran Atak Kompleksi
MI	Miyokard İnfarktüsü
MI/R	Miyokardiyal İskemi-Reperüzyon
NE	Nörepinefrin
NO	Nitrik Oksit
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
OAKB	Ortalama Arteriyel Kan Basıncı
OKH	Ortalama Kalp hızı
PTCA	Perkütan Transluminal Koroner Anjioplasti
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
PMNL	Polimorfonükleer Lökosit
PARS	Poli ADP-Riboz Sentaz
PGI <sub>2</sub>	Prostasiklin
RAS	Renin Anjiotensin Sistemi
Sn	Saniye
LVEDV	Sol Ventrikül end-diastolik Volüm
LVESV	Sol Ventrikül end-Sistolik Volüm
SOD	Süperoksit Dismutaz
TTC	Trifenil Tetrazolium Klorid
VSMC	Vasküler Düz Kas

## TEŐEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında her aŐamada s¼rekli teŐvik ve desteklerini g¼rd¼ğ¼m tez danıŐmanım değerli hocam Prof. Dr. Ahmet Acet'e, çalıŐmalarım esnasında öneri, bilgi ve tecr¼belerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Erc¼ment ¼lmez ve Doç. Dr. Mustafa Birincioğluna en derin saygı ve teŐekk¼rlerimi sunarım.

¼zellikle tezimin deneysel kısmında farklı aŐamalarda yardımlarını g¼rd¼ğ¼m Şu anda S¼leyman Demirel ¼niv. Tıp Fak. Farmakoloji Ab Dalında g¼revli Yrd. Doç. Dr. Mehmet Kaya ¼zer'e, Fırat ¼niv. Tıp Fak. Farmakoloji Ab Dalında g¼revli Yrd. Doç. Dr. Engin Őahnaya ve Anabilim Dalımızda g¼revli Uzm. Dr. Mustafa İraz'a teŐekk¼r¼ bir borç bilirim.

Ayrıca Anabilim Dalımızdan ArŐ. Grv. Dr. Seda AđlamıŐ, ArŐ. Grv. Dr. Muhammed Yanılmaz'a ve araştırma s¼resince devamlı desteğini g¼rd¼ğ¼m sevgili eŐime çok teŐekk¼r ederim.



## BÖLÜM 1

### GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyovasküler sistem (KVS) hastalıklarına bağlı ölümler, halen dünyada görülen en sık mortalite sebebidir. Yılda 12 milyon kişinin bu hastalıklara bağlı olarak öldüğü tahmin edilmektedir (1). A.B.D’de de yılda yaklaşık olarak 700.000 kişinin bu hastalıklar sebebi ile öldüğü bildirilmektedir. Bu oran total mortalitenin yaklaşık %40’ını oluşturmaktadır (2). Türkiye’de de KVS hastalıkları ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır (3). Bu ölümlerin %85 ile %90’ nından iskemik kalp hastalığı, pulmoner hipertansif kalp hastalığı, konjenital kalp hastalığı, aort kapağının kalsifik daralması gibi bazı kapak hastalıkları, mitral valvül prolapsusu, infektif endokardit ve romatizmal kalp hastalığı sorumludur. Bununla beraber en sık karşılaşılan durum; miyokardı besleyen kan akımının klinik ve patolojik belirti verecek kadar azalması olan “koroner aterosklerotik kalp hastalığı”dır (4).

Miyokardiyal iskemi; ateroskleroz, tromboembolizm, PTCA (percutaneous transluminal coronary angioplasty), koroner arter bypass ve transplantasyon gibi fizyolojik ve terapotik uygulamalar neticesinde ortaya çıkabilmektedir. İskeminin önemi, miyokarda yeterli glukoz ve oksijen sağlanamamasıyla beraber, anaerobik glukozu bağı olarak biriken NADPH, sitrat, laktat, H<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup> gibi metabolik artıkların temizlenememesinden kaynaklanmaktadır (5, 6). Sonuç olarak, oksidatif metabolik yollar inhibe olur ve bunlar miyokardiyal disfonksiyon ve hücre ölümüne (nekroz) neden olan bir dizi olaylar zincirini başlatır. Bunun sonucu olarak kasılma yeteneği azalır ve aritmiler görülmeye başlar. Miyokardiyal iskeminin sıklıkla letal aritmiler ve miyokard infarktüsü (MI) gibi ciddi patolojik durumlarla sonuçlanması konunun önemini bir kat daha artırmaktadır. Bu yüzden gelişen olayların patogenezinde rol alan



mekanizmaların açığa çıkartılması, tedavide gerekli müdahalelerin zamanlama ve sıralama ve uygun ajanların belirlenmesine temel oluşturacaktır (7).

İskemik kan akımının yeniden sağlanması olayına reperfüzyon denilir ki, aksi halde doku ölümü kaçınılmazdır. Reperfüzyon; geçici arteryal oklüzyonuna bağlı olarak ya da iatrojenik olarak trombolitik veya balon anjioplastik tedavi sonrasında oluşabilir (8). Fakat reperfüzyonun, uygun koşullarda ve uygun zamanda yapılmadığında bir takım ciddi ve istenmeyen sonuçlara neden olduğu gösterilmiştir (9). Reperfüzyon, nedenleri henüz tam olarak bilinmemekle beraber paradoksik olarak, bazı morfolojik değişikliklere, istirahat geriliminin artması (kontraktür), enzim yıkımının artması (10, 11), ventriküler fibrilasyon gibi ciddi ventriküler aritmilere (12) hatta henüz canlı ve kurtarılabılır durumda olan bazı hücrelerin ölümüne (nekroz) yol açabilir (9). Reperfüzyonda oluşan aritmilerin çok tehlikeli oldukları, cerrahi operasyonlar sırasında (örneğin kardiyopulmoner by-pass sırasında meydana gelen reperfüzyon aritmileri) daha iyi anlaşılmıştır. Son zamanlarda akut MI' lı hastalara uygulanan trombolitik tedavi nedeniyle konu daha da önem kazanmıştır. Deliller reperfüzyonun indüklediği ventriküler fibrilasyonun ani kardiyak ölüm nedenlerinden biri olduğunu göstermektedir (10). Reperfüzyonun meydana getirdiği bu hasarın temel mekanizması henüz aydınlatılamamıştır. Bu konuya yönelik birçok çalışma yapılmakta ise de yeterli bilgi birikimi daha oluşmamıştır. İskemi-Reperfüzyona (I-R) bağlı miyokard hasarı, kardiyak kontraktıl disfonksiyon, aritmiler ve geri dönüşümsüz miyosit hasarını içerir. Bu I-R hasarının nedeni halen tartışmalı olmakla birlikte, iskemideki elektrofizyolojik anormallikler (özellikle,  $Ca^{++}$  ve  $K^+$  için iyonik dengesizlik) ve reperfüzyonda aşırı serbest radikal üretimi, geçerli hipotezler olarak kabul edilmektedir. Bu radikaller, membran hasarı, DNA yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, takiben apoptozis ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümü meydana getirmektedirler (13, 14). Uzun süreli I-R sonucunda meydana gelen hücre ölümü, geniş bir infarkt alanı (nekroz) oluşturabileceğinden hastanın prognozunu ve ilerdeki yaşam kalitesini belirlemesi açısından hayati öneme sahiptir ve akut koroner sendromlarda miyokardiyal nekrozu önlemek acil tedavi hedeflerindedir (15).

Renin-Anjiyotensin sistemi (RAS) kardiyovasküler homeostazisi düzenleyen temel mekanizmalardandır. Anjiyotensin II (Ang II) vazokonstriktör etkisiyle çeşitli sebeplerle oluşan hipertansiyonda, kan basıncındaki yükselmenin sürekliliğini sağlar ve kronik kalp yetmezliğinde afterloadı yükseltir. Ang II aynı zamanda aldosteronun

salınımını uyarmakla glomerulusun yapı ve fonksiyonunu etkilediği, bununla birlikte miyokardiyal ve arteriyal hipertrofiyi indükleyerek, aterosklerozda proliferatif ve hipertrofik mekanizmalarda da rol aldığı bildirilmiştir. Bu nedenle RAS, hipertansiyonun ve kalp yetmezliğinin fizyopatolojisinde önemli bir role sahiptir (16). Ang II'nin oluşumunu bloke eden ve bradikininin yıkımını önleyen Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri konjestif kalp yetmezliği (KKY) ve hipertansiyon tedavisinde önemli ajanlardandır. Bu bilinen özelliklerine ek olarak, ADE inhibitörlerinin post-iskemik enzimleri ve nörepinefrin (NE) salınımını (17), fonksiyonel ve metabolik hasarı (18, 19) ve reperfüzyon aritmilerini (20, 21) azaltmaları ile miyokardiyal I-R hayvan modellerinde “kalp koruyucu” olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte ADE inhibitörlerinin endotelial fonksiyonları düzelttiği de tesbit edilmiştir (22).

Ang II'nin etkilerine aracılık ettiği bilinen en iyi iki tane reseptör alttipi tanımlanmıştır; Ang II tip 1 (AT<sub>1</sub>) ve tip 2 (AT<sub>2</sub>). Bu reseptörlerin genel olarak birbirlerine zıt etki ettikleri bilinmektedir (23-25). AT<sub>1</sub> reseptörleri, Ang II'nin kalp üzerindeki zararlı etkilerinden sorumlu tutulmaktadır. Kalp koruyucu ve büyümeyi inhibe edici etkileri olduğu düşünülen AT<sub>2</sub> reseptörleri, losartan gibi selektif AT<sub>1</sub> blokörleri uygulamasından sonra pozitif feedback mekanizmasının bir sonucu olarak artan Ang II tarafından stimüle edildiği söylenir. Yine AT<sub>2</sub> blokajı yapıldığında da AT<sub>1</sub> reseptörü blokajının kalpteki yararlı etkilerini baskıladığı gösterilmiştir (26). Hem Ang II, hem de I-R gibi patolojik koşullar neticesinde AT<sub>2</sub> reseptörü aktive olup, aynı zamanda reseptör sayısındaki artışa bağlı olarak kalp üzerinde koruyucu rol oynayan bradikinin, prostaglandin ve nitrik oksit (NO) düzeylerinde artışa yol açmaktadır (27, 28). AT<sub>1</sub> blokörleri, hipertansiyonun tedavisinde etkili olup iyi tolere edilmektedir. ADE inhibitörlerine bağlı olarak gelişen öksürük görülmemektedir. Yine yapılan çalışmalar AT<sub>1</sub> blokörlerinin metabolik ve renal yan etkilerinin olmadığını ve bu nedenle dislipidemili, diabetes mellituslu ya da nefropatili hastalarda antihipertansif ilaç olarak rahatlıkla kullanılabilceğini göstermektedir. Kronik kalp yetmezliği olan hastalarda yapılan bir kaç çalışmada AT<sub>1</sub> blokörlerinin yararlı vazodilatatör, hemodinamik ve nörohormonal etkileri tesbit edilmiştir. Hipertansiyon ve kronik kalp yetmezliği olan hastalarda AT<sub>1</sub> blokörlerinin uzun süreli kalp koruyucu ya da renal yararlı etkileri ve ayrıca mortalite ve morbidite üzerine etkileri halen araştırılmaktadır. Çok sayıda hastada planlanan, uzun süreli ve randomize kliniksel çalışmalar AT<sub>1</sub> blokörlerinin kardiyovasküler tedavideki yerini açığa çıkarmak için yapılmaktadır (29).

Bununla beraber AT<sub>1</sub> blokörlerinin bu faydalı etkilerinin sadece AT<sub>1</sub> reseptörlerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak suretiyle değil, blokaj neticesinde Ang II' nin AT<sub>2</sub> reseptörüne bağlanması neticesinde bu reseptörün faydalı etkilerinin de olaya katıldığı tahmin edilmektedir (30, 31). Çünkü AT<sub>1</sub> reseptör blokajı neticesinde plazmada renin ve Ang II artar. Artmış olan Ang II, AT<sub>2</sub> reseptörü üzerinden etkilerini sürdürecektir. Böylelikle sadece zararlı etkilerden sorumlu olan AT<sub>1</sub> blokajı değil, beraberinde de AT<sub>2</sub> reseptörünün etkileri olaya karışacaktır.

Bu deneysel çalışmamızda *in vivo* olarak sıçanlarda oluşturulan miyokardiyal I-R modelinde; ADE inhibitörlerinden kaptopril, AT<sub>1</sub> selektif reseptör blokörü losartan ve AT<sub>2</sub> selektif reseptör blokörü PD123319' un hem hemodinamik parametrelere hem de infarkt alanına etkilerini karşılaştırmalı olarak inceleyerek olayın fizyopatolojik mekanizmalarını açığa çıkarmayı amaçlamış bulunmaktayız.



## BÖLÜM 2

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1.Kalbin Histolojisi

Kalp kasını oluşturan kas telleri bazı yönleri ile iskelet kasına, bazı yönleri ile de düz kas tellerine benzerler. Miyofibrillerin enine çizgili olmasından, bandlaşma göstermesinden dolayı, iskelet kası tellerine benzerlerken, kas tellerinin tek çekirdek içermeleri ve bu çekirdeklerin, tellerin santraline yerleşmeleri bakımından da, düz kaslara benzer. Kas tellerinin kollaterallerle ve özel bir biçimde peş peşe birbirlerine bağlanmaları, diğer kas tellerinde bulunmayan özellikleridir. Böylece kalp kası, üç boyutlu bir ağ sistemi meydana getirir. Bunların birbirlerine bağlandıkları yerler, ışık mikroskobunda, Z bandlarından daha kalın diskler halinde görünürler. Bu diskler interkalat diskler diye isimlendirilirler. Bağlantı yerlerinden her biri, çoğunlukla, merdiven basamakları görünümünde olan birkaç disk içerirler. Bu bağlantı yerleri aynı zamanda uyarımlarında hücreden hücreye geçmelerini sağlarlar. Bağlantı yerlerine en belirgin olarak papiller kaslarda rastlanır (32).

Kalp duvarı üç tabakadan oluşur: Endokardiyum, Miyokardiyum, Epikardiyum (Perikardiyumun visseral yaprağı). Epikardiyum dışında perikard boşluğu bulunur ki, kalp bu boşluk içinde yer alır. Bu boşluğu da perikardiyumun pariyetal tabakası sarar. Kalbin santral bölgesinde bir fibröz iskelet vardır. Bu iskelet kalp kapakçıklarına ve kalp kası hücrelerine tutunma alanı sağlayarak atriyumlarla ventriküllerin miyokardını birbirinden ayırır.

**Endokardiyum:** Endokardiyum, kalbin lümenini çevirir. İçten dışa doğru endotel tabakası, subendotel tabaka, muskuloelastik tabaka ve subendokardiyal tabakadan oluşmuştur.

**Miyokardiyum:** Kalp duvarının en kalın tabakasıdır. Kalp kası hücrelerinden meydana gelir. Bazı kalp kası hücreleri miyokardiyumu kalbin fibröz iskeletine bağlar, bazıları endokrin salgı (örneğin: atriyal natriüretik polipeptid, kardiyonatrin, ve kardiyodilatin) için özelleşmiştir, bazıları da uyarı çıkarmak ve iletmek için özelleşmiştir (33).

**Perikardiyum:** Miyokardın dış yüzünü saran çift yapraklı seröz bir zarıdır. İç yaprağı kalp duvarının en dış tabakasını oluşturur. Bu yaprak perikardiyumun visseral yaprağıdır ve epikardiyum adını alır (34). Epikardiyumun serbest yüzeyi tek katlı epitel hücrelerinden yani mezotelyumdan oluşur. Yine benzer şekilde pariyetal perikardiyal yüzey de mezotelyal katman içerir. Bu mezotelyal hücreler, küçük miktarda seröz sıvı salgılayarak pariyetal perikardiyum üzerinde hareket eden epikardiyumu kayganlaştırır (35). Dış yaprak ise perikardiyumun pariyetal yaprağıdır. İki yaprak arasında perikard boşluğu vardır. Perikard boşluğunda bir miktar seröz sıvı vardır, bu sıvı sayesinde yapraklar arasında kayganlık sağlanır (33).

## **2.2.Kalbin Anatomisi**

Kalp; sağ ve sol atriyum ve ventriküller olmak üzere 4 boşluktan oluşur. Bu boşlukları birbirinden ayıran bölmelerin dış duvara tutunduğu yerlerde oluklar bulunur. Bu oluklardan atriumlarla ventrikülleri birbirinden ayırana taç' a benzediği için sulkus koronarius denilir. Sulcus koronariusun içerisinde kalbi besleyen damarların ana bölümleri ile sinus koronarius bulunur. Koni şeklinde kalbin taban kısmına, basis kordis denilir. Basis kordis, sol atriyumun tümü ve sağ atriyumun da küçük bir bölümü tarafından oluşturulur. Sol kenarını oluşturan sol atriyuma, sağ ve sol vena pulmonalisler açılır. Kalbin ön sağa doğru yönelmiş olan tepe kısmına apeks kordis adı verilir. Sağ atriyuma, vena kava superior, vena kava inferior ve kalbin venöz dolaşımının yaklaşık %60' ını toplayan sinus koronarius boşalır. Vena kava superior, vücudun üst yarısından gelen kanı toplarken, vena kava inferior aşağı yarının kanını taşır ve atrium dekstranın alt kısmına açılır. Vena kava superior kapaksız olup, vena kava inferior rudimenter ve non-fonksiyone kapak içerir (36, 37). Sağ atriyumu sağ ventriküle ostium atrioretrikülare dekstrum ismi verilen kapak bağlar. Sağ ventrikülün tabanında bulunan

bu delik, anulus fibrosus dekster denilen fibröz bir halka ile çevrenmiştir. Ostium atrioventrikulare dekstrumda kuspis anterior, posterior ve septalis olmak üzere üç adet üçgen şeklinde kapakçık bulunur. Buna triküspid kapak ismi verilir (38, 39). Kapakçıkların atriyuma bakan yüzleri düz olup, kan akış yönüne doğru meyillidir. Diğer yüzleri ventrikül duvarına doğru bakar. Ostium atrioventrikulare dekstranın yukarı ve solunda da ostium trunki pulmonalis bulunur. Kalbin diastolü esnasında bu deliği kapakçıklar (valvula semilunaris) kapatır. Sol atriyum, sağdan daha küçük olup kalbin tabanının büyük kısmını oluşturur. Asıl atriyum boşluğu ve aurikula sinistra olmak üzere iki bölümden oluşur. Asıl atrium bölümüne dört adet vena pulmonalisler açılır. Sol atriyum, sol ventriküle ostium atrioventrikulare sinistra ile bağlanır. Bu delikte valva atrioventrikulare sinistra (valva mitralis) bulunur. Sadece kuspis anterior ve posterior yaprakçıklardan oluşmuştur. Ostium atrioventrikulare sinistrumun ön sağ tarafında ostium aorta bulunur. Bu delikte valva aorta denilen üç adet semiluner kapakçık bulunur (37).

Kalp kası, beyin hariç diğer organlardan daha fazla oksijene gereksinim duymaktadır. Kalp kası, içinde bulunan kandan direkt olarak yararlanamaz. Kalbi besleyen bu damarlar arteria koronarius olarak adlandırılır ve aortadan direkt çıkarlar. Koroner arterlerle gelen kan, vena kordis aracılığıyla sağ atriuma dökülür. Kalbin pompaladığı tüm kanın %5-10' u (günde 380 litre) kalp duvarının beslenmesi için kullanılır. Koroner arterler, sağ ve sol olmak üzere iki tanedir. Semiluner kapakçıkların üst tarafında, aortanın başlangıcından çıkarlar. Sağ koroner arter, aortadan çıktıktan sonra önce sağ atrium ve ventrikül arasındaki olukta (sulkus koronarius), daha sonra kalbin alt yüzünde interventriküler olukta ilerler. Sol koroner arter, aortadan çıktıktan sonra önce trunkus pulmonalis ile sol aurikula arasında ilerler, daha sonra interventriküler ve sirkumfleks dalına ayrılır. Koroner arterlerle kalp duvarına gelen kanın 2/3'ü koroner arterlere eşlik eden venlerle, sinus koronarius oradan da sağ atriuma akar. 1/3'lük kısım ise Galenos ve Thebesius venleri ile geri döner (40).

### **2.3.Kalbin Fizyolojisi**

#### **Fizyo-Anatomik İnceleme**

İnsan kalbinde, sino-atriyal (SA) düğüm, üst vena kava ile sağ atriyum kavşağında yer alır. Atriyo-ventriküler (AV) düğüm ise, interatriyal septumun sağ arka bölümünde bulunur. AV düğümü, normalde atriyumlarla ventriküller arasındaki tek iletim yoludur.



AV düğümü, interventriküler septumun tepesinde sol demet dalını veren ve sağ demet dalı olarak devam eden his demetiyle devam eder.

SA düğüm ve daha az oranda AV düğümü, gap kavşaklarla birbirine bağlanan, az organelli, küçük yuvarlak hücreler de içerir. Bunlar olasılıkla, gerçek önder odak hücrelerdir, ve bu nedenle P hücreleri olarak adlandırılır. SA düğüm embriyonun sağ tarafındaki yapılardan, AV düğümü ise sol tarafındaki yapılardan oluşur. Bundan dolayı, erişkinde, sağ vagus temel olarak SA düğümüne, sol taraf temel olarak AV düğümüne dağıtılmıştır (41).

### **Kalp Kasının Özellikleri**

Kalp kası, hem iskelet hem de düz kas özelliklerinin her ikisine de sahiptir. Kalın miyozin ve ince aktin filamentlerinden oluşmuş olan miyokardiyal lifler, yaklaşık -90 mV dinlenim zar potansiyeline sahiptir. Tek tek lifler birbirlerinden zarlarla ayrılmıştır, fakat depolarizasyon, gap kavşaklar nedeniyle ışınsal olarak, sanki bu lifler tek bir lif gibi hepsine yayılır. İlk depolarizasyon, hızla açılan  $Na^+$  kanallarından hücre içine  $Na^+$  girişi nedeniyledir. Daha yavaş açılan  $Ca^{2+}$  kanallarından hücre içine  $Ca^{2+}$  girişi, plato evresini oluşturur. Repolarizasyon ise, üç tip  $K^+$  kanalı üzerinden gerçekleşen net  $K^+$  çıkışına bağlıdır.

### **Kalbin Uyarımı**

Kalbe giden noradrenerjik sempatik sinirlerdeki uyarılar, kalp hızı ve kalbin kasılma kuvvetini artırır. Bunlar, olasılıkla sempatik sonlanmalarda bir ko-transmitter olan nöropeptid Y salınımı ile vagal uyarının etkilerini de inhibe eder. Kalbin kolinerjik (başlıca asetil kolin salarlar) vagal liflerindeki uyarılar kalp hızını azaltır. Her ne kadar dinlenimde, kalbin sempatik sinirlerinde (başlıca NE salarlar) orta düzeyde tonik boşalım varsa da, insan ve diğer büyük hayvanlarda tonik vagal boşalım oldukça fazla miktardadır. Deney hayvanlarında, vaguslar kesilecek olursa kalp hızı artar. Atropin gibi parasempatolitik ilaçlar verildikten sonra insanlarda da kalp hızı, sempatik tonusun serbest kalmasından dolayı dinlenimdeki normal değeri olan, dakikada (dk) 70 atımdan 150-180 atıma yükselir. Adrenerjik ve kolinerjik sistemlerin her ikisinin de engellendiği insanlarda, kalp hızı yaklaşık olarak 100'dür (42).

### **Kalpte Uyarının Yayılımı**

SA düğümünde başlayan depolarizasyon atriyumların içinde ışınsal olarak dağılır ve daha sonra, AV düğümünde bir araya gelirler. Atriyal depolarizasyon yaklaşık 0.1 saniyede (sn) tamamlanır. AV düğümünde iletim yavaş olduğu için uyarı ventriküllere yayılmadan önce 0.1 sn bir gecikme olur. Septumun tepesinden, depolarizasyon dalgası, hızlı iletim yapan purkinje liflerinde dağılarak ventriküllerin her yerine 0.08-0.1 sn'de ulaşır. İnsanlarda ventriküler kasın depolarizasyonu, interventriküler septumun sol yanında başlar ve ilk olarak, septumun orta bölümünde sağa hareket eder. Depolarizasyon dalgası, daha sonra septumdan aşağı doğru, kalbin apeksine yayılır. Endokardiyal yüzeyden epikardiyal yüzeye doğru ilerlerken ventriküler duvarlar boyunca AV oluğuna geri döner. Kalbin en son depolarize olan bölümleri, sol ventrikülün posterio-basal kısmı, pulmoner konus ve septumun en üst kısmıdır.

### **Normal Kalp Hızı**

Normal insan kalbinde, her kalp atımı SA düğümünden kaynaklanır. Kalp, dinlenme sırasında dakikada 70 kez atar. Hızı uyku esnasında yavaşlar (bradikardi) ve duygu, egzersiz, ateş ve diğer birçok uyarılarla hızlanır (taşikardi). Normal hızla nefes alan sağlıklı genç bireylerde, solunumun değişik evrelerinde kalp atım hızı değişiklik gösterir; nefes alırken hızlanır, nefes verirken ve özellikle de solunumun derinliği artacak olursa yavaşlar. Bu sinüs aritmisi normal bir olaydır ve parasempatik çıktıdaki dalgalanmalara bağlıdır.

### **Kalp Kasının Kasılabilirliği**

Miyokardın kasılma gücü atım hacmi üzerine çok etkilidir. Kalbe giden sempatik sinirler uyarıldığı zaman boy-gerilim eğrisinin tamamı sola ve yukarı doğru kayar. Adrenerjik sinir sonlanmalarında açığa çıkan NE'nin pozitif inotropik etkisi dolaşımdaki NE tarafından artırılır; adrenalinde de benzer bir etkiye sahiptir. Vagal uyarının atriyum kası ve daha az derecede olmak üzere ventrikül kası üzerine negatif inotropik bir etkisi vardır.

Kalp hızı ve ritmindeki değişiklikler de miyokardın kasılabilirliğine etki eder. Ventriküler ekstrasistoller miyokardı öylesine bir duruma hazırlarlar ki, ekstrasistollerden sonraki kasılma bir önceki normal kasılmadan daha kuvvetlidir.



## **Kalbin Oksijen Tüketimi**

Kalp durdurulup, koroner dolaşım yapay olarak sürdürülürken saptanan miyokardın bazal O<sub>2</sub> tüketimi, yaklaşık 2 mL/100 g/dk dır. Bu değer dinlenme halindeki iskelet kasına ait değerden oldukça yüksektir. Çalışan kalbin O<sub>2</sub> tüketimi, dinlenimde yaklaşık 9 mL/100 g/dak' dır. Kalbin O<sub>2</sub> tüketimi, başlıca miyokard içi gerilim, kalp kasının kasılma hali ve kalp hızı tarafından belirlenir. Yapılan iş atım hacmi ile pulmoner arterdeki ortalama arter basıncı (sağ ventrikül için) veya aorttaki ortalama arter basıncının (sol ventrikül için) çarpımına eşittir. Aort basıncı, pulmoner arter basıncından yedi kat daha yüksek olduğu için sol ventrikülün atım işi, sağ ventrikülün atım işinden yaklaşık yedi kat daha fazladır (43).

Kalbin fonksiyonunu düzgün bir şekilde devam ettirebilmesi için ileti sistemi, uyarılabilirlik (ekstabilite), kontraksiyon gibi niteliklerinin bozulmamış olması gerekir. Bu da, kalbi besleyen kan akımının devamına bağlıdır. Kan akımının azalması veya durması kontraksiyonların bozulması (miyokard sersemlemesi; myocardial stunning), aritmiler ve MI gibi çeşitli istenmeyen önemli durumlara yol açar (7).

## **2.4.Kalpte İskemi-Reperfüzyon Hasarı**

Dokunun metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için arteriyel akım ile yeterli oksijen ve besinin sağlanamadığı durumlarda iskemiden söz edilir. İskemi, doku hasarına yol açtığı için önemli bir durumdur. Oluşan hasarın miktarında, iskeminin ciddiyeti kadar süresi de önemli bir faktördür. Ciddi bir iskemide bile süre 40 dk dan az ise hücresel ve fonksiyonel değişiklikler geri dönüşümlüdür ve tedaviye olanak vardır. İskemi süresi, 40-50 dk ise tam bir fonksiyon kaybı ve iskemi süresine bağlı ve ilerleyici olan geri dönüşümsüz bir hasar meydana gelir (44). Bu süre 50 dk dan fazla ise reoksijenasyon ya da reperfüzyon hasarına benzeyen, fakat aynı olmayan mekanizmalar devreye girer (45).

İskemik doku en az üç fizyolojik anormallik gösterir (46):

- (a) Hipoksi; oksidatif metabolizma için yetersiz oksijen sunumu,
- (b) Aerobik metabolizmadan anaerobik metabolizmaya dönüşü ifade eden toksik metabolitlerin birikimi,
- (c) Uygun elektron akseptörü yokluğunda katabolik reaksiyonlar sonucunda meydana gelen asidoz.

DeneySEL koşullarda, ana koroner arterin ani kapatılması ile oluşan iskemideki

metabolik değişiklikler; aerobik metabolizmanın durması, kreatin fosfatın (CP) azalması, anaerobik glikolizin başlaması, laktat ve alfa gliserol fosfat (GP) gibi glikolitik ürünler ile nükleotid yıkım ürünlerinin birikmesidir. Bunlarla bağlantılı olarak kontraksiyon durur, membran potansiyelleri değişir ve elektrokardiyografik değişiklikler meydana gelir. Miyokardiyumun yüksek enerjili fosfatlara olan ihtiyacı, yapılandan fazla olduğu için dokudaki net ATP miktarı azalmıştır. Ciddi bir iskemik hasarda tüketilen ATP'nin % 80'i anaerobik glikoliz kaynaklıdır. İskeminin ilk dönemlerinde varolan ATP kontraktıl fonksiyon için kullanılmasına karşın, süre ilerledikçe, artık kontraksiyon yapılamadığı için, mitokondriyal ATPaz'lar tarafından, muhtemelen, bozulan durumların restorasyonu için harcanır. ATP'nin az bir kısmı da iyon transport ATPaz'ları tarafından tüketilir. İskemi süresi uzadıkça tüm bu metabolik olayların yavaşladığı görülmüştür.

Geri dönüşümsüz hasara maruz kalmış bir hücrede, ATP seviyelerinin aşırı düştüğü, anaerobik glikolizin durduğu,  $H^+$ , AMP, inozin, laktat ve GP'nin arttığı, osmolar bir artış olduğu, hücre zarı harabiyeti, mitokondrilerde şişme ve amorf cisimciklerin oluştuğu tespit edilmiştir (11).

#### **2.4.1.İskeminin Elektriksel Aktiviteye Etkileri:**

Elektrofizyolojik çalışmalar sonucunda, normal ve iskemik miyokardiyumda önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. İskemik bölgede iskeminin erken safhasında kas hücrelerinde istirahat membran potansiyeli seviyesi artmakta ve oluşan aksiyon potansiyelinin amplitüd, hız ve süresi azalmaktadır. Bu safhadan sonra aksiyon potansiyeli süresi artmaya başlar. Bununla beraber, yine de bazı iskemik bölgelerde repolarizasyon-sonu refrakter periyod, repolarizasyon periyodundan daha uzun bir hale gelebilir. İskemik alandaki anormal repolarizasyon zamanları ve repolarizasyonun her yerde aynı olmaması, iskemik bölgeyi tek-yönlü blok ve re-entran disritmilere uyarılabilir hale getirmektedir (47).

İskemiye ilk yanıt,  $Mg^{++}$  module edildiği sanılan,  $K^+$ 'un önce kısa bir dışı, sonra çok miktarda içe girişidir. Bu  $K^+$  hareketleri, istirahat membran potansiyelini değiştirir ve aritmilere neden olabilir. Fakat yine de bu durum (hipoksi, hipoglisemi ve asidozla beraber bile değerlendirilse), iskemideki tüm elektrofizyolojik anormalliklerden sorumlu tutulamaz (48). Birçok faktör bu anormalliklerin nedeni olabilir. Örneğin, membran fosfolipidlerinin iskemi sırasında oluşan katabolitlerinin, (lizofosfogliseridler

ve uzun zincirli asil-karnitinler) gecikmiş ard-potansiyellere neden olarak letal iskemik aritmilerle ilişkili olabileceği ortaya çıkmıştır. Bu metabolitlerin, aritmojenik etkileri  $\beta$ -adrenerjik reseptörlere bağlı olabilirler (49). Diğer bazı araştırmacılar, aritmilerin, membran potansiyel değişikliklerinden dolayı  $\text{Na}^+$  kanallarının anormal zamanlamayla açılıp kapanması sonucu olduğuna inanmaktadırlar (50). Akut iskemi, intrasellüler kalsiyum seviyelerinde ve dağılımında anormalliklere de yol açar (51, 52).

#### 2.4.2.İskeminin Kontraktıl Fonksiyona Etkileri

Kan akımı kesilmesinden hemen sonra, kontraktıl fonksiyon zayıflar. Muhtemelen oksijen azlığı, burada anahtar rolü oynamaktadır. Çünkü hipoksi, anaerobik metabolizmaya dönüşüme neden olarak ATP üretiminin azalmasına yol açar. Fakat, erken iskemik dönemde dokudaki yüksek enerjili fosfat miktarlarında önemli bir azalma saptanmamıştır (53). Kontraktıl fonksiyonun daha erken bozulması ve hatta, reperfüzyon yapıldığında (ATP üretimi düzelince) bile kontraksiyon anormalliğinin bir süre daha devam etmesi nedeniyle, ATP azalması, kontraksiyon bozulmasını tek başına açıklayamamaktadır (54).

İskeminin ilk dönemlerinde,  $\text{Ca}^{+2}$ 'un hücreye girişi azalarak aksiyon potansiyeli anormalliklerine yol açar. Bu durum, sarkoplazmik retikuluma  $\text{Ca}^{+2}$  girişini de bozarak hücre-içi  $\text{Ca}^{+2}$  dağılımını bozar. Böylece hücre içinde miyoflamentlerin aktivasyonu için yetersiz  $\text{Ca}^{+2}$  bulunur ve kontraktıl disfonksiyona yol açar (55). Ayrıca, asidoz da sarkoplazmik retikuluma  $\text{Ca}^{+2}$  giriş-çıkışını ve kontraktıl elemanların  $\text{Ca}^{+2}$ 'a hassasiyetini bozmaktadır (56).

Normalde mekanik aktivite, üretilen enerjinin %75'ini harcamaktadır. Bu nedenle kontraktilitede azalma, iskemik miyokardiyuma enerji yönünden avantaj sağlayabilir. Kontraktilite için kullanılmayan enerji, hasarın düzeltilmesi için harcanabilir. Gerçekten, reperfüzyonda bol miktarda yüksek enerjili fosfatlar üretilip kullanılmasına rağmen kontraktilite iskemidekine göre fazla düzelmez; bu enerji öncelikle normal şartlara dönmek için harcanmaktadır (57).

İskemik hasar henüz geri dönebilir bir düzeydeyken reperfüzyon yapıldığında bazı değişiklikler birkaç sn ya da dk'da geri dönerken, diğerleri günlerce normal duruma gelmez. Aerobik metabolizma birkaç dk içinde çalışmaya başlar. Miyokard sersemlemesi, iki gün sonra düzelir. Adenin nükleotid havuzu dört gün sonra bile

düzelememektedir. Böylece reperfüzyon, fonksiyonel ve yapısal özelliklerini farklı hızlarla normale döndürerek de olsa hasarlı miyokardiyumu kurtarmış olur (11).

## **2.5.Reperfüzyon Hasarının Mekanizmaları**

İlk kez, Tennant ve Wiggers (57) iskemik miyokardiyumun reperfüzyonunun potansiyel olarak malign ventriküler aritmilerin oluşmasına neden olabileceğini açık olarak göstermişlerdir. Daha sonra Jolly ve ark. (58) iskemide oluşan serbest oksijen radikallerinin miyokardiyal reperfüzyon hasarında rol oynadıkları ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) uygulamasıyla bu hasarın azaltılabileceğini göstermişlerdir. Daha sonraki çalışmalar, tam kan reperfüzyonundaki polimorfonükleer lökositlerin de bu hasarın oluşmasında önemli bir rolü olduğunu göstermiştir (59). Hearse ve ark. (60) ise, izole sıçan kalbinde reperfüzyon ya da reoksijenasyonun ani ve masif bir enzim yıkımına, ultrastrüktürel hasara ve kontraktüre neden olduğunu bildirmişlerdir. Reoksijenasyonun ilk dakikalarında olan ve geri dönüşümsüz doku hasarını hızla artıran bu duruma oksijen paradoksu denilmektedir. Hill ve Ward'ın (61) çalışmasında iskemik hasardaki inflamatuvar olaylarda kompleman sisteminin mediyatör olarak önemine dikkat çekilmiştir. Böylece kandaki oksijen ve kan hücrelerinin (özellikle nötrofiller) ve kompleman sisteminin aktivasyonunun reperfüzyon hasarı fenomeninde önemli oldukları anlaşılmıştır.

Yapılan çalışmaların sonuçları genellikle birbirini desteklemektedir. Kloner ve ark. (62) çalışmalarında altı saatlik bir iskemiye takiben reperfüzyon yapıldığında transmural nekroz olmuş ve reperfüzyonun koruyucu bir etkisi görülmemiştir. Diğer bazı araştırmalarda ise iki saatlik iskemiden sonra yapılan reperfüzyonda transmural nekroz görüldüğü saptanmıştır (63). Buna karşılık, Beyersdorf ve ark. (64), altı saatlik iskemi sonunda reperfüzyon yapılmadığı takdirde hala nekroz olmadığını göstermişlerdir.

Reperfüzyon hasarı kendini çeşitli şekilde gösterebilmektedir (9, 10, 65, 66):

- a) aritmiler
- b) miyokard sersemlemesi
- c) reperfüzyonun henüz başlangıcında canlılığını koruyan dokulara ölümcül hasar

- d) irreverzibl hasarlı dokularda artmış nekroz hızı (oksijen paradoksu)
- e) no-reflow fenomeni
- f) kontraktıl fonksiyonlarda azalma

Kurtarılan doku miktarını artırabilmek için optimum koşullarda ve uygun zamanda reperfüzyon yapılmalıdır. Reperfüzyon hasarı alanının büyüklüğü, iskemi süresi ve ciddiliğine, kollateral kan akımına, tutulan damar yatağına, dokudaki oksijen tüketim miktarına ve reperfüzyonun nasıl yapıldığına bağlıdır. Bunlardan, reperfüzyonun yapılış şekli, tedaviye yönelik en iyi olanakları sunan seçenektir.

### 2.5.1.Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektronlarından dolayı çok reaktif olan atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Mitokondriler, ksantin oksidaz enzimi, PG biyosentezi ve inflamatuvar cevapta rol oynayan fagositler (nötrofil ve monosit) süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksitin ve diğer reaktif oksijen ürünlerinin kaynağı olarak bilinirler (67). Reaktif oksijen ürünleriyle reaksiyon veren maddeler (SOD, CAT, merkaptopropiyonil glisin gibi) veya inflamatuvar hücrelerin serbest radikal üretimini engelleyici ajanlar (ibuprofen, BW755C, nafazatrom, prostasiklin, iloprost ve allopurinol gibi) doku hasarını azaltırlar (68).

Reaktif metabolitlerin oluşma hızı, hücrenin oksidan strese karşı savunma kapasitesini aşarsa toksik etki oluşmaya başlar. Hücrenin antioksidan mekanizmaları arasında SOD, CAT, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz vardır (69). Pentoz monofosfat yolağı da NADPH sağlayarak redükte glutatyon oluşumuna ve lipid peroksitlerin detoksifikasyonunda rol alan GSH-Px'a yardım eder. Ayrıca C ve E vitamini ve GSH-Px'in kofaktörü olan selenyumun da hücredeki antioksidan mekanizmalarda rolü vardır.

Bir çok çalışma, radikallerin I-R da mediyatör rol oynayabileceğini göstermiştir. Biyolojik hedeflerle (lipid, katekolamin, DNA, protein karbonhidrat) direkt reaksiyona girerler ve sonuçta lipid peroksidasyonu, mitokondrial solunum zincirinin inhibisyonu, Na<sup>+</sup> kanalları membran Na/K ATP az aktivitesinin inhibisyonu gibi I-R patolojisinde rol oynayabilen olayları meydana getirebilirler (70). DNA hasarı oluşturan radikaller hücrede nükleer bir enzim olan poli ADP-riboz sentazı (PARS) aktive ederler. PARS



enzimi nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) substrat olarak kullanır. Sonuçta bu olay ATP tüketimine ve hücrelerin ölümüne yol açabilir. Antioksidan tedavi, PARS aktivitesini inhibe ederek I-R hasarını önleyebilir (71).

Oluşan serbest radikaller hücre membranı ve hücre içi organelleri etkilerken ekstrasellüler kompartmana da geçer ve uzak etkileri oluşturur. Burada serbest radikalın çözünürlüğü ve diffüzyon hızı önem kazanmaktadır. Serbest radikaller incelendiğinde hidroksil radikali çok potent olmasına rağmen, diffüzyon hızı yavaştır. Bu yüzden ancak olduğu yerde ya da yakınında etki gösterir. Buna karşılık hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) daha az potent olmasına rağmen plazma membranını, mitokondrial ve peroksimal membranları rahatlıkla geçerek uzak etki gösterebilir (72, 73).

### **$Ca^{+2}$ sitotoksitesi**

Hücre içine artan  $Ca^{+2}$  girişi ve azalan çıkışı sellüler  $Ca^{+2}$  homeostazını bozar. İskemi sırasında hücrede enerji tükendiğinden sitoplazma ve mitokondride aşırı miktarda  $Ca^{+2}$  birikmekte ve  $Ca^{+2}$ 'un toksik etki göstermesine neden olmaktadır. Fizyolojik koşullarda hücre içi biriken fazla  $Ca^{+2}$  dışarı atılarak yada hücre içinde depolanarak tolere edilir. Ancak iskemi sırasında enerji eksikliği nedeniyle pompalar ve depolama mekanizmaları iflas eder ve artan  $Ca^{+2}$  düzeyi fosfolipazları, proteazları aktive ederek radikal ve yağ asitleri oluşumunu artırır ve hücreyi ölüme sürükleyebilirler (74, 75).

Serbest radikal üretimi ise  $Ca^{+2}$  depolanmasını engelleyerek kısır döngüye neden olur. Hücre içi  $Ca^{+2}$  artışı mitokondri üzerinde yükü artırır.  $Ca^{+2}$ 'un mitokondrial zardan artan giriş-çıkışı enerji yokluğunda sınırdaki mitokondriyal solunumu artırır ve mitokondrial fonksiyonların daha çok bozulmasına ve serbest radikal üretiminde artışa neden olabilir.

### **Oksijen Paradoksu ve Reperfüzyon Hasarı**

Gerek reperfüzyon ve gerekse reoksijenasyonda temel hasar doku yeniden oksijenle karşılaştığında olmaktadır. Oksijen paradoksu denilen bu olay, miyokardiyal kontraktür gelişimi ve irreversibl hücre hasarı ile birlikte, kreatin kinaz gibi miyokardiyal enzimlerin salınımı ile karakterizedir (60). Reoksijenasyon, miyokard hücrelerinde ani değişikliklere, istirahat geriliminin artması ile birlikte kontraktil

fonksiyonun hızla azalma veya yok olmasına ve kontraktil band nekrozu şeklinde ultrasütrüktürel değişikliklere neden olmaktadır.

Reperfüzyonda oksijenden başka, kandaki diğer bazı faktörler de ayrıca doku hasarına yol açar (69). Bunlar kan hücreleri ve kompleman sisteminin aktivasyonu gibi faktörlerdir. Reperfüzyon, reoksijenasyondan farklı olarak kompleman yoluyla olan zar bütünlüğünün kaybı ve zamana bağımlı inflamatuvar bir reaksiyonu içeren bir fenomendir. Bu durum, reperfüzyon hasarı kavramının temelidir. Reperfüzyon hasarı, iskemik hücre ölümünden, mekanizma ve hücre ölümü tipi açısından ayrılmaktadır. Reperfüzyon nekrozu; hücre şişmesi ve kontraksiyon bandları ile karakterize kontraktil band nekrozu şeklinde görülürken (70), iskemik hücre ölümü koagülatif nekroz görünümündedir (69).

### **2.5.2.Reperfüzyon Hasarında Nötrofil Aktivasyonunun Rolü**

Reperfüzyonda inflamatuvar hücrelerin toplanması ve inflamatuvar mediyatörlerin salınması ile karakterize bir hücresele reaksiyon vardır (76). Bu durum, doku hasarının artmasına yol açmaktadır. Nötrofiller bu inflamatuvar cevabın en önemli bileşenleridir (77). Lökositlerin iskemik alanda toplanabilmeleri için, kemotaktik maddeler yardımıyla dokuya doğru çekilmeleri ve endotel ile temas ederek, birtakım aktifleştirici maddeler yardımıyla aktive edilmeleri gerekir. Lökositlerin doku içine migrasyonu için mutlaka endotel ile temas etmeleri gerekir. C5a ve süperoksit anyonunun bu adezyonu artırdıkları gösterilmiştir (78). İnfiltrate olan aktive nötrofiller, reaktif oksijen radikalleri ve proteazlar salgırlar. Hücre içi savunma mekanizmalarında kullanılan serbest radikal süpürücü SOD ve peroksit yıkıcı CAT ve GSH-Px enzimleri, lökositlerin salgıladıkları bu sitotoksik reaktif oksijen metabolitleri tarafından oluşturulan hasarı azaltabilme kapasitesine sahiptir (69). Fakat bu radikal süpürücü ajanlar hücre içinde buldukları için, hücre-dışı mekanizmalarla olan bir hasarı önlemede yetersiz kalabilecekleri düşünülmektedir. Bu nedenle serbest radikal süpürücü ajanların dışarıdan vücuda verilmesi uygun bir tedavi seçeneği olabilir (58).

Nötrofillerin dokuya gelebilmeleri için gerekli olan kemotaktik ajanlardan birisi de C3a'dır. Hill ve Ward (61), iskemik miyokartda bir doku proteazının C3'ü aktive ettiğini göstermiştir. Giclas ve ark.'nın (79) çalışmasına göre de, insan kalp hücrelerinin subsellüler zarları, kompleman sistemini aktive etmektedir. Farklı birçok çalışmada miyokardiyal iskeminin kompleman sistemini aktive ettiği ve nötrofillerin

migrasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (80). Aktive nötrofiller çeşitli mediyatörler salarak (Serbest oksijen radikalleri, Platelet aktive edici faktör (PAF), Tromboksan, Lökotrien gibi) direkt doku hasarı oluştururlar (81, 82). Ayrıca iskemi sonrası dokuda lökosit ve platelet toplanmasını artırır. Bu hücrelerin doku hasarı patogeneze katıldığını gösteren farklı deneysel çalışmalar, antinötrofil uygulamaları ile kardiyak I-R hasarının azaltılabileceğini göstermişlerdir (83-85).

**No-Reflow Fenomeni:** Bazen reperfüzyon sağlanmış olmasına rağmen koroner arterler uniform miyokardiyal reperfüzyonu sağlamada yetersiz kalmaktadır. Çünkü mikrovasküler seviyede önemli akım bozukluğu vardır. Bu yüzden bu fenomene no-reflow ismi verilir. No-reflow'un ana belirleyicisi mikrovasküler seviyede nötrofil aktivasyonudur. Aktive nötrofiller sıkıca kapiller endoteline yapışır ve bu yüzden akımı mekanik olarak bloke ederler. Kendileri mekanik blokaj yaptıkları gibi, salgıladıkları mediyatörler aracılığıyla da vazokonstriksiyon yaparlar. Bu fenomenin oluşması, reperfüzyonun beklenen faydalı etkilerini kısıtlamakla beraber tekrarlayan miyokardiyal iskemik ataklar, aritmiler, nekroz oluşumunda artış ve kontraktıl fonksiyonlarda azalmaya yol açabilir. Ayrıca azalmış olan kan akımına bağlı olarak kullanılan ilaçların yeterince o bölgeye gitmesine de engel teşkil etmektedir (65, 86).

Diğer kemotaktik maddeler ise araşidonik asit ürünleri ve lökotrien B<sub>4</sub>'tür (87). Kompleman sisteminin elemanları, koagülasyon sistemiyle ilgili biyomoleküller, araşidonik asit türevleri ve lenfokinler, inflamatuvar hücrelere hem kemotaktik etki gösterir, hem de bu hücreleri aktifleştirirler. Kompleman yolunun bir ara ürünü olan C5a'nın nötrofil agregasyonunu ve degranülasyonunu indüklediği gösterilmiştir (69). Diğer kemotaktik ajanlar ise, fibrinojen, fibrinopeptid B, plazminojen aktivatörü, kallikrein ve PAF'dır. PAF, dokuya gelen nötrofilleri aktive etmektedir. Araşidonik asit metabolizmasında oluşan lökotrien B<sub>4</sub>, potent bir nötrofil çekici ajandır, nötrofillerde süperoksit üretimini stimüle eder, damar duvarına nötrofillerin yapışmalarını artırır ve C5a gibi damar hassasiyetini ve kapiller geçirgenliğini değiştirir. Nötrofillerden salınan interlökin-1 de nötrofiller için kemotaktik bir ajandır ve akut faz reaksiyonlarının primer mediyatörüdür (70).

Nötrofillerin saldıkları maddelerle yol açtıkları hasarın yanısıra, aktive olmuş nötrofillerin damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları, kısa bir iskemik periyottan sonra oluşabilecek olan reperfüzyonu engelleyerek no-reflow fenomenine yol açarlar (88).



İnfarkt büyüklüğü ile nötrofil infiltrasyonu arasındaki ilişki birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (77). Nötrofillerin iskemi başlangıcından itibaren infiltre oldukları ve infarkt gelişimiyle birlikte ilk 24 saatte sayıca giderek arttıkları tespit edilmiştir (89). Miyokardiyal nekrozdan önceki erken post-iskemik dönemde de iskemik miyokartta toplandıkları saptanmıştır (88). İskemi süresiyle reperfüzyondaki nötrofil infiltrasyon ve toplanması arasında direkt bir ilişki vardır (90). Nötrofiller tarafından oluşturulan doku hasarının mekanizmalarından en önemlisi serbest oksijen radikallerinin üretimidir (91).

### 2.5.3.Reperfüzyon Hasarında Kompleman Sisteminin Rolü

Konuyla ilgili eski çalışmalar toksik oksijen metabolitleri ve nötrofillerin reperfüzyon hasarındaki rolleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Daha sonra doku hasarında kompleman sisteminin çok önemli bir yere sahip olduğu anlaşılmış, kompleman sisteminin reperfüzyonda direkt veya indirekt olarak doku hasarına ve hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (7). Kompleman sisteminin miyokardiyal iskemik hasarda etkili olduğunu gösteren diğer bir kanıt da, kobra venom faktörü ile kompleman sisteminin baskılanmasından sonra infarkt miktarında azalma saptanmasıdır (92). Kompleman birimlerinin dolaşımında azalması, iskemik dokuya nötrofil infiltrasyonunu ve doku hasarını azaltmaktadır (80).

İskemi ve reperfüzyondaki, kompleman aracılığıyla oluşan damar duvarı hasarı, erken ve geç olmak üzere iki safhada incelenebilir. Erken safhada dokuda kompleman aktivasyonu sonucu C3a, C4a ve C5a'nın (anafilatoksinler) aktif şekilleri oluşur. Anafilatoksinler, mast hücreleri ve bazofillerden histamin salınımına neden olarak damar geçirgenliğini artırır. C5a ayrıca polimorfonükleer lökositleri (PMNL) dokuya doğru çekerek kasa karşı oluşan inflamatuvar cevabı artırır. Kompleman aktivasyonu sonucu, C5b-9 kompleksi (membran atak kompleksi-MAK) meydana gelir. Bu kompleks aracılığıyla kompleman sistemi tek başına doku hasarı oluşturabilir. C8 safhasında hücre zarında porlar (delikler) oluşurken, C9 eklenmesiyle sitotoksik etki ön plana geçer. MAK içindeki C9 monomerlerinin sayısı, lezyon büyüklüğünün orantılı olduğu düşünülmektedir (69).

MAK, litik kompleman yolunun aktive olmasına yol açar ve kas nekrozunda rol oynar. Kompleman reaksiyonunun ürünleri, iltihabi hücre infiltrasyonu ve nekrotik kas hücrelerinin fagositozunu uyarır (93). MAK, infarkt semptomlarından en az altı saat

sonra görülür. Zar içine girerek membranda bir delik oluşturur; iyon ve makromoleküllere iki yönlü akım imkanı sağlayarak hücre şişmesi ve lizise sebep olur (94).

Kompleman aktivasyonu doku hasarının direkt mediyatörü olduğu kadar, akut inflamasyon cevabının da önemli bir başlatıcısıdır (69). Fakat çoğu otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarda doku hasarını önlemek açısından, bu sistemin bir inhibitörü olduğu tahmin edilmektedir. C3 ve C5 aktivatörlerini bloke eden bu tip bir inhibitör, endojen düzenleyici proteinlerin arasında bulunur. Bu proteinlerden kompleman reseptörü-1 (CR1, CD35 de denilir) en fazla inhibitör özelliğe sahip olmaktadır. Fakat çok kısıtlı sayıda hücre tipinde bulunması *in vivo* etkinliğini kısıtlamaktadır. Rekombinant DNA teknolojisiyle eriyebilen formda insan CR1'leri (sCR1) yapılmıştır. sCR1, insan serumunda klasik ve alternatif kompleman yollarının aktivasyonunu bloke etmektedir. Sıçanlarda reperfüzyondaki infarkt miktarını %44 azalttığı bulunmuştur (95). Kardiyoprotektif rolü konusunda başka çalışmalar da vardır. Dokudaki kompleman aktivasyonunu engellediği düşünülmektedir. sCR1, komplemana bağlı doku hasarının baskılanmasında önemli bir ajan olabilir. sCR1'le ilgili bulgular, kompleman sisteminin doku hasarındaki direkt rolünün iyi bir kanıtıdır (96).

## 2.6.Kardiyak Nekroz

### Miyokard İnfarktüsünün Fizyo-Patolojisi

Kalp kasının bir bölümüne olan kan akışı engellendiği zaman, kalp kasında geri dönüşümsüz değişikliklere ve kas hücrelerinin ölümüne varan belirgin değişiklikler olur. Akut MI da elektrokardiyografik değişikliklere neden olan üç temel anormallik vardır. İlk değişiklik olan,  $K^+$  kanallarındaki hızlı açılma sonucunda infarktüse uğramış kas liflerinin boşalım sonrası anormal hızlı repolarizasyonu, deney hayvanlarında, koroner arterin kapatılmasından sonraki saniyelerde gelişir. Olay sadece birkaç dak sürer, fakat sonlanmadan önce, enfarkte kas liflerinin dinlenim zar potansiyelleri, hücre içi  $K^+$ un kaybı nedeniyle azalır. Bundan 30 dk kadar sonra, infarkte olmuş lifler, etraflarındaki normal liflerden daha yavaş şekilde depolarize olmaya başlar.

Bu üç değişikliğin tümü, infarkt alanı üzerindeki elektrotlarla kaydedilen derivasyonlarda, ST segmentini yükselten akım akışına neden olur. İnfarktadaki hızlı repolarizasyon nedeniyle bölgenin zar potansiyeli, repolarizasyonun daha sonraki evresinde, normal bölgede görülenden daha büyüktür ve bu da normal alanı infarkte alana göre negatif yapar. Bu nedenle akım hücre dışı olarak, infarktüsülü alandan normal

bölgelere doğru akar. Hasarlanmış bölge üzerindeki elektrotlara doğru akan bu akım, EKG'de S ve T dalgaları arasında kalan bölümün pozitifliğini artırır. Benzer şekilde infarkte hücrelerin gecikmiş depolarizasyonu, repolarizasyonun erken evrelerinde, infarktüsüz alanın, sağlıklı dokuya göre pozitif olmasına neden olur ve bunun sonucu da, yine ST bölümünün yükselmesidir. Geri kalan değişiklik olan diyastol sırasında dinlenme zar potansiyelindeki düşüş, ventrikül diyastolü sırasında infarktüsüz alana yönelik bir akıma neden olur. Bu akım sonucunda, EKG'de, QT segmentinde bir çökme görülür. Fakat, elektrokardiyograflarda yapılmış elektronik düzenlemeye göre, bu tür bir QT segment çöküşü kendisini ST segmentinde bir yükselme olarak gösterir. Yani, akut MI'yı gösteren işaret, infarkte alan üzerinden alınan derivasyonlarda, ST segmentlerinde bir yükselme olmasıdır. Kalbin karşı taraftaki derivasyonlarında ise, ST segmentinde çökme görülür.

Birkaç gün veya hafta sonra ST segmentindeki anormallik düzelir. Ölü kas ve nedbe dokusu elektriksel olarak sessizdir. Sık rastlanan değişiklikler arasında, bazı derivasyonlarda, daha önce görülmeyen bir Q dalgasının belirmesi ve diğer bazı derivasyonlarda normal Q dalgasında büyüme gözlenmesidir (43).

### **Nekrozun Patolojik Özellikleri**

Nekroz; canlı dokularda hücre ölümü ile sonuçlanan pek çok morfolojik değişiklikleri ifade eden bir kelimedir. Çoğu zaman geri dönüşümsüz, dışarıdan hasar neticesinde oluşan makroskopik ve histolojik hücre ölümünü tanımlamak için kullanılır. En iyi tanımlanmış formu koagülasyon nekrozudur. Hücre şişmesi, sitoplazmik proteinlerin denatürasyonu ve hücresel organellerde hasar ile karakterizedir. Hücrenin enzimlerce sindirimi ve proteinlerin denatürasyonuna bağlı olarak nekrozun morfolojik görünümü sınıflandırılabilir. Eğer hidrolitik enzimler hücrenin kendisinden salgılanıp hücre ölümüne yol açıyorsa, otoliz ya da inflamatuvar hücrelerin lizozomlarından salgılanırsa heteroliz ismi verilir. Bu işlemlerin gelişmesi için saatlere ihtiyaç vardır ve bu yüzden ani ölümlere neden olan MI, kısa zamanda tespit edilebilir değişiklik göstermez. Ancak ultrastrüktürel değişiklikler MI sonrası 20-40 dk'da tespit edilebilir. Yalnızca koroner arter tıkanması gösterilebilir.

Hasarlanmış miyokardiyumdan enzim sızmasına bağlı olarak kandaki değişiklikler de en erken iki saat sonra saptanabilmektedir. Nekrozun klasik histolojik özellikleri; geri dönüşümsüz hasardan sonra ancak 4-12 saat arasında görülür. Protein denatürasyonu hakim ise koagülasyon nekrozundan bahsedilir. Eğer enzimatik sindirim

baskın ise likefaksiyon, kazeifikasyon ve yağ nekrozu görülmektedir. Nekroz, içeri doğru suyu ve ekstrasellüler iyonları alarak homeostazisi sürdürmek nedeniyle hücrelerin yaptığı onarımdan başlar. İntrasellüler organlardan daha çok mitokondri tutulur ve tüm hücre şişer ve sonuçta yırtılır. İleri derecede plazma membranının yıkımından dolayı lizozomal enzimlerinde içinde bulunduğu sitoplazmik içerik ekstrasellüler sıvıya akar. Böylece *in vivo* nekrotik hücre ölümü sıklıkla şiddetli inflamatuvar bir cevabın içinde olduğu ileri hücre hasarıyla ilişkilidir (97).

Koagülasyon nekrozu: İskemik kalpte görülen majör nekroz formudur. Sadece yapısal proteinler değil beraberinde enzimatik proteinler de denatüre olur. MI'da, asidofilik, koagüle, çekirdeksiz hücreler haftalarca kalabilir. Nekrotik hücreler özellikle lökositler tarafından fagosite edilir ve parçalanırlar. Beyin hariç, tüm dokuların iskemik ölümlerinde koagülasyon nekrozunun karakteristik özellikleri görülebilir.

Likefaksiyon nekrozu: Fokal bakteriyel ve bazen da fungal infeksiyonlara bağlı olarak gelişir. Özellikle santral sinir sisteminde görülür.

Kazeöz nekroz: Tüberküloz infeksiyonuna bağlı olarak meydana gelen nekrozun farklı bir çeşididir. Beyaz renkli merkezi nekrotik bir saha görünümü olduğu için bu isim verilmiştir. Mikroskopik olarak granümatöz inflamasyonla karakterizedir.

**Yağ nekrozu:** Tipik olarak pankreas hasarını takiben oluşan yağ dokusundaki hasarı tanımlar. Aktive olan pankreatik enzimlerin parankime veya peritoneal kaviteye etkisi sonucunda oluşur. Genellikle akut batın vakaları ile beraber görülür (98).

## 2.7. Renin Anjiyotensin Sistemi

Renin-Anjiyotensin sistemi (RAS) KVS'nin temel düzenleyicisidir. Kan basıncı, sıvı-elektrolit dengesi ve kan volümü üzerinde önemli bir rol oynadığı için, RAS daki anormal aktivasyonlar kardiyovasküler ve uç organ hasarıyla sonuçlanmaktadır (99-102). Bu fikri doğrulamak amacıyla hipertansif hastalarda ADE inhibitörleri ve AT<sub>1</sub> antagonistleri ile ilgili yapılan çalışmalar, mortalite ve morbiditenin azaltılmasında RAS'ın önemini göstermişlerdir (103, 104).

RAS'ın etkilerinin büyük çoğunluğu Ang II üzerinden gerçekleşmektedir.

Vücutta anjiotensin üreten iki sistem vardır (95, 105):

1. Sistemik (klasik, hormonal) RAS
2. Lokal (doku) RAS

### 2.7.1.Sistemik RAS

Ang II; bir oktapeptid hormon olup RAS'ın multifonksiyonel aktif bir üyesidir. Kan basıncı, aldosteron aracılı  $\text{Na}^+$  atılımı ile plazma volümü, sempatik sinir aktivitesi ve susama cevaplarında rol oynar. Potent bir vazokonstriktör olan Ang II'nin RAS'ın zararlı etkilerine aracılık ettiğine inanılır (106). Ang II oluşumunda bazı ara basamaklar vardır; nefronun jukstaglomeruler kısmında sentezlenen renin kana karışarak karaciğer, kalp, damarlar gibi dokulara bağlanır. Genel olarak iskemi, hipotansiyon gibi arteriyal basınç düşmesi, plazma  $\text{Na}^+$  konsantrasyonunda azalma, reseptörlere etkili katekolaminlerin artması ve çeşitli ilaçlarla (genel anestezikler, diüretikler vb.) renin salınımının arttığı kabul edilmektedir (107, 108). İnterstisyel aralığa diffüze olan renin, yüzey renin reseptörlerine bağlanır. Bu reseptör, renin ve onun inaktif prekürsörü olan prorenin arasında afinite için ayrıcalık göstermez. Bu reseptörlerden en iyi bilinenlerden birisi M6P/IGF II (mannose 6-fosfat/insulin-like growth faktör II)'dir (109-111). Yarı ömrü 15-30 dk'dır. Kısacası renin böbrekte sentezlenir diğer dokularda depolanır (107). Proteolitik etkili renin, karaciğerden dolaşıma geçen Anjiotensinojen ( $\text{A}_0$ )' e etki ederek bir dekapeptit olan Anjiyotensin I (Ang I)'i oluşturur. Bu enzimin aktivitesi Ang I oluşumu için hız sınırlayıcısıdır. Bu Ang I dönüşüm olayı karaciğerde olmaktadır (112). İnaktif bir dekapeptid olan Ang I'e ADE (Kininaz II de denilir) etki etmesiyle Ang II oluşur. Bu gibi ADE aktivitesi başlıca akciğer vasküler endotelyumunda olmasına rağmen aynı zamanda diğer vasküler yataklarda ve miyokardiyum ve koroner arterler gibi diğer pek çok dokularda da oluşur (107). Non-renin hormonlar olarak bilinen tonin ve katepsinlerde Ang I oluşturabilirler (113). Ang I den Ang II oluşumunda da non ADE ler olarak bilinen tripsin, kimaz, karboksipeptidaz ve katepsin D 'nin de rolü olduğu bilinmektedir (105). Kimazların bu oluşuma katkısının %5-10 arasında olduğu kabul edilmektedir. Fakat ADE inhibisyonu gibi bradikinin, VIP birikimine yol açmazlar (114, 115, 108).

### 2.7.2.Lokal RAS

ADE inhibitörlerinin akut hipotansif etkileri kandaki Ang II'yi azaltmalarına bağlı gözlenmektedir. Buna rağmen kronik tedavi sırasında hipotansif etkilerinin devam



etmesi, bu etkilerinde başka mekanizmaların olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca düşük reninli hipertansiyon olgularında da ADE inhibitör tedavisinin etkili olduğu görülmüştür (116). Bu nedenle kan renin ve Ang II düzeyleri ile ADE inhibitörlerinin etkileri arasında uyumlu bir ilişki saptanamamıştır. Aynı zamanda ADE inhibitörlerinin kan seviyeleri ile hemodinamik etkileri arasında da bir paralellik yoktur. Muhtemelen ADE inhibitörleri dokulara bağlanarak etki yapmaktadır. RAS'ın bütün bileşenleri koroner damarlar da dahil tüm damarlarda bulunmaktadır. Doku ADE aktivitesi akciğer, beyin, adrenal, böbrek, sempatik gangliyonlar, hipofiz, miyokard, uterus ve testislerde saptanmıştır (117). ADE, damar endotelinin lümenine bakan yüzünde yerleşmiştir. Lokal veya dolaşımdan kaynaklanan Ang I'ı Ang II'ye dönüştürür. Kan damarları ve çevresinde üretilen Ang II vazokonstriksiyon meydana getirir. RAS'ın otokrin ve parakrin etkilerinden lokal Ang II sorumludur (107).

Bu sistemin damar ve kalpte düşünülen etkileri; bölgesel damar tonusu ve kan damarlarının regülasyonu, damarlarda ve kalpte hipertrofi oluşumu, hasar ve inflamasyona damar cevabının gösterilmesi, düz kas proliferasyonunun uyarılması, koroner vazokonstriksiyon, miyokard kontraktilesinin artışı, MI ve reperfüzyon sırasında ventriküler aritmilere eğilim oluşturması, RAS'ın farmakolojik inhibitörlerine yanıt vermesi gibi etkilerden bu sistem sorumlu tutulmaktadır (7).

### **Kallikrein-Kinin sistemi ve Bradikinin**

Bradikinin, kininojene kallikrein enziminin etkisi ile oluşan vazodilatör etkili bir maddedir. Kininazların her iki formuyla da (kininaz I ve II) inaktive edilebilir. ADE inhibitörlerinin, bradikinin yıkımını azaltması ve lokal miktarının artışına yol açmasının kalp hasarını koruyucu etkileri bilinmektedir. Ayrıca hipotansif etkilerden de sorumludur. Bradikinin, damar endotelinde yapılı ve kendi reseptörlerine bağlanarak etki gösterir. Kan akımı arttığında yapımı artar ve vazodilatasyona yol açarak kasa kan akımını artırır. Endotel hasarlandığında da doku faktörü XIIa, kallikrein oluşumunu artırarak bradikinin sentezini artırır. Bradikinin endotele etki ederek NO gibi damar koruyucu maddelerin ve prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) ve PGE<sub>2</sub> gibi vazodilatatör PG'lerin yapımını ve salınımını artırır. Böylelikle kardiyak I-R hasarında kısmen de olsa koruyucu rolü olduğu düşünülmektedir (7).

## **Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE)**

Vasküler endotelyumda bulunan (özellikle pulmoner damarlar, endokard, beyin) ve aktif merkezinde Ang II ve ADE inhibitörlerinin reaksiyona girdiği çinko atomu olan bir metalloproteazdır (108). RAS'ı etkileyen ilaçların en önemlileri ADE'yi inhibe ederek Ang II'nin oluşumunu etkileyen ilaçlardır (118).

ADE'nin diğer önemli bir fonksiyonu; bir plazma kinini olan bradikinin'in C-ucundan iki amino asit (fenilalanin-arjinin) kopararak onu inaktive eder. Bu nedenle kininaz II diye de adlandırılır. Bradikinin enzime affinitesi, Ang I'den daha fazladır. ADE inhibitörleri kullanıldığında bradikinin gibi kininlerin seviyesi artmaktadır (119).

ADE, Ang I ve bradikinin dışında, P maddesi, enkefalinler, nörotensin ve lüteinize edici hormon saliverici (LHRH) gibi substratlara da etkilidir. Ayrıca insülin'in beta zincirini de hidrolize eder. ADE inhibitörleri, yapılarındaki karboksil (-COOH) ve sülfidril (-SH) gruplarıyla, ADE'nin aktif merkezindeki çinko atomuyla reaksiyona girerek etkilerini oluştururlar (120).

## **2.8.Anjiyotensin-Dönüştürücü Enzim (ADE) İnhibitörleri**

### **Farmakolojisi**

Renal kaynaklı renin'in plazmada oluşturduğu ve doku renin-anjiyotensin sisteminin (DRAS) damar çeperinde oluşturduğu inaktif bir prekürsör olan Ang I'in etkin olan Ang II'ye dönüştürülmesi, damar endotelindeki ADE tarafından yapılır. Bu enzimin inhibisyonu plazma ve dokularda Ang II düzeyini azaltarak hem arteriyollerde ve hem de venüllerde vazodilatasyona, total periferik damar rezistansının azalmasına ve böylece kan basıncında düşmeye neden olur. Diğer taraftan, anjiyotensin'in yaptığı negatif feedback inhibisyondan kurtulduğu için renin salgılanması artar. ADE, vazodilatör bir kinin peptid olan bradikinin ve kallidin'i yıkar; Bu nedenle ADE inhibisyonu vazodilatör etkili kinin peptidlerinin düzeyini yükseltir. ADE inhibisyonuna bağlı olarak Ang I deki artış vazodilatör olan anjiyotensin 1-7'ye dönüşümü ile sonuçlanabilir (121, 122).

ADE inhibisyonu, böbrek kan akımını artırıp aldosteron salgılanmasını azalttıkları için diüretik ve natriüretik etki yaparlar. Böbrek üzerindeki aldosteron etkinliğinin azalması hiperkalemi eğilimi oluşturur. Glomerüler filtrasyon hızında genellikle belirgin bir artma yapmazlar. Bunun nedeni efferent arteriyolu, afferent arteriyoldan daha fazla genişletmeleridir. Normal durumda hafif bir azalma yaparlar. Renovasküler hipertansiyonda, glomerüler filtrasyon anjiyotensin'in efferent arteriyolde yaptığı aşırı

büzülme ve artan intraglomerüler basınç sayesinde sağlandığından, renal arter stenozlu böbrekte ADE inhibitörleri filtrasyonu fazla azaltırlar ve durdurabilirler; bu nedenle iki taraflı renovasküler hipertansiyonlu hastalarda kontrendikedirler. Diğer taraftan, artmış olan intraglomerüler basıncın düşürülmesi diyabetik böbrek hastalığında (diyabetik nefropatide) yararlı olur.

### **Üstünlükleri**

ADE inhibitörlerinin, diüretiklere, beta-bloklere ve diğer sempatotolitik ilaçlara göre, hemodinamik etkilerinin özelliği ve yan etkilerinin daha az oluşu bakımından üstünlükleri vardır. Kalp debisini düşürmezler ve kalp hızında belirgin bir değişim yapmazlar. ADE inhibitörleri; kalp, beyin ve böbrek kan akımını azaltmazlar hatta artırabilirler. Glomerüler filtrasyon hızını azaltmazlar. Kardiyovasküler hemodinamiğin düzenlenmesine katkıda bulunan lokal ve refleks mekanizmaları bozmazlar. Serebral kan akımının otoregülasyonunun alt sınırını daha düşük kan basıncı düzeyine kaydırırlar. Kan basıncının baroreseptör kontrol mekanizmasının duyarlılığını olumlu şekilde ayarlarlar. Bu nedenle bu ilaçların yaptığı kan basıncı düşmesi, taşikardi ve plazma NE düzeyinde artma gibi refleks sempatoadrenal tonus artmasına bağlı semptomlara genellikle neden olmaz.

Diyabetik nefropatilerde ve deneysel diyabette gelişen proteinüriyi azaltırlar. Tedavi edilmeyen diyabetlide gelişen glomerüler filtrasyon azalmasının hızını yavaşlatırlar. 2000 yılı başında yayımlanan HOPE (Heart Outcome Prevention Evaluation) çalışmasında koroner arter hastalığı, inme ve periferik arter öyküsü bulunan 55 yaş üstündeki 3500'den fazla diyabetli hastada 4.5 yıl uygulanan ramipril'in MI riskini ortalama %22, inme riskini %33, kardiyovasküler hastalıktan ölümü %37 ve belirgin nefropati riskini %24 oranında azalttığı bulunmuştur. Bu ve benzeri çalışmalar incelenen ADE inhibitörlerinin, özellikle diyabetli hastalarda damar-koruyucu ve böbrek koruyucu etkinliği olduğunu göstermektedir (121).

### **Yan etkileri**

Diğer antihipertansif ilaçlara göre genellikle daha pahalı ilaçlardır ve tedavinin maliyetini yükseltirler. Yan etki sıklığı bakımından diğer antihipertansif ilaç gruplarına göre daha elverişlidirler; hastanın yaşam kalitesini pek bozmazlar. Gruba özel en sık görülen ortak yan etkileri öksürük yapmalarıdır. Bu ilaçlar ilk çıktıkları zaman bu yan etkinin seyrek görüldüğü bildirilmişse de daha sonra kaptopril ve diğer bazı ADE



inhibitörleri ile yapılan incelemeler, kullananların %5–13'ünde ve bir çalışmada da %25'inde öksürük ortaya çıktığı bildirilmiştir. Eğer öksürüğe yol açan altta yatan başka bir durum varsa bu oran artabilir. Bu olayın hiç olmazsa kısmen, dokuda kinin ve P maddesi etkinliğinin artmasına ve PG üretiminin artırılmasına bağlı olduğu sanılmaktadır. Öksürük erkeklere oranla kadınlarda daha yüksektir. Bu durum hastaların ilacı bırakmasına da neden olmaktadır.

Seyrek görülen, fakat yerine göre ciddi sonuçlara götürebilen önemli bir yan etkisi de anjioödemdir (123).

### **İlaçlar**

ADE inhibitörleri, aktif kısımlarının kimyasal yapılarına göre;

- 1) sülfidril grubu içerenler (kaptopril, zofenopril),
- 2) karboksil grubu içerenler (enalapril ve diğerleri),
- 3) fosforil grubu içerenler (fosinopril ve seranapril)

olarak üç grupta sınıflandırılabilirler (107). Fosinopril, trandolapril ve spirapril dışındaki ADE inhibitörleri böbrek yoluyla atılırlar. Bu durumda renal fonksiyonlarında yetersizlik olanlarda dozun azaltılması gerekir.

Tedaviye ilk giren ADE inhibitörü kaptopril'dir. Bu ilacın sülfidril grubu içermesine bağlı özel yan tesirleri bulunduğundan, ondan kısa bir süre sonra, sülfidril grubu içermeyen enalapril uygulamaya girmiştir. Bu grup ilaçlar başlangıçta sadece renovasküler hipertansiyonun tedavisinde ve esansiyel hipertansiyonun üçüncü basamak tedavisinde kullanılmışlardır. Sonra güvenilirliklerinin belirlenmesi sonucu, esansiyel hipertansiyonun birinci basamak tedavisinde monoterapi şeklinde kullanılmalarına başlanmıştır. Enalapril ve son sayılan ilaçlardan lizinopril hariç diğerleri ön-ilaçlardır; ağız yolundan verilip barsaktan absorbe edildikten sonra karaciğerden geçerken aktif şekillerine (örneğin: silazaprilat, benazeprilat, perindoprilat ve ramiprilat gibi) dönüşürler. Ön-ilaç şeklinde hazırlanmalarının nedeni, barsaktan absorpsiyon oranlarını artırmak ve birlikte besin alındığında absorpsiyonun azalmasını önlemektir. Bu ilaçlardan sonra imidapril ve moeksipril kullanıma girmiştir. Kaptopril hariç diğer ilaçların veya aktif şekillerinin eliminasyon yarılanma ömrü uzundur; bu nedenle ADE inhibisyonu yaklaşık 12–24 saat kadar veya daha uzun sürer ve günde bir veya iki doz kullanılırlar (121).

### **Kaptopril (D-3-merkpto-metilpropanolil-1-prolin)**

Spesifik ADE inhibitörlerinden ilk tanımlanan ilaç olup, yapısında sülfidril grubu içerir. A.B.D.'de kullanılan tek sülfidril gruplu ADE inhibitörüdür. Bu özelliği nedeniyle antioksidan olarak da kullanılmıştır. Oral ADE inhibitörlerinin prototipidir (7, 124). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar Ang I' in çok güçlü inhibitör etkisini ortaya koymuştur. Normal hayvan ve insanlarda arteriyel basıncı çok düşürmezken, hipertansif hastalarda , özellikle aşırı renin sekresyonu olduğu durumlarda tansiyonu önemli ölçüde düşürdüğü gösterilmiştir (125).

Kaptopril oral verilince çok hızlı bir şekilde absorbe olur ve hızlıca antihipertansif etkide bulunur. Yaklaşık %75 oranında biyoyararlanımı vardır. Plazmada pik konsantrasyonuna bir saat içerisinde ulaşır ve hızlı bir klirensi vardır. Etki süresi yaklaşık altı-sekiz saattir. Yarı ömrü yaklaşık olarak iki saattir. Yarı ömrünün kısalığından dolayı en azından günde iki kez kullanılmalıdır (126). Yiyecekler oral biyoyararlanımını %25-30 arasında azalttığı için en azından yemeklerden bir saat önce alınması önerilmektedir. Karaciğerde 2/3 oranında metabolize edilerek inaktive edilir. Diğer ADE inhibitörleri arasında hipertansif hastalarda insülin sensitivitesini artıran tek ilaç olup, muhtemelen bu özelliği yapısındaki sülfidril grubu bulundurmasından kaynaklanmaktadır (127, 128). Atılımı böbrekler aracılığıyla idrarladır (121, 129).

Yan etkilerinden en sık görüleni %10 oranında görülen döküntülerdir. Ayrıca, öksürük, tat duyusu kaybı, hipotansiyon, nötropeni, anjiyoödem, hiperkalemi ve ağır proteinüriye yol açabilir. Genelde bu yan etkiler yapısında sülfidril grubu içermesine bağlı olmakla beraber, artan bradikinin ve P maddesi seviyeleri de sorumlu tutulmaktadır. Özellikle de yapısında sülfidril grubu taşıyan penisilamin tedavisi sırasında bu yan etkiler sık görüldüğünden dikkat edilmelidir (125, 130). Bununla beraber, K<sup>+</sup> düzeyleri takip edilmeli ve K<sup>+</sup> tutucu diüretiklerin (spironolakton gibi) kullanımından kaçınılmalıdır (131).

### **Kontrendikasyonları**

ADE inhibitörlerinin spesifik etkileri ile ilgili önemli bir kontrendikasyonu, nadir görülen bir durum olan bilateral renal arter stenozudur. Bu durumda, stenoza bağlı olarak düşen glomerül içi basınç, glomerüler filtrasyon hızı (GFH), eferent glomerüler arteriyollerde anjiotensine bağımlı olarak gelişen vazokonstriksiyonla sürdürülür. Bunları genişleten ADE inhibitörleri, GFH' nı ileri derecede düşürerek akut böbrek yetmezliği yaparlar; bu durum ilacı kesince düzelir. Tek böbreklide gelişen renal

stenozda ve iki böbrekli fakat bir böbreği stenozlu olan ve diğeri onu gerektiğinde kompanse edemeyecek kadar fonksiyon bozukluğu gösteren hastalarda da kontrendikedirler.

ADE inhibitörlerinin teratojenik etkinliği deney hayvanlarında gösterilmiştir. Gebeliği sırasında bu ilaçları alan kadınlarda yapılan az sayıdaki incelemeler, düşük, fetal ölüm, ölü doğum, büyüme geriliği, neonatal ölüm sıklığının arttığını göstermiştir. Bu nedenle özellikle gebeliğin ilk yarısında kontrendikedirler.

### **Hipertansiyonda kullanımı**

ADE inhibitörleri hipertansif hastalarda sistolik ve diastolik basınçları azaltır. Kan basıncındaki akut değişiklikler plazma renin-anjiyotensin (PRA) ve Ang II düzeyi ile ilişkili olduğu sanılmaktadır. Weir ve ark. (132) ADE inhibitörlerinin beyaz ırk ile siyah ırk üzerindeki etkinlik farklılığını plazmadaki ADE aktivitesine bağlamışlardır. ADE inhibitörlerinin etkinliğini azalttığı ADE aktivitesinin siyah ırkta, beyaz ırka göre yüksek olduğunu ve bu görüşe göre siyah ırka verilen ADE inhibitörü dozunun artırılması gerektiği bildirilmiştir (122).

Hastanın  $Na^+$  dengesi ve dolaşan kan hacminin durumu da yanıtın büyüklüğünde rol oynar. ADE inhibitörlerine başlangıçta yeterli yanıt vermeyen hastalarda düşük  $Na^+$  diyeti uygulanırsa veya tedaviye diüretik ilaç eklenirse, kan basıncını düşürücü etkinlik artar. Genel olarak ADE inhibitörleri ile tedavinin ilk aylarından sonra antihipertansif etkinlikleri, özellikle ilerlemiş hipertansiyon olgularında azalma gösterebilir; bu durumda başlangıçtaki yeterli yanıtın sürdürülmesi için diüretik ilaçlar veya diğer antihipertansif ilaçlarla kombinasyon yapmak gerekir. ADE inhibitörlerinin endotel hücrelerinde NO ve  $PGI_2$  üretimini artırdıkları gösterilmiştir; bu olayın düzeyi artan bradikinin'in NO ve  $PGI_2$  sentezini uyarmasına bağlı olduğu sanılmaktadır (121).

### **MI Sonrası Sol Ventrükül Disfonksiyonda Kullanımı**

ADE inhibisyonunun deney hayvanlarında (133) ve insanlarda (134) MI' den sonra gelişen olumsuzlukları düzeltebileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (135, 136). CONSENSUS II çalışmasında enalaprilat intravenöz (I.V.) olarak MI sonrası 24 saat içinde verilmiş. Çalışmanın sonucunda; enalaprilat alan grupta enalaprilat ile yapılan çalışmaların aksine hayatta kalma süresinde bir düzelme meydana getirmemiş ancak erken hipotansiyonda anlamlı bir artma oluşmuştur. Diğer taraftan MI sonrası 24 saat içinde zofenopril, kaptopril ve lizinopril ile tedaviye başlanan SMILE (137), ISIS-4

(138) ve GISSI-3 (136), çalışmalarında bu ADE inhibitörlerinin mortaliteyi düşürdükleri görülmüştür.

### **Konjestif Kalp Yetmezliği ve Sol Ventriküler Disfonksiyonda Kullanımı**

ADE inhibitörlerinin kalp hızında herhangi bir artma yapmaksızın kalp verimini artırdıkları ve sistolik disfonksiyonu olan hastalarda önemli ölçüde hemodinamik parametreleri değiştirdiği ve ayrıca preload ile afterload da ve sistolik duvar stresinde bir azalma yaptıkları görülmüştür. ADE inhibitörlerinin renal kan akımını artırarak, aldosteron ve antidiüretik hormon üretimini azaltarak tuz atılımını hızlandırdıkları bildirilmiştir. 1987'den beri umut verici, randomize plasebo ve kontrolü olan büyük sayıda hasta gruplarında yapılan çalışmalarda sistolik disfonksiyondan dolayı KKY olan hastalarda genel olarak mortalitede de bir düşüşe sebep oldukları gösterilmiştir. Spesifik AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin ortaya çıkmasından dolayı ADE inhibitörleri ile AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin karşılaştırıldığı pek çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır (122). Bunlardan ilki Yaşlılarda Losartanın Değerlendirimi (Evaluation of Losartan in the Elderly) (ELITE) çalışmasıdır. Bu çalışmada yaşlı ve KKY olan hastalarda losartan ile kısa etkili kaptopril karşılaştırılmış ancak losartan grubunda kaptoprile göre ani kalp ölümlerinde beklenmeyen bir azalma gözlenmiştir. Böbrek yetmezliğinin insidansında losartan ile kaptopril arasında bir fark tesbit edilmemiştir (139). Daha sonraları AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ile uzun etkili ADE inhibitörlerinin çok sayıda hastada karşılaştırıldığı ELITE II çalışması yapılmıştır. ELITE II'nin önceki yapılandan farkı; hasta sayısı daha fazla, yaş ortalaması daha düşük, iskemik kalp hastalığı frekansı yüksek, bazı hastaların ADE inhibitörleri aldığına dair öyküleri var, adrenerjik-reseptör blokörleri kullananlar daha randomize ve daha fazla hasta NYHA sınıf III-IV kalp hastası seçilmiş. Sonuç olarak; losartanın kaptoprilden ilk çalışmanın aksine daha üstün çıkmadığı bununla beraber kaptoprilin losartana göre mortaliteyi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalttığı görülmüştür (140). Bu zıt sonuçlar, ilgili mekanizmaların kompleksliğini ve bu mekanizmaların aydınlatılması için çalışmaların devam edeceğini göstermektedir.

### **2.9. Ang II ve Reseptörleri**

Ang II, RAS'ın asıl, aktif mediyatörüdür. Kan volümü ve vasküler rezistansı düzenlemedeki önemli rolünden dolayı, kardiyovasküler homeostazın düzenlenmesinde anahtar rol oynar. Her ne kadar Ang II asıl mediatör ise de A<sub>0</sub>'den orjin alan Ang III (Ang 2-8), Ang IV (Ang 3-8) ve Ang 1-7'in de rolü olduğu bilinmektedir (141-143).

Ang II'ye aminopeptidazların etkisi ile Ang III ve Ang IV oluşurken, Ang 1-7; doku endopeptidazları denen nötral endopeptidaz (NEP) 24.11, NEP 24.15 ve NEP 24.26'ların Ang I'e etkisi ile oluşmaktadır (105).

Ang II'nin geniş spektrumlu bir doku hedefi vardır; adrenaller, böbrekler, beyin, hipofiz bezi, damar düz kasları, ve sempatik sinir sistemi gibi. Anjiotensin sadece kan kaynaklı dolaşımda bulunan hormon olmayıp, aynı zamanda beyin, kalp, böbrek ve kan damarları gibi pek çok dokuda da üretilir. Böylelikle, Ang II hem parakrin hem de otokrin hormon görevi yapar. Hücre büyümesinde proliferasyon ve ekstrasellüler matriks oluşumunu da kontrol eden önemli görevler üstlenmiştir. Diğer peptid hormonlar gibi Ang II de hedef hücrelerin plazma membranlarında yerleşik bulunan reseptörler aracılığı ile etki eder (141). 1980 yılından itibaren yapılan çalışmalar, Ang II için AT<sub>1</sub> ve AT<sub>2</sub> isimli birbirinden farklı en az iki tane reseptör alt tipleri tanımlamışlardır. Daha sonraki çalışmalar ise AT<sub>3</sub> ve AT<sub>4</sub> reseptörlerinin varlığını göstermiş olsa da yeterince klonlama çalışmaları yapılmadığı için bu reseptör fonksiyonları hakkındaki bilgiler kısıtlıdır (144).

### 2.9.1. Ang II Tip 1 Reseptörü (AT<sub>1</sub>)

#### AT<sub>1</sub> reseptörü

AT<sub>1</sub> reseptörü, Ang II için iyi tanımlanmış olan; kardiyovasküler, nöronal, endokrin, hepatik sistem, böbrekler ve diğer organlardaki tüm fizyolojik etkilerden sorumludur. Bu etkiler; kan basıncı, elektrolit düzenlenmesi, su dengesi, hormon sekresyonu ve renal fonksiyonları içerir. AT<sub>1</sub> reseptörü; kalp, böbrek, vasküler düz kas hücreleri, beyin, adrenal bez, plateletler, yağ dokusu ve plasentada yerleşmiştir (145-147). AT<sub>1</sub> reseptörü moleküler klonlama yöntemiyle tayin edilmiş 7-transmembran domain reseptörleri olup (148) G protein ailesine bağlıdır. Ang II nin AT<sub>1</sub> reseptörüne bağlanması, reseptör molekülünde yapısal değişikliklere yol açar ve çeşitli membran efektör sistemlerini etkiler. Bunlar arasında fosfolipaz C, fosfolipaz D, fosfolipaz A<sub>2</sub> gibi enzimler, adenil siklaz ve L-tip, T-tip voltaj duyarlı Ca<sup>+2</sup> iyon kanalları sayılabilir. AT<sub>1</sub> reseptör klonlama çalışmalarında sıçan, fare (149), ve insanda (150, 151) AT<sub>1A</sub> ve AT<sub>1B</sub> olmak üzere iki alt tipini göstermişlerdir. Sığır, tavşan, köpek, domuz ve hindi gibi bazı hayvanlar ise tek tip AT<sub>1</sub> reseptörü içermektedir. AT<sub>1A</sub> ve AT<sub>1B</sub>'nin her ikisinin de ligand bağlama ve aktivasyon özellikleri aynı olmasına rağmen, doku dağılımları, kromozomal lokalizasyonları, genomik yapıları, ve transkripsiyonel düzenlenmeleri farklıdır (149). Sıçanlarda AT<sub>1A</sub>, AT<sub>1B</sub> ve AT<sub>2</sub> reseptörleri sırasıyla 17,



2 ve X kromozomlarına lokalize olurlar (152). Samyn ve ark. (153) kardiyak AT<sub>1</sub> reseptör gen oluşumunun fetal dönemde ve yenidoğan döneminde değişmediğini ancak AT<sub>2</sub> reseptör mRNA oluşumunun fetal gelişme evresinde arttığı ve doğumdan hemen sonra azaldığını göstermişlerdir. Ang II bir sıçana uygulandığında embriyo kültüründe ventriküler büyümede artış ve miyositlerde hipertrofi gözlenmiştir (154).

Ang II reseptörlerinin ileti mekanizmaları da gayet iyi tanımlanmıştır. AT<sub>1</sub> reseptörlerinin aktivasyonu hücrenin kasılması için gerekli olan fosfolipaz C yi uyardıkları, inositoltrifosfat (IP<sub>3</sub>) oluşumuna ve yavaş Ca<sup>+2</sup> kanallarının açılarak endoplazmik retikulumde Ca<sup>+2</sup> salıverilmesine neden oldukları görülmüştür. Ayrıca fosfolipaz A<sub>2</sub> aktivasyonu ve adenilat siklaz inhibisyonu yaptığı da belirtilmiştir (108). Spontan hipertansif olan sıçanlarda sol ventrikül hipertrofisinin oluşumu AT<sub>1A</sub> ve AT<sub>1B</sub> reseptörlerinin artışı ile ilişkili bulunmuştur (155).

Özet olarak, Ang II kaynaklı hücre yüzeyindeki AT<sub>1</sub> reseptörlerinin etkilerini şöyle sıralayabiliriz; vazokonstriksiyon, Na<sup>+</sup> alımının artışı, renin sekresyonunun baskılanması, endotelin seviyesinin artırılması, vazopressin salınımının artırılması, sempatik aktivasyon, miyositlerde hipertrofi, vasküler ve kardiyak fibrozis, miyokardiyal kasılmanın artırılması, aritmiler, plazminojen aktivatör inhibitör 1'in uyarılması ve süperoksit oluşumu ve apoptozisin tetiklenmesidir (156-159).

### **AT<sub>1</sub> Reseptörü ve Kalp:**

Ang II kardiyak doku üzerinde her iki reseptöre etki etmek suretiyle, protein sentezini ve hücre büyümesini artırır. AT<sub>1A</sub> reseptörleri *in vivo* olarak başlıca kan basıncı düzenleyicisi ve kardiyomiyositlerde güçlü büyüme uyarandır. Ancak AT<sub>1B</sub> reseptörleri AT<sub>1A</sub> reseptörlerinin yokluğunda vasküler tonusun kontrolünü üstlenirler (160). Ang II'nin pozitif ve negatif inotropik etkileri direkt veya indirekt olarak AT<sub>1</sub> reseptörleri ve nöradrenerjik sinir uçlarından salınan NE salınımı ile olmaktadır (161, 162). Genel olarak AT<sub>1</sub> reseptörleri pozitif kronotrop etkiden sorumludur. Yine Ang II, koroner arterleri AT<sub>1</sub> reseptörleri aracılığıyla büzer (163, 164).

AT<sub>1</sub> reseptörlerinin kalpte ekstrasellüler matriks birikimi yaparak kardiyak hipertrofi geliştirdiği pek çok çalışmada ortaya konulmuştur. Spesifik olarak kardiyak fibroblast uyarımları, kalbin ekstrasellüler matriks kollajenlerinde artışla sonuçlanmaktadır. Ayrıca Ang II, matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1) aktivitesini bloke eder ki, bu enzim direkt olarak fibriler kollajenin yıkımından sorumludur. Sonuçta, ekstrasellüler matrikste proliferasyon olur ve kollajen birikir. Ang II kardiyak

miyositlerde ve vasküler düz kas hücrelerinde, hücre sayısını artırmadan protein sentezi ve hücre çapında artış yapmak suretiyle hipertrofi yapar. Uzamış Ang II etkisine maruz kalıncada mitojenik aktivitenin arttığı görülmüştür. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin kardiyak hipertrofi gelişimini önlediğini ve hipertansif insanlarda da regresyona yol açtığını bildirmişlerdir. Bunlar AT<sub>1</sub> reseptörünün ventriküler hipertrofide rol oynadığı fikrini teyid etmektedir. Yine sıçanlarda AT<sub>1</sub> antagonistlerinin MI sonrası gelişen kardiyak remodelingle ilişkili gen ekspresyonlarını baskılamak suretiyle ventriküler dilatasyonu da önlediklerini göstermişlerdir. Bununla beraber, bazı ADE inhibitörleri ve AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin kardiyak fonksiyonlar üzerindeki faydalı etkilerinin hiç olmazsa bir kısmından bradikinin aktivasyonu ve AT<sub>2</sub> reseptör bağımlı yolların sorumlu olduğu belirtilmektedir (165).

### **AT<sub>1</sub> Reseptör Antagonistleri**

1970 yılından itibaren yapılan çalışmalar Ang II'nin kalp ve böbrekte önemli zararlı etkilerini ortaya koymuştur. Özellikle de yüksek plazma renin aktivitesine sahip hastaların düşük plazma renin aktivitesi gösterenlere oranla daha yüksek oranda MI ve şok riski taşıdığı kanıtlanmıştır. Daha sonraları, RAS'ı bloke eden ilaçların gelişimi ile sistemik kan basıncı, hipertansiyon gibi hastalıklar, KKY ve kronik böbrek yetmezliği kontrol altına alınabilmiştir. Bu amaçla, RAS blokajı için Ang II'nin non-selektif peptid antagonisti olan saralazin ilk olarak kullanılmıştır (166). Bununla beraber, saralazin bir peptid olduğu için oral uygulaması olmadığından, I.V. uygulamak zorunluluğu doğmuştur. Bu özelliği onu saatler veya birkaç günlük kullanım ile sınırlamıştır. Ayrıca Ang II'ye benzer şekilde parsiyel agonistik özellik göstermiştir. Bu nedenle yeni bir girişim olarak, oral olarak aktif olabilen RAS inhibisyonu yapan ADE inhibitörleri geliştirilmiştir. (167, 168). Yapılan seri çalışmalar, ADE inhibitörlerinin hipertansif hastalarda kan basıncını kontrol ettiğini ve KKY' li hastalarda mortalite ve morbiditeyi azalttığını göstermiştir (159). Ayrıca diyabeti de içeren yüksek kardiyovasküler riskli hastalarda KVS kaynaklı mortalite ve morbiditeyi de düzeltmişlerdir (159). ADE'nin pek çok etkileri olan bir enzim oluşu ve anjiotensin reseptörleri aracılığıyla hiç etki etmeyişi ADE inhibitörlerinden daha az yan etkiye sahip ve daha spesifik etkili Ang II reseptör blokerleri geliştirme ihtiyacını doğurmuştur. Bu amaçla spesifik, non-peptid, oral olarak aktif olan AT<sub>1</sub> antagonisti losartan geliştirilmiştir (167). Böylelikle tamamen olmasada Ang II'ye bağlı önemli zararlı etkileri baskılamak mümkün olmuştur.

doğurmuştur. Bu amaçla spesifik, non-peptid, oral olarak aktif olan AT<sub>1</sub> antagonisti losartan geliştirilmiştir (167). Böylelikle tamamen olmasada Ang II'ye bağlı önemli zararlı etkileri baskılamak mümkün olmuştur.

AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin akut uygulanması hayvanlarda (168, 169) ve kalp yetmezliği olan hastalarda (170, 171) vasodilatatör etkilerinden dolayı kalbin çalışma yükünü azalttığı görülmüştür. AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ile kronik tedavi görmüş köpeklerde (172) ya da domuzlarda kalp yetmezliğinin gelişimi esnasında hemodinamiyi düzeltebildiği (173) ve MI'lı sıçanlarda sol ventriküler değişiminin yararlı yönde etkilediği tesbit edilmiştir (174). Ancak bazı çalışmalarda hayvanların sadece AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ile tedavi edildiklerinde, AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin kardiyak fonksiyonlara (172, 173) ve sol ventriküler değişime yararlı etkisinin olmadığı da görülmüştür.

Losartan, ilk AT<sub>1</sub> reseptör antagonistidir. Daha sonraları, diğer "sartan" ilaveli ilaçlar elde edilmiştir. Eprosartan hariç diğerleri; kandesartan, irbesartan, sapisartan, tasosartan, telmisartan, valsartan ve zolasartan losartanın prototip kimyasal yapısının modifikasyonundan oluşmaktadır (175). İnsanlarda losartan, karaciğerde aktif metaboliti olan E3174'e metabolize olur. E3174'ün AT<sub>1</sub> reseptörüne afinitesi yaklaşık olarak 10 kat daha fazladır. Bu antagonistlerin bağlanma özelliklerine göre sıralaması aşağıda verilmiştir; (en yüksek afinite gösteren 1 puan alıyor).

**Tablo:1** AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ve reseptör bağlanma özellikleri (176).

AT <sub>1</sub> reseptör antagonisti	Reseptör afinitesi	Antagonizma tipi
Losartan	50	Kompetitif
E3174	10	Non-kompetitif
Kandesartan	1	Non-kompetitif
Sapisartan	1	Non-kompetitif
Zolasartan	3	Non-kompetitif
Irbesartan	5	Non-kompetitif
Valsartan	10	Non-kompetitif
Telmisartan	10	Non-kompetitif
Eprosartan	100	Kompetitif
Tasosartan	20	Kompetitif
Kandesartan sileksetil	280	-



Ayrıca, non-kompetitif AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin, kompetitif antagonistlerle karşılaştırılınca antihipertansif etkide daha etkin oldukları gösterilmiştir.

Ang II reseptör antagonistlerinin türlere, deney protokolüne ve var sayılan çeşitli mekanizmalara göre farklı etkinlik meydana getirdiği gibi AT<sub>1</sub> reseptör blokörleri ile yapılan çalışmalara baktığımızda kendi aralarında da etkinlik farkları olduğunu görüyoruz. Şöyleki; AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri aynı etki mekanizmalarını paylaşmakla beraber, etkide potansiyel farklılıktan sorumlu olabilecek farklı farmakokinetik profile sahip oldukları görülmüştür (159). Köpeklerde 20 dk koroner hipoperfüzyonu takiben AT<sub>1</sub> reseptörler antagonisti olan kandesartanın (CV11974) koroner infüzyonu miyokardiyal laktat ekstraksiyon miktarını düşürdüğü tesbit edilmiştir (177). Diğer bir AT<sub>1</sub> reseptörler antagonisti olan L-158338 sıçan kalplerinde 20 dk iskemi esnasında asidozisin gelişimini azaltmıştır (178). Bu durum, deneysel çalışmalarda, AT<sub>1</sub> reseptörler blokajının hipoperfüzyonun şiddetini ve iskemiye bağlı metabolik değişiklikleri azalttığını gösterir. AT<sub>1</sub> reseptör antagonisti kandesartanın bir ön ilacı olan kandesartan sileksitil (TCV116), spontan hipertansif olan sıçanlarda 30 dk koroner arter oklüzyonu esnasındaki ventriküler taşikardi ve fibrilasyon insidanslarını azaltmıştır (179). AT<sub>1</sub> reseptörler antagonisti losartan (DuP753) izole kobay kalplerine uygulanan 15 dk global iskemi boyunca iskemiye bağlı aritmilerin insidansını azalttığı ve transmural iletinin uzunluğunu kısalttığı ve ayrıca iskemiye takiben reperfüzyon esnasındaki ventriküler taşikardi süresini ve ventriküler ektopik atımlarının insidansını da düşürdüğü tesbit edilmiştir (180). AT<sub>1</sub> reseptör antagonisti L-158338 (178) ya da losartan (DuP753) (181) ile önceden tedavi görmüş sıçanlardan alınarak izole çalıştırılan kalplerde 20 dk iskemiye takiben koroner kan akımı ve kardiyak debi düşmüştür. Buna zıt olarak, izole sıçan (182) ve kobay (183) kalplerinin perfüzyonlarına eklenen losartanın, global iskemiye takiben oluşan ventriküler iyileşmeye katkısının olmadığı görülmüştür.

AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ile ilgili terapötik çalışmalar genelde losartan kaynaklıdır (184, 185).

### **AT<sub>1</sub> Reseptör Antagonistlerinin Tolerabilitesi**

Kliniksel olarak tüm AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri mükemmel tolerabilite profiline sahiptir ve yan tesirlerinin insidansı kontrolden farklı görülmemektedir (186). Ang II reseptör antagonistleri (187) ilk dozda hipotansif etki göstermezler. Ang II reseptör blokajı esnasında plazma Ang II seviyesi belirgin şekilde arttığından ilaç terapisi aniden

kesilirse hipertansiyon meydana gelmesine rağmen, losartanın ani kesilmesinin böyle bir hipertansiyon meydana getirmedığı görülmüştür (188). ADE inhibitörlerinin aksine Ang II reseptör antagonistleri öksürüğe neden olmamaktadır (188,189). Bazı anjiyoödem vakaları losartanın verildiği hastalarda görülmüştür (190). Ancak anjiyoödem, başka ilaçlar ve yiyecek ürünleri gibi pek çok maddelerden de meydana gelmiş olabilir. ADE inhibitörleri gibi tüm Ang II reseptör antagonistleri gebelikte kontrendikedir (184).

Ang II reseptör antagonistlerinin rutin laboratuvar parametreleri üzerine fazla etkisi yoktur. Losartanın üriner ürik asit atılımında bir artma yaptığı görülmüştür (159,191). Losartanın ürikozürik etkisi Ang II reseptör blokajından bağımsız meydana gelmektedir. Diğer Ang II reseptör antagonistlerinde bu durum tesbit edilmemiştir (192). ELITE çalışmasında losartan alan yaşlı grup ile kaptopril alanlar arasında renal disfonksiyon insidansında da bir değişiklik görülmemiştir (141).

Ang II reseptör antagonistleri verildiğinde bazen karaciğer enzimlerinde küçük ve geçici artmalar tesbit edilmiştir (187). İn vivo telmisartan, digoksin serum düzeyinde değişken bir artışa neden olmaktadır. Bu nedenle telmisartan, digoksin ile birlikte verildiğinde digoksin seviyesi izlenmelidir (159).

## **Losartan**

Losartan ilk olarak oral kullanılan, non-peptid, selektif AT<sub>1</sub> reseptör antagonistidir. Pek çok kliniksel deneyimler bu özelliğine dayanmaktadır. Yüksek selektivitesinden dolayı AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri için prototip olmuştur. İn vitro yapılan çalışmalar losartanın Ang II ile AT<sub>1</sub> reseptörü için yarıştığını göstermiştir. Losartanın oral dozunun yaklaşık %14'ü losartandan daha potent 5-karboksilik asid metaboliti olan EXP 3174 dür ki, I.V. uygulamalarıyla losartandan daha potent ve uzun etki süresi gösterilmiştir. Fakat losartana göre oral biyoyararlanımı daha düşüktür (193). Losartan ve EXP 3174'ün oral uygulama sonrası pik plazma konsantrasyonları bir-üç saattir. Losartanın GIS ten Emilimi iyidir. Renal yetmezlikte plazmadan temizlenmesi etkilenmezken, hepatik yetmezlikte değişir. Losartan, kalp yetmezlikli hastalarda ADE inhibitörleri ile karşılaştırıldığında egzersiz toleransını korumada daha iyi tolere edilir. Yarı ömrü yaklaşık olarak 2-2.5 saattir (194,195). ADE inhibitörleri ile karşılaştırınca yan etkileri daha azdır. ADE inhibitörlerinin aksine, bradikininler veya nörokininler gibi vazodilatör kinin peptidlerle etkileşmez. Bundan dolayı ADE inhibitörlerinin nispeten sık görülen öksürük yapıcı etkilerini göstermemesi beklenir. Ancak bu grup ilaçlardan

bazıları ile seyrek de olsa anjiyoödem bildirilmiştir. Kanda renin ve anjiotensin düzeyini belirgin şekilde yükseltir (196). Losartan ve onun metaboliti olan EXP3174 böbrek ve safrayla atılmaktadır (159).

Yayınların çoğunda losartanın intrinsik aktivitesinin olmadığı belirtilmiş olup, birkaç yayında ise intrasellüler  $Ca^{+2}$ 'un losartanın aşırı dozlarına cevap olarak arttığı bildirilmektedir. Yine losartanın tromboksanı antagonize ettiği ve prostaglandinlerin salınımını artırdığını bildiren yayınlar da mevcuttur. Ayrıca, losartan Ang III bağlanmasını inhibe ederken, Ang IV'ü inhibe etmez. Ancak Ang IV ve Ang 1-7'nin bazı fonksiyonel işlevlerinin losartan tarafından ortadan kaldırıldığı da bildirilmiştir (197).

Başlıca yan tesirleri; sersemlik, semptomatik hipotansiyon (özellikle tuz kısıtlaması yapılan hastalarda ve diüretik kullanımına bağlı hipovolemi gelişen hastalarda) ve tat duyusunda bozulmadır. Losartan diğer anjiotensin antagonistleri gibi seyrek de olsa hiperkalemi yapabilir. ADE inhibitörleri gibi bu ilaçlar da gebelikte ve renal arter stenozunda kontrendikedirler (198).

### **AT<sub>1</sub> Reseptör Blokerlerinin Terapotik Kullanımı**

Pek çok çalışmada hafif, orta ve şiddetli hipertansiyonlu hastalarda AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin antihipertansif etkisini gösterilmiştir. Bu çalışmalar AT<sub>1</sub> antagonistlerinin ADE inhibitörleri, Ca<sup>+</sup> kanal antagonistleri, β blokerler ve diüretiklerle karşılaştırmalarını da içermektedir. AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin etkinlik ve tolerabiliteleri çeşitli popülasyon ve yaş gruplarında da hem tek başına hem de diüretiklerle kombine olarak iyi tanımlanmıştır. Tüm bu çalışmalar şunu göstermiştir; AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ADE inhibitörleri, Ca<sup>+</sup> kanal antagonistleri, β blokerler ve diüretikler gibi etkilidir. Monoterapide genç ve yaşlı hastalarda, erkek ve kadınlarda benzer şekilde kan basıncını düşürmüştür. Ancak ADE inhibitörleri gibi siyah ırkta daha az kan basıncını düşürmektedirler. Fakat diüretiklerle kombine edildiğinde bu etkinin ortadan kalktığına görülmesi, küçük dozda tiazid sınıfı diüretiklerin AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerine kombine edilmesini gündeme getirmiştir (159).

Hipertansiyon tedavisinde AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin önemini ortaya koymaya yönelik, mortalite ve morbiditeye olan etkilerini açıklayıcı pek çok çalışma yapılmıştır. Sonuçlanmış bazı çalışmalar AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin hipertansiyon tedavisinde kullanılabilceğini göstermektedir. Fakat ELITE II çalışmasında losartan, mortalite ve morbidite üzerine istatistiksel olarak anlam ifade edecek derecede etki etmemiştir. Val-

Heft (Valsartan-Heart Failure Trial) ve CHARM (Candesertan in Heart Failure Assesment in Reduction of Mortality) mortalite çalışmaları; AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin kalp yetmezliğindeki etkinliği ile ilgili olarak yeni görüşler ortaya atmışlardır. Çeşitli pratik uygulamalar, örneğin tek doz yerine günde iki kez, monoterapi yerine kombinasyon önerdiler. Ayrıca ADE inhibitörlerini tolere edemeyen ve diastolik disfonksiyonlu hasta gruplarında AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerini önerdiler. Bu çalışmalara eklenen iki çalışma grubu da OPTIMAAL (The Optimal Trial in Myocardial Ischemia with the Angiotensin Antagonist Losartan ) ve VALIANT (Valsartan in Acute Myocardial Ischemia) dir. Her iki çalışmada losartan ve valsartanı, kaptopril ile karşılaştırılmıştır. OPTIMAAL çalışmasında losartan günde tek doz monoterapi olarak VALIANT çalışmasında ise günde iki kez ADE inhibitörü ile kombine verilmiş. Sonuç olarak optimum klinik tedavi için kombine tedavi en uygun seçenek bulunmuştur. Ancak ekonomik sonuçlar, bu kombinasyonu kısıtladığı için tek başına yüksek doz AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ile de ADE inhibitörleri eklenmeden aynı sonucun alınabileceği belirtilmiştir.

### **2.9.2. Ang II Tip 2 Reseptörü (AT<sub>2</sub>)**

#### **AT<sub>2</sub> Reseptörü**

Şu ana kadar yapılmış çalışmalar Ang II'nin KVS de pek çok etkisinin AT<sub>1</sub> reseptörü üzerinden gerçekleştiğini göstermekte olup, AT<sub>2</sub> reseptörünün katkısı ise çok fazla bilinmemektedir. 363 amino asidlik AT<sub>2</sub> reseptör geni X kromozomunda bulunur (199). Yapılan pekçok çalışmalar AT<sub>2</sub> reseptörünün, AT<sub>1</sub>'e antagonistik etkisinin olduğunu göstermektedir. Örneğin, AT<sub>2</sub> reseptörü; AT<sub>1</sub>'e zıt olarak, büyümeyi inhibe edici, antihipertrofik ve proapoptotik özellikler taşımaktadır (28). AT<sub>2</sub> reseptör agonisti olarak CGP42112A bilinirken, AT<sub>2</sub> antagonistleri; PD123319, PD123317, ve PD123310'dur. PD123319 un yarı ömrü dakikalarla sınırlı olduğu için deneysel çalışmalar çoğunlukla infüzyon şeklinde yapılmaktadır (200, 201).

#### **AT<sub>2</sub> Reseptörü ve KVS**

Miyokardiyumdaki AT<sub>2</sub> reseptörünün fonksiyonu çok iyi tanımlanmamış olmakla beraber, yakın zamandaki yapılan hücre kültürü çalışmaları AT<sub>2</sub> reseptör uyarımının neonatal sıçan kardiyomiyositlerinde ve fibroblastlarda AT<sub>1</sub> reseptör bağımlı büyümeyi inhibe ettiğini göstermiştir (202).

Miyokardiyal fonksiyon ve yapının tanımlanmasında bu reseptörlerin oranları farklı patolojik durumlar altında değişmektedir. Miyokardiyal AT<sub>2</sub> reseptör yoğunluğu, deneysel MI modelinde infarkt sahası içinde infarktan bir gün sonra artmış olarak görünür ve yedi gün sonra hem infarkte hem de non-infarkte alanlarda AT<sub>2</sub> reseptör yapımı artmıştır (203). Yine deneysel hipertrofiye sıçan kalbinde AT<sub>2</sub> reseptör yoğunluğu AT<sub>1</sub>'e göre artmış olarak bulunmuştur (204). Ayrıca yetmezlikli insan kalbinde de AT<sub>2</sub>/AT<sub>1</sub> oranı artmış olarak tespit edilmiştir (205). Bir grup çalışmacı, end-stage iskemik kalp hastalığı veya dilate KMP'li hastaların ventriküllerinde çok yoğun AT<sub>2</sub> reseptör bölgesi içerdiklerini göstermişlerdir (206). Liu ve ark. da (207) sol ventrikül end-diastolik ve end-sistolik volüm artışı (LVEDV, LVESV ) ve ejeksiyon fraksiyonu (EF) azalması, interstisyel kollajen azalması ve kardiyomiyosit çapında olan düzelmelerin AT<sub>1</sub> reseptör blokajı tarafından olduğunu ve bu düzelmelere AT<sub>2</sub> reseptörünün katkısı bulunduğu ve AT<sub>2</sub> antagonistlerinin ise bu faydalı etkiyi ortadan kaldırdığını göstermişlerdir. Sonuç olarak AT<sub>1</sub> blokajı sonucunda artan Ang II, AT<sub>2</sub> reseptör uyarımı yapar ve böylelikle AT<sub>1</sub> reseptörüne antagonistik etkiler oluşur.

Yakın zamanda yapılan çalışmalar KVS'in şekillenmesinde AT<sub>2</sub> reseptörünün apoptozisi artırdığını da göstermiştir. Yine Ang II'nin kaspaz kaskadını aktive ederek apoptozis üzerine olan uyarıcı etkisinin AT<sub>2</sub> -reseptör blokajı ile ortadan kalkmasının gösterilmesi de bu reseptörün apoptozisteki rolünü kanıtlamıştır (208).

**Tablo 2:** AT<sub>2</sub> reseptörünün KVS' deki fizyolojik rolü (209).

<b>Etki</b>	<b>Hücre veya doku</b>
Büyüme inhibisyonu	Damar düz kas hücresi (VSMC) Endotel hücresi Kardiyomiyosit Kardiyak fibroblast
Proapoptozis	VSMC Endotel hücresi Kardiyomiyosit
Farklılaşma	VSMC Nöronal hücre
Hücrel matrikste azalma	Kalp Koroner arter ve mikrodamarlar Aorta
Kronotropik etkide azalma	Kalp
Kardiyak fonksiyonlarda iyileşme (LVEDV, LVESV, EF)	Kalp

### **AT<sub>2</sub> Reseptörü ve Kalp**

Önceki çalışmalar sıçan kalbinde %50 oranında AT<sub>1</sub> %50 oranında da AT<sub>2</sub> reseptörü tespit ederlerken, yakın zamanda tek hücre çalışmaları kullanarak belirlenmiştir ki erişkin sıçan kalbinde %50 oranında AT<sub>1</sub> reseptörü mevcut olup ,geri kalanın büyük çoğunluğu ise skar oluşmuş ancak %10'luk AT<sub>2</sub> reseptörüdür (144, 210). Otoradyografik çalışmalar da sıçan kalbinde doğumdan sonra AT<sub>1</sub> reseptörünün 2 kat daha fazla olduğunu göstermiştir (211). Sıçanlarda ve farelerde yapılan çalışmalar, AT<sub>2</sub> reseptör mRNA sının fetal dönemlerde yüksek iken, doğumdan sonra hızla düştüğünü göstermiştir (28). Yine neonatal sıçan kardiyomiyositlerinden yapılan primer kültür



çalışmaları fetal yaşama göre %50 oranında AT<sub>2</sub> reseptöründe azalma göstermişken AT<sub>1</sub> reseptörlerinde değişme olmamıştır (212).

Her ne kadar erişkin yaşamda AT<sub>2</sub> reseptör yoğunluğu düşse de, kardiyak hipertrofi, MI, kardiyomiyopati, KKY gibi patolojik durumlarda bu reseptör sayısında belirgin artış olmaktadır (213). İlginç olarak, end-stage insan kalbinde AT<sub>2</sub> reseptörleri total Ang II reseptörlerinin %65'ini oluşturmaktadır. Belki de kalp yetmezliğinin şiddeti ile AT<sub>2</sub> reseptör yoğunluğu arasında bir korelasyon bulunmaktadır (214). Wharten ve ark. (215) end-stage iskemik kalp hastalığı veya dilate KMP li hastaların ventriküllerinin infarkte alanlarında, interstisyel ve endokardiyal bölgelerinde non-infarkte alanlara oranla istatistiksel anlamlı yoğunlukta AT<sub>2</sub> reseptörü bağlama alanlarını göstermişlerdir. Ayrıca Ohkubo ve ark. da (216) kardiyomiyopatik hamsterların kalp yetmezliği esnasında hem AT<sub>1</sub> hem de AT<sub>2</sub> reseptör yapımında (%153 ve %72, sırasıyla ) artış rapor etmişlerdir. Dilate KMP'li hastalarda yapılan bir çalışmada da AT<sub>2</sub> reseptörünün hem protein hem de mRNA seviyesinin akut veya iyi organize olmuş MI vakasıyla karşılaştırıldığında üç kat daha fazla arttığı buna karşılık; AT<sub>1</sub> reseptör yapımında ise azalma olduğu görülmüştür.

#### **AT<sub>2</sub> Reseptörü ve Kan Basıncı:**

RAS aktivasyonu; vasküler hipertrofi, vazokonstriksiyon, su ve tuz tutumu ile gelişen hipertansiyon ile sonuçlanır. Bu etkilere dominant olarak AT<sub>1</sub> reseptörü aracılık ederken diğer Ang II'ye bağlı etkiler; hücre ölümü, vazodilatasyon, natriürezis AT<sub>2</sub> reseptörü aracılığıyla olur (217).

AT<sub>2</sub> reseptörü silinmiş farelerde yapılan çalışmalar, kontrole göre yüksek kan basıncı göstermiştir. Yani AT<sub>2</sub> reseptörünün vazodilatasyon yapıcı etkisi vardır (28). Bu etkisini NO ve bradikinin aracılığı ile yaptığı düşünülmektedir. AT<sub>1</sub> reseptör aktivasyonu; tirozin kinazın indüklediği protein fosforilasyonu, araşidonik asit metabolit üretimi, reaktif oksidan ürün aktivitelerinde değişme, intrasellüler Ca<sup>+2</sup> konsantrasyonunda artma yaparken, AT<sub>2</sub> reseptör aktivasyonu, bradikinin, NO, ve PG üretimine yol açar (217).

Hayvan çalışmalarında AT<sub>2</sub> reseptörü aşırı üretime zorlandığında Ang II infüzyonunun basınçta artış yapmayıp, AT<sub>1</sub> reseptör blokajı yapıldığı zamanda Ang II'nin kan basıncında düşme yapması AT<sub>2</sub> reseptörünün kan basıncında vazokonstriktör cevabı düzenleyici etkisini göstermektedir (218). Hayvan modellerinde AT<sub>2</sub> reseptör antagonistleri mikrovasküler dansitede ve kan basıncında artışa yol açmıştır. Yapılan

çalışmalar AT<sub>2</sub>-Bradikinin-CGMP kaskadının kan basıncının renal kontrolünde ilişkisini ortaya çıkarmıştır (219). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, Ang II infüzyonu ile hipertansif ratlarda artmış olan vasküler CGMP konsantrasyonunun losartan uygulamasıyla daha da arttığı buna karşılık, AT<sub>2</sub> reseptör uyarımı NO artışına yol açarak AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin fizyolojik ve terapötik etkilerine katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (220). Eğer dolaşımda veya dokuda Ang II konsantrasyonu artacak olursa, bu AT<sub>2</sub> reseptörünü uyarabilir ve böylelikle AT<sub>1</sub> antagonistlerinin vazoinhibitör etkisine katkıda bulunur. Ayrıca hipertansif sıçanlara AT<sub>2</sub> agonisti olan CGP-42112 uygulaması ortalama arteryel basınçta azalma yaparken, selektif AT<sub>2</sub> reseptör antagonisti PD123319 bu etkiyi kaldırmıştır (221).

AT<sub>2</sub> reseptörünün sinyal mekanizmaları da iyi tanımlanmış değildir. Bazı durumlarda Gi proteinlerle eşleşerek etki gösterirler. Nöronlarda ve muhtemelen diğer dokularda da protein serine/threonine phosphatase PP2A aktivasyonu yaparak geç tip K<sup>+</sup>kanal aktivasyonuna yol açarlar. İkinci bir sinyal mekanizması phosphotyrosine phosphateses (PTPases) aktivasyonu yapmasıdır. Bu yolak normal dokuların kontrolsüz çoğalmasını hızlı bir şekilde önleyerek büyümeye zıt etki gösterir. CGMP oluşumunu takiben, NO salınımı da intrasellüler diğer önemli bir AT<sub>2</sub> reseptör etkisidir. Özellikle vasküler yapı ve böbrek dokusunda etkisi görülür. Ayrıca T-tip Ca<sup>+2</sup> kanallarını da kapattığı gösterilmiştir. Ayrıca bu reseptör aktivasyonunun protein tirozin fosfatazin inhibisyonu veya aktivasyonu ile ilişkili olduğu, guanilat siklaz inhibisyonu yaptığı ve hücre membranındaki K<sup>+</sup>kanallarının kapanmasına yol açtığı da belirtilmiştir. (144).

Koroner arteri bağlayarak oluşturulan kalp yetmezlikli sıçan modellerinde yapılan çalışmalar; AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin LVEDV, LVESV, ve LV end diastolik çapta iyileşme oluşturduğunu, fakat bu yararlı etkinin AT<sub>2</sub> antagonistleri ile ortadan kalktığını göstermiştir (207). Yine domuzlarda yapılan bir koroner arter bağlama modelinde de AT<sub>2</sub> reseptör antagonistleri hemodinamik parametreler üzerine AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin yararlı etkisini önlemiştir (222). Her iki çalışmada da ilginç olan bradikinin inhibisyonunun LV fonksiyonlardaki iyileşmeyi ortadan kaldırması, AT<sub>2</sub> reseptör aktivasyonunun klinik faydalı etkilerinin hiç olmazsa bir kısmına bradikininin aracılık ettiğini göstermektedir. Bununla beraber, kronik AT<sub>2</sub> reseptör inhibisyonu aortik kollajen birikimi, hipertrofi ve fibroziste azalma gibi faydalı etkiler de göstermektedir. İlginç olarak bir çalışmada AT<sub>2</sub> reseptör antagonisti verilmesi plazmada Ang II konsantrasyon artışına yol açmamıştır (217). Yine spontan hipertansif sıçanlarda PD123319 ile kronik tedavinin AT<sub>1</sub> reseptör mRNA sında artışa yol açarken; aortik AT<sub>2</sub>

reseptör mRNA'sı, düz kas hücrelerinin media tabakasındaki hipertrofi ve aortik kollajen içeriğinde azalma oluşturmuştur (223). Bazı çalışmalarda da Ang II'nin yol açtığı hipertansiyonu AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ortadan kaldırırken, AT<sub>2</sub> blokajı etkisiz kalmıştır. Bunun etkinin nedeni belki de AT<sub>2</sub> reseptörü hipertrofik bir cevap içermektedir. AT<sub>2</sub> reseptör aktivasyonunun Ang II' nin proinflamatuvar etkilerinden bazılarına aracılık ettiği de bildirilmiştir (217).

İnsan kalbinde *ex-vivo* yapılan çalışmalar KVS'nin fizyopatolojik şekillenmesinde AT<sub>2</sub> reseptör protein yapımının, AT<sub>1</sub> reseptör proteinleri azaldığında bile devam ettiğini göstermiştir. Yetmezlikli insan kalbinde de fibroblastlarda AT<sub>2</sub> reseptör gen yapımı ve proteinlerinde artış görülmesi, AT<sub>2</sub> reseptörünün fibrozisi artırdığı ve ventriküler şekillenmede rolünü göstermektedir (224).

AT<sub>1</sub> reseptörünün sıçan kardiyomyositlerinde oluşturduğu hipertrofinin AT<sub>2</sub> reseptör inhibisyonu ile ortadan kalkması, bu reseptörün kardiyak hipertrofi üzerine tonik inhibitör etkisinin olduğunu göstermektedir (202).

Hipertansiyon tedavisinde ADE inhibitörleri oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Kalp yetmezlikli hastalarda da ADE inhibitörlerinin kardiyak fonksiyonlarda ve remodelingde iyileşme yapması ve beklenen yaşam süresini uzatması iyi anlaşılmıştır. AT<sub>1</sub> antagonistleri antihipertansif tedavide kullanıma girmiş önemli ilaç sınıfını oluşturmaktadır. Fakat AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin faydalı etkilerinin tamamen AT<sub>1</sub> reseptörü üzerinden olmadığı düşünülmektedir (28). Yapılan pek çok çalışmada AT<sub>1</sub> reseptörü blokajı ile ortaya çıkan faydalı etkilerin AT<sub>2</sub> reseptör antagonistlerince ortadan kalkması; hipertansiyon ve KVS li hastalarının tedavi stratejilerinde AT<sub>2</sub> reseptörleri hakkında ileri çalışmaları ve tanımlamaları ihtiyaç doğurmuştur.

### 2.9.3. Ang II Tip 4 Reseptörü (AT<sub>4</sub>)

AT<sub>4</sub> reseptörü Ang IV olarak bilinen Ang II (3-8)'i bağlar. Bu reseptör özellikle beyinde yaygın olarak bulunur. Beynin işlevlerinden kognitif, motor ve sensoryal fonksiyonlarda rol alır. Özellikle neokorteks, hipokampus, renal tubuler Na<sup>+</sup> reabsorbsiyonunun inhibisyonu ve kardiyak hipertrofi ile ilişkisi gösterilmiştir. Kan damarlarında genişleme yaptığı da bildirilmiştir (225).

**TABLO 3:** Anjiyotensin II reseptörleri ve etkileri (156, 217).

#### RESEPTÖR

#### ETKİ

<u>RESEPTÖR</u>	<u>ETKİ</u>
AT <sub>1</sub>	Hücre proliferasyonu, Vazokonstriksiyon, Apoptozis, Hücre hipertrofisi, Antinatriürezis, Süperoksid üretimi, Kollajen sentezi, Endotelin salınımı, Lipid peroksidasyonu, Adezyon molekül yapımı, Vasküler matriks genişlemesi, Sempatik aktivasyon yapar.
AT <sub>2</sub>	Hücrelerin büyümesini önler, Antiproliferasyon, Farklılaşma, Rejenerasyon, Apoptozisi azaltır, Vazodilatasyon, Natriüresiz, Renal prostaglandinlerin uyarılması ve Renal bradikinin ve NO üretimi, MAPK (mitogen activated protein kinase) inaktivasyonu, Geç tip K <sup>+</sup> kanallarının açılması, T-tip Ca <sup>+2</sup> kanallarının kapatılmasında rol alır.
AT <sub>4</sub>	Renal vazodilatör, plazminojen aktivatör inhibitör 1'i stimüle eder. Öğrenme ve hafıza fonksiyonlarında rol alır.

## **BÖLÜM 3**

### **GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Deney Hayvanları ve Gruplar**

Deneyleerde İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezince üretilen Wistar-Albino cinsi, 250-350 gr ağırlığında 40 adet erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlara standart şartlarda (12 saat gün ışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı odalarında), özel kafeslerde bakıldı. Beslemede 8mm'lik standart sıçan pellet yemi kullanıldı.

Deney modeli her grupta sekiz hayvan olacak şekilde beş grup olarak planlandı; Kontrol (Grup 1), Kaptopril (Grup 2), Losartan (Grup 3), PD123319 (Grup 4), Losartan+PD123319 (Grup 5).

#### **3.2. Cerrahi Uygulama**

Denekler, 1.2-1.4g/kg üretanın intraperitoneal olarak verilmesiyle anestezi edildi. Yapay solunum için trakea, ilaç uygulaması için de juguler ven kanülasyonu yapıldı. Karotid artere konan bir kanül, transdüser (Harvard model, 50-8952) ve bir kaydedici (Harvard Universal Penrecorder) yardımıyla kan basıncı, kalp hızı ve EKG, kayıtları alındı.

Göğsün sol tarafına 1-1.5 cm uzunluğunda bir insizyon yapıldıktan sonra, ciltaltı dokuları ve göğüs kasları geçilerek, sternumun 2mm solunda dördüncü kosta kesilerek sol torakotomi yapıldı. Toraks açıldığı anda, içerideki negatif basıncın ortadan kalkması nedeniyle, solunumun devamı ve normal pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> ve pH değerlerini korumak amacıyla, ventilasyon cihazıyla (Harvard Animal Rodent Ventilator) 1.5ml/100g'lık

hacim ve 60 atım/dk'lık bir hızla oda havası verilerek pozitif basınçlı solunum uygulanmaya başlandı.

Perikardiyum yavaşça sıyrılarak kalp serbestleştirildi. Daha sonra göğsün sağ tarafına nazikçe basılarak kalp dışarı alındı. 10 mm'lik, yuvarlak uçlu iğneyle 6/0 ipek sütür sol ana koroner arterin altından miyokard dokusunu da hafifçe içine alacak şekilde hızlıca geçildi. Daha sonra kalp yeniden göğüs içine yerleştirilerek 20 dk stabilizasyon için beklenildi. Lambeth Conventions'da (226) belirlenen değerlendirme kriterleri göz önüne alınarak bu işlemlere bağlı herhangi bir aritmi görülmesi ya da ortalama kan basıncının oklüzyon öncesi 70 mm Hg'nin altına düşmesi halinde deney çalışma dışı bırakıldı. Konulmuş olan sütürün uçları 1mm çap ve 1cm boyda ufak bir plastik tüp içinden geçirildi. 20 dk stabilizasyon periyodu sonunda damarın altından geçirilmiş olan ip, plastik tüp ve bir klemp yardımıyla sıkıştırılarak damarın kapatılması ile iskemi (oklüzyon), tekrar açılması ile de reperfüzyon sağlandı. Nekroz alanı ölçüm çalışmalarında 30 dk iskemi 120 dk reperfüzyon uygulandı (227). Deney sonunda hayvan karotid arterden kanatılarak ötenazi yapıldı.

**Resim 1:** Reperfüzyon aşamasındaki bir deney görüntüsü





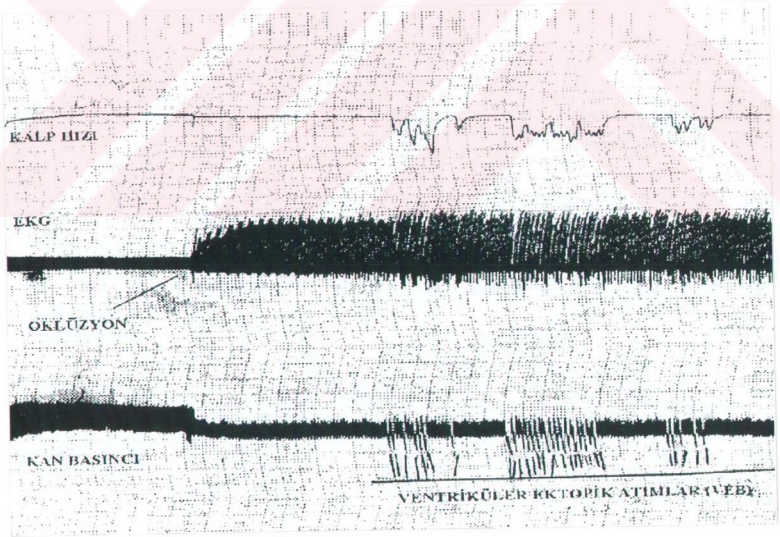
### 3.3. İlaç Uygulaması

Hayvanlar rastgele örnekleme metoduyla seçilerek deneylerde hem kontrol grubu hem de ilaç grupları (n=8) oluşturuldu. Kaptopril (Sigma,USA;CAS number: [62571-86-2]; 3 mg/kg), losartan (Merck,USA; L-158086-005H067; 2 mg/kg), PD123319 (Sigma,USA P-186; 20 µg/kg/dak), dozlarında infüzyon pompası (Infusion Pump May INF 9601, COMMAT LTD. ŞTİ. Ankara, Türkiye) aracılığıyla juguler venden oklüzyondan 10 dak önce başlanıp tüm iskemi boyunca verildi. İlaç dozları konuyla ilgili temel literatürlerden seçildi (201, 227). Kontrol grubuna eşit hacimde serum fizyolojik (distile su içinde çözülmüş % 0.09'luk NaCl) verildi.

### 3.4. Hemodinamik Parametrelerin Değerlendirilmesi

Hazırlık sırasında ve oklüzyon-reperfüzyon dönemlerinde EKG, kan basıncı ve kalp hızı kaydedildi. Ayrıca ortalama arteriyel kan basıncı (OAKB) ve kalp hızları değerlendirildi. Ortalama kan basıncı hesaplaması sistolik kan basıncı değerlerinin % 40'ı, diastolik kan basıncı değerlerinin % 60'ı toplanarak yapıldı.

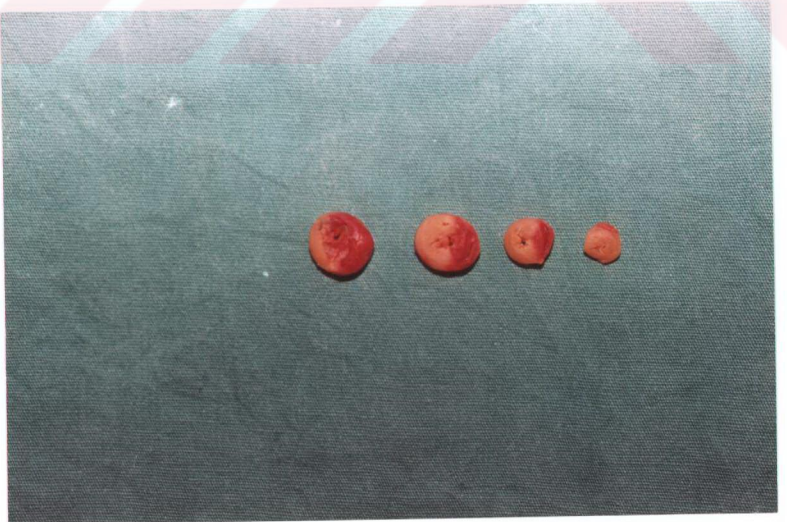
Resim 2: Kaydedilen EKG, kan basıncı ve kalp hızından bir örnek



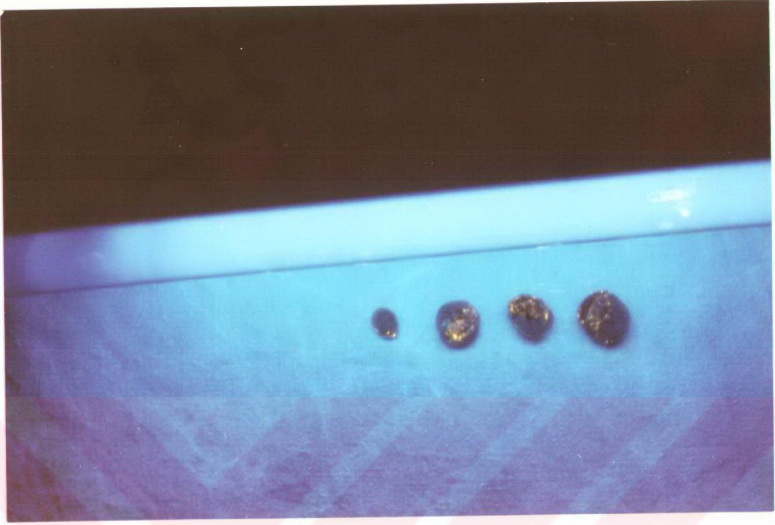
### 3.5.Nekroz Alanının Ölçülmesi

Her deneyin sonunda kalpler hızlıca yerlerinden çıkarılıp Langendorff düzeneğine asıldı. Koroner arterlerin içerisinde kalan kanın yıkanması için serum fizyolojik ile perfüze edildi. Koroner arterin çevresinde bulunan ipek sütür yeniden sıkıştırıldı. 1-10 µmol çaplı, % 0.5'lik floresan partikül (Duke Scientific Corp., Palo Alto, CA, USA) süspansiyonundan 2 ml infüzyon perfüzesinden verilererek floresan partikülleri tutmayan kısım risk zonu (area at risk) olarak belirlendi. Kalpler Langendorff düzeneğinden alınıp tartılarak donduruldu. Daha sonra, 2 mm kalınlığında dilimlendi ve %1'lik trifenil tetrazolyum klorid (TTC) içeren pH'sı 7.4 olan tamponda 37 °C'de 15 dk süreyle inkübe edildi. TTC; dokuda NADH, dehidrogenazlar ve diaforazlar bulunduğunda formazan pigmentlerini indirger. Dokuda canlılığını koruyan alanlar, bu enzimler ve kofaktörlerini içermelerinden dolayı koyu kırmızı renkte boyanırken, nekrotik bölge ise bunları içermediklerinden boyanmazlar (228). Boyamadan sonra kalp dilimleri birbirinden 2 mm uzaklığı olan iki cam levhanın arasına konuldu. Nekrotik bölge sınırları (TTC negatif doku) (Resim 3) ve risk zonu (ultraviyole ışığı altında floresan partikülleri tutmayan alan) (Resim 4) bir şeffaf asetat üzerine kopyalandı. İnfarkt alanları ve risk zonu bilgisayar destekli planimetrik yöntem ile ölçüldü. Alanların dilim kalınlıkları ile çarpılmasıyla hesaplanan hacimler, her bir kalp için tüm dilimlerin toplanmasıyla hesaplandı. İnfarkt miktarı risk zonunun yüzdesi olarak ifade edildi.

**Resim 3:** Kalp dilimlerinde nekrotik sahanın görünümü



**Resim 4:** Floresan ışık altında risk alanının görünümü



### 3.6. İstatistik

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 10.0 programı ile yapıldı. Tüm sonuçlar ortalama standart hata olarak ifade edildi.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Nekroz alanı, kalp hızı ve kan basıncı değerleri tekrarlayan ölçümler için varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Post Hoc karşılaştırmada Tukey testi kullanıldı.

## BÖLÜM 4

### BULGULAR

#### 4.1.Kullanılan İlaçların Kan basıncı Üzerine Etkileri

Ortalama arteriyel kan basıncı (OAKB) açısından, ilaç öncesi (İ.Ö.) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. İskemi başlangıcında yani, 0. dk da PD123319+losartan grubu hariç, kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Kaptopril 3 mg/kg, ve losartan 2 mg/kg kontrole göre OAKB de azalmaya yol açarken, PD123319 20 µg/kg/dk uygulanan grupta OAKB değerleri istatistiksel olarak yüksek bulundu (Tablo 4, Şekil 1).

İskeminin 10. ve 20. dk da kontrol grubu ile kaptopril, losartan, PD123319 ve PD123319+losartan grupları arasında OAKB yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4, Şekil 1).

İskeminin 30. dk'da ise; hem kontrol grubu ile kaptopril grubu arasında hem de PD123319 grubu ile kaptopril grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi (Tablo 4, Şekil 1).

Oklüzyondan sonra (reperfüzyon) 30, 60 ve 120. dk da kontrol grubu ile kaptopril, losartan, PD123319 ve PD123319+losartan grupları arasında OAKB yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Tablo 4, Şekil 1).

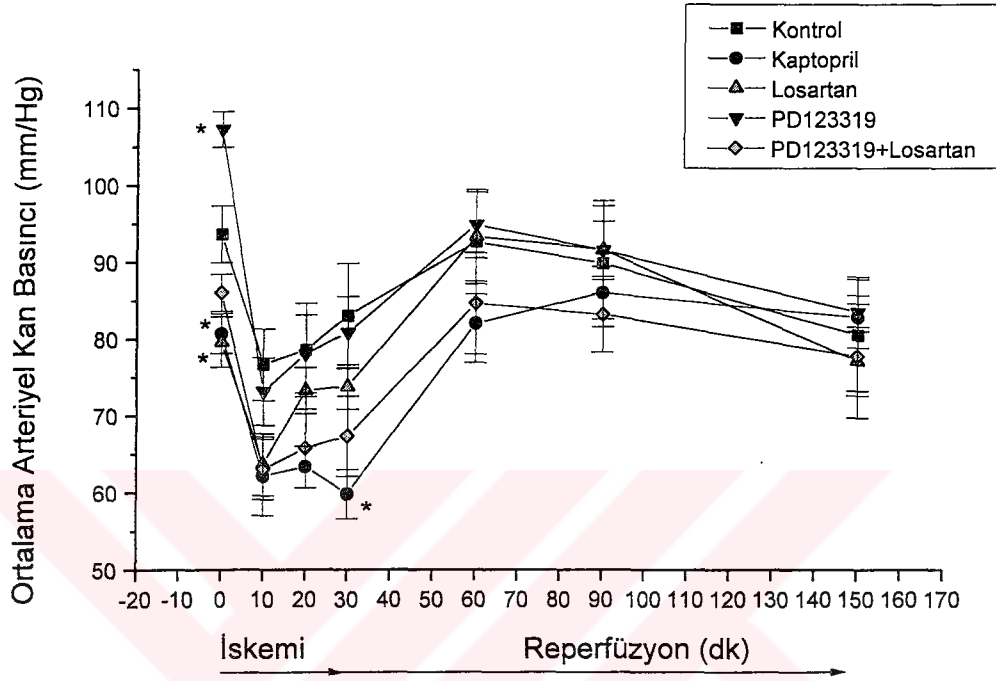
## Ortalama Arteriyel Kan Basıncı (OAKB)

**Tablo 4:** Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın ortalama kan basıncına etkileri  
İ.Ö.: İlaç öncesi

\*Kontrolde anlamlı olarak farklı ( $p<0.05$ )

Gruplar	İ.Ö.	0.dk	İSKEMİ			REPERFÜZYON		
			10	20	30	30	60	120
Kontrol (8)	95±4	93±3	76±4	78±6	83±6	92±6	89±8	80±7
3mg/kg Kaptopril (8)	93±3	80±2*	62±5	63±2	59±3*	82±5	86±3	82±1
2mg/kg Losartan (8)	96±4	79±3*	63±4	73±3	73±2	93±5	91±5	77±4
20µg/kg/dk PD123319 (8)	93±5	107±2*	73±4	78±5	80±4	94±4	91±3	83±4
PD123319 +Losartan (8)	92±2	86±2	63±3	65±5	67±5	84±6	83±4	77±8

Şekil 1: Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın ortalama kan basıncına etkileri  
\*Kontrolden anlamlı olarak farklı ( $p<0.05$ )





## 4.2.Kullanılan İlaçların Kalp Hızı Üzerine Etkileri

Ortalama kalp hızları (OKH) karşılaştırıldığında, ilaç öncesi (İ.Ö.) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. İskemi başlangıcında yani, 0. dk da kaptopril, losartan ve PD123319+losartan grupları; kontrole göre istatistiksel olarak düşük bulunurken, tek başına PD123319 uygulanan grup istatistiksel anlamlı düzeye ulaşmasa da kalp hızında belirgin artış gösterdi. Bu artış kontrol hariç diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 5, Şekil 2).

İskeminin 10, 20 ve 30. dk da tüm gruplar kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. PD123319 uygulanan gruptaki artış tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaştı (Tablo 5, Şekil 2).

Reperfüzyonun 30. dk da kaptopril ve losartan uygulanan gruplar kontrole göre istatistiksel olarak düşük bulundu. PD123319 uygulanan grup kontrolle aynı değere ulaşsa da halen kaptopril ve losartana göre istatistiksel olarak yüksek bulundu (Tablo 5, Şekil 2).

60 ve 120. dk da kaptopril ve losartan uygulanan gruplar kontrole göre istatistiksel olarak düşük bulundu. PD123319 uygulanan grupla diğer gruplar arasında bir fark olmadığı gözlemlendi (Tablo 5, Şekil 2).

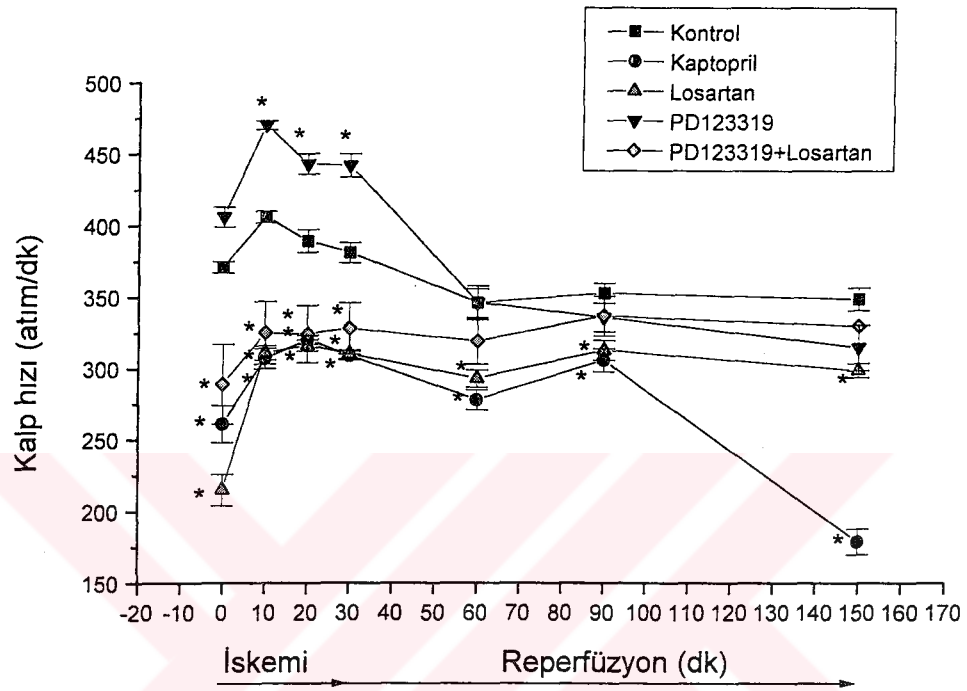
### Ortalama Kalp Hızı (OKH)

Tablo 5: Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın ortalama kalp hızına etkileri  
İ.Ö.: ilaç öncesi

\*Kontrollden anlamlı olarak farklı ( $p<0.05$ )

Gruplar	İSKEMİ				REPERFÜZYON			
	İ.Ö.	0.dk	10	20	30	30	60	120
Kontrol (8)	385±5	371±4	406±4	389±8	381±7	346±10	353±7	349±8
3mg/kg Kaptopril (8)	375±2	261±13*	307±7*	320±3*	309±3*	278±7*	306±8*	294±9*
2mg/kg Losartan (8)	369±5	251±11*	311±5*	316±4*	310±3*	293±6*	313±7*	299±5*
20µg/kg/dk PD123319 (8)	380±5	406±7	470±3*	443±7*	442±8*	346±12	336±10	315±16
PD123319 +Losartan (8)	370±4	289±28*	325±22*	324±20*	328±18*	319±16	337±14	330±18

Şekil 2: Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın ortalama kalp hızına etkileri  
\*Kontrolden anlamlı olarak farklı (p<0.05)



#### 4.3.Kullanılan İlaçların Nekroz/Risk Alanına Etkileri

Nekroz/Risk alanını kontrole göre (%56±4) kaptopril (%31±3, p<0.05) ve losartan (%38±4, p<0.05) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttı (Tablo 6, Şekil 3).

Gruplar arasında risk alanı açısından istatistiksel anlam bulunmadı (Tablo 6, Şekil 3).

Tek başına nekroz alanları karşılaştırıldığında ise kontrole göre sadece kaptopril anlamlı bulundu.

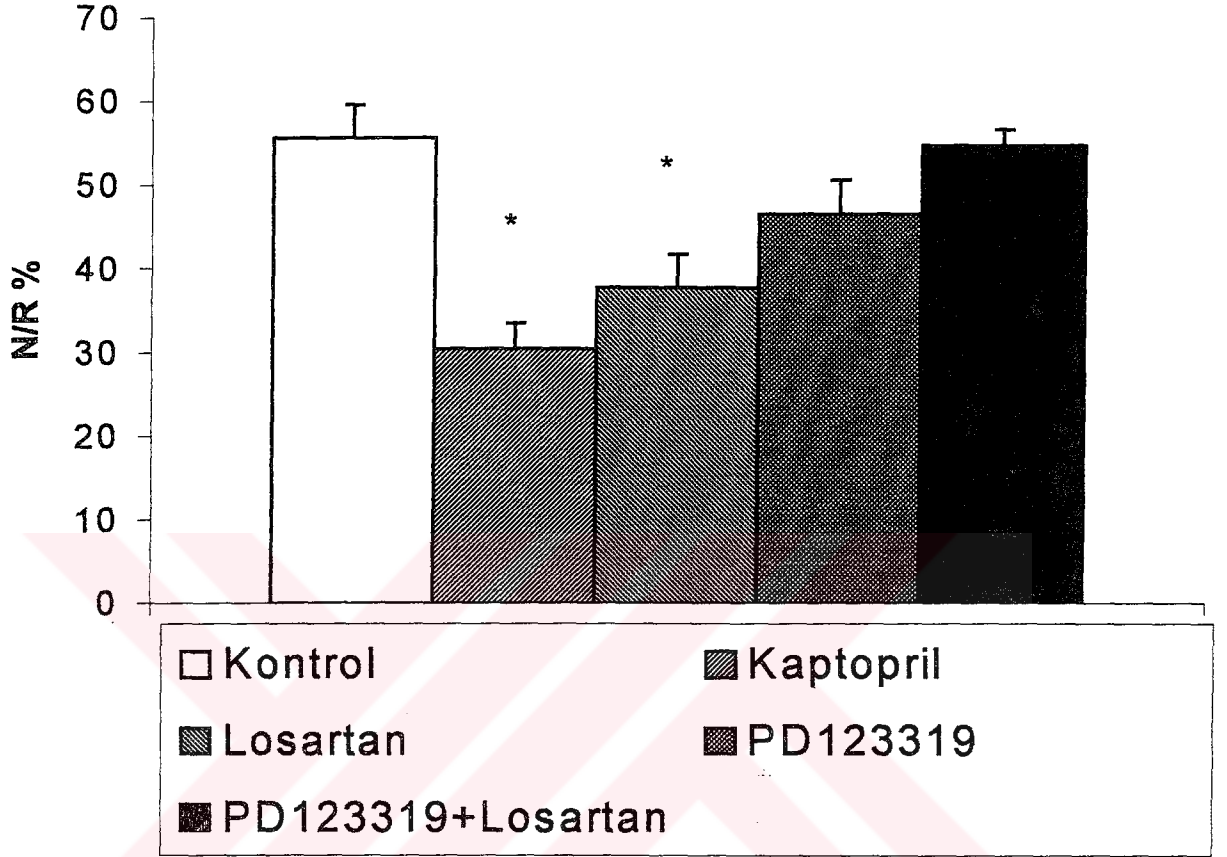
**Tablo 6:** Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın risk ve nekroz alanına etkileri

\*Kontrolden anlamlı olarak farklı (p<0.05)

GRUPLAR	RİSK ALANI cm <sup>2</sup>	NEKROZ ALANI cm <sup>2</sup>	NEKROZ/RİSK ALANI (%)
Kontrol	37±3	20±2	56±4
Kaptopril 3 mg/kg	38±3	11±1*	31±3*
Losartan 2 mg/kg	36±3	14±2	38±4*
PD123319 20µg/kg/dk	36±3	17±2	47±4
PD123319+Losartan	32±2	17±1	55±2

Şekil 3: Kaptopril, Losartan, PD123319 ve PD123319+Losartanın *in vivo* sıçan modelinde iskemi ve reperfüzyon esnasında gözlenen nekroz/risk (N/R) alanına etkileri.

\*Kontrolden anlamlı olarak farklı (p<0.05)



## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA

KVS hastalıklarına bağlı ölümler, halen dünyada görülen en sık mortalite sebebidir. Türkiye’de de KVS hastalıkları ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır (3). Bu ölümlerin %85 ile %90’ından iskemik kalp hastalığı, pulmoner hipertansif kalp hastalığı, konjenital kalp hastalığı, aort kapağının kalsifik daralması gibi bazı kapak hastalıkları, mitral valvül prolapsusu, infektif endokardit ve romatizmal kalp hastalığı sorumludur. Bununla beraber, en sık karşılaşılan durum; miyokardi besleyen kan akımının klinik ve patolojik belirti verecek kadar azalmış olduğu durum olan koroner aterosklerotik kalp hastalığıdır (4).

Miyokardiyal iskemi; ateroskleroz, tromboembolizm, PTCA, koroner arter bypass ve transplantasyon gibi fizyolojik ve terapötik uygulamalar neticesinde ortaya çıkabilmektedir. Miyokardiyal iskeminin sıklıkla letal aritmiler ve MI gibi ciddi patolojik durumlarla sonuçlanması konunun önemini bir kat daha artırmaktadır. Bu yüzden gelişen olayların patogenezinde rol alan mekanizmaların açığa çıkartılması, tedavide gerekli müdahalelerin zamanlama sıralama ve uygun ajanların belirlenmesine temel oluşturacaktır (7). Kalpte uzun süreli I-R sonucunda meydana gelen hücre ölümü, geniş bir infarkt alanı (nekroz) oluşturabileceğinden hastanın prognozunu ve ilerdeki yaşam kalitesini belirlemesi açısından hayati önemi olan bir yere sahiptir ve akut koroner sendromlarda miyokardiyal nekrozu önlemek acil tedavi hedeflerindedir (15).

RAS, KVS’nin temel düzenleyicisidir. Kan basıncı, sıvı-elektrolit dengesi ve kan volümü üzerinde önemli bir rol oynadığı için, RAS daki anormal aktivasyonlar



kardiyovasküler ve uç organ hasarıyla sonuçlanmaktadır (99-102). RAS'ın etkilerinin büyük çoğunluğu Ang II üzerinden gerçekleşmektedir. Potent bir vasokonstriktör olan Ang II'nin RAS'ın zararlı etkilerine aracılık ettiğine inanılır (106). Ang I'in etkin olan Ang II'ye dönüştürülmesi, damar endotelindeki ADE tarafından yapılır. ADE'nin diğer önemli bir fonksiyonu; bir plazma kinini olan bradikinin'in C-ucundan iki amino asit (fenilalanin-arjinin) kopararak onu inaktive etmesidir. Bu nedenle kininaz II diye de adlandırılır. ADE inhibitörleri kullanıldığında bradikinin gibi kininlerin seviyesi artmaktadır (119). Ang II'nin oluşumunu bloke eden ve bradikininin yıkımını önleyen ADE inhibitörleri KKY ve hipertansiyon tedavisinde kullanılan önemli ajanlardandır. Bu bilinen özelliklerine ek olarak, ADE inhibitörlerinin post-iskemik enzimleri ve NE salınımını (17), fonksiyonel ve metabolik hasarı (18, 19) ve reperfüzyon aritmilerini (20, 21) azaltmaları ile miyokardiyal I-R hayvan modellerinde kalp koruyucu olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte ADE inhibitörlerinin endotelial fonksiyonları düzelttiği de tesbit edilmiştir (22). ADE inhibitörlerinin, diüretiklere, beta-blokörlere ve diğer sempatotolitik ilaçlara göre, hemodinamik etkilerinin özelliği ve yan tesirlerinin daha az oluşu bakımından üstünlükleri vardır. ADE inhibitörlerinin, özellikle diyabetli hastalarda damar ve böbrek koruyucu etkinliği olduğu da gösterilmiştir (121). Gruba özel en sık görülen ortak yan etkileri öksürük yapmalarıdır. Seyrek görülen, fakat yerine göre ciddi sonuçlara götürebilen önemli bir yan etkisinde anjiyoödemdir (123).

Tedaviye ilk giren ADE inhibitörü kaptopril'dir. Oral ADE inhibitörlerinin prototipidir (7, 124). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar Ang I'in çok güçlü inhibitör etkisini ortaya koymuştur. Normal hayvan ve insanlarda arteriyel basıncı çok düşürmezken, hipertansif hastalarda, özellikle aşırı renin sekresyonu olduğu durumlarda tansiyonu önemli ölçüde düşürdüğü gösterilmiştir (125). ADE inhibitörlerinin endotel hücrelerinde NO ve PGI<sub>2</sub> üretimini artırdıkları gösterilmiştir; bu olayın düzeyi artan bradikinin'in NO ve PGI<sub>2</sub> sentezini uyarmasına bağlı olduğu sanılmaktadır (121).

ADE inhibisyonunun deney hayvanlarında (133) ve insanlarda (134) MI'dn sonra gelişen olumsuzlukları düzeltebileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (135, 136). MI sonrası 24 saat içinde zofenopril, kaptopril ve lizinopril ile tedaviye başlanan SMILE (137), ISIS-4 (138) ve GISSI-3 (136), çalışmalarında bu ADE inhibitörlerinin mortaliteyi düşürdükleri görülmüştür.

AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin ortaya çıkmasından dolayı ADE inhibitörleri ile AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin karşılaştırıldığı pek çok sayıda çalışma yapılmıştır (122). AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ile uzun etkili ADE inhibitörlerinin çok sayıda hastada

AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin ortaya çıkmasından sonra ADE inhibitörleri ile AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin karşılaştırıldığı pek çok sayıda çalışma yapılmıştır (122). AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ile uzun etkili ADE inhibitörlerinin çok sayıda hastada karşılaştırıldığı ELITE II çalışmasında şu sonuca varılmıştır; AT<sub>1</sub> reseptör blokeri losartanın, kaptoprilden ilk çalışmanın aksine daha üstün olmadığı bununla beraber kaptoprilin, losartana göre mortaliteyi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azaltmış olmasıdır (140).

Ang II, hedef hücrelerin plazma membranlarında yerleşik bulunan reseptörler aracılığı ile etki eder (141). 1980 yılından itibaren yapılan çalışmalar, Ang II için AT<sub>1</sub> ve AT<sub>2</sub> isimli birbirinden farklı en az iki tane reseptör alt tipleri tanımlamıştır. Daha sonraki çalışmalar ise AT<sub>3</sub> ve AT<sub>4</sub> reseptörlerinin varlığını göstermiş olsa da yeterince klonlama çalışmaları yapılmadığı için bu reseptör fonksiyonları hakkındaki bilgiler kısıtlıdır (144). Sıçanlarda AT<sub>1A</sub>, AT<sub>1B</sub> ve AT<sub>2</sub> reseptörleri sırasıyla 17, 2 ve X kromozomlarına lokalize olurlar (152). Samyn ve ark. (153) kardiyak AT<sub>1</sub> reseptör gen oluşumunun fetal ve yenidoğan döneminde değişmediğini ancak AT<sub>2</sub> reseptör mRNA oluşumunun fetal gelişme evresinde arttığı ve doğumdan hemen sonra azaldığını göstermişlerdir (154). Genel olarak AT<sub>1</sub> reseptörleri pozitif kronotrop etkiden sorumludur. Yine Ang II, koroner arterleri AT<sub>1</sub> reseptörleri aracılığıyla büzer (163, 164). Sıçanlarda AT<sub>1</sub> antagonistlerinin MI sonrası gelişen kardiyak remodelingle ilişkili gen ekspresyonlarını baskılamak suretiyle ventriküler dilatasyonu da önledikleri gösterilmiştir (165).

ADE'nin pek çok etkileri olan bir enzim oluşu ve anjiotensin reseptörleri aracılığıyla hiç etki etmeyişi ADE inhibitörlerinden daha az yan etkiye sahip ve daha spesifik etkili Ang II reseptör blokerleri geliştirme ihtiyacını doğurmuştur. Bu amaçla spesifik, non-peptid, oral olarak aktif olan AT<sub>1</sub> reseptör antagonisti losartan geliştirilmiştir (167). Böylelikle tamamen olmasa da Ang II'ye bağlı önemli zararlı etkileri baskılamak mümkün olmuştur. AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin akut uygulamasının, hayvanlarda (168, 169) ve kalp yetmezliği olan hastalarda (170, 171) vazodilatör etkilerinden dolayı kalbin çalışma yükünü azalttığı görülmüştür. AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ile kronik tedavi görmüş köpeklerde (172) ya da domuzlarda kalp yetmezliğinin gelişimi esnasında hemodinamiyi düzeltebildiği (173) ve MI'lı sıçanlarda sol ventriküler değişimi yararlı yönde etkilediği de tesbit edilmiştir (174). Köpeklerde 20 dk koroner hipoperfüzyonu takiben AT<sub>1</sub> reseptör antagonisti olan kandesartanın (CV11974) koroner infüzyonu, miyokardiyal laktat ekstraksiyon miktarını düşürdüğü

tesbit edilmiştir (177). Diğer bir AT<sub>1</sub> reseptör antagonisti olan L-158338 sıçan kalplerinde 20 dk iskemi esnasında asidozisin gelişimini azaltmıştır (178). Bu durum, deneysel çalışmalarda, AT<sub>1</sub> reseptör blokajının hipoperfüzyonun şiddetini ve iskemiye bağlı metabolik değişiklikleri azalttığını gösterir.

Şu ana kadar yapılmış çalışmalar Ang II' nin KVS de pek çok etkisinin AT<sub>1</sub> reseptörü üzerinden gerçekleştiğini göstermekte olup, AT<sub>2</sub> reseptörünün katkısı ise çok fazla bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar AT<sub>2</sub> reseptörünün, AT<sub>1</sub>'e antagonistik etkisinin olduğunu göstermektedir (28). Miyokardiyumdaki AT<sub>2</sub> reseptörünün fonksiyonu çok iyi tanımlanmamış olmakla beraber, yakın zamandaki yapılan hücre kültürü çalışmaları AT<sub>2</sub> reseptör uyarımının neonatal sıçan kardiyomiyositlerinde ve fibroblastlarda AT<sub>1</sub> reseptör bağımlı büyümeyi inhibe ettiğini göstermiştir (202). Liu ve ark. da (207) LVEDV, LVESV ve EF azalması, interstisyel kollajen azalması ve kardiyomiyosit çapında olan düzelmelerin AT<sub>1</sub> reseptör blokajının neticesinde olarak ve bu düzelmelerde AT<sub>2</sub> reseptörünün katkısı olduğunu ve AT<sub>2</sub> antagonistlerinin ise bu faydalı etkiyi ortadan kaldırdıklarını göstermişlerdir. Yine domuzlarda yapılan bir koroner arter bağlama modelinde de AT<sub>2</sub> reseptör antagonistleri hemodinamik parametreler üzerine AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin yararlı etkisini önlemiştir (222). Sonuç olarak AT<sub>1</sub> blokajı sonucunda artan Ang II, AT<sub>2</sub> reseptör uyarımı yapar ve böylelikle AT<sub>1</sub> reseptörüne antagonistik etkiler oluşur. Her ne kadar erişkin yaşamda AT<sub>2</sub> reseptör yoğunluğu düşse de, kardiyak hipertrofi, MI, kardiyomiyopati, KKY gibi patolojik durumlarda bu reseptör sayısında belirgin artış olmaktadır (213). İlginç olarak, end-stage insan kalbinde AT<sub>2</sub> reseptörleri total Ang II reseptörlerinin %65'ini oluşturmaktadır. Belki de kalp yetmezliğinin şiddeti ile AT<sub>2</sub> reseptör yoğunluğu arasında bir korelasyon bulunmaktadır (214). AT<sub>2</sub> reseptörü silinmiş farelerde yapılan çalışmalar, kontrole göre yüksek kan basıncı değerleri göstermiştir. Yani AT<sub>2</sub> reseptörünün vazodilatasyon yapıcı etkisi vardır. Bu etkisini NO ve bradikinin aracılığı ile gösterdiği düşünülmektedir. Hipertansiyon tedavisinde ADE inhibitörleri oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Kalp yetmezlikli hastalarda da ADE inhibitörlerinin kardiyak fonksiyonlarda ve remodelingde iyileşme yapması ve beklenen yaşam süresini uzatması iyi anlaşılmıştır. AT<sub>1</sub> antagonistleri antihipertansif tedavide kullanıma girmiş önemli bir ilaç sınıfını oluşturmaktadır. Fakat AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin oluşturduğu etkinin tamamen AT<sub>1</sub> reseptörü üzerinden olmadığı düşünülmektedir (28). Yapılan pek çok çalışmada AT<sub>1</sub> reseptörü blokajı ile ortaya çıkan faydalı etkilerin AT<sub>2</sub> reseptör antagonistlerince ortadan kalkması; hipertansiyon ve KVS hastalarının tedavi

stratejilerinde AT<sub>2</sub> reseptörlerinin hakkında ileri çalışmaları ve tanımlamaları ihtiyaç doğurmuştur.

AT<sub>1</sub> blokörleri, hipertansiyonun tedavisinde etkili olup iyi tolere edilmektedir. ADE inhibitörlerine bağlı olarak gelişen öksürük görülmemektedir. Yine yapılan çalışmalar AT<sub>1</sub> blokörlerinin metabolik ve renal yan etkilerinin olmadığını ve bu nedenle dislipidemili, diabetes mellituslu ya da nefropatili hastalarda antihipertansif ilaç olarak rahatlıkla kullanılabiliceğini göstermektedir. Kronik kalp yetmezliği olan hastalarda yapılan bir kaç çalışmada AT<sub>1</sub> blokörlerinin yararlı vazodilatör, hemodinamik ve nörohormonal etkileri tesbit edilmiştir. Hipertansiyon ve kronik kalp yetmezliği olan hastalarda AT<sub>1</sub> blokörlerinin uzun süreli kalp koruyucu ya da renal yararlı etkileri ve ayrıca mortalite ve morbidite üzerine etkileri halen araştırılmaktadır. Çok sayıda hastada planlanan, uzun süreli ve randomize klinik çalışmalar AT<sub>1</sub> blokörlerinin kardiyovasküler tedavideki yerini açığa çıkarmak için yapılmaktadır (29). Bununla beraber AT<sub>1</sub> blokörlerinin bu faydalı etkilerinin sadece AT<sub>1</sub> reseptörlerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak suretiyle değil, blokaj neticesinde Ang II nin AT<sub>2</sub> reseptörüne bağlanması ile bu reseptörün faydalı etkilerinin de olaya katıldığı tahmin edilmektedir (30, 31). Çünkü AT<sub>1</sub> reseptör blokajı neticesinde plazmada renin ve Ang II artar. Artmış olan Ang II, AT<sub>2</sub> reseptörü üzerinden etkilerini sürdürecektir. Böylelikle sadece zararlı etkilerden sorumlu olan AT<sub>1</sub> blokajı değil, beraberinde de AT<sub>2</sub> reseptörünün faydalı etkileri de olaya eşlik edecektir.

Bu nedenle, bu deneysel çalışmamızı planlarken amacımız *in vivo* olarak sıçanlarda oluşturulan miyokardiyal I-R modelinde; ADE inhibitörlerinden kaptopril, AT<sub>1</sub> selektif reseptör blokörü losartan ve AT<sub>2</sub> selektif reseptör blokörü PD123319'un hem hemodinamik parametrelere hem de infarkt alanına etkilerini karşılaştırmalı olarak inceleyerek olayın fizyopatolojik mekanizmaları ile ilgili parametreleri incelemektir.

Bu çalışmada, hemodinamik parametrelerden OAKB değerlendirmeleri sonucunda ilaç öncesi (İ.Ö.) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmezken, iskemi başlangıcında yani 0. dk da PD123319+losartan grubu hariç, kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Kaptopril 3 mg/kg, ve losartan 2 mg/kg kontrole göre OAKB da azalma gösterirken, PD123319 20 µg/kg/dk uygulanan grup OAKB değerlerinde istatistiksel olarak yüksek bulundu (Tablo 4, Şekil 1). Yani hem kaptopril hem de losartan alan grup kontrole göre

iskemiye düşük basınçla girerken PD123319 yüksek basınçla girdi. Bu bulgularımız konuyla ilgili literatürlere uyum göstermektedir. Çünkü hem ADE inhibitörlerinin hem de AT<sub>1</sub> reseptör blokerlerinin hipotansif etkileri iyi bilinmektedir. Kaptoprile bağlı kan basıncı düşmesi hem Ang II oluşumunu engellemesine hem de yapılan çalışmalar sonucuna göre endotel hücrelerinde NO ve PGI<sub>2</sub> üretimini artırmasına bağlanabilir (121). Losartan ise AT<sub>1</sub> reseptörünü bloke ederek ortamda bulunan Ang II'nin bu reseptörler aracılığı ile olan vazokonstriktör etkisini önleyerek, ayrıca Ang II' nin AT<sub>2</sub> reseptörü aracılığı ile olan vazodilatasyon etkisine katkıda bulunmaktadır. AT<sub>2</sub> reseptörünü selektif olarak bloke eden PD123319' un da basınçta artış yapması AT<sub>2</sub> reseptörünün NO ve bradikinin ile ilişkisini (217, 219) kesip Ang II'nin AT<sub>1</sub> reseptörü ile etkileşime girmesine yol açmasıdır.

İskeminin 10. ve 20. dk da kontrol grubu ile diğer grupları arasında OAKB yönünden istatistiksel olarak anlamlılık bulunmazken 30. dk da ise; kontrol grubu ile kaptopril grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlendi. Her ne kadar PD123319 uygulanan grup kontrole göre yüksek basınç göstermese de kaptopril grubu ile karşılaştırıldığında halen istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 4, Şekil 1).

Oklüzyondan sonra (reperfüzyon) 30, 60 ve 120. dk da kontrol grubu ile kaptopril, losartan, PD123319 ve PD123319+losartan grupları arasında OAKB yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmadı (Tablo 4, Şekil 1).

OKH karşılaştırıldığında, ilaç öncesi (İ.Ö.) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmeyip, iskemi başlangıcında yani, 0. dk da kaptopril, losartan ve PD123319+losartan grupları kontrole göre istatistiksel olarak düşük bulunurken, tek başına PD123319 uygulanan grup istatistiksel anlamlı düzeye ulaşmasa da belirgin bir artış gözlemlendi. Bu artış kontrol grubu hariç diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo 5, Şekil 2). Yani AT<sub>2</sub> reseptörlerinin kronotropik etkide azaltıcı (209) etkisi bloklanmış olduğu için kalp hızında artış görüldü.

İskeminin 10, 20 ve 30. dk da tüm gruplar kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. PD123319 uygulanan gruptaki artış tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaştı.

Reperfüzyonun 30. dk da kaptopril ve losartan uygulanan gruplar kontrole göre istatistiksel olarak düşük bulundu. PD123319 uygulanan grup kontrolle aynı değere



ulaşsa da halen kaptopril ve losartana göre istatistiksel olarak yüksek bulundu (Tablo 5, Şekil 2).

60 ve 120. dk da kaptopril ve losartan uygulanan gruplar kontrole göre istatistiksel olarak düşük bulundu. PD123319 uygulanan grupla diğer gruplar arasında bir fark gözlenmedi (Tablo 5, Şekil 2). PD123319' un kalp hızı üzerindeki etkisinin reperfüzyonun 30. dk'dan itibaren azalıp 60 ve 120. dk da kontrole aynı seviyeye gelmesi ise deney protokolü gereğince iskeminin sonuna kadar infüzyon yapılan PD123319'un çok kısa yarılanma ömrü olmasından kaynaklanmaktadır (200).

Gruplar nekroz/risk alanına göre karşılaştırıldığında kontrole göre (%56±4) kaptopril (%31±3, p<0.05) ve losartan (%38±4, p<0.05) hasarı istatistiksel anlamlı düzeyde azalttı. PD123319 ne tek başına ne de losartan ile beraber verildiğinde etkili olmadı (Tablo 6, Şekil 2).

Kan basıncı ile nekroz/risk oranını beraber değerlendirdiğimizde şu sonuca varmak mümkün olabilir; hem kaptopril hem de losartan grubu iskemiye düşük basınçla girdiler, PD123319 grubu ise yüksek basınçla başladı. Bu yüzden belki de kaptopril ve losartanın nekroz/risk alanında azalmaya yol açması ve PD123319'un değiştirmemesi kan basıncına olan etkilerinden kaynaklanmış olabilir. Yani, kaptopril Ang II oluşumunu engelleyerek, losartan da ortamdaki Ang II'nin AT<sub>1</sub> reseptörlerine bağlanarak RAS'ın zararlı etkilerine yol açmasını baskılamış olabilir.

Bununla beraber, kaptoprilin bu hasarı losartana göre daha fazla azaltmasında kaptoprilin antioksidan özelliğe sahip olmasının da bir katkısı olmuş olabilir. Birincioglu ve ark. (229) yaptığı bir çalışmada kaptoprilin I-R aritmeleri üzerine olan iyileştirici etkisini bu ilacın serbest radikal süpürücü özelliğine bağlanmıştır. Çünkü, kaptopril spesifik ADE inhibitörlerinden ilk tanımlanan ilaç olup, yapısında sülfidril grubu içerir. Bu özelliği nedeniyle antioksidan olarak da kullanılmıştır (7, 124).

Ayrıca kaptoprilin I-R' un neden olduğu hasarı azaltmasında bu grup ilaçların bradikinin yıkımına engel olması da rol oynamış olabilir. Çünkü, ADE vazodilatatör bir kinin peptid olan bradikinin ve kallidin'i yıkar; Bu nedenle ADE inhibisyonu vazodilatatör etkili kinin peptidlerinin düzeyini yükseltir. ADE inhibisyonuna bağlı olarak Ang I deki artış vazodilatatör olan anjiyotensin 1-7'ye dönüşümü ile sonuçlanabilir (121, 122). Kaptoprilin bu özelliği bizim deneysel çalışmamızdaki iskemiye düşük basınçla girme sonucunu da desteklemektedir. Konuyla ilgili olarak Birincioglu ve ark. (230)'nın yaptığı diğer bir çalışmada da kaptoprilin I-R hasarı



üzerine olan iyileştirici etkisi bu ilacın PG sentezini uyarması ve bradikinin yıkımına engel olmasına bağlanmıştır. Ozer MK ve ark. (27)'nin yaptığı in-vivo sıçan nekroz modeli çalışmasında da 3 mg/kg kaptopril kontrole göre anlamlı olarak nekroz/risk alanını azaltırken, 2 mg/kg losartan istatistiksel anlama ulaşmamıştır. Bizim çalışmamızda ise hem 3 mg/kg kaptopril hem de 2 mg/kg losartan kontrole göre anlamlı düzeyde nekroz/risk alanını azalttı. Yine bir çalışmada da Ang II tip I<sub>A</sub> geni silinmiş farelerde koroner oklüzyon ve ardından reperfüzyon uygulandığında, anjiyotensin reseptörü olmayan farelerde herhangi bir işlem yapılmamış farelere oranla MI hasarının büyüklüğünde bir değişiklik olmadığı görülmüştür (227). Bu farklılık muhtemelen, bizim deney protokolümüzdeki tüm grup ilaçların 40 dk boyunca yani iskemiden 10 dk önce başlayıp tüm iskemi boyunca infüzyon pompası ile ilaç vermemizden kaynaklanmış olabilir, ya da kullanılan hayvan türü veya mevsimsel farklılıklardan etkilenmiş olabilir. Bununla beraber, AT<sub>1</sub> reseptör antagonistleri ile kronik tedavi görmüş köpeklerde ya da domuzlarda kalp yetmezliğinin gelişimi esnasında hemodinamiyi düzeltebildiği ve MI'lı sıçanlarda sol ventriküler değişimi yararlı yönde etkilediği de literatürde vardır.

Bizim çalışmamızda losartanın nekroz/risk alanını azaltmasında, I-R de artmış olan Ang II'nin zararlı etkilerini AT<sub>1</sub> reseptörlerini kapatarak engellemiş olması yani, başka bir deyimle Ang II'nin AT<sub>2</sub> reseptörüne bağlanması ilişkili görülmektedir. Bununla ilgili olarak, AT<sub>2</sub> reseptörünün pek çok çalışmada kalp fonksiyonları üzerine faydalı etkisi gösterilmiştir (231, 232). Yine bu faydalı etkiyi de bradikinin, PG ve NO aracılığıyla yaptığına inanılmaktadır. Domuzlarda yapılan bu çalışmalardan birinde losartanın infarkt sahasını azalttığı ve bu iyileşmenin PD123319, HOE 140 (bradikinin antagonisti) ve indometazin ile ortadan kalktığı görülmüş. Sonuç olarak losartanın kalp üzerindeki iyileştirici etkisi AT<sub>2</sub> reseptör aktivasyonu yaparak, bradikinin ve PG'lerin faydalı etkisine bağlanmıştır (222). Bizim çalışmamızda da losartan, nekroz/risk alanını azaltırken hem tek başına PD123319 hem de losartanla beraber verilmesi tek başına losartanın iyileştirici etkisini ortadan kaldırdı. Kombine grupla karşılaştırıldığında PD123319 alan grupta nekroz/risk alanı biraz daha az bulundu. Bunun nedeni kombine ilaç verildiğinde her iki Ang II reseptörünün de kapatılmış olmasıdır. Çünkü şu bir gerçek ki, her ne kadar miktarı AT<sub>2</sub> reseptörü kadar olmasada AT<sub>1</sub> reseptörünün de bir miktar bradikinin oluşturucu etkisi gösterilmiştir. Losartan tarafından AT<sub>1</sub> reseptörleri bloke edildiğinde Ang I, II, III ve anjiyotensin (1-7) tarafından tetiklenen lokal kinin

aktivasyonu azalacağına ilişkin çalışmalar da vardır (233). İşte tek başına PD123319 uygulandığında Ang II, AT<sub>1</sub> reseptörü ile etkisini sürdürürken bu reseptörün uyardığı bradikinin nekroz üzerine hafif de olsa kombine tedaviye göre yararlı etkisi olmuş olabilir. Yine buna bağlı olarak PD123319 uygulanan gruptaki nekroz oranının neden kontrolden daha fazla olmadığı hatta hafifte olsa düşük olduğu anlaşılabilir.

Hem hemodinamik parametrelere hem de nekroz/risk alanına tüm grupları göz önüne alarak baktığımızda şu sonuca varıyoruz ki, hem kaptopril hemde losartan iskemiye düşük basınçla girdi ve nekroz/risk alanını azalttı. PD123319 ise yüksek basınçla iskemiye başladı ve kontrole göre hasarı azaltmadı. PD123319+losartan uygulaması ise kan basıncını istatistiksel olarak değiştirmede ve hasarı düzeltmedi. Yani hasarı azaltanlar iskemiye düşük basınçla giren iki grup oldu. Kalp hızları ile nekroz/risk alanı karşılaştırıldığında ise böyle bir ilişkiden söz etmek mümkün olmamaktadır. Çünkü kardiyak hasarı azaltan kaptopril ve losartan grubunda olduğu gibi hasar üzerine etkisiz olan PD123319+losartan grubunda da kalp hızı kontrole göre düşük bulundu. Fakat PD123319 uygulanan grupta ise kalp hızı yüksek olmakla beraber, kardiyak hasarı azaltmadı. Yani bu sonuçlar kalp hızı değerlerinde henüz açığa çıkarılmamış olan başka mekanizmaların varlığını düşündürmektedir. Çünkü I-R olayı gerçekten kompleks bir mekanizma olup pek çok (sempatik sistem, asidoz ve alkaloz gibi) olaylar zinciri devreye girmektedir.

Bizim bu çalışmamız göstermiştir ki, I-R'ın neden olduğu kalp hasarının önlenmesinde hem ADE inhibitörlerinden kaptopril hem de AT<sub>1</sub> blokörü losartan faydalı etkiye sahiptir. Bu faydalı etkinin oluşmasında her iki grubunda iskemiye düşük basınçla başlamış olmaları ve iki ilacın da bradikinin ile ilişkisinden kaynaklanmaktadır. Bununla beraber, PD123319 tek başına veya losartanla beraber verildiğinde losartana bağlı olan iyileşmenin ortadan kalkması; AT<sub>2</sub> reseptörünün kalp üzerinde bradikinin, PG ve NO ile olan ilişkisinden dolayı koruyucu rol oynadığıdır. Eğer nekroz/risk alanını azaltan olay iskemiye girişteki kan basıncının kontrole göre düşük olması ile ilişkili değilse ki, bir çalışmada da kaptopril için öyle bulunmuştur (27); koruyucu etki, bradikinin ile olmaktadır. Çünkü kaptopril verilmesiyle bradikinin yıkımı engellenip losartanla da AT<sub>2</sub> reseptörü aracılığıyla üretimi artacaktır.

Bradikininin iskemi esnasında kalpten salındığı ve kardiyoprotektif rolü olduğu bilinmektedir. Fakat ADE inhibitörlerini de içeren kalpte bulunan çeşitli enzimlerce hızlıca lokal olarak inaktive edilmektedir. Bununla beraber kalpte bradikinin miyokardiyal I-R daki koruyucu rolünün mekanizmaları tam olarak

aydınlatılamamıştır. Muhtemel mekanizmalar arasında; koroner perfüzyonda artış yapması, yüksek enerjili fosfatların korunması, glukoz uptake' ni artırarak kardiyak metabolizmada değişiklikler yapması, yine NE salınımını azaltarak ventriküler kontraktiliteyi koruması da sayılabilir (234). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada iskemik kalpte intrasellüler asidozis ve  $Ca^{+2}$  overload'ı olduğu, miyosit plazma membranında da pH ve  $Ca^{+2}$  düzenleyici proteinlerin mevcudiyetinden bahsedilerek bu düzenlemede bradikinin'in de rol oynadığı belirtilmiştir (235).

Çeşitli hayvan miyokard I-R modellerinde bradikinin'in koruyucu etkisine yönelik yapılan çalışmalardan da şu sonuca varılmıştır; bradikinin'in koruyucu etkisi NO üretimini ve CGMP sentezini artırarak miyosit kontraktilitesini düzenlemekle beraber, protein kinaz C (PKC) aracılığı ile de ATP duyarlı  $K^+$  kanallarının açılmasına aracılık etmesidir (236).

Hem ADE inhibitörlerinin hem de  $AT_1$  antagonistlerinin kalp yetmezlikli hastalarda mortalite ve morbiditeyi azalttığını gösterilmiştir (237). Yakın zamanda spontan hipertansif sıçanlarda yapılan bir çalışmada hem ADE inhibitörü olan delaprilin hem de  $AT_1$  antagonisti kandesartanın ekokardiyografik olarak tespit edilen kardiyak hipertrofiyi azalttığı bildirilmiştir (238). Yine  $AT_1$  antagonistlerinin hem kardiyovasküler mortalite ve morbiditeyi önlemek açısından hem de sol ventriküler hipertrofi hipertansif hastalarda tolerabilite açısından  $\beta$  blokerlere üstünlüğü bilinmektedir (239). Ayrıca MI sonrası  $AT_1$  blokajının sadece sol ventrikül remodelinginde azalma değil beraberinde anjiogenezisi de azaltarak mikrodamar yoğunluğunu düşürmesi (240)  $AT_1$  antagonistlerine bir ilgi uyandırmıştır. Ancak, MI sonrası sol ventriküler bozukluk gelişmiş hastalarda kaptopril ve losartanın etkisini karşılaştıran ilk büyük çalışma olan OPTIMAAL da eğer tolere edilebilirse, akut MI komplikasyonu gelişmiş hastalarda kaptopril, losartana göre mortaliteyi daha fazla azaltacağı için tercih edilmelidir denilmektedir (241). Bu görüşlere ek olarak; Nakamura ve ark. (242) sıçanlarda oluşturdukları MI modelinde ADE inhibitörü olan temocapril ile  $AT_1$  antagonisti CS-866'ın kombine uygulanmasının tek başına verilmesinden daha fazla kardiyak fonksiyonları koruduğunu bildirdiler. Yine Shimizu ve ark (243) da dilate KMP'li hastalarda kombine tedavinin mortaliteyi daha da düşüreceğine dikkat çekmektedirler.

Sonuç olarak, bizim çalışmamız göstermiştir ki, *in-vivo* sıçan modelinde miyokardiyal I-R'ın neden olduğu nekroz/risk alanı üzerine hem ADE inhibisyonunun

hem de AT<sub>1</sub> reseptör blokajının dolayısıyla da AT<sub>2</sub> reseptörünün koruyucu etkisi vardır. Bu kardiyoprotektif etkiye katkıda bulunduğu düşünülen mekanizmalar arasında yer alan bradikinin, PG ve NO' nun direkt etkisinin belirlenmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



## 7.SONUÇ VE ÖNERİLER

### 1.Kan Basıncı

Ortalama arteriyel kan basıncı (OAKB) açısından, ilaç öncesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. İskemi başlangıcında yani, 0. dk da PD123319+losartan grubu hariç, kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Kaptopril 3 mg/kg, ve losartan 2 mg/kg kontrole göre OAKB de azalmaya yol açarken, PD123319 20 µg/kg/dk uygulanan grup OAKB değerleri istatistiksel olarak yüksek bulundu.

İskeminin 10. ve 20. dk da kontrol grubu ile kaptopril, losartan, PD123319 ve PD123319+losartan grupları arasında OAKB yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

İskeminin 30. dk'da ise; hem kontrol grubu ile kaptopril grubu arasında hem de PD123319 grubu ile kaptopril grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi.

Oklüzyondan sonra (reperfüzyon) 30, 60 ve 120. dk da kontrol grubu ile kaptopril, losartan, PD123319 ve PD123319+losartan grupları arasında OAKB yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

### 2.Kalp Hızı

Ortalama kalp hızları (OKH) karşılaştırıldığında, ilaç öncesi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. İskemi başlangıcında yani, 0. dk da kaptopril, losartan ve PD123319+losartan grupları kontrole göre istatistiksel olarak düşük bulunurken, tek başına PD123319 uygulanan grup istatistiksel anlamlı düzeye

ulaşmasa da kalp hızında belirgin artış gösterdi. Bu artış kontrol hariç diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu.

İskeminin 10, 20 ve 30. dk da tüm gruplar kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. PD123319 uygulanan gruptaki artış tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaştığı gözlemlendi.

Reperfüzyonun 30. dk da kaptopril ve losartan uygulanan gruplar kontrole göre istatistiksel olarak düşük bulundu. PD123319 uygulanan grup kontrolle aynı değere ulaşırsa da halen kaptopril ve losartana göre istatistiksel olarak yüksek bulundu.

60 ve 120. dk da kaptopril ve losartan uygulanan gruplar kontrole göre istatistiksel olarak düşük bulundu. PD123319 uygulanan grupla diğer gruplar arasında bir fark olmadığı gözlemlendi.

### 3.Nekroz Oranı

Nekroz/Risk alanını kontrole göre (%56±4) kaptopril (%31±3,  $p<0.05$ ) ve losartan (%38±4,  $p<0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttı.

Gruplar arasında risk alanı açısından istatistiksel anlam bulunmadı

### 4.Öneriler

Bizim çalışmamız göstermiştir ki, *in-vivo* sıçanda miyokardiyal I-R'ın neden olduğu nekroz alanı üzerine hem ADE inhibisyonunun hem de AT<sub>1</sub> reseptör blokajının dolayısıyla da AT<sub>2</sub> reseptörünün koruyucu etkisi vardır. Bu kardiyoprotektif etkiye katkıda bulunduğu düşünülen mekanizmalar arasında yer alan bradikinin, PG ve NO'nun direkt etkisinin belirlenmesi için HOE 140 (bradikinin antagonisti), indometazin (PG inhibitörü) ve L-NAME (NO inhibitörü) eklenerek yeni gruplar oluşturulabilir.

Son yapılan çalışmalar da göz önünde bulundurularak hem ADE inhibitörü hem de AT<sub>1</sub> reseptör antagonistlerinin beraber deneneceği bir deney modeli oluşturulabilir.

Ayrıca, deney sonunda dekapite edilen sıçanlardan alınan kan örneklerinden, oluşan hasarda oksidan-antioksidan sistemin katkısını ortaya çıkarmak için enzim tayini yapılabilir.

Nekroz alan ölçümlerinde hassasiyeti artırmak için, her deney sonunda kalp dilimleri dijital fotoğraf makinasıyla görüntülenip daha sonra bilgisayar ortamında ölçüm yapılabilir. Yine, risk alanı tayini için kullanılan floresan partikülün temin zorluğu ile beraber mor ışığa ihtiyaç duyması ve ölçüm ve fotoğraflamanın güçlüğü nedeni ile Evans mavisi, Metilen mavisi gibi normal ışıkta görülebilen boya yöntemlerinin denenerek uygun konsantrasyonlarda dozları yakalanabilir.



## 6.ÖZET

### **İN VİVO SIÇANDA MİYOKARDİYAL İSKEMİ-REPERFÜZYON NEKROZUNDA ANJİOTENSİN II RESEPTÖR BLOKERLERİ (AT<sub>1</sub>, AT<sub>2</sub>) VE ANJİOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM İNHİBİTÖRÜ KAPTOPRİLİN ETKİLERİ**

**AMAÇ:** Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon (MI-R); trombolizis, anjioplasti ve koroner bypass cerrahisi ile ilişkili klinik bir problemdir. Anjiotensin II (Ang II), iskemi-reperfüzyon (I-R) hasarını da içeren çeşitli fizyopatolojik etkilere aracılık eder. Kalbi korumaya yönelik stratejiler I-R da Ang II üretimi ve reseptör uyarımlarını azaltmanın etkisini incelemeye yönelmiştir. Bu çalışmanın amacı; ADE inhibitörü kaptopril, AT<sub>1</sub> ve AT<sub>2</sub> reseptör blokerleri olan losartan ve PD123319' un *in vivo* sıçan modelinde I-R'ın tetiklediği miyokardiyal infarkt alanı üzerine etkilerini araştırmaktır. **GEREÇ VE YÖNTEM:** Nekroz oluşturmak için sol koroner arterin inen dalına 30 dk iskemi-iki saat reperfüzyon uygulandı. EKG değişiklikleri, kan basıncı ve kalp hızı deney boyunca kaydedildi. Kaptopril (3mg/kg), losartan (2mg/kg) ve PD123319 (20µ/kg/dk) iskemiden 10 dk önce I.V. olarak başlanıp tüm iskemi boyunca devam edildi. Nekrotik doku, Trifenil Tetrazolyum Klorid (TTC) boyası ile tayin edildi. Nekroz ve risk sahasının hacmi planimetrik yöntemle belirlendi. **BULGULAR:** Kontrol grubu ile [%55.62±4.00] karşılaştırıldığında hem kaptopril hem de losartan [%30.50±3.26 ve %37.75±4.44] miyokardiyal infarkt alanını istatistiksel olarak azaltırken; ne PD123319 ne de PD123319+losartan sıçan MI/R modelinde infarkt alanı üzerine olumlu etkide bulunmadı [%46.50±3.72 ve 54.62±2.43]. **SONUÇ:** Bu sonuçlar, Ang II'nin MI-R hasarında önemli bir rol oynadığını desteklemektedir. Kaptopril ile Ang II yapımının blokajı veya AT<sub>1</sub> reseptörünün losartan ile kapatılması; I-R hasarı üzerine kalbi koruyucu bir etki gösterdi. Bu ilaçların terapotik başarısı, bunların hem plazma hem de dokudaki Ang II konsantrasyonunu azaltmakla beraber, Ang II'nin zararlı etkilerini AT<sub>1</sub> reseptörü aracılığıyla bloke eden farmakolojik profillerine bağlıdır. Bununla beraber, losartan tarafından azalan infarkt alanının AT<sub>2</sub> reseptör blokajı ile ortadan kalkması; losartanın kalbi koruyucu etkisinde AT<sub>2</sub> reseptör aktivasyonunu içeren bradikinin ve prostaglandin sinyal kaskatını desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Anjiotensin II, kaptopril, losartan, AT<sub>2</sub> reseptörü, miyokardiyal iskemi-reperfüzyon, nekroz.

## 7.SUMMARY

### EFFECTS OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME INHIBITOR CAPTOPRIL AND ANGIOTENSIN II RECEPTOR BLOCKERS (AT<sub>1</sub>, AT<sub>2</sub>) ON MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION NECROSIS IN *IN VIVO* RAT

**BACKGROUND:** Myocardial ischemia–reperfusion (MI-R) represents a clinically relevant problem associated with thrombolysis, angioplasty and coronary bypass surgery. Angiotensin II (Ang II) elicits several pathophysiological effects that exacerbate ischemia-reperfusion (I-R) injury. The cardioprotective efficacy of strategies that decrease Ang II production and receptor's stimulation has been investigated in models of I-R injury. The aim of this study was to examine the effects of ACE inhibitor captopril, AT<sub>1</sub> and AT<sub>2</sub> receptor blockers, losartan and PD123319, on ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in an *in vivo* rat model. **MATERIAL AND METHODS:** To produce necrosis, a branch of the descending left coronary artery was occluded for 30 min followed by two hours reperfusion. ECG changes, blood pressure and heart rate were measured during all experiment. Captopril (3mg/kg), losartan (2mg/kg) and PD123319 (20µg/kg/min) were given I.V. 10 min before ischemia and continued during ischemia. Infarction was measured triphenyl tetrazolium staining. The volume of infarct and the risk zone was determined by planimetry. **RESULTS:** Compared to the control group [%55.62±4.00] both captopril and losartan significantly reduced myocardial infarct size [%30.50±3.26 and %37.75±4.44] whereas neither PD123319 nor PD123319+losartan did not affect infarct size [46.50±3.72 and 54.62±2.43]. **CONCLUSION:** Our results indicate that, blockage of Ang II produce by captopril or AT<sub>1</sub> receptor antagonist losartan exert cardioprotective activity after I-R injury. The therapeutic success of these drugs is related to their unique pharmacological profile involving both a reduction of plasma and tissue Ang II concentrations and blockage of Ang II harmful effects by AT<sub>1</sub> receptor. Also, the infarct size reduction by losartan was abolished with blockade of the AT<sub>2</sub> receptor, suggesting a cardioprotective action of losartan through a signal cascade of AT<sub>2</sub> receptor activation, bradykinin and prostaglandins.

**Key Words:** Angiotensin II, captopril, losartan, AT<sub>2</sub> receptor, myocardial ischemia-reperfusion, necrosis.

## KAYNAKLAR

1. Gill C, Mestri R, Samali A. Losing heart: the role of apoptosis in heart disease, a novel therapeutic target? *Faseb J* 2002; 16: 135-146.
2. Chockalingam A, Balaguer-Vintro I: Impending Global pandemic of Cardiovascular Diseases, Challenges and Opportunities for the Prevention and Control of Cardiovascular Diseases in Developing Countries and Economies in Transition Barcelona Prous Science, 1999.
3. Bertan M, Güler Ç. Halk sağlığı. Güneş kitabevi. 1995: 70.
4. Kumar V, Cotran R, Robbins S. Kalp. In: Basic Pathology. 5<sup>th</sup> edition. (Türkçe Çeviri Editörü Çevikbaş U) WB.Saunders Company. 1994: 305-331.
5. Lai ZF. The relationship between intracellular chloride concentration and ischemia reperfusion-induced arrhythmias in myocardial cells. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2002; 24(2): 190-196.
6. Flitter WD. Free radicals and myocardial reperfusion injury. *British Medical Bulletin* 1993; 49:545-555.
7. Birincioğlu M. İskemi-reperfüzyon aritmilerine ACE inhibitörleri, Glutation ve indometazin etkileri. Uzmanlık Tezi. 1996.
8. Semenza GL. Cellular and Molecular Dissection of Reperfusion Injury ROS Within and Without. *Circ Res* 2000; 86: 117-118.
9. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: A double-edged word? *J Clin Invest* 1985; 76: 1713-1719.
10. Hearse DJ. Ischemia reperfusion, and the determinants of tissue injury. *Card Drugs Ther* 1990; 4: 767-776.
11. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 1991; 42: 225-246.
12. Yang HS, Lee CW, Hong MK, Lee JH, Nam GB, Choi KJ, Kim JJ, Park SW, Kim YH, Park SJ. Residual flow to the infarct zone against lethal ventricular tachyarrhythmias during the acute phase of myocardial infarction. *Clin Cardiol* 2003; 26(8): 373-376.
13. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi W, Kim SJ, El-Sokkary GH. Ischemia/reperfusion-induced arrhythmias in the isolated rat heart: Prevention by melatonin. *J Pineal Res* 1998; 25: 184-191.
14. Reither RJ, Tan DX, Kim SJ, Wenbo QI. Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. *Proc West Pharmacol Soc* 1998; 41: 229-236.
15. Theroux P. Protection of the myocardial cell during ischemia. *Am J Cardiol* 1999; 83: 3G-9G.
16. Seeland U, Kouchi I, Zolk O, Jockenhovel F, Itter G, Linz W, Bohm M. Effects of diuretic treatment on cardiac and circulating RAS in chronic heart failure post-myocardial infarction in rats. *Eur J Heart Fail* 2003 ; 5(3): 241-246.
17. Friedrich B, Walter RK. Postischemic antiarrhythmic effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Circulation* 1996; 94: 1752-1761.
18. Cargnoni A, Boraso A, Scotti C, et al. Effect of angiotensin converting enzyme inhibition with quinaprilat on the ischaemic and reperfused myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1994; 26: 69-86.
19. Gohlke P, Linz W, Scholkens BA, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition improves cardiac function: role of bradykinin. *Hypertension* 1994; 23: 411-418.

20. Jurkovicova O, Cagan S. Reperfusion arrhythmias. Bratisl Lek Listy 1998; 99(3-4): 162-171.
21. Zhu B, Sun Y, Sievers RE, Browne AE, Pulukurthy S, Sudhir K, Lee RJ, Chou TM, Chatterjee K, Parmley WW. Comparative effects of pretreatment with captopril and losartan on cardiovascular protection in a rat model of ischemia-reperfusion. J Am Coll Cardiol 2000; 35(3): 787-795.
22. Pitt B, Konstam MA. Overview of angiotensin II-receptor antagonist. Am J Cardiology 1998; 82: 19.
23. Jones A, Dhamrait SS, Payne JR, Hawe E, Li P, Toor IS, Luong L, Wootton PT, Miller GJ, Humphries SE, Montgomery HE. Genetic Variants of Angiotensin II Receptors and Cardiovascular Risk in Hypertension. Hypertension 2003; 42:500-506.
24. Said AbdAllağ, Heinz Lotharğ, Ahmed M. Abdel-tawab, Ursula Quitterer. The Angiotensin II AT2 Receptor Is an AT1 Receptor Antagonist. The Journal Of Biological Chemistry 2001; 276: 39721-39726.
25. Lan Wu, Masaru Iwai, Hironori Nakagami, Rui Chen, Jun Suzuki, Masahiro Akishita, Marc de Gasparo, Masatsugu Horiuchi. Effect of Angiotensin II Type 1 Receptor Blockade on Cardiac Remodeling in Angiotensin II Type 2 Receptor Null Mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2002;22:49-54.
26. Kuizinga MC, Smits JF, Arends JW, Daemen MJAP. AT2 receptor blockade reduce cardiac interstitial cell DNA synthesis and cardiac function after rat myocardial infarction. J Mol Cell Cardiol 1998; 30(2): 425-434.
27. Ozer MK, Sahna E, Birincioglu M, Acet A. Effects of captopril and losartan on myocardial ischemia-reperfusion induced arrhythmias and necrosis in rats. Pharmacol Res 2002; 45(4):257-263.
28. Horiuchi M, Akishita M, Dzau VJ. Recent progress in angiotensin II type 2 receptor research in the cardiovascular system. Brief Review. 1999; 33: 613-621.
29. Pitt B, Konstam MA. Overview of angiotensin II-receptor antagonist. Am J Cardiology. 1998; 82: 19.
30. Dudley DT, Summerfelt RM. Regulated expression of angiotensin II (AT2) binding sites in R3T3 cells. Regul Pept 1993; 44: 199-206.
31. Csikos T, Balmforth AJ, Grojec M, Gohlke P, Culman J, Unger T. Angiotensin AT2 receptor degradation is prevented by ligand occupation. Biochem Biophys Res Commun 1998; 243: 142-147.
32. Sağlam M. Genel histoloji. Genişletilmiş 4. Baskı. 1993: 243-246.
33. Tekelioğlu M. Özel Histoloji İnce yapı ve Gelişme. Antıp A.Ş yayınları 2002: 24-26.
34. Gartner PL, Hiatt JL, Strum JM. Histology. 1998: 107-109.
35. Young B, Heath JW. Functional Histology. Fourth edition. 2000: 145.
36. Arıncı Kaplan, Elhan Alaittin. Anatomi. 2. Cilt. 1997: 3-11.
37. Snell RS. Clinical anatomy for medical students. Fifth edition. 1995: 96-98.
38. Bray JP, Cragg PA, Macknight ADC, Milsi RG. Human physiology. Fourth edition, Blackwell Science 1999; 13: 323-324.
39. Berne RB, Levy MN. Principles of physiology. Third edition. Cardiovascular system. 2000; 4: 206-207.
40. Yıldırım Mehmet. İnsan Anatomisi, İstanbul, Beta Basım Yayım Dağıtım, 1994: 97.
41. Guyton AC, Hall JE. Rhythmical excitation of the heart. In: Textbook of Medical Physiology. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia WB Saunders 2000:107-113.
42. Vander A, Sherman J, Luciano D. Human Physiology. Circulation. 2001; 14: 389.



43. Ganong WF. *Tıbbi Fizyoloji, Çeviri. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 20. Baskı Nobel Tıp Kitapevi.* 2002: 528-541.
44. Eng C, Cho S, Factor SM, Kirk ES. A nonflow basis for the vulnerability of the subendocardium. *J Am Coll Cardiol* 1987; 9: 3747-3779.
45. Lucchesi BR. *Reperfusion injuries and clinical capillary leak syndrome.* Armonk NY, Future Publishing Company. 1994: 171-202.
46. Braunwald E. *Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine.* WB Saunders Company. Fourth Edition. 1992; 2: 1161-1199.
47. Corr PB, Sobel BE. The role of biochemical factors in ventricular dysrhythmia accompanying ischemia. *Adv Cardiol* 1980; 27: 346-360.
48. Corr PB, Pogwizd SM. Mechanisms contributing to arrhythmogenesis during early myocardial ischemia, subsequent reperfusion, and chronic infarction. *Angiology* 1988; 39: 684-699.
49. Heathers GP, Yamada KA, Kanter EM, et al. Long chain acyl-carnitines mediate the hypoxia induced increase in  $\alpha 1$ -adrenergic receptors on adult canine myocytes *Circ Res* 1987; 61: 735-746.
50. Fozzard HA, Makielski JC. The electrophysiology of acute myocardial ischemia. *Ann Rev Med* 1985; 36: 275-284.
51. Fabiato A. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol* 1983; 245: C1-C14.
52. Wit AL, Bitter JT. Possible electrophysiological mechanisms for lethal arrhythmias accompanying myocardial ischemia and infarction. *Circulation* 1975; 52: 96-115.
53. Katz AM. Effects of interrupted coronary flow upon myocardial metabolism and contractility. *Prog Cardiovasc Dis* 1968; 10: 450-465.
54. Ambrosio G, Jacobus WE, Mitchel MC, et al. Effects of ATP precursors on ATP and free ADP content and functional recovery of post ischemic hearts. *Am J Physiol* 1989; 256: H560-H566.
55. Katz AM. *Physiology of the heart.* New York, Raven Press. 1977: 419-433.
56. Lee KS, Ladinsky H, Struckey JH. Decreased  $Ca^{+2}$  uptake by sarcoplasmic reticulum after coronary artery occlusion for 60 and 90 minutes. *Circ Res* 1967; 21: 439-444.
57. Tennant R, Wiggers CJ. The effect of coronary occlusion on myocardial contraction. *Am J Physiol* 1935; 112: 351-361.
58. Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB, Abrams GD, Lucchesi BR. Canine myocardial reperfusion injury: Its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res* 1984; 54: 277.
59. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67: 1016-1023.
60. Hearse DJ, Humprey SM, Bullock GR. The oxygen paradox and the calcium paradox: Two facets of the same problem. *J Mol Cell Cardiol* 1978; 10: 611-668.
61. Hill JH, Ward PA. The phlojistic role of C3 leukotactic fragments in myocardial infarcts in rats. *J Exp Med* 1971; 133: 885-900.
62. Kloner RA, Ellis SG, Carlson NV, Braunwald E. Coronary reperfusion for the treatment of acute myocardial infarction: post ischemic ventricular dysfunction. *Cardiology* 1983; 70: 233-246.
63. Bush LR, Buja LM, Samowitz W, Rude RE, Wathen M, Tilton GD, Willerson JT. Recovery of left ventricular segmental function after long term reperfusion

- following temporary coronary occlusion in conscious dogs: comparison of 2 and 4 hour occlusions. *Circ Res* 1983; 53: 248-263.
64. Beyersdorf F, Allen BS, Buckberg GD, Acar C, Okamoto F, Young HH, Bugyi HI. Studies on prolonged acute regional ischemia: I. evidence for preserved cellular viability after 6 hours of coronary occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 98: 112-126.
  65. Ambrosio G, Tritto I. Reperfusion injury: Experimental evidence and clinical implications. *J Am Heart* 1999; 138: S69-S75.
  66. Ambrosio G, Weisman HF, Manisi JA, et al. Progressive impairment of regional myocardial perfusion after initial restoration of post-ischemic blood flow. *Circulation* 1989; 80: 1846-1861.
  67. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları. 1995.
  68. Lucchesi BR. Modulation of leukocyte-mediated myocardial reperfusion injury. *Ann Rev Physiol* 1990; 52: 561-576.
  69. Şahna E. Melatoninin fizyolojik ve farmakolojik konsantrasyonlarının miyokardiyal iskemi-reperfüzyona bağlı aritmiler ve nekroz üzerine etkisi. Doktora Tezi. 20001.
  70. Jennings RB, Ganote GB, Kloner RA, Whalen DA, Hamilton DG. Explosive swelling of myocardial cells irreversibly injured by transient ischemia. In: *Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism. Vol 6: Pathophysiology and Morphology of Myocardial Cell Alteration.* Baltimore, Md: University Park Press. 1975: 405-413.
  71. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53(1): 135-159.
  72. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47(5): 412-426.
  73. Kılıç E. Pinealektomi yapılmış sıçanda melatoninin beyin fokal iskemi-reperfüzyon hasarına etkileri. Uzmanlık Tezi. 1999.
  74. Cheung JY, Bonventre JV, Malis CD, Leaf A. Calcium and ischemic injury. *N Engl J Med* 1986; 314: 1670-1676.
  75. Harman AW, Maxwell MJ. An evaluation of the role of calcium in cell injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 129-144.
  76. Lucchesi BR, Mullane KM. Leucocytes and ischemia-induced myocardial injury. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1986; 26: 201-224.
  77. Jolly SR, Kane WJ, Hook BG, Abrams GD, Kunkel SL, Lucchesi BR. Reduction of myocardial infarct size by neutrophil depletion: effect of duration of occlusion. *J Am Heart* 1986; 112: 682-690.
  78. Craddock PR, Hammerschmidt DE, Moldow CF, Yamada O, Jacob HS. Granulocyte aggregation as a manifestation of membrane interactions with complement: possible role of leucocyte margination, microvasculer occlusion, and endothelial damage. *Semin Hematol* 1979; 16: 140-147.
  79. Giclas PC, Pincard RN, Olson MS. In vitro activation of complement by isolated heart subcellular membranes. *J Immunol* 1979; 122: 146-151.
  80. Pincard RN, O'Rourke RA, Crawford MH, Grover FS, McManus LM, Ghidoni JJ, Storrs SB, Olson MS. Complement localization and mediation of ischemic injury in baboon myocardium. *J Clin Invest* 1980; 66: 1050-1056.
  81. Hansen PR. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion.



- Circulation 1995; 91: 1872-1885.
82. Entman ML, Smith WC. Postreperfusion inflammation: a model for reaction to injury in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1301-1311.
  83. Simpson PJ, Mitsos S, Ventura A, et al. Prostacyclin protects ischemic-reperfused myocardium in the dog by inhibition of neutrophil activation. *J Am Heart* 1987; 113: 129-137.
  84. Simpson PJ, Todd RF, Fantone JC, et al. Reduction of experimental canine myocardial reperfusion injury by a monoclonal, antibody (anti Mo 1, anti CD 11b) that inhibits leukocyte function. *J Clin Invest* 1988; 81: 624-629.
  85. Romson JL, Hook BJ, Kunkel SL, et al. Reduction in the extent of ischemic injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation* 1983; 67: 1016-1023.
  86. Pagliaro P, Chiribiri A, Mancardi D, Rastaldo R, Gattullo D, Losano G. Coronary endothelial dysfunction after ischemia and reperfusion and its prevention by ischemic preconditioning. *Ital Heart J* 2003; 4(6): 383-394.
  87. Perez HD, Golstein JM. Generation of a chemotactic lipid from arachidonic acid by exposure to a superoxide generating system. *Fed Proc* 1980; 39: 1170.
  88. Engler RL, Dahlgren MD, Peterson MA, Dobbs A, Schmid Schonbein GW. Accumulation of polymorphonuclear leucocytes during 3-hour experimental myocardial ischemia. *Am J Physiol* 1986; 251: H93-H100.
  89. Mallory GK, White PD, Salcedo SJ. The speed of healing myocardial infarction: a study of pathologic anatomy in seventy-two cases. *J Am Heart* 1939; 18: 647-671.
  90. Go Lo, Murry Ce, Richard VJ, Weischedel GR, Jennings RB, Reimer KA. Myocardial neutrophil accumulation during reperfusion and reversible or irreversible ischemic injury. *Am J Physiol* 1988; 255: H1188-H1198.
  91. Babior BM. Oxidants from phagocytes: agents of defense and destruction. *Blood* 1984; 4: 959-966.
  92. Maroko PR, Carpenter JB, Chiariello M, Fishbein MC, Radvany P, Knotsman JD, Hale SL. Reduction by cobra venom factor of myocardial necrosis after coronary artery occlusion. *J Clin Invest* 1978; 61: 661-670.
  93. Engel AG, Biesecker G. Complement activation in muscle fiber, necrosis: demonstration of the membrane attack complex of complement in necrotic fibers. *Ann Neurol* 1982; 12: 289-296.
  94. Mathey DG, Schafer HJ, Kruger W, Talakouros K, Langes K, Bhakdi S. Deposition of terminal C5b-9 complement complex in infarcted areas of human myocardium. *Circulation* 1986; 74: 372.
  95. Jalowy A, Schulz R, Heusch G. AT1 receptor blockade in experimental myocardial ischemia/reperfusion. 1998; 93: 85-91.
  96. Homeister JW, Satoh PS, Kilgore KS, Lucchesi BR. Soluble human CR1 prevents human complement mediated damage in the rabbit perfused isolated rat heart. *J Immunol* 1993; 150(3): 1055-1064.
  97. Mannheim B. Apoptosis and cell proliferation 2<sup>nd</sup> edition. *Biochemica*. 1998: 2-5.
  98. Kumar V, Cotran R, Robbins S L. *Basic Pathology*. Sixth Edition. WB. Saunders Company. Philadelphia London New York 1997.
  99. Sanada S, Kitakaze M. Renin-angiotensin system as a potential target for the treatment with heart failure: ACE inhibitors, angiotensin-II receptor blockers and aldosterone antagonists. *Nippon Rinsho*. 2003 May;61(5):821-826.
  100. 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.

101. Thurmann PA, Kenedi P, Schmidt A, Harder S, Rietbrock N. Influence of the angiotensin II antagonist valsartan on left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension. *Circulation* 1998; 98: 2037-2042.
102. Laragh JH, Selay JE. The renin-angiotensin-aldosterone system in hypertensive disorders: a key to two forms of arteriolar constriction and a possible clue to risk of vascular injury (heart attack and stroke) and prognosis. In: Laragh JH, Brenner BM (eds) *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. Raven Press, New York, 1990 pp 1329-1348.
103. SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1992; 327: 685-691.
104. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction: results of the Survival and Ventricular Enlargement Trial. *N Engl J Med* 1992; 327: 669-677.
105. Touyz RM, Schiffrin EL. Signal Transduction Mechanisms Mediating the Physiological and Pathophysiological Actions of Angiotensin II in Vascular Smooth Muscle Cells. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 641.
106. Brunner HP. Recent insight into therapy of converting heart failure: Focus on ACE inhibition and angiotensin II antagonism. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: S0735-1097.
107. Opie LH. Angiotensin converting enzyme inhibitors: scientific basis for clinical use. 1994; 1-22.
108. Dökmeci İ. Farmakoloji temel kavramlar. Tayf offset. 2000; 343-353.
109. Neri Serneri GG, Boddi M, Poggesi L, Simonetti I, Coppo M, Papa ML, Lisi GF, Maccherini M, Becherini R, Boncompagni A, Toscano T, Modesti PA. Activation of cardiac renin-angiotensin system in unstable angina. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 49-55.
110. 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: 458-470.
111. Danser AHJ, Van Kats JP, Admiraal PJJ, Derkx FHM, Lamers JMJ, Verdouw PD, Saxena PR, Schalekamp MADH. Cardiac renin and angiotensins. Uptake from plasma versus in situ synthesis. *Hypertension* 1994; 24: 37-48.
112. Dostal DE, Rothblum KC, Chernin MI, Cooper GR, Baker KM. Intracardiac detection of angiotensinogen and renin: a localized renin-angiotensin system in neonatal rat heart. *Am J Physiol* 1992; 263: C838-C850.
113. Linz W, Wiemer G, Gohlke P, et al. Contribution of kinins to the cardiovascular actions of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Pharmacol Rev* 1995; 47: 25-49.
114. Urata H, Kinoshita A, Misono KS, Bumpus FM, Husain A. Identification of a highly specific chymase as the major angiotensin II-forming enzyme in the human heart. *J Biol Chem* 1990; 265: 22348-22357.
115. Urat H, Boehm KD, Philip A, Kinoshita A, Gabrovsek J, Bumpus FM, Husain A. Cellular localization and regional distribution of an angiotensin II-forming chymase in the heart. *J Clin Invest* 1993; 91: 1269-1281.
116. Chatterjee K, Opie LH. Angiotensin inhibitors and other vasodilators with special reference to congestive heart failure. *Cardiovasc Drugs Ther* 1987; 1: 1-8.

117. MacFayden RJ, Less KR, Reit JL. Tissue and plasma angiotensin converting enzyme and the response to ACE inhibitor drugs. *Br J Clin Pharmacol* 1991; 31: 1-13.
118. Sourbrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C, et al. Two putative active centers human angiotensin I converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 9386-9390.
119. Baumgarten CR, Linz WL, Kunkel G, Scholkens BA, Weimer G. Ramiprilat increases bradykinin outflow from isolated hearts of rat. *Br J Pharmacol* 1993; 108: 293-295.
120. Ondetti MA, Rubin B, Cushman DW. Design of spesific inhibitors of angiotensin converting enzyme: New class of orally active antihypertensive agents. *Science* 1977; 196: 441-444.
121. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Circulation* 1998; 97(14): 1411-1420.
122. Woo KS, Nicholls MG. High prevalence of persistent cough with angiotensin converting enzyme inhibitors in Chinese. *Br J Clin Pharmacol* 1995; 40: 141-144.
123. Iraz M. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibisyonu ve AT1 reseptör blokajının sıçanda miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarındaki mortalite ve kardiyak markırlara etkisi. Uzmanlık Tezi. 2000.
124. Veterans Administration Co-operative Study Group of Antihypertansive Agents. Radical differences in response to low-dose captopril are abolished by the addition hydrochlorothiazide. *Br J Clin Pharmacol* 1982; 14: 97S-101S.
125. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. *Pharmacology*. Fourth edition. Edinburgh London New York Philadelphia Sydney Toronto. 1999: 291.
126. White CM. Pharmacologic, pharmacokinetic, and therapeutic differences among ACE inhibitors. *Pharmacotherapy* 1998; 18: 588-599.
127. Dal Ponte DB, Fogt DL, Jacob S, Henriksen EJ. Interactions of captopril and verapamil on glucose tolerance and insulin action in an animal model of insulin resistance. *Metabolism* 1998; 47: 982-987.
128. Uehara M, Kishikawa H, Isami S, et al. Effect on insulin sensitivity of angiotensin converting enzyme inhibitors with or without a sulphhydryl group: bradykinin may improve insulin resistance in dogs and humans. *Diabetologia* 1994; 37: 300-307.
129. David ED, Baker KM. The cardiac renin-angiotensin system conceptual, or a regulator of cardiac function? *Circ Res* 1999; 85: 640-650.
130. Katzung BG. *Basic & Clinical Pharmacology*. 7. edition. Appleton & Lange. Stamford. 1998; 170-186.
131. Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. Lippincot' s illustrated Reviews serisinden Farmakoloji 2.baskı. Çeviren: Uz.Dr.Pamir Atagündüz. Nobel Tıp 1998: 186.
132. Weir MR, Gray JM, Paster R, Saunders E. Differing mechanisms of action of angiotensin-converting enzyme inhibition in black and white hypertensive patients. *Hypertension* 1995; 26: 124-130.
133. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res* 1985; 57: 84-95.
134. Pfeffer MA, Lamas GA, Vaughan DE, Parisi AF, Braunwald E. Effect of the captopril on progressive ventricular dilatation after anterior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1988; 319: 80-86.
135. Swedberg K, Held P, Kjeksus J, Rasmussen K, Ryden L, Wedel H. Effects of the early administration of enalapril on mortality in patients with acute myocardial infarction: result of the Cooperative New Scandinavian Enalapril Survival Study II (CONSENSUS II). *N Engl J Med* 1992; 327: 678-684.

136. Gruppo Italiano Per lo Studio Della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardio. GISSI-3: effect of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6-week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction. *Lancet* 1994; 343: 1115-1122.
137. Ambrosioni E, Borghi C, Magnani B. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibitor zofenopril on mortality and morbidity after anterior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1995; 332: 80-85.
138. Pfeffer MA, Braunwald EA, Moye LA, Basta L, Brown EJJ, Cuddy TE, Davis BR, Geltman EM, Goldman S, Flaker GC, Klein M, Lamas GA, Packer M, Rouleau J, Rouleau JL, Rutherford J, Wertheimer JH, Hawkins CM. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 1992; 327: 669-677.
139. Pitt B, Segal R, Martinez FA, Meurers G, Cowley AJ, Thomas I, Deedwania PC, Ney DE, Snively DB, Chang PI. Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with heart failure (Evaluation of Losartan in the Elderly study, ELITE) *Lancet* 1997; 349: 747-752.
140. Pitt B, Poole-Wilson PA, Segal R, Martinez FA, Dickstein K, Camm AJ, Konstam MA, Riegger G, Klinger GH, Neaton J, Sharma D, Thiyagarajan B. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial-the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *Lancet* 2000; 355: 1582-1587.
141. Wright JW, Krebs LT, Stobb JW, Harding JW. The Angiotensin IV system: Functional implications. *Front Neuroendocrinol* 1995; 16: 23-52.
142. Hanesworth JM, Sardinia MF, Krebs LT, Hall KL, Harding JW. Elucidation of a specific binding site for angiotensin II (3-8), Angiotensin IV, in mammalian heart membranes. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266(2): 1036-1053.
143. Benter LF, Ferrario CM, Morris M, Diz DL. Chronic intravenous angiotensin (1-7) infusions activate antihypertensive mechanisms in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1994; 7(4): H22.
144. Gasparo MD, Catt KJ, Inagami JW, Wright JW, Unger TH. International union of pharmacology. XXIII. The Angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev* 2000; 52: 415-472.
145. Brunner HR, Kirsman DJ, Sealey JE, et al. Hypertension of renal origin: evidence for two different mechanisms. *Science* 1971; 174: 1344-1346.
146. Gavras H, Brunner HR, Vaughan ED Jr, et al. Angiotensin-sodium interaction in blood pressure maintenance of renal hypertensive and normotensive rats. *Science* 1973; 180: 1369-1372.
147. Brunner HR, Gavras H, Laragh JH, et al. Angiotensin-II blockade in man by Sar-Ala-anigotensin II for understanding and treatment of high blood pressure. *Lancet* 1973; 2: 1045-1048.
148. Sasaki K, Yamano Y, Bardham, S, Iwai N, Murray JJ, Hsegava M, Matsuda Y, Inagami T. Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II type-1 receptor. *Nature* 1991; 351: 230-233.
149. Aiyar N, Baker E, Wu HL, et al. Human AT1 receptor is a single copy gene: Characterization in a stable cell line. *Mol Cell Biochem* 1994; 131(1): 75-86.
150. Konishi H, Kuroda S, Inada Y, Fujisawa Y. Novel subtype on human angiotensin II type I receptor: cDNA cloning and aexpression. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 199: 467-474.
151. Inagami T, Guo DF, Kitami Y. Molecular biology of angiotensin II receptors: an overview. *J Hypertens* 1994; 12: S83-S94.



152. Samyn ME, Petershak JA, Bedell KA, Mathews MS, Segar JL. Ontogeny and regulation of cardiac angiotensin type 1 and 2 receptors during fetal life in sheep. *Pediatr Res* 1998; 44: 323-329.
153. Price RL, Carver W, Simpson DG, Fu L, Zhao J, Borg TK, Terracio L. The effects of angiotensin II and specific angiotensin receptors blockers on embryonic cardiac development and looping patterns. *Dev Biol* 1997; 192: 572-584.
154. Ijima K, Geshi E, Nomizo A, Arata Y, Katagiri T. Alteration in sarcoplasmic reticulum and angiotensin II type 1 receptor gene expression after myocardial infarction in rats. *J Jpn Circ* 1998; 62: 449-454.
155. Matsubara H. Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases. *Circ Res* 1998; 83: 1182-1192.
156. Kajstura J, Cigola E, Malhotra A, Li P, Cheng W, Meggs LG, Anversa P. Angiotensin II induces apoptosis of adult ventricular myocytes *in vitro*. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 859-870.
157. Tamura M, Wanaka Y, Landon EJ, Inagami T. Intracellular sodium modulates the expression of angiotensin II subtype 2 receptor in PC12W cells. *Hypertension* 1999; 33: 626-632.
158. Burnier M. Angiotensin II type 1 receptor blockers. *Circulation* 2001; 103: 904-912.
159. De Mello WC, Danser AH. Angiotensin II and the Heart On the Intracrine Renin-Angiotensin System. *Hypertension* 2000; 35: 1183-1188.
160. Watanabe A, Endoh M. Relationship between the increase in Ca<sup>2+</sup> transient and contractile force induced by angiotensin II in aequorin-loaded rabbit ventricular myocardium. *Cardiovasc Res* 1998; 37: 524-531.
161. Lenz O, Schmid B, Kilter H, La Rosee K, Flesch M, Kuhn-Regnier F, Sudkamp M, Bohm M. Effects of angiotensin II and angiotensin-converting enzyme inhibitors on human myocardium. *Eur J Pharmacol* 1995; 294: 17-27.
162. Li Q, Zhang J, Pfaffendorf M, Van Zwieten PA. Direct positive chronotropic effects of angiotensin II and angiotensin III in pithed rats and in rat isolated atria. *Br J Pharmacol* 1996; 118: 1653-1658.
163. Muller DN, Fischli W, Clozel JP, Hilgers KF, Bohlender J, Ménard 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.
164. Wollert KC, Drexler H. The renin angiotensin system and experimental heart failure. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 838-849.
165. Turini GA, Brunner HR, Ferguson RK, et al. Congestive heart failure in normotensive man: hemodynamics, renin and angiotensin II blockade. *Br J Heart* 1978; 40: 1134-1142.
166. Duncia JV, Chiu AT, Carini DJ, et al. The discovery of potent nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: A new class of potent antihypertensives. *J Med Chem* 1990; 33: 1312-1329.
167. Faxon DP, Creager MA, Halperin JL, et al. Central and peripheral hemodynamic effect of angiotensin inhibition in patients with refractory congestive heart failure. *Circulation* 1980; 61: 925-931.
168. Murakami M, Suzuki H, Naitoh M, Matsumoto A, Kageyama Y, Tsujimoto G, Saruta T. Blockade of the renin-angiotensin system in heart failure in conscious dogs. *J Hypert* 1995; 13: 1405-1412.
169. Crozier I, Ikram H, Awan N, et al. Losartan in heart failure hemodynamic effect and tolerability. *Circulation* 1995; 91: 691-697.

170. Gottlieb SS, Dickstein K, Fleck E, Kostis J, Levine TB, LeJemtel T, Dekock M. Hemodynamic and neurohormonal effects of the angiotensin II antagonist losartan in patients with heart failure. *Circulation* 1993; 88: 1602-1609.
171. McDonald KM, Garr M, Carlyle PF, Francis GS, Hauer K, Hunter DW, Parish T, Stillman A, Cohn JN. Relative effects of  $\alpha$ -adrenoceptor blockade converting enzyme inhibitor therapy, and angiotensin II subtype 1 receptor blockade on ventricular remodeling in the dog. *Circulation* 1994; 90: 3034-3046.
172. Spinale FG, de Gasparo M, Whitebread S, Hebbar L, Clair MJ, Melton DM, Krombach RS, Mukherjee R, Iannini JP, O SJ. Modulation of the renin-angiotensin pathway through enzyme inhibition and specific receptor blockade in pacing-induced heart failure. I. Effects on left ventricular performance and neurohormonal systems. *Circulation* 1997; 96: 2385-2396.
173. Seyedi N, Xu XB, Nasjletti A, Hinzte TH. Coronary kinin generation mediates nitric oxide release after angiotensin receptor stimulation. *Hypertension* 1995; 26: 164-170.
174. Wexler PC, Price WA, Chiu AT, et al. Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists XI. Pharmacology of EXP3174: An active metabolite of Dup 753, and orally active antihypertensive agent. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 255: 211-217.
175. Timmermans PB. Pharmacological properties of angiotensin II receptor antagonists. *Can J Cardiol* 1999; 15: 26F-28F.
176. Kitakaze M, Minamino T, Node K, Komamura K, Shinozaki Y, Mori H, Kosaka H, Inoue M, Horii M, Kamada T. Beneficial effects of inhibition of angiotensin-converting enzyme on ischemic myocardium during coronary hypoperfusion in dogs. *Circulation* 1995; 92: 950-961.
177. Wermann JG, Cohen SM. Comparison of effects angiotensin-converting enzyme inhibition with those of angiotensin II receptor antagonism on functional and metabolic recovery in postischemic working rat heart as studied by (31P) nuclear magnetic resonance. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 24: 573-586.
178. Kohya T, Yokoshiki H, Tohse N, Kanno M, Nakaya H, Saito H, Kitabatake A. Regression of left ventricular hypertrophy prevents ischemia-induced lethal arrhythmias. Beneficial effect of angiotensin II blockade. *Circ Res* 1995; 76: 892-899.
179. Thomas GP, Ferrier GR, Howlett SE. Losartan exerts antiarrhythmic activity independent of angiotensin II receptor blockade in simulated ventricular ischemia and reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278: 1090-1097.
180. Wermann JG, Cohen SM. Use of Losartan to examine the role of the cardiac renin-angiotensin system in myocardial dysfunction during ischemia and reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 27: 177-182.
181. 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.
182. Massoudy P, Becker BF, Gerlach E. Bradykinin accounts for improved post-ischemic function and decreased glutathione release of guinea pig heart treated with the angiotensin-converting enzyme inhibitor ramiprilat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 23: 632-639.
183. MacFadyen RJ, Reid JL. Angiotensin receptor antagonists as treatment for hypertension. *J Hypertens* 1994; 12: 1333-1338.
184. Csajka C, Buclin T, Brunner HR, Biollaz J. Pharmacokinetic-pharmacodynamic profile of angiotensin II receptor antagonists. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32: 1-29.



185. Oparil S, Dyke S, Harris F, et al. The efficacy and safety of valsartan compared with placebo in the treatment of essential hypertension. *Clin Ther* 1996; 18: 797-810.
186. Mazzolai L, Burnier M. Comparative safety and tolerability of angiotensin II receptor antagonists. *Drug Safety* 1999; 21: 23-33.
187. Lacourciere Y, Brunner HR, Irwin R, et al. Effects of modulators of the renin-angiotensin-aldosterone system on cough. *J Hypertens* 1994; 12: 1387-1393.
188. Bao G, Gohlke P, Quadri P, et al. Chronic kinin receptor blockade attenuates the antihypertensive effect of ramipril. *Hypertension* 1992; 20: 74-79.
189. Van Rijnsoever EW, Kwee-Zuiderwijk WJ, Feenstra J. Angioneurotic edema attributed to the use of losartan. *Arc Intern Med* 1998; 158: 2063-2065.
190. Nakashima M, Uematsu T, Kosuge K, et al. Pilot study of the uricosuric effect of DuP 753, a new angiotensin II receptor antagonist, in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 1992; 42: 333-335.
191. Burnier M, Rutschman B, Nussberger J, et al. Salt-dependent renal effects of angiotensin II antagonist in healthy subjects. *Hypertension* 1993; 22: 339-347.
192. Timmermans PB, Wong PC, Chiu AT, Herblin WF, Benfield P, Carini DJ, Lee RJ, Wexler RR, Saye JA, Smith RD. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonist. *Pharm Rev* 1993; 45: 205-251.
193. Lang RM, Elkoyam U, Yellen LG, Krauss D, McKelvie RS, Vaughan DE, Ney DE, Makris L, Chang PI. Comparative effects of losartan and enalapril on exercise capacity and clinical status in patients with heart failure. The losartan pilot exercise study investigators. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 983-991.
194. Bökesoy T, Çakıcı İ, Melli M. *Farmakoloji. Gazi Kitapevi* 2000: 406.
195. Hamroff G, Katz SD, Mancini D, Blaufarb I, Bijoou R, Patel R, Jondeau G, Olivari MT, Thomas S, Le Jeutel TH. Addition of angiotensin II receptor blockade to maximal angiotensin converting enzyme inhibition improves exercise capacity in patients with severe congestive heart failure. *Circulation* 1999; 99: 990-992.
196. Timmermans PB, Inagami T, Saavedra JM, Ardaillou R, Rosenfeld CR. Angiotensin Receptor Subtypes and Their Pharmacology. *IUPHAR' 94 Montreal Symposium*. 1994: 38-58.
197. Kayaalp SO. *Tıbbi Farmakoloji*. 2. cilt 9. baskı. Hacettepe Taş Kitapçılık. 2000: 448.
198. Hebert LA, Falkenheim ME, Nahman NS, et al. Combination ACE inhibitor and angiotensin II receptor antagonist therapy in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 1999; 19: 1-6.
199. Lazard D, Briensutren MM, Villageois P, Mattei MG, Strosberg AD, Nahmias C. Molecular characterization and chromosome localization of a human angiotensin II AT2 receptor gene highly expressed in fetal tissues. *Receptors Channels* 1994; 2: 271-280.
200. Gunter W. The road not taken: role of angiotensin II type receptor in pathophysiology. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 195-198.
201. Schuijt MP, Basdew M, Van Veghel R, De Vries R, Saxena PR, Schoemaker RG, Jan Danser AH. AT2 receptor-mediated vasodilation in the heart: effect of myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 281: H2590-H2596.
202. Booz GW, Baker KM. Role of type 1 and type 2 angiotensin receptors in angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy. *Hypertension* 1996; 28: 635-640.

203. Nio Y, Matsuhari H, Muravuwu S, Kanasaki M, Inada M. Regulation of gene transcription of angiotensin II receptor subtypes in myocardial infarction. *J Clin Invest* 1995; 95: 46-54.
204. Lopez J, Lorell BH, Ingelfinger JR, Weinberg EO, Schunkert H, Diamant D, Tang SH. Distribution and function of cardiac angiotensin AT1-and AT2-receptor subtypes in hypertrophied rat hearts. *Am J Physiol* 1994; 36: H844-H852.
205. Dzau VJ, Horiuchi M. Differential expression of angiotensin receptor subtypes in the myocardium: a hypothesis. *Eur Heart J* 1996; 17: 978-980.
206. Haywood GA, Gullestad L, Katsuya T, Hutchinson HG, Pratt RE, Horiuchi M, Fowler MB. AT1 and AT2 receptor gene expression in human heart failure. *Circulation* 1997; 95:1201-1206.
207. Liu Y-H, Yang X-P, Sharov VG, Nass O, Sabah HN, Peterson E, Carretero OA. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type I receptor antagonists in rats with heart failure. *J Clin Invest* 1997; 99: 1926-1935.
208. Yamada T, Akishita M, Pollman M, Gibbons GH, Dzau VJ, Horiuchi M. Angiotensin II type 2 receptor mediates vascular smooth muscle cell apoptosis and antagonizes angiotensin type I receptor action: an in vitro gene transfer study. *Life Sci* 1998; 63: PL289-PL295.
209. Masaki, Kurihara T, Yamaki A, Inomata N, Nozawa Y, Mori Y, Murasawa S, Kizima K, Maruyama K, Horiuchi M, Dzau VJ, Takahashi H, Iwasaka T, Inada M, Matsubara H. Cardiac-specific overexpression of angiotensin II AT2 receptor causes attenuated response to AT1 receptor-mediated pressor and chronotropic effects. *J Clin Invest* 1998; 101: 527-535.
210. Busche S, Gallinat S, Bohle RM, et al. Expression of AT1 and AT2 receptors in adult rat cardiomyocytes after myocardial infarction: a single-cell RT-PCR study. *Am J Pathol* 2000; 157:605-611.
211. Sechi LA, Griffin CA, Grady EF, Kalinyak JE, Schambelan M. Distribution of angiotensin II receptor subtypes in rat heart. *Circ Res* 1992; 71: 1482-1489.
212. Matsubara H, Kanasaki M, Murasawa S, Tsukaguchi Y, Nio Y, Inada M. Differential gene expression and regulation of angiotensin II receptor subtypes in rat cardiac fibroblasts and cardiomyocytes in culture. *J Clin Invest* 1994; 93: 1592-1601.
213. Unger T. The angiotensin type 2 receptor: variations on an enigmatic theme. *J Hypertens* 1999; 17: 1775-86.
214. Rogg H, De Gasparo M, Graedel E, et al. Angiotensin II receptor subtypes in human atria and evidence for alterations in patients with cardiac dysfunction. *Eur Heart J* 1996; 17: 1112-1120.
215. Wharton J, Morgan M, Rutherford RAD, et al. Differential distribution of angiotensin AT2 receptors in normal and failing human heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 284: 323-336.
216. Ohkubo N, Matsubara H, Nozawa Y, Mori Y, Murasawa S, Kijima K, Maruyama K, Masaki H, Tsutumi Y, Shibasaki Y, Iwasaka T, Inada M. Angiotensin type 2 receptors are reexpressed by cardiac fibroblasts from failing myopathic hamster hearts and inhibit cell growth and fibrillar collagen metabolism. *Circulation* 1997; 96: 3954-3962.
217. Berry C, Touyz R, Dominiczak AF, et al. Angiotensin receptors: signaling, vascular pathophysiology, and interactions with ceramide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:2337-2365.

218. Matsubara H. Pathophysiological role of angiotensin II type 2 receptor in cardiovascular and renal diseases. *Circ Res* 1998; 83: 1182-1191.
219. Moore AF, Heiderstadt NT, Huang E, Howell NL, Wang ZQ, Siragy H, Carey RM. Selective inhibition of the renal angiotensin type 2 receptor increases blood pressure in conscious rats. *Hypertension* 2001; 37: 1285-1291.
220. Giasson E, Meloche S. Role of p70 S6 protein kinase in angiotensin II-induced protein synthesis in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1995; 270: 5225-5231.
221. Barber MN, Sampey DB, Widdop RE. AT<sub>2</sub> receptor stimulation enhances antihypertensive effect of AT<sub>1</sub> receptor antagonist in hypertensive rats. *Hypertension* 1999; 34: 1112-1116.
222. Andreas J, Rainer S, Hilmar D, Matthias B, Gerde H, Fesc F. Infarct size reduction by AT<sub>1</sub>-receptor blockade through a signal cascade of AT<sub>2</sub>-receptor activation, bradykinin and prostaglandins. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1787-1796.
223. Otsuka S, Sugano M, Makino N, Sawada S, Hata T, Niho Y. Interaction of mRNAs for angiotensin II type 1 and type 2 receptors to vascular remodeling in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1998; 32: 467-472.
224. Tsutsumi Y, Matsubara H, Ohkuba N, et al. Angiotensin II type 2 receptor is upregulated in human heart with interstitial fibrosis, and cardiac fibroblasts are the major cell type for its expression. *Circ Res* 1998; 83: 1035-1046.
225. Moeller I, Small DH, Reed G, Harding JW, Mendelsohn FA, Chai SY. Angiotensin IV inhibits neurite outgrowth in cultured embryonic chicken sympathetic neurons. *Brain Res* 1996; 726: 61-66.
226. Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, et al. The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischemia infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1988; 22 (7): 447-455.
227. Özer MK. ADE inhibitörü ve AT<sub>1</sub> reseptör blokörünün iskemi-reperfüzyon aritmilerine ve nekroza etkilerinin karşılaştırılması. Doktora Tezi. 2001.
228. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, Lando U, Kanmatsuse K, Mercier JC, Corday E, Ganz W. Early phase acute myocardial infarct size quantification: Validation of the triphenyltetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J* 1981; 101: 593-600.
229. Birincioglu M, Aksoy T, Olmez E, Acet A. Protective effects of ACE inhibitors on ischemia-reperfusion-induced arrhythmias in rats: is this effect related to the free radical scavenging action of these drugs? *Free radic Res* 1997; 27: 398-396.
230. Birincioglu M, Olmez E, Aksoy T, Acet A. The role of prostaglandin synthesis stimulation in the protective effects of captopril on ischemia-reperfusion arrhythmias in rats in vivo. *Pharmacol Res* 1997; 36: 299-304.
231. Yuichiro AMS, Yoshihiko SMD, Ichiro Kishimoto MD, et al. Angiotensin II type 2 receptor deficiency exacerbates heart failure and reduces survival after acute myocardial infarction in mice. *Circulation* 2003; 107: 2407-2408.
232. Kuizinga MC, Smits JF, Arends JW, Daemen MJAP. AT<sub>2</sub> receptor blockade reduces interstitial cell DNA synthesis and cardiac function after rat myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 425-434.
233. Seyedi N, Xu XB, Nasjletti A, Hinzte TH. Coronary kinin generation mediates nitric oxide release after angiotensin receptor stimulation. *Hypertension* 1995; 26: 164-170.
234. Schriefer JA, Broudy EP, Hassen AH. Inhibitors of bradykinin-inactivating enzyme decrease myocardial ischemia/reperfusion injury following 3 and 7 days

- of reperfusion. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2001; 298: 970-975.
235. Sandmanna S, Kaschina E, Blumea A, Kruseb ML, Ungera T. Bradykinin B1 and B2 receptors differentially regulate cardiac Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchanger, Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger and Na<sup>+</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> symporter. *European Journal of Pharmacology* 2003; 458: 3- 16.
  236. Hui-Lin P, Shao-Rui C, Gloria MS, Oscar AC. Cardiac interstitial bradykinin release during ischemia is enhanced by ischemic preconditioning. *Am J Physiol Circ Physiol* 2000; 279: H116-H121.
  237. Watanabe K, Juan W, Narasimman G, Ma M, Inoue M, Saito Y, Wahed MI, Nakazawa M, Hasegawa G, Naito M, Tachikawa H, Tanabe N, Kodama M, Aizawa Y, Yamamoto T, Yamaguchi K, Takahashi T. Comparative effects of angiotensin II receptor blockade (candesartan) with angiotensin-converting enzyme inhibitor (quinapril) in rats with dilated cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003; 41 1: S93-97.
  238. Shikata C, Takeda A, Takeda N. Effect of an ACE inhibitor and an AT1 receptor antagonist on cardiac hypertrophy. *Mol Cell Biochem.* 2003; 248 (1-2): 197-202.
  239. Matsuoka H. Clinical application of ARB and ACEI. *Nippon Rinsho* 2002; 60(10):1981-1986.
  240. de Boer RA, Pinto YM, Suurmeijer AJ, Pokharel S, Scholtens E, Humler M, Saavedra JM, Boomsma F, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. Increased expression of cardiac angiotensin II type 1 (AT(1)) receptors decreases myocardial microvessel density after experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2003; 57(2): 434-442.
  241. Doggrell SA. ACE inhibitors or AT-1 antagonists-which is OPTIMAAL after acute myocardial infarction? *Expert Opin Pharmacother* 2003; 4: 407-409.
  242. Nakamura Y, Yoshiyama M, Omura T, Yoshida K, Izumi Y, Takeuchi K, Kim S, Iwao H, Yoshikawa J. Beneficial effects of combination of ACE inhibitor and angiotensin II type I receptor blocker on cardiac remodeling in rat myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2003; 57(1): 48-54.
  243. Shimizu T, Okamoto H, Chiba S, Matsui Y, Sugawara T, Onozuka H, Mikami T, Kumamoto H, Kitabatake A. Long-term combined therapy with an angiotensin type I receptor blocker and an angiotensin converting enzyme inhibitor prolongs survival in dilated cardiomyopathy. *Jpn Heart J* 2002; 43(5): 531-543.