



**Türk Farmakoloji Derneği, Prof. Dr. Alaeddin Akcasu
Farmakoloji Eğitiminde Uluslararası Bilimsel
Etkileme Seminerleri Programı**

Prof. Dr. Suna Duru Toplantısı
16-18 Mart 2016,
Uludağ, Bursa

SEMINER ÖZETLERİ
Deniz BAĞDA
Emre HAMURTEKİN
İlker KELLE
İlil ÖZAKCA
Zeynep Güne ÖZÜNAL

Türk Farmakoloji Derne i, Prof. Dr. Alaeddin Akcasu
Farmakoloji E itiminde Ku aklararası Bilimsel Etkile me Seminerleri Programı
Prof. Dr. Suna Duru Toplantısı
16-18 Mart 2016, Uluda , Bursa

PROGRAM

16 Mart 2016, Çar amba

- 17:00 Açılı Prof. Dr. Ersin Yarı (TFD Yönetim Kurulu Başkanı)
- 17:30 Alfa 7 nikotinik asetilkolin reseptörlerinin hem allosterik agonisti hem de pozitif allosterik modülatörü olan GAT 107'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkileri Deniz BA DA (Uluda Üniversitesi, Tıp Fakültesi)
- 18:15 Tartı ma
- 18:30 Prof. Dr. Suna Duru Anısına

17 Mart 2016, Per embe

- 09:00 Yenido an sıçanlarda intratekal yolla uygulanan levobupivakainin spinal toksisitesinin ve uzun dönem spinal refleks fonksiyonlarının de erlendirilmesi Emre HAMURTEK N (Do u Akdeniz Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi)
- 09:45 Tartı ma
- 10:00 Sıçan kalbinde R hasarına kar ı Rosuvastatin ile farmakolojik ve iskemik ön- veya ard-ko ulamaların kombine etkileri İker KELLE (Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi)
- 10:45 Tartı ma
- 16:00 zoprenalin ile indüklenen kardiyak hipertrofi modelinde nebivolol tedavisinin -adrenoseptör sinyal yola ı ve kardiyak hipertrofi geli imi üzerindeki etkileri. I ıl ÖZAKCA (Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi)
- 16:45 Tartı ma
- 17:00 Gastroözofageal reflü hastalarında proton pompa inhibitörü grubundan ilaçlar ile tedaviye yanıtızlıkta farmakogenetik parametrelerin ve akılcı ilaç kullanımının etkisinin ara tırılması Zeynep Güne ÖZÜNAL (stanbul Üniversitesi, stanbul Tıp Fakültesi)
- 17:45 Tartı ma
- 18:15 Prof. Dr. R. Kazım Türker Genç Farmakolog Te vik Ödülü
- 18:30 Meslekte 40. yılını dolduran farmakologlara plaket sunumu
- 20:00 Gala yeme i

18 Mart 2016, Cuma

- 09:00 Kapanı

Alfa 7 nikotinik asetilkolin reseptörlerinin hem allosterik agonisti hem de pozitif allosterik modülatörü olan GAT107'nin antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkileri

Deniz BA DA

Uluda Üniversitesi Tıp Fakültesi

Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bursa

GİRİŞ VE AMAÇ

Araştırma Kontrolünde Kolinerjik Sistemin Rolü

Uluslararası Araştırma Araştırmaları Derneği'nin (International Association for the Study of Pain-IASP) Taksonomi Komitesi tarafından vücudun belli bir bölgesinden kaynaklanan, bir doku hasarına bağlı olan ya da olmayan, duyuşsal, hoş gitmeyen bir durum ve davranış ekli olarak tanımlanan ağrı; yaşam konforunu etkileyen çok önemli bir sağlık sorunudur (Merskey ve Bogduk, 1994.). Günümüzde henüz ideal bir ağrı kesici ilaç bulunmamaktadır. Akut ağrı tedavisinde opioid ve steroid olmayan antiinflamatuvar analjezik ilaçlar etkili olarak kullanılmakla birlikte, özellikle sinir hasarı ile ilişkili kronik nöropatik ağrıda genellikle etkili olamamaktadır. Buna ek olarak, opioid ilaçlar ağrı tedavisinde güçlü analjezik ilaç olarak kullanılmakla birlikte, istenmeyen yan etkilerinin (solunum depresyonu, kabızlık, bağımlılık, tolerans, bilişsel bozukluklar) fazla olması kullanımlarını sınırlamaktadır. Bu nedenle ağrı tedavisinde yeni farmakolojik hedefler bularak etkili ve güvenli bir analjezik ilaç geliştirmek için yapılan çalışmaları bütün dünyada artarak devam etmektedir.

İlk olarak 1975 yılında Pedigo ve arkadaşlarının deney hayvanlarına intraserebroventriküler yolla uygulanan asetilkolinin (ACh) belirgin analjezi oluşturduğunu göstermelerinden bu yana, kolinerjik sistem aktivasyonunun analjezi meydana getirdiği bilinmektedir (Eisenach, 1999; Pedigo ve ark., 1975; Yaksh ve ark., 1985). Kolinerjik sistem aktivasyonu ile elde edilen analjezik etkide muskarinik ve/veya nikotinik kolinerjik reseptörler rol oynamaktadır (Wess ve ark., 2003; Umana ve ark., 2013). Nikotinik ACh reseptörlerinin (nAChR) santral sinir sisteminde beyin çeşitli bölgelerinde ve spinal kord gibi analjezide önemli rolleri olan bölgelerde yoğun olarak bulunduğu anlaşılmıştır ve akut/kronik ağrı modellerinde yapılan

araştırmalarda nöronal nAChR aktivasyonunun belirgin analjezik etki meydana getirdiğinin gösterilmesi, dikkati nöronal nAChR'i üzerinde yoğunlaştırmıştır (Marubio ve ark., 1999; Damaj ve ark., 2014).

7 nAChR Agonistleri ve Pozitif Allosterik Modülatörlerinin Araştırma Üzerine Etkileri

Nöronal nAChR'leri sodyum, potasyum, kalsiyum gibi katyonlara geçirgenlik sağlayan pentamerik yapıya sahip reseptörlerdir (Millar ve Gotti; 2009). Bu reseptörler homomerik veya heteromerik / alt ünitelerinin kombinasyonundan oluşur. Bu yapılardan homomerik 7 alt birimi, prelinik kognitif modeller ve nörodejenaratif hastalıklarda ilaç geliştirilmesi için önemli bir hedef olarak görülmektedir (Dziewczapolski ve ark., 2009; Thomsen ve ark., 2010). Santral sinir sistemi ve periferde yaygın bulunan 7 nAChR'ler (Girod ve ark., 1999), spinal ve supraspinal ağrı yollarında da mevcuttur (Khan ve ark., 1994; Séguéla ve ark., 1993). Bu reseptörler makrofajlar ve keratinositler gibi immün ve non-immün sitokin üreten hücreler üzerinde de mevcut olup kolinerjik antiinflamatuvar yolların bileşenleridir (Pavlov ve Tracey, 2004). Ayrıca 7 nAChR agonistleri deneysel inflamasyon ve ağrı modellerinde antiinflamatuvar ve analjezik etkiler göstermiştir (Bagdas ve ark., 2011; Damaj ve ark., 2000; Feuerbach ve ark., 2009; Hamurtekin ve Guron, 2006; Guron ve ark., 2009; Marrero ve ark., 2011; Medhurst ve ark., 2008; Munro ve ark., 2012; Papke ve ark., 2015; Rowley ve ark., 2010; van Maanen ve ark., 2009).

Öte yandan; 7 nAChR agonistlerinin bazı deneysel inflamatuvar ağrı modellerinde yararlı etkileri görülürken, bazılarında ise görülmemiştir (Gao ve ark., 2010). *n vitro* olarak hızlı ve uzun süreli reseptör desensitizasyonu veya inaktivasyonu gibi bazı yan etkiler gösterilmiştir (Feuerbach ve ark., 2009; Sattelle ve ark., 2009; Papke ve ark., 2009; Williams ve ark., 2011). Reseptör seçicilik ve olası yan etkileri açısından 7 nAChR agonistlerinin ağrı tedavisinde

kullanımı hakkında bir takım belirsizlikler vardır (Damaj ve ark., 2014). Bu yönüyle bakıldığında, 7 nAChR'lerinin pozitif allosterik modülatörleri (PAM) daha çekici ve çok yönlü bir alternatif sunmaktadır. PAM'lar, doğrudan reseptör aktivasyonu yapmadan endojen kolinerjik nörotransmisyonu peki tirebilir ve etkilerini sadece endojen nörotransmitter ya da agonist varlığında gösterdiği düşünülmektedir. Bu yüzden yeni 7 nAChR PAM'larının geliştirilmesi önemli bir çalışmaya hedefi haline gelmiştir (Mazurov ve ark., 2011). Deneysel olarak çalışmalarımda 7 nAChR PAM'larının güçlü antinöroinflamatuar ve antiinflamatuar etkili oldukları gösterilmiştir (Bagdas ve ark., 2015; Freitas ve ark., 2012, 2013a, 2013b; Munro ve ark., 2012).

7 nAChR PAM'ları sadece ortosterik bağlanma noktasından uzakta farklı bir alana bağlanıp intrinsik agonist aktivite göstermezken, yeni çalışmalar bazı moleküllerin dual aktivite gösterdiğini ve allosterik modülatör olmanın yanında allosterik agonist de olduğunu göstermiştir (Gill ve ark., 2012; Thakur ve ark., 2013). Bu moleküller ago-allosterik ligandlar veya ago-PAM'lar olarak anılmaktadır. GAT107, potent 7 nAChR tip II PAM niteliğinde olup, bununla beraber intrinsik allosterik agonist aktiviteleri bulunan bir bileşik olarak ago-PAM diye tanımlanmıştır (Thakur ve ark., 2013; Papke ve ark., 2014).

Bu çalışmanın amacı, 7 nAChR ago-PAM niteliğindeki GAT107 bileşiminin, deneysel akut ve kronik ağrı üzerine özelliklerini araştırmaktır. Bu sebeple çalışmada önce farklı deneysel ağrı modellerinde GAT107'nin antinöroinflamatuar etkileri karakterize edildi ve 7 nAChR'lerinin etkideki rolü incelendi. Bileşimin olası antiödematöz, antihiperaljezik ve antiinflamatuar etkileri ile etkiye aracılık eden mekanizmalar araştırıldı. İnflamatuar ağrıda GAT107'nin etkinliğinde rolü olan bölgeler tespit edilmeye çalışıldı. Mikrogliaların, makrofajların ve rodent spinal kordun 7 nAChR ekspresyonu etmesi dolayısıyla (De Simone ve ark., 2005; Su ve ark., 2007; Takeda ve ark., 2007; Egea ve ark., 2015), inflammatuar ağrıyla spinal kord dorsal boynuzunda gelişen astrosit-spesifik glial fibriller asidik protein (GFAP) ve fosforile p38 mitojen aktiveli protein kinaz (p-p38MAPK) aktivasyonu üzerine GAT107'nin etkileri de araştırıldı. Ağrının duyu boyutunun yanında afektif boyutunun da

olması nedeniyle (Bagdas ve ark., 2016), GAT107'nin ağrının afektif bileşeni üzerine etkileri araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel Hayvanları

Çalışmada 8-10 haftalık yaşta, ICR soylu erkek fareler ile 7 nAChR reseptöründen yoksun inbred CHRNA7 geni silinmiş (7 knock-out C57BL/J soylu, 7 KO) erkek fareler ve onların yabanıl tip (7 wild-type C57BL/J soylu, 7 WT) kardeşleri kullanıldı. Deneysel hayvanları dört tanesi bir kafese konularak bakımları sağlandı; 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık döngüsü olan ısı kontrollü (22-24° C) odalarda tutulup, yem ve su alımları serbest bırakıldı. Çalışmaya Virginia Commonwealth Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İlaçlar

GAT107 ((3aR,4S,9bS)-4-(4-bromophenyl)-3a,4,5,9b-tetrahydro-3H-cyclopenta[c]quinoline-8-sulfonamide) daha önce tarif edildiği şekilde sentezlendi (Thakur ve ark., 2013). Asetik asit, nalokson, Complete Freund's adjuvant (CFA), Lipopolysaccharide (LPS, Escherichia coli 026:B6), EDTA ve DMSO Sigma-Aldrich'ten temin edilerek (St. Louis, MO) kullanıldı. Metilrikonitin RBI'dan (Natick, MA) kullanıldı. GAT107 intraperitoneal (i.p.) ve intraplantar (i.pl.) enjeksiyonlar için 1:1:18 [1 hacim etil alkol/1 hacim Emulphor-620 (Rhone-Poulenc, Inc., Princeton, NJ)/18 hacim distile su] içinde çözüldü ve kontrol enjeksiyonlarında 1:1:18 karışımı kullanıldı. İntratekal (i.t.) uygulama için GAT107 5% DMSO içinde hazırlandı ve i.t. enjeksiyon daha önce tarif edildiği şekilde uygulandı (Hylden ve Wilcox, 1980). Diğer ilaçlar tuzlu su (0.9% NaCl) içinde hazırlanarak subkutan (s.c.) yolla uygulandı. Aksi belirtilmediği sürece 1 ml/100 g canlı ağırlıkta olacak şekilde enjekte edildi.

Akut/subakut/kronik inflammatuar ağrı modelleri

Formalin aracılığıyla akut olarak gelişen kısa süreli inflammatuar ağrı oluşturuldu (Freitas ve ark., 2012, 2013a). Hayvanlar effaf pleksiglas kafesler (29 x 19 x 13 cm) içerisine yerleştirilerek, 15 dk boyunca ortama uyum sağlamaları beklendi. Takiben sağ arka pençelerine i.pl. olarak 20 µl

%2,5'lük formalin injeksiyonu yapıldı. İnjeksiyon sonrası 0-5 dakika arasında Faz I, 20-45 dakika arasında Faz II sonuçları gözlemlendi. Formalin injeksiyonu yapılan pençedeki yalama kaydedildi. Pençe kalınlığı formalin injeksiyonu öncesi ve 1 saat sonrası kumpas (Traceable Calipers, Friendswood, TX) yardımıyla ölçüldü. Ipsilateral pençede ödeme bağı pençe kalınlığındaki değişiklik (PK), son ölçülen kalınlıktan bazal deerin çıkarılmasıyla kaydedildi.

GAT107 (0.1, 1, 3 and 10 mg/kg) veya kontrolü formalin injeksiyonundan 15 dk önce i.p. olarak uygulandı. Antagonist çalımlarında 7 nikotinik antagonist MLA (10 mg/kg), opioid antagonist nalokson (2 mg/kg) veya kontrol s.c. yolla, GAT107 (10 mg/kg; i.p.) veya kontrolü injeksiyonundan 15 dk önce uygulandı. Diğer bir deney grubunda GAT107'nin (10 mg/kg; i.p.) formalin testiindeki etkileri WT ve KO farelerde izlendi.

Kronik GAT107 uygulaması yapılarak tolerans gelişip gelişmediğinin araştırıldı. Çalıma mada, farelere GAT107 (1 ve 10 mg/kg, i.p.) veya kontrol injeksiyonu 8 saat arayla günde 2 kez olarak 6 gün süreyle uygulandı. Takiben 7. günü sabahı GAT107 (1 ve 10 mg/kg, i.p.) verilerek formalin test prosedürü uygulandı.

Subakut ve kronik inflamatuvar ağrı modelleri, sırasıyla LPS ve CFA modelleri ile oluşturuldu. İlaçların antinöroseptif etkilerinin belirlenmesinde LPS/CFA öncesi (0. saat) ve sonrası belirtilen günlerde termal ve mekanik pençe çekme testleri kullanıldı. Tuzlu su içinde hazırlanan LPS (2.5 µg) 20 µL hacimde sakarın pençeye i.pl. olarak injekte edildi (Booker ve ark., 2012). GAT107 (1, 3, ve 10 mg/kg) veya kontrol, LPS injeksiyonundan 24 saat sonra i.p. uygulanarak belirtilen ağrı ölçüm yöntemlerinde test edildi.

Bir başka seri çalıma mada farelere mineral yağ içinde dilüe edilerek %50'lik hazırlanan CFA 20 µL hacimde i.pl. injekte edildi. Mekanik ve termal ağrı duyarlılığı CFA injeksiyonundan önce ve 3 gün sonrası ölçüldü. CFA injeksiyonu sonrası 3. günde i.p. yolla uygulanan GAT107 (1, 3, ve 10 mg/kg) veya kontrol, olası antiallodinik ve antihiperalejik etkiler yönünden de değerlendirildi. GAT107 uygulamasından 1 saat sonra pençe ödemi de erlendirmek üzere pençe kalınlığı da ölçüldü. Sistemik

uygulanan antagonist çalıması yukarıda açıklanan dozlarda uygulandı; ayrıca spinal 7 nAChR'lerin rolü i.t. MLA'nın (10 µg/5µL/fare) veya kontrolünün, GAT107 (10 mg/kg, i.p.) veya kontrolünden 15 dk önce uygulanması ile test edildi.

GAT107'nin antinöroseptif etkilerinin spinal veya periferik olup olmadığını tespit etmek için, GAT107 sırasıyla 0.3, 3 µg/5µL/fare dozlarında i.t. ve 3, 9 µg/20µL/fare dozlarında i.pl. yolla uygulanarak da test edildi. Bir sonraki seri çalıma mada, CFA ile oluşturulan inflamatuvar ağrının, spinal kord dorsal boynuzundaki GFAP ve p-p38MAPK aktivasyonu üzerine etkilerini belirlemek üzere immunohistokimyasal çalıma yapıldı. GAT107 (3 µg/5µL/fare) i.t. uygulanarak CFA'in dorsal boynuzda yaptığı değişiklikler üzerine etkileri incelendi.

Kronik nöropatik ağrı modeli

Farelerde nöropatik ağrı modeli oluşturmak amacıyla kronik konstriktif siyatik sinir ligasyonu (CCI) yapıldı (Freitas ve ark. 2013b). Bu amaçla, pentobarbital (45 mg/kg, i.p.) ile anestezi yapılan farelerin sakarın bölgeyi açılarak siyatik sinir 5.0 ipek iplikle 1.5 mm arayla 2 kez gevrek ligatüre edilip kapatıldı. Ağrı eğerinin de erlendirilmesinde postoperatif 14. gün kullanıldı. Kronik nöropatik ağrı modeli oluşturulan farelerde termal ve mekanik pençe çekme testleri ile GAT107 (1, 3, ve 10 mg/kg) veya kontrolün etkileri incelendi.

Visseral ağrı modeli

Visseral ağrı, asetik asit (writhing) testinde karın kıvrınma sayısı olarak de erlendirildi (Bagdas ve ark., 2016). Bu amaçla hayvanlar effaf renkte pleksiglas kafesler (29 x 19 x 13 cm) içerisine konarak, 20 dk ortama uyum sağlamak için beklenildi. Takiben %1'lik asetik asit veya tuzlu su solüsyonundan i.p. 10 ml/kg olacak şekilde uygulandı ve 60 dakika boyunca kıvrınma sayısı kaydedildi. GAT107 (1, 3 ve 10 mg/kg i.p.) ve kontrol injeksiyonun etkilerinin de erlendirilmesi için ilaçlar asetik asit injeksiyonundan 15 dk önce uygulandı.

Termal Pençe Çekme Testi

Farelerde termal hiperaleji Hargreaves testi kullanılarak sakarın pençeye odaklanan ışık kaynağının sakarın ısı uyarısına karşı verdikleri pençe çekme yanıtının süresi olarak de erlendirildi (Bagdas ve ark., 2015). Hayvanlar pleksiglas silindirik içinde

sabit bir yüzey (30±1°C) sıcaklığı olan cam zemin üzerine yerleştirilip 30 dk ortama uyum sağlamak için bekletildi. Ardından cam yüzey altından kontrolü sağlamak için radyan ısı kaynağı hayvanların arka pençe ortalarına odaklandırılıp, ısı ile farelerin pençelerini çekmesine kadar geçen süre ölçüldü. Cut-off süresi 20 sn olarak alındı. Elde edilen bulgular "Pençe çekme e i i (sn)=kontralateral pençe de eri – ipsilateral pençe de eri" olarak sunuldu.

Mekanik Pençe Çekme Testi

Mekanik allodini kalibre von Frey filamentleri (Stoelting, Wood Dale, IL) aracılığıyla Chaplan ve ark. (1994) tarifinin modifiye ekliyle ölçüldü (Bagdas ve ark., 2015). Yüzey altından uygulanan von Frey filamentine karışık farelerin pençelerini çekmesi üzerine, uygulanan basınç (0.045-11.749 g) gram cinsinden pençe çekme e i i olarak kaydedildi (Dixon, 1965).

Akut Termal A rı Testleri

GAT107'in akut a rılı uyarana karışık etkilerinin belirlenebilmesi için modifiye kuyruk çekme testi ve sıcak zemin testi kullanıldı (Freitas ve ark., 2012). Kuyruk çekme testinde antinosisieptif duyarlılık maksimum olası etkinin yüzdesi (%MPE) olarak ölçüldü; bunun için %MPE = $\{[(\text{test de eri} - \text{kontrol de eri}) / (\text{cut-off süresi}(10 \text{ sn}) - \text{kontrol de eri})] * 100\}$ formülü kullanıldı. Sıcak zemin (Thermojust Apparatus, Columbus, OH) 55°C'ye ayarlanarak test sonuçları benzer ekilde %MPE formülü kullanılarak hesaplandı ancak cut-off süresi 40 sn kullanıldı. Termal uyarana reaksiyon süresi, sıcak zemin testinde farenin sıçrama veya pençe yalamasına kadar geçen süre olarak, kuyruk çekme testinde ise kuyruğunu çekmesine kadar geçen süre olarak kaydedildi. Testler GAT107 (10 mg/kg, i.p.) veya kontrolünün enjeksiyonundan 15, 30, 45 ve 60 dk sonrası gerçekleştirildi.

Ko ullu yer tercihi testi

Ko ullu yer tercihi testi farelerde negatif peki tiriciye karışık geli en kaçınma (aversion) prensiplerine dayalı olarak yapıldı. Farelerde %1 asetik asitle indüklenen ko ullu yer tercihi {acetic acid-induced conditioned place aversion (CPA)} kullanıldı. Farelerde CPA çalı ması daha önce tarif edildi i ekilde bazal de erlerin kaydedildi i 1. gün, asetik asitle ko ullamanın yapıldı i 2. gün ve test de erlerinin kaydedildi i 3. günden

olu turuldu (Bagdas ve ark. 2016). İlk gün sabah, cihazın merkezde bulunan gri kutucukta 5 dakikalık adaptasyon süresinin takibinde sistemin giyotin kapıları açık tutularak deney hayvanlarının 15 dakika boyunca kutucuklar arasında dolaşımı serbest bırakıldı. Elde edilen süreler, her bir deney hayvanının siyah ve beyaz kutular arasında yaptığı tercih süresi (sn) olarak kaydedildi. İkinci gün asetik asitle artlama beyaz veya siyah kutudan birinde olacak ekilde grubun yarısında sabah seansında di er yarısında da ö leden sonra seansında uygulandı. Seanslardan birinde bir kutucukta %1 asetik asit (10 ml/kg, i.p.) uygulanan fare, di er seansta ise aksi kutucukta kontrol (tuzlu su) enjeksiyonuna tabi tutuldu. artlama süresi 40 dakika kullanıldı ve seanslar boyunca giyotin kapılar kapalı durumda tutuldu. Üçüncü gün ise de erlendirme günü olarak kullanılıp, ilk günde uygulanan test prosedürü tekrar edildi.

GAT107 (1, 3 ve 10 mg/kg, i.p.) asetik asit veya kontrol uygulamasından 15 dk önce verildi. Asetik asit uygulanan kutucuk baz alınarak olu turulan formülasyonda, ko ullama sonrası geçirilen süreden ko ullama öncesi geçirilen sürenin çıkarılması suretiyle farelerin asetik asit uygulanan kutucu u tercihleri süre cinsinden bulunup kaydedildi.

Motor Koordinasyon ve Lokomotor Aktivite Testleri

Farelerin motor performansı, kaygan olmayan bir yüzeye sahip dönen bir silindirden olu an rota-rod test cihazı (IITC Inc. Life Science, Woodland Hills, CA) ile de erlendirildi (Freitas ve ark., 2013b). Hayvanlar dönen silindir üzerine dönü yönünün aksi istikametine yerleştirildi ve 3 dk süreyle silindir üzerinde durabilme süreleri kaydedildi. Fare, silindir üzerinden dü tü ünde hayvanın dönen silindir üzerinde kaldı ı süre (sn) cihaz üzerinden okunarak kaydedildi. GAT107 (10 mg/kg, i.p.) veya kontrol testten 15 dk önce uygulandı. Motor koordinasyon kaybı (%) = $(180 - \text{test de eri}) / (180 * 100)$ formülüyle hesaplandı. Farelerin lokomotor aktiviteleri ise bireysel fotosel aktivite kafeslerinde (Omnitech, Columbus, OH) test edildi (Freitas ve ark., 2012, 2013b). GAT107 benzer doz ve ekilde uygulandı. laçlar sonrasında hayvanların yürüme, durma, vb. hareketleri bu kafesler aracılığıyla fotoselle algılanan aktivite

dolayısıyla bölünme sayısı olarak 30 dk boyunca otomatik tespit edilerek kaydedildi.

mmunohistokimyasal incelemeler

Yüksek doz izofluran ile anestezi altına alınan fareler transkardiak tuzlu su ve takiben %4 paraformaldehid ile perfüze edildi. Vertebral segment bütün olarak çıkarılıp 4°C'de gece boyu %4 paraformaldehidle fikse edildi. Örnekler 20 gün süreyle EDTA ile dekalsifiye edildi. Takiben lomber 4-6 vertebralar bölgesi parafine gömüldü ve lamalar üzerine kesitleri alındı. Lamalar GFAP (Abcam, Cambridge, MA) ve p-p38MAPK (Cell Signaling Corp, Danvers, MA) için daha önce tarif edildi i ekilde boyandı (Wilkerson ve ark., 2012a, 2012b). Floresan mikroskopta (Zeiss Axiolmager Z2 fluorescence microscope, Carl Zeiss, AG, Germany) yapılan incelemelerde elde edilen görüntüler dijital olarak foto raflandı. Fotoğraflar Image J yazılımı (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>) aracılığıyla analiz edildi.

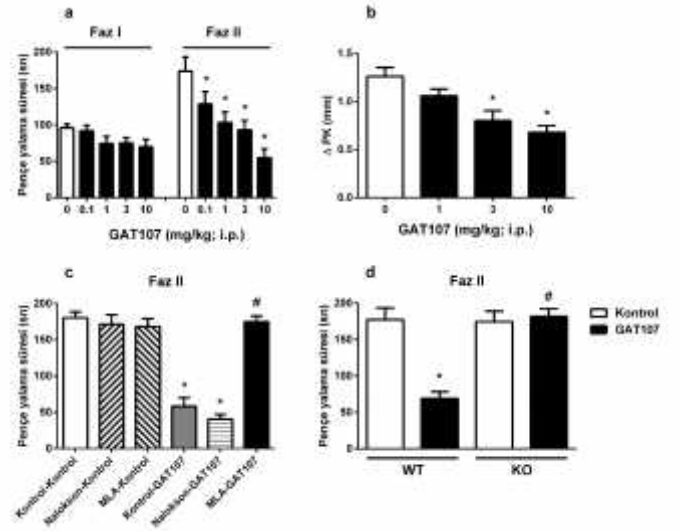
statistiksel Analiz

statistiksel i lemlerde GraphPad® (versiyon 6.0) bilgisayar programı kullanıldı. statistiksel de erlendirmeler tek veya iki yönlü ANOVA'yı takiben post hoc Tukey's test kullanılarak yapıldı. Spontan aktivite ve motor koordinasyonun de erlendirilmesinde Student t test kullanıldı. Elde edilen veriler "ortalama ± standart hata" ekinde verildi. P'nin 0.05'den küçük oldu u de erler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

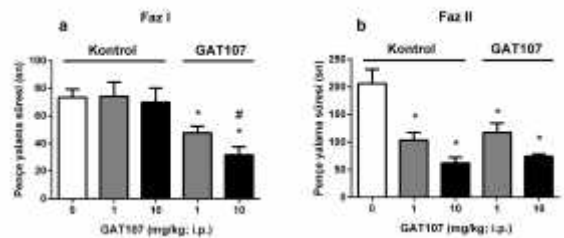
I. Formalin Testinde GAT107'nin Etkileri

GAT107 formalin testinin faz I döneminde etki olu turmazken ($P>0.05$), faz II üzerine doza ba ımlı antinosiseptif etkinlik gösterdi ($P<0.001$; ekil 1a). GAT107 formalinle pençede geli en ödemi de anlamlı olarak azalttı ($P<0.001$; ekil 1b). Faz II'de etkin olan GAT107nin antinosiseptif etkisinde 7 nACh ve opioid reseptörlerinin aracılı olup olmadığı, MLA ve nalokson antagonistleri kullanılarak test edildi. MLA, GAT107'nin etkilerini geri döndürürken ($P<0.001$), nalokson etkisiz bulundu ($P>0.05$; ekil 1c). Geni silinmi fareler üzerinde yapılan formalin testinde 7 KO farelerde GAT107nin antinosiseptif etkisi kayboldu ($P<0.001$; ekil 1d).



ekil 1. GAT107 (0.1, 1, 3 ve 10 mg/kg; i.p.) uygulamasından 15 dk sonra yapılan formalin (2.5%, 20 µl, i.pl.) injeksiyonunu takiben faz I (0-5 dk) ile faz II'deki (20-45 dk) pençe yalama süresi üzerine GAT107'nin etkileri (a). GAT107'nin (1, 3 ve 10 mg/kg, i.p.) formalin injeksiyonuna ba lı geli en ödem üzerine etkileri (PK=injeksiyon sonrası 1. saatte pençe kalınlı ı – injeksiyon öncesi pençe kalınlı ı) (b). Formalin testin faz II'sinde görülen GAT107'nin antinosiseptif etkileri üzerine 7 nAChR antagonisti MLA'nın (10 mg/kg, s.c.) ve opioid antagonist naloksonun (2 mg/kg s.c.) etkileri (c). GAT107'nin (10 mg/kg, i.p.) 7 WT ve 7 KO farelerde formalin testin faz II'si üzerine etkileri (d). Data ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=6-7). * $P<0.05$, kendi kontrolüne göre anlamlı; # $P<0.05$, Kontrol-GAT107 (c) ve WT-GAT107 (d) uygulamasına göre anlamlı.

GAT107'ye kar ı tolerans geli ip geli medi ini test etmek amacıyla, 6 gün süreyle kronik GAT107 veya kontrolü uygulandı. Formalin testinde etkinin kaybolup kaybolmadı ı 7. gün gruplara GAT107 uygulanarak test edildi. ekil 2ab'de görüldü ü üzere kronik GAT107 tedavisine alınan yanıtta etkinin azalması aynı zamanda faz I'de de antinosiseptif etki olu tu u gözlemlendi ($P<0.01$).

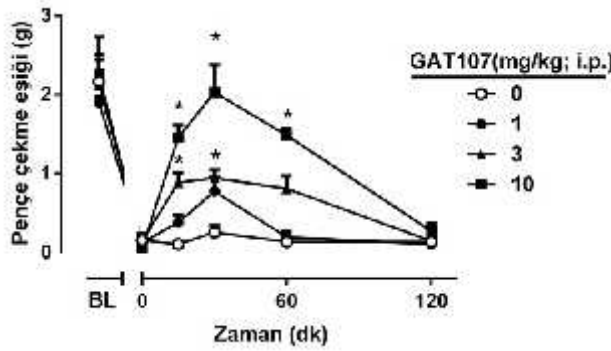


ekil 2. Kronik 6 gün süreyle günde 2 kez GAT107 (1 ve 10 mg/kg; i.p.) veya kontrol uygulamasını takiben, 7. günde uygulanan

GAT107 (1 ve 10 mg/kg; i.p.) veya kontrol injeksiyonundan 15 dk sonra yapılan formalin (%2.5, 20 µl, i.pl.) injeksiyonunu takiben faz I (0-5 dk) ile faz II'deki (20-45 dk) (b) pençe yalama süresi üzerine etkiler. Data ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=6). * $P<0.05$, kendi kontrolüne göre anlamlı; # $P<0.05$, akut uygulamadaki kontrolüne göre anlamlı.

II. LPS ile Olu turulan nflamatuvar A rıda GAT107'nin Etkileri

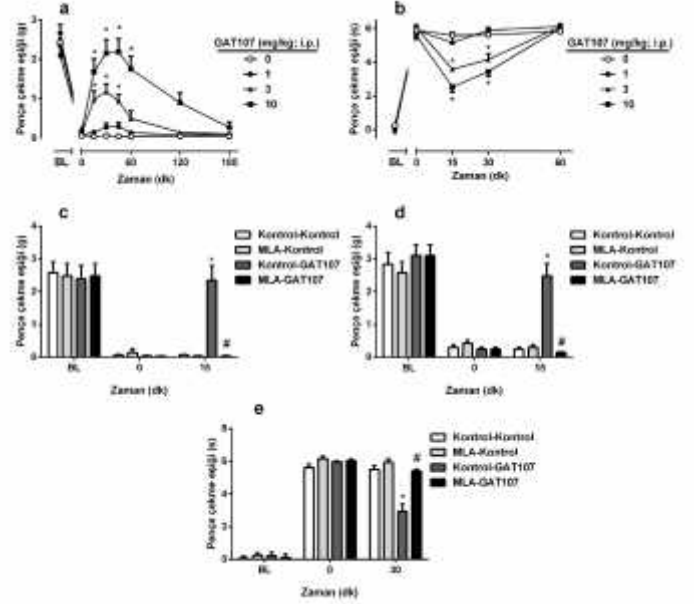
LPS ile olu an inflamatuvar a rı üzerine GAT107 doza ba ımlı olacak ekilde antiallodinik etki gösterdi ($P<0.001$; ekil 3). GAT107'nin 10 mg/kg dozuyula bazal de erlere ula an antiallodinik etki elde edildi.



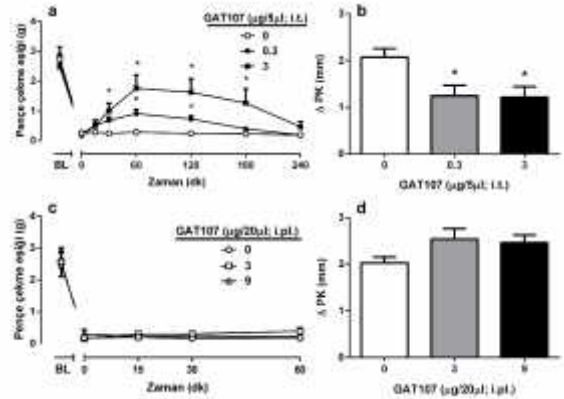
ekil 3. LPS (2.5µg, 20 µl, i.pl.) ile olu turulan inflamatuvar a rıda GAT107 (1, 3 ve 10 mg/kg; i.p.) injeksiyonunun mekanik allodini üzerine etkileri. Data ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=7). * $P<0.05$, kontrolüne göre anlamlı. BL: Bazal

III. CFA ile Olu turulan nflamatuvar A rıda GAT107'nin Etkileri

CFA injeksiyonuna kar ı geli en mekanik allodini ve termal hiperaljezi yanıtını, GAT107 doza ba ımlı olacak ekilde azalttı ($P<0.001$; ekil 4ab). Hem sistemik hem spinal uygulanan MLA, GAT107'nin antiallodinik etkilerini bloke etti ($P<0.001$; ekil 4cd). MLA aynı zamanda GAT107'nin antihiperaljezik etkilerini de bloke etti ($P<0.001$; ekil 4e). GAT107'nin antiallodinik etkisine aracılık eden olası spinal ve periferel 7 nAChR'lerin rolünü ara tırmak için, GAT107 spinal ve periferel yolla uygulandı. Spinal uygulanan GAT107'nin antiallodinik ve antiödem etki gösterdi i ($P<0.001$; ekil 5ab), ancak i.pl. uygulanan GAT107'nin allodini ve ödem üzerine etkisiz oldu u tespit edildi ($P<0.001$; ekil 5cd).

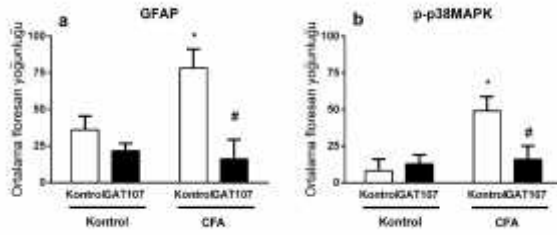


ekil 4. CFA (%50, 20 µl, i.pl.) ile olu turulan inflamatuvar a rıda GAT107 (1, 3 ve 10 mg/kg; i.p.) injeksiyonunun mekanik allodini (a) ve termal hiperaljezi (b) üzerine etkileri. GAT107'nin (10 mg/kg; i.p.) antiallodinik etkileri üzerine, 7 nAChR antagonisti MLA'nın sistemik (10 mg/kg, s.c.) (c) ve spinal (10 µg/5µl, i.t.) (d) ön tedavisinin etkileri. GAT107'nin (10 mg/kg; i.p.) antiallodinik etkileri üzerine, MLA (10 mg/kg, s.c.) ön tedavisinin etkileri (e). Data ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=6-8). * $P<0.05$, kendi kontrolüne göre anlamlı; # $P<0.05$, Kontrol-GAT107 uygulamasına göre anlamlı. BL: Bazal



ekil 5. CFA (%50, 20 µl, i.pl.) ile olu turulan inflamatuvar a rıda spinal (0.3, 3 µg/fare, i.t) (a) ve periferel (3, 9 µg/fare, i.pl.) (c) uygulanan GAT107'nin mekanik allodini üzerine etkileri. Spinal (0.3, 3 µg/fare, i.t) (b) ve periferel (3, 9 µg/fare, i.pl.) (d) uygulanan GAT107'nin, CFA injeksiyonuna ba ı geli en ödem üzerine etkileri (Δ PK=injeksiyon sonrası 1. saatte pençe kalınlı ı – injeksiyon öncesi pençe kalınlı ı). Data ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=5-6). * $P<0.05$, kendi kontrolüne göre anlamlı; BL: Bazal

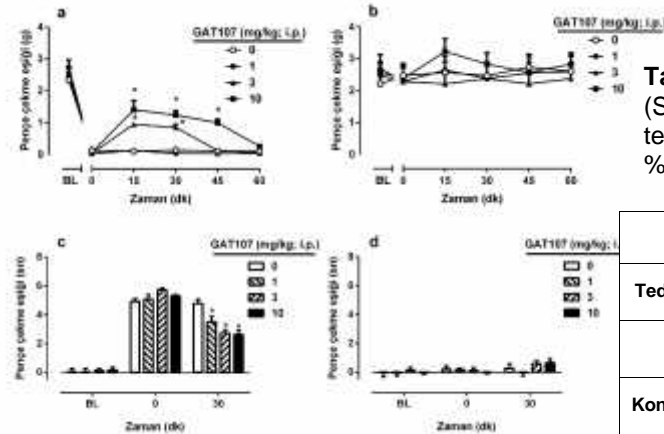
Yukarıda bahsi geçen farmakolojik çalı malar sonucunda, GAT107 etkileri açısından CFA ile olu turulan inflamatuvar a rı modelinde, spinal kordun önemli bir bölge oldu u dü ünüldü. Takiben immunohistokimyasal çalı mada i.t. uygulanan GAT107nin spinal kordun dorsal boynuzunda CFA ile indüklenen GFAP ve fosforile p38MAPK aktivasyonu üzerine etkileri de erlendirildi. GAT107 hem GFAP, hem de p-p38MAPK aktivasyonunu azalttı ($P<0.001$, ekil 6ab).



ekil 6. CFA (%50, 20 μ l, i.p.) ile olu turulan inflamatuvar a rıda, spinal GAT107 (3 μ g/fare, i.t) uygulamasından 2 saat sonra perfüze edilen farelerde yapılan immunohistokimyasal incelemede, spinal kord dorsal boynuzunda GFAP (a) ve p-p38MAPK (b) immuno aktivitesi. Data ortalama \pm standart hata olarak sunuldu (n=4). * $P<0.05$, kendi kontrolüne göre anlamlı; # $P<0.05$, CFA-Kontrol uygulamasına göre anlamlı.

IV. CCI ile Olu turulan Nöropatik A rı Modelinde GAT107'nin Etkileri

GAT107 nöropatik a rıda doza ba ımlı antiallodinik ve dozdan ba ımsız antihiperalezik etki gösterdi ($P<0.001$, ekil 7ac). GAT107 kontrol (sham) grubu farelerde mekanik a rı e i i üzerine etki olu turmadı ($P>0.05$; ekil 7bd).

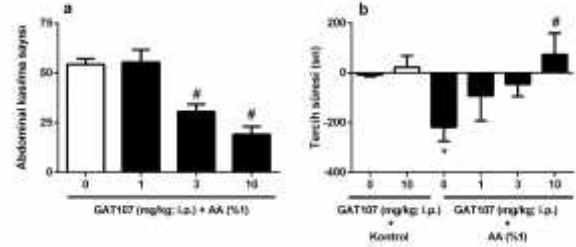


ekil 7. CCI (a) ve kontrol (sham) (b) operasyonu uygulanan farelerde post-operatif 14.

günde GAT107 (1, 3 ve 10 mg/kg; i.p.) injeksiyonunun mekanik pençe testindeki etkileri. CCI (c) ve Sham (d) operasyonu uygulanan farelerde post-operatif 14. günde GAT107 (1, 3 ve 10 mg/kg; i.p.) injeksiyonunun mekanik pençe testindeki etkileri. Data ortalama \pm standart hata olarak sunuldu (n=6-10). * $P<0.05$, kendi kontrolüne göre anlamlı. BL: Bazal

V. Asetik Asit ile Olu turulan Kıvrınma ve CPA Üzerine GAT107'nin Etkileri

GAT107 hem asetik asitle olu an kıvrınma sayısını azalttı ($P<0.001$, ekil 8a), hem de CPA testindeki kaçınma davranı nı modüle etti ($P<0.01$, ekil 8b).



ekil 8. Asetik asitle (%1, i.p.) ile olu turulan visseral a rıda GAT107 (1, 3 ve 10 mg/kg; i.p.) injeksiyonunun abdominal kıvrınma sayısı (a) ve ko ullu yer tercihi (b) üzerine etkileri. Data ortalama \pm standart hata olarak sunuldu (n=6-11). * $P<0.05$, kendi kontrolüne göre anlamlı; # $P<0.05$, Kontrol-Asetik asit uygulamasına göre anlamlı. AA: Asetik asit.

VI. Akut Termal A rılı Uyarana Kar ı GAT107'nin Etkileri

Yukarıda belirtilen di er a rı ölçüm metodlarının aksine, GAT107 sıcak zemin ve kuyruk çekme testlerinde antinosiseptif aktivite göstermedi ($P>0.05$, Tablo 1).

Tablo 1. Kuyruk çekme (KÇ) ve sıcak zemin (SZ) testlerinde, GAT107'nin (10 mg/kg, i.p.) termal a rılı uyarana kar ı etkileri. Data ortalama \pm standart hata olarak sunuldu (n=6).

Tedavi	Zaman (dk)							
	15		30		45		60	
	KÇ	SZ	KÇ	SZ	KÇ	SZ	KÇ	SZ
Kontrol	0 \pm 0	11 \pm 4	0 \pm 0	11 \pm 4	1 \pm 1	14 \pm 6	0 \pm 0	9 \pm 4
GAT107	0 \pm 0	9 \pm 4	0 \pm 0	12 \pm 6	3 \pm 1	11 \pm 5	2 \pm 1	11 \pm 4

VII. GAT107'nin Motor Aktivite ve Koordinasyon Üzerine Etkileri

Tablo 2'de görüldüğü üzere GAT107 çalı mada kullanılan en yüksek dozda uygulandı nda farelerin spontan aktiviteleri ve motor koordinasyonları üzerine etki göstermedi ($P>0.05$).

Tablo 2. GAT107'nin (10 mg/kg, i.p.) spontan aktivite ve motor koordinasyon üzerine etkileri. Data spontan aktivite için fotoseldeki bölünme sayısı ve rotarod için % koordinasyon kaybı olarak ortalama±standart hata olarak sunuldu (n=5-6).

Tedavi	Spontan aktivite (# fotosel bölünme/10 dk)	Rotarod aktivite (% koordinasyon kaybı)
Kontrol	743.8 ± 169.7	1.483 ± 0.8
GAT107	755.2 ± 171.4	1.120 ± 0.8

TARTI MA VE SONUÇ

Hem allosterik agonist, hem pozitif olmak üzere allosterik modülasyon gösteren bile iklere ke fiyle 7 nAChR fonksiyonunun regülasyonunda yeni bir farmakolojik yakla m olu mu tur (Gill ve ark., 2011, 2012; Thakur ve ark., 2013; Papke ve ark., 2014, Horenstein ve ark. 2016). Bu ba lamda GAT107 adlı bile i in 7 nAChR'ler için ago-PAM etkinlikte oldu unun tanımlanması deneysel kronik a rı ve inflamasyonun tedavisi için yeni bir açılım sa lamaktadır.

GAT107 7 nAChR üzerindeki aktivitesinin, aromatik amino asitler ile subunit arayüzünde regüle edildi i gösterilmi tir (Papke ve ark., 2014). Bir kurba a türü olan *Xenopus* oositleri üzerinde eksprese edilen insan 7 nAChR ile yapılan *in vitro* iki elektrodlu voltaj klamp tekni i ile iyonik akım çalı malarında, GAT107 için birbirinden ayrı 3 etkinlik tespit edilmi tir: 1) direkt aktivasyon, 2) direkt potensiyalizasyon (ACh ile birlikte uygulandı nda) ve 3) primed potensiyalizasyon (GAT107 uygulamasını takiben ortamın temizlenmesi sonrası ACh uygulandı nda) (Papke ve ark., 2014). Bahsi geçen do rudan aktivasyon yetene i, sadece PAM aktivitesi gösteren bile iklere bir üstünlük sa lamaktadır. Bu ba lamda

ago-PAM bir bile ik *in vivo* olarak da, sadece PAM özellikte bir bile i e üstün gelebilir; ancak etkinin kanal aktivasyonu mu yoksa endojen ortosterik ligandın modülasyonu mu oldu unu anlamak güçtür. Çalı madan elde edilen bulgular GAT107'nin etkilerinin hangi özelli i aracılı ıyla oldu unu ortaya koymamaktadır. Buna kar ın 7 nAChR için tanımlanan ilk ago-PAM bile i i GAT107'nin *in vivo* a rı üzerine etkilerini farklı a rı modelleri ve komponentleri üzerinde göstererek tam bir karakterizasyon sa lamaktadır.

Çalı mada kullanılan en yüksek dozda motor koordinasyon ve spontan aktivite üzerine zararsız bulunan GAT107'nin antinosiseptif etkinli inin karakterizasyonu akut, inflamatuvar, nöropatik ve visseral a rıda yapıldı. Formalin injeksiyonundan hemen sonra ba layan ilk fazın akut a rıyı; takiben latent bir dönemin ardından ba layan ikinci fazın ise, C-lifleri aracılı geli en inflamasyon ve spinal kord dorsal boynuzunda sensitizasyon ile karakterize inflamatuvar a rıyı modelledi i kabul edilir (Abbott ve ark., 1995; Davidson and Carlton, 1998). GAT107 formalin testinde faz I'de etkisizken faz II'de etkin bulundu. GAT107 sıcak zemin ve kuyruk çekme testlerinde akut termal uyarana kar ı da etkisiz bulunmu tur. Benzer bir eilde bazı 7 nAChR agonistleri (Gao ve ark., 2010; Papke ve ark., 2015) ve PAMler de akut a rı üzerine aktivite göstermemi lerdir (Freitas ve ark., 2013a). Di er yandan GAT107'nin doza ba ımlı olarak formalinle geli en hem pençe ödemini hem de faz II'deki pençe yalama davranı nı azaltması bu bile i in inflamatuvar a rıda etkili oldu unu göstermektedir. GAT107'nin etkisinde 7 nAChRlerin rolü olup olmadı ı hem antagonist MLA hem de 7 nAChR geni silinmi fareler kullanılarak faz II'de ara tırıldı. Aynı zamanda opioid reseptörlerin GAT107 etkisine aracılık edip etmedi i nalokson antagonisti kullanılarak incelendi. MLA ön tedavisi ve 7 KO fareler GAT107'nin antinosiseptif etkisini formalin testinde ortadan kaldırırken, nalokson GAT107'nin etkisini de i tirmedir. Elde edilen bu bulgu GAT107'nin etkisinde 7 nAChR'lerine ihtiyaç duydu unu göstermektedir. Daha önceki çalı malarda tip II 7 nAChR PAM'i PNU-120596'nın formalin testinde gerek antinosiseptif etki olu turdu u gerekse bile i e kar ı tolerans geli medi i gösterilmi tir (Freitas ve ark.,

2013a, 2013b). Literatür bilgisiyle uyumlu olarak bu çalı mada da tekrarlanan dozlarda uygulanan GAT107'ye karşı tolerans geli medi ve daha fazlası GAT107 faz l'de antinosiseptif etki gösterdi. Bile i in faz l'de etkinlik kazanması ilacın tekrarlanan dozlarda uygulanması ile olu an ilacın kümülatif etkisine ba lı olabilir.

Formalin testinin inflamatuvar fazında GAT107'nin etkili bulunması ile daha kronik modellere geçildi. GAT107 hem LPS ile hem de CFA ile indüklenen inflamatuvar a rı modellerinde test edildi. LPS'le olu turulan inflamatuvar a rıda artan dozlarda antiallodinik etki gözlemlendi. GAT107 ayrıca doza ba ımlı olacak ekilde, CFA kronik inflamatuvar a rı modelinde antiallodinik ve antihiperalezik etkiler olu turdu ve bu etkilerin spinal 7 nAChR'ler üzerinden oldu u tespit edildi. Periferal (i.pl.) de il ama spinal (i.t.) GAT107 uygulaması CFA ile geli en mekanik allodiniyi ve pençe ödemi azalttı. Bu bulgu GAT107'nin spinal ve/veya supraspinal etkili oldu unu göstermektedir. Buna ilaveten, spinal uygulanan MLA ile sistemik uygulanan GAT107'nin antiallodinik etkilerinin tam bloke olması GAT107'nin bu etkilerinde spinal a rı mekanizmalarının kritik önemi oldu unu gösterdi.

GFAP ekspresyonu patolojik a rıya e lik eden hücrel bir belirteçtir (Schreiber ve ark., 2008; Gao ve Ji, 2010; Wilkerson ve ark., 2012a, 2012b) ve astrosit aktivasyonunu patolojik a rının geli mesinde kritik rol oynadı ı daha önce gösterilmi tir (Kim ve ark., 2009; Wilkerson ve ark., 2012a, 2012b). Önceki çalı malar interleukin (IL)-1 beta dahil proinflamatuvar sitokinlerin aktivasyonu ile mekanik allodini olu masında p-p38MAPK belirtecinin rolü oldu unu ortaya koymu tur (Ji ve Suter, 2007; Ji ve ark., 2009). Bu çalı malarla uyumlu olarak CFA injeksiyonu sonrası spinal kord dorsal boynuzunda bilateral GFAP ve p-p38MAPK immünoreaktivitesinin artımı oldu u gözlemlendi. GAT107 i.t. uygulaması ise her iki belirtecin aktivasyonunu azalttı. Bu bulgular 7 nAChR aktivasyonunun nöroprotektif etkileri ile de uyumludur (Shytle ve ark., 2004; De Simone ve ark., 2005; Nizri ve ark., 2009; Liu ve ark., 2012; Egea ve ark., 2015). Çalı mada GAT107 nöropatik a rıda da antiallodinik ve antihiperalezik etkiler gösterdi. Nöropatik a rıda 7 nAChR modülasyonunun analjezik etkiler meydana getirdi i daha önce ortaya

konmu tur (Bagdas ve ark., 2011; Bagdas ve ark., 2015a, 2015b; Freitas 2013b). Buna ilaveten, mikroglial 7 nAChR'lerin sinir hasarlarına karşı koruyucu kilit rolü oldu u saptanmıştır. Özellikle astrositik bir mekanizmayla p-p38MAPK aktivasyonunu, ekstraselüler-regüle edici kinaz 1/2 (ERK1/2) ve tümör nekroz faktörü- (TNF-) gibi proinflamatuvar sitokinleri azalttı ı gözlenmiştir (Shytle ve ark., 2004; Parada ve ark., 2013). Sıçanlarda 7 nAChR için tip II PAM özellikteki PNU-120596 bile i i de TNF- ve IL-6 düzeyini dü üyerek antiinflamatuvar etki göstermiştir (Munro ve ark., 2012). GAT107'nin de etkilili inin bir yönüyle tip II PAM nitelikte olması çalı mada elde edilen bulguların kolinerjik antiinflamatuvar yolak (örneğin TNF- üzerinden) üzerinden de olabilece ini dü ündürmektedir (Bernik ve ark., 2002).

Çalı mada, GAT107 doza ba ımlı olarak, asetik asitle geli en abdominal kıvrınma sayısını azalttı. Buna ilaveten, kontrol hayvanları üzerinde kendi ba ına pozitif peki tirici bir etkisi olmamasına karşı, asetik asitle olu turulan visseral a rılı farelerde a rıya ba lı kaçınma davranı nı CPA testinde doza ba lı geri çevirdi. Önceki çalı malarımızda 7 nAChR sessiz agonisti NS6740 ve tip II PAM'ı 3-furan-2-yl-N-p-tolyl-acrylamide isimli bile iklerin de a rının afektif boyutuna karşı olumlu etkileri oldu unu göstermiştir (Bagdas ve ark., 2015; Papke ve ark., 2015). Önceki bulgularımızla uyumlu olarak GAT107 a rıya ba lı geli en kaçınma davranı nı azalttı ndan, a rının afektif boyutuna da etkili bulundu.

GAT107'nin tip II PAM özelli i ile endojen ACh'i allosterik olarak module etmesi, aynı zamanda allosterik agonist özelli i göstermesi *in vivo* olarak gözlenen etkilerinin hangisi üzerinden oldu unun kestirilememesine sebep olmaktadır. leride yapılacak çalı maların bu konuyu aydınlataca nı dü ünüyoruz.

Özetle bu çalı ma 7 ago-PAMler ile *in vivo* yapılan ilk denemeleri kapsamaktadır. 7 ago-PAM GAT107 bile i inin inflamatuvar ve nöropatik a rıda antinosiseptif ve antiinflamatuvar etkileri vardır. GAT107'nin etkilerine spinal kordun dorsal boynuzundaki astrositik mekanizmalar ve spinal 7 nAChRler aracı olmaktadır. Sonuç olarak 7 nAChR'lerin ago-PAM'ler aracılı regülasyonu

kronik ağrı tedavisi için bir seçenek olmaktadır.

Destek

Bu çalışmada VCU Massey Cancer Center, NIDA ve NIH tarafından destek almıştır (proje no: DA032246, GM57481, EY024717). Sorumlu yazarın doktora sonrası bu çalışması TÜB TAK Yurt Dışı Araştırma Bursu (2219-2013) olarak desteklenmiştir.

Teşekkür

Bu çalışmanın yürütülmesinde katkı ve desteklerinden dolayı Prof. Dr. Imad Damaj, Prof. Dr. Ganesh Thakur, Prof. Dr. Aron Lichtman, Prof. Dr. Roger Papke, Dr. Jenny Wilkerson, Dr. Shakir AlSharari S, Dr. Abhijit Kulkarni, Zülfiye Gül ve Wisam Toma'ya; özel olarak beni yetiştiren değerli Hocam Prof. Dr. Mine Sibel Gürün'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma yayınlanması amacıyla "British Journal of Pharmacology" dergisine sunulmuştur.

KAYNAKLAR

Abbott, F.V., Franklin, K.B., Westbrook, R.F., 1995. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. *Pain*. 60, 91–102.

Bagdas, D., Muldoon, P.P., AlSharari, S., Carroll, F.I., Negus, S.S., Damaj, M.I., 2016. Expression and pharmacological modulation of visceral pain-induced conditioned place aversion in mice. *Neuropharmacology*. 102, 236-243.

Bagdas, D., Sonat, F.A., Hamurtekin, E., Sonal, S., Gurun, M.S., 2011. The antihyperalgesic effect of cytidine-5'-diphosphate-choline in neuropathic and inflammatory pain models. *Behav Pharmacol*. 22(5-6), 589-598.

Bagdas, D., Targowska-Duda, K.M., López, J.J., Perez, E.G., Arias, H.R., Damaj, M.I., 2015. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 3-furan-2-yl-N-p-tolyl-acrylamide (PAM-2), a positive allosteric modulator of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors, in mice. *Anesth Analg*. 121(5), 1369-1377.

Bernik, T.R., Friedman, S.G., Ochani, M., DiRaimo, R., Ulloa, L., Yang, H., et al., 2002. Pharmacological stimulation of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J. Exp. Med*. 195,781–788.

Booker, L., Kinsey, S.G., Abdullah, R.A., Blankman, J.L., Long, J.Z., Ezzili, C., et al., 2012. The fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitor PF-3845 acts in the nervous system to reverse LPS-induced tactile allodynia in mice. *Br. J. Pharmacol*. 165, 2485–2496.

Chaplan, S.R., Bach, F.W., Pogrel, J.W., Chung, J.M., Yaksh, T.L., 1994. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J. Neurosci. Methods*. 53, 55–63.

Damaj, M.I., Freitas, K., Bagdas, D., Flood, P., 2014. Nicotinic receptors as targets for novel analgesics and anti-inflammatory drugs. In: Kenny PJ and Lester RAJ (eds) *Nicotinic Receptors*, in Series: *The Receptors*. Vol. 26. USA. Springer.

Damaj, M.I., Meyer, E.M., Martin, B.R., 2000. The antinociceptive effects of $\alpha 7$ nicotinic agonists in an acute pain model. *Neuropharmacology*. 39(13), 2785-2791.

Davidson, E.M., Carlton, S.M., 1998. Intraplantar injection of dextrorphan, ketamine or memantine attenuates formalin-induced behaviors. *Brain Res*. 785, 136–142.

Dixon, W.J., 1965. The Up-and-Down Method for Small Samples. *J. Am. Stat. Assoc*. 60, 967–978.

Dziewczapolski, G., Glogowski, C.M., Masliah, E., Heinemann, S.F. 2009. Deletion of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor gene improves cognitive deficits and synaptic pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *J. Neurosci*. 29, 8805–8815.

Egea, J., Buendia, I., Parada, E., Navarro, E., León, R., and Lopez, M.G., 2015. Anti-inflammatory role of microglial $\alpha 7$ nAChRs and its role in neuroprotection. *Biochem. Pharmacol*.

Egea, J., Buendia, I., Parada, E., Navarro, E., León, R., Lopez, M.G., 2015. Anti-inflammatory role of microglial $\alpha 7$ nAChRs and its role in neuroprotection. *Biochem. Pharmacol*.

Eisenach, J.C., 1999. Muscarinic-mediated analgesia. *Life Sci*. 64(6-7), 549-554.

Feuerbach, D., Lingenhoehl, K., Olpe, H.R., Vassout, A., Gentsch, C., Chaperon, F., Nozulak, J., et al. 2009. The selective nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ agonist JN403 is active in animal models of

- cognition, sensory gating, epilepsy and pain. *Neuropharmacology*. 56(1), 254-263.
- Freitas, K., Carroll, F.I., Damaj, M.I., 2013a. The antinociceptive effects of nicotinic receptors $\alpha 7$ -positive allosteric modulators in murine acute and tonic pain models. *J Pharmacol Exp Ther*. 344(1), 264-275.
- Freitas, K., Ghosh, S., Ivy Carroll, F., Lichtman, A.H., Damaj, M.I., 2013b. Effects of $\alpha 7$ positive allosteric modulators in murine inflammatory and chronic neuropathic pain models. *Neuropharmacology*. 65, 156-164.
- Freitas, K., Negus, S.S., Carroll, F.I., Damaj, M.I., 2012. In vivo pharmacological interactions between a type ii positive allosteric modulator of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic agonists in a murine tonic pain model. *Br J Pharmacol*.
- Gao, B., Hierl, M., Clarkin, K., Juan, T., Nguyen, H., Valk, M.V., Deng, H., et al., 2010. Pharmacological effects of nonselective and subtype-selective nicotinic acetylcholine receptor agonists in animal models of persistent pain. *Pain*. 149(1), 33-49.
- Gao, Y.J., Ji, R.R., 2010. Targeting Astrocyte Signaling for Chronic Pain. *Neurotherapeutics*. 7, 482-493.
- Gill, J.K., Savolainen, M., Young, G.T., Zwart, R., Sher, E., Millar, N.S. 2011. Agonist activation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors via an allosteric transmembrane site. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 5867-5872.
- Girod, R., Crabtree, G., Ernstrom, G., Ramirez-Latorre, J., McGehee, D., Turner, J., Role, L., 1999. Heteromeric Complexes of $\alpha 5$ and / or $\alpha 7$ Subunits. *Ann N Y Acad Sci*. 868, 578-590.
- Gurun, M.S., Parker, R., Eisenach, J.C., Vincler, M., 2009. The effect of peripherally administered CDP-choline in an acute inflammatory pain model: the role of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Anesth Analg*. 108:1680-1687.
- Hamurtekin, E., Gurun, M.S., 2006. The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res*. 1117(1), 92-100.
- Horenstein, N.A., Papke, R.L., Kulkarni, A.R., Chaturbhuj, G.U., Stokes, C., Manther, K., Thakur, G.A., 2016. Critical molecular determinants of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor allosteric activation: separation of direct allosteric activation and positive allosteric modulation. *J Biol Chem*.
- Hylden, J.L., Wilcox, G.L., 1980. Intrathecal morphine in mice: a new technique. *Eur. J. Pharmacol*. 67, 313-316.
- Ji, R.R., Gereau IV, R.W., Malcangio, M., Strichartz, G.R., 2009. MAP kinase and pain. *Brain Res. Rev*. 60, 135-148.
- Ji, R.-R., Suter, M.R., 2007. p38 MAPK, microglial signaling, and neuropathic pain. *Mol. Pain*. 3, 33.
- Khan, I.M., Yaksh, T.L., Taylor, P., 1994. Ligand specificity of nicotinic acetylcholine receptors in rat spinal cord: studies with nicotine and cytosine. *J Pharmacol Exp Ther*. 270(1), 159-166.
- Kim, D.S., Figueroa, K.W., Li, K.W., Boroujerdi, A., Yolo, T., David Luo, Z., 2009. Profiling of dynamically changed gene expression in dorsal root ganglia post peripheral nerve injury and a critical role of injury-induced glial fibrillary acidic protein in maintenance of pain behaviors. *Pain*. 143, 114-122.
- Liu, Y., Hu, J., Wu, J., Zhu, C., Hui, Y., Han, Y., et al., 2012. $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor-mediated neuroprotection against dopaminergic neuron loss in an MPTP mouse model via inhibition of astrocyte activation. *J. Neuroinflammation*. 9, 98.
- Marrero, M.B., Bencherif, M., Lippiello, P.M., Lucas, R., 2011. Application of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonists in inflammatory diseases: an overview. *Pharm Res*. 28(2), 413-416.
- Marubio, L.M., Del Mar Arroyo-Jimenez, M., Cordero-Erausquin, M., Léna, C., LE Novère, N., De Kerchove D'exaerde, A., Huchet, M., Damaj, M.I., Changeux, J.P., 1999. Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits. *Nature*. 398(6730), 805-810.
- Mazurov, A.A., Speake, J.D., Yohannes, D., 2011. Discovery and development of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor modulators. *J Med Chem*. 54(23), 7943-7961.
- Medhurst, S.J., Hatcher, J.P., Hille, C.J., Bingham, S., Clayton, N.M., Billinton, A., Chessell, I.P., 2008. Activation of the $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor reverses complete Freund adjuvant-induced mechanical hyperalgesia in the rat via a central site of action. *J Pain*. 9(7), 580-587.

- Merskey, H., Bogduk, N., 1994. Classification of Chronic Pain. 2nd edition. I.A.S.P. Press. Seattle.
- Millar, N.S., Gotti, C., 2009. Diversity of vertebrate nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology*. 56(1), 237-246.
- Munro, G., Hansen, R., Erichsen, H., Timmermann, D., Christensen, J., Hansen, H., 2012. The 7 nicotinic ACh receptor agonist compound B and positive allosteric modulator PNU-120596 both alleviate inflammatory hyperalgesia and cytokine release in the rat. *Br J Pharmacol*. 167(2), 421-435.
- Munro, G., Hansen, R.R., Erichsen, H.K., Timmermann, D.B., Christensen, J.K., Hansen, H.H., 2012. The 7 nicotinic ACh receptor agonist compound B and positive allosteric modulator PNU-120596 both alleviate inflammatory hyperalgesia and cytokine release in the rat. *Br. J. Pharmacol*. 167, 421–435.
- Nizri, E., Irony-Tur-Sinai, M., Lory, O., Orr-Urtreger, A., Lavi, E., Brenner, T., 2009. Activation of the cholinergic anti-inflammatory system by nicotine attenuates neuroinflammation via suppression of Th1 and Th17 responses. *J. Immunol*. 183, 6681–6688.
- Papke, R.L., Bagdas, D., Kulkarni, A.R., Gould, T., AlSharari, S.D., Thakur, G. a., et al., 2015. The analgesic-like properties of the alpha7 nAChR silent agonist NS6740 is associated with non-conducting conformations of the receptor. *Neuropharmacology*. 91, 34–42.
- Papke, R.L., Horenstein, N.A., Kulkarni, A.R., Stokes, C., Corrie, L.W., Maeng, C.Y., et al., 2014. The activity of GAT107, an allosteric activator and positive modulator of 7 nicotinic acetylcholine receptors (nAChR), is regulated by aromatic amino acids that span the subunit interface. *J. Biol. Chem*. 289, 4515–4531.
- Papke, R.L., Kem, W.R., Soti, F., López-Hernández, G.Y., Horenstein, N.A., 2009. Activation and Desensitization of Nicotinic Alpha 7-type Acetylcholine Receptors by Benzylidene Anabaseines and Nicotine. *J Pharmacol Exp Ther*. 329(2), 791-807.
- Parada, E., Egea, J., Buendia, I., Negrodo, P., Cunha, A.C., Cardoso, S., et al., 2013. The microglial 7-acetylcholine nicotinic receptor is a key element in promoting neuroprotection by inducing heme oxygenase-1 via nuclear factor erythroid-2-related factor 2. *Antioxid. Redox Signal*. 19, 1135–1148.
- Pavlov, V.A., Tracey, K.J., 2004. Neural regulators of innate immune responses and inflammation. *Cell Mol Life Sci*. 61(18), 2322-2331.
- Pedigo, N.W., Dewey, W.L., Harris, L.S., 1975. Determination and characterization of the antinociceptive activity of intraventricularly administered acetylcholine in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 193(3), 845-852.
- Rowley, T.J., McKinstry, A., Greenidge, E., Smith, W., Flood, P., 2010. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of choline in a mouse model of postoperative pain. *Br J Anaesth*. 105(2), 201-207.
- Sattelle, D.B., Buckingham, S.D., Akamatsu, M., Matsuda, K., Pienaar, I.S., Jones, A.K., Sattelle, B.M., et al., 2009. Comparative pharmacology and computational modelling yield 165 insights into allosteric modulation of human alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. *Biochem Pharmacol*. 78(7), 836-843.
- Schreiber, K.L., Beitz, A.J., Wilcox, G.L., 2008. Activation of spinal microglia in a murine model of peripheral inflammation-induced, long-lasting contralateral allodynia. *Neurosci. Lett*. 440, 63–67.
- Séguéla, P., Wadiche, J., Dineley-Miller, K., Dani, J.A., Patrick, J.W., 1993. Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain alpha 7: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. *J Neurosci*. 13(2), 596-604.
- Shytle, R.D., Mori, T., Townsend, K., Vendrame, M., Sun, N., Zeng, J., et al., 2004. Cholinergic modulation of microglial activation by 7 nicotinic receptors. *J. Neurochem*. 89, 337–343.
- Simone, R. De, Ajmone-Cat, M.A., Carnevale, D., Minghetti, L., 2005. Activation of 7 nicotinic acetylcholine receptor by nicotine selectively up-regulates cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in rat microglial cultures. *J. Neuroinflammation* 2, 4.
- Su, X., Jae, W.L., Matthay, Z.A., Mednick, G., Uchida, T., Fang, X., et al., 2007. Activation of the 7 nAChR reduces acid-induced acute lung injury in mice and rats. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 37, 186–192.
- Takeda, D., Nakatsuka, T., Gu, J.G., Yoshida, M., 2007. The activation of nicotinic acetylcholine receptors enhances the inhibitory synaptic transmission in the deep

dorsal horn neurons of the adult rat spinal cord. *Mol. Pain.* 3, 26.

Thakur, G.A., Kulkarni, A.R., Deschamps, J.R., Papke, R.L., 2013. Expeditious synthesis, enantiomeric resolution, and enantiomer functional characterization of (4-(4-bromophenyl)-3a,4,5,9b-tetrahydro-3H-cyclopenta[c]quinoline-8-sulfonamide (4BP-TQS): an allosteric agonist-positive allosteric modulator of $\alpha 7$ nicotinic ac. *J. Med. Chem.* 56, 8943–8947.

Thomsen, M.S., Hansen, H.H., Timmerman, D.B., Mikkelsen, J.D., 2010. Cognitive improvement by activation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors: from animal models to human pathophysiology. *Curr. Pharm. Des.* 16, 323–343.

Umana, I.C., Daniele, C. A., and McGehee, D.S., 2013. Neuronal nicotinic receptors as analgesic targets: It's a winding road. *Biochem. Pharmacol.* 86, 1208–1214.

van Maanen, M.A., Lebre, M.C., van der Poll, T., LaRosa, G.J., Elbaum, D., Vervoordeldonk, M.J., Tak, P.P., 2009. Stimulation of nicotinic acetylcholine receptors attenuates collagen-induced arthritis in mice. *Arthritis Rheum.* 60(1), 114-122.

Wess, J., Duttaroy, A., Gomez, J., Zhang, W., Yamada, M., Felder, C.C., Bernardini, N., Reeh, P.W., 2003. Muscarinic receptor subtypes mediating central and peripheral antinociception studied with muscarinic receptor knockout mice: a review. *Life Sci.* 72(18-19), 2047-2054.

Wilkerson, J.L., Gentry, K.R., Dengler, E.C., Wallace, J.A., Kerwin, A.A., Armijo, L.M., et al., 2012a. Intrathecal cannabidiol CB 2R agonist, AM1710, controls pathological pain and restores basal cytokine levels. *Pain.* 153, 1091–1106.

Wilkerson, J.L., Gentry, K.R., Dengler, E.C., Wallace, J.A., Kerwin, A.A., Kuhn, M.N., et al., 2012b. Immunofluorescent spectral analysis reveals the intrathecal cannabinoid agonist, AM1241, produces spinal anti-inflammatory cytokine responses in neuropathic rats exhibiting relief from allodynia. *Brain Behav.* 2, 155–177.

Williams, D.K., Wang, J., Papke, R.L., 2011. Positive allosteric modulators as an approach to nicotinic acetylcholine receptor-targeted therapeutics: Advantages and limitations. *Biochem. Pharmacol.* 82, 915–930.

Yaksh, T.L., Dirksen, R., Harty, G.J., 1985. Antinociceptive effects of intrathecally

injected cholinomimetic drugs in the rat and cat. *Eur J Pharmacol.* 117(1), 81-88.

ÖZGEÇM

1. KİMLİK :

Adı, soyadı: Deniz Ba da

Doğum yeri ve tarihi: Bursa, 1979

Medeni hali: Evli, 1 çocuklu

Adresi: Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, Nilüfer, Bursa

Telefon: +90(224) 2954422

e-posta: dbagdas@uludag.edu.tr

2. EĞİTİM ÖYKÜSÜ:

İlkokul: 1985-1990; Mithatpaşa İlkokulu, Bursa

Ortaokul: 1990-1993; Bursa Kız Lisesi, Bursa

Lise: 1993-1997; Bursa Erkek Lisesi, Bursa

Lisans: 1997-2002; Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bursa

Ön Lisans: 2003-2005; İktisadi ve İdari Programlar-Halkla İlişkiler Programı, Anadolu Üniversitesi, Açıköğretim Fakültesi, Eskişehir

Yüksek Lisans: 2007-2009; Felsefe-İnsan, Toplum ve Felsefe Programı, Uludağ Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Bursa

Doktora: 2003-2008; Veteriner-Farmakoloji ve Toksikoloji Programı, Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa

3. MESLEK DENEYİMLERİ :

2015-halen Doktora Sonrası Farmakolojik Araştırmalar, Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bursa

2013-2015 Doktora Sonrası Farmakolojik Araştırmalar, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Medicine, Virginia Commonwealth University, USA

2008-2013 Doktora Sonrası Farmakolojik Ara tırmalar, Uluda Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Yeti tirme Uygulama ve Ara tırma Merkezi, Bursa

2003-2008 Doktora Tezi Deneysel Çalışmaları, Uluda Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Bursa

4. DOKTORA TEZ :

“Deneysel nflatuvar Ar ı Modelinde CDP-Kolinin Analjezik Etkisi ve Etki Mekanizması”, Uluda Üniversitesi Sa lık Bilimleri Enstitüsü, Bursa (2008). Danı manlar: Prof. Dr. Mine Sibel GÜRÜN, Prof. Dr. Songül SONAL

5. PROJELER:

1. “Alfa 7 nikotinik reseptör agonisti bile iklerin analjezik ve antiinflatuvar etkilerinin de erlendirilmesi”, (TÜB TAK – Yurt D ı Doktora Sonrası Ara tırma Programı; Proje no: 1059B191300388, **Yürütücü**)
2. “Eri kin erkek sıçanlarda uzun süreli diyet kısıtlaması ile birlikte uygulanan Beta Glukanın biyokimyasal parametreler ile hormon düzeyleri üzerine etkisi”, (Uluda Üniversitesi – BAP; Proje no: KUAP(V) 2013/11, Yardımcı Ara tırıcı)
3. “Maropitantın tek ba ına veya siklofosamid ile birlikte uygulandı ında olası genotoksik etkilerin farelerde belirlenmesi”, (Uluda Üniversitesi – BAP; Proje no: HDP(V)-2013/21, Yardımcı Ara tırıcı)
4. “Sa lıklı ve diyabetik sıçanlarda klorojenik asidin flap ya ayabilirli i üzerine etkisi”, Uluda Üniversitesi – BAP; Proje no: KUAP(T)-2012/37, **Yürütücü**)
5. “Klorojenik asidin sa lıklı ve diyabetik sıçanlarda yara iyile mesi üzerine etkisi”, (Uluda Üniversitesi – BAP; Proje no: HDP(T)-2012/33, **Yürütücü**)
6. “Sıçanlarda Okzalipatin’in neden oldu u nöropatik a rıda CDP-kolin’in etkisi ve etki mekanizması”, (Uluda Üniversitesi – BAP; Proje no: BAP HDP(T)-2012/27, Yardımcı Ara tırıcı)
7. “Merkezi yolla uygulanan CDP-Kolinin analjezik etkisinde aracılı ı olan beyin bölgelerinin tanımlanması”, (Uluda

Üniversitesi – BAP; Proje no: HDP(T)-2012/8, Yardımcı Ara tırıcı)

8. “Yüksek fruktozlu mısır urubu tüketiminin obezite ve pankreas kanseri olu umuna etkisinin ara tırılması”, (Uluda Üniversitesi – BAP; Proje no: UAP(Z)-2011/65, Yardımcı Ara tırıcı)
9. “Altın nanopartiküllerin kanser hücre hatlarında sitotoksik ve genotoksik etkileri ile radyasyon duyarlılı ı üzerindeki etkilerinin in vitro yöntemler kullanılarak ara tırılması”, (Uluda Üniversitesi – BAP; Proje no: UAP(F)-2011/80, Yardımcı Ara tırıcı)
10. “Ya lı ve genç sıçanlardan hazırlanmı beyin dilimlerinde anoksi ve benzeri ko ulların neden oldu u S100B, LDH salıverilmesinin kar ıla tırılması”, (Uluda Üniversitesi – BAP; Proje no: HDP(T)-2011/26, Yardımcı Ara tırıcı)
11. “Glycyl-Glutamine ve CDP-kolin kombinasyonunun akut, inflamatuvar ve nöropatik a rıdaki analjezik etkisi ve etki mekanizmasının incelenmesi”, (Uluda Üniversitesi – BAP; Proje no: T(U)-2009/9, Yardımcı Ara tırıcı)
12. “II. Yıldızlara Do ru Gökbilim Okulu”, (TÜB TAK – Do a E itimi ve Bilim Okulları; Proje no: 111B122, **Yürütücü**)
13. “Yıldızların Altında Gökbilim Kampı ve Yıldızlara Do ru Gökbilim Okulu”, (TÜB TAK – Do a E itimi ve Bilim Okulları; Proje no: 108B085, **Yürütücü**)

6. BURSLAR ve ÖDÜLLER:

- TÜB TAK 2219 – Yurt D ı Doktora Sonrası Ara tırma Bursu, 2013 (1 yıl süreli)
Virginia Commonwealth University, School of Medicine, Department of Pharmacology and Toxicology – Doktora Sonrası Ara tırma Bursu, 2014 (1 yıl süreli)
The Postdoctoral Scholar Award - 2015 (Virginia Commonwealth University, School of Medicine, Department of Pharmacology and Toxicology) – Doktora Sonrası Yılın Ara tırmacısı Ödülü
Kongre ve Seyahat Deste i – “European Federation of IASP Chapters-EFIC 2011” Hamburg, Almanya
Kongre ve Seyahat Deste i – “Experimental Biology 2015” Boston, A.B.D.

Poster mansiyon – “5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress” 2014, Isparta, Türkiye
Poster ikincili i – “Uluda Üniversitesi III. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri”, 2013, Bursa, Türkiye
Poster birincili i – “Uluda Üniversitesi II. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri”, 2012, Bursa, Türkiye
Birincilik – “Uluda ’ın Zirvesindekiler Ö renci Ö dül Töreni – Bilim ödülleri kategorisi”, 2012, Bursa, Türkiye

7. ÜYEL KLER:

Türk Farmakoloji Derne i (2007 - halen)
Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derne i (2007 - halen)
The International Association for the Study of Pain (2014 - halen)
The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics (ASPET) (2014 - halen)

8. YABANCI D L:

ngilizce: yi (ÜDS 75)

YAYIN L STES

SCIENCE CITATION INDEX-EXPANDED KAPSAMINDAK DERG LERDE YER ALAN ARA TIRMA MAKALELER

1. **Bagdas D**, Wilkerson JL, Kulkarni A, Toma W, AlSharari S, Gul Z, Lichtman AH, Papke RL, Thakur GA, Damaj MI. The 7 nicotinic receptor dual allosteric agonist and positive allosteric modulator GAT107 reverses nociception in mouse models of inflammatory and neuropathic pain. *British Journal of Pharmacology* 2016 (in press)
2. Wilkerson JL, Ghosh S, **Bagdas D**, Mason BL, Crowe MS, Hsu K, Wise LE, Kinsey SG, Damaj MI, Cravatt BF, Lichtman AH. Diacylglycerol lipase beta inhibition reverses nociceptive behavior in mouse models of inflammatory and neuropathic pain. *British Journal of Pharmacology* 2016 (in press)
3. **Bagdas D**, Muldoon PP, AlSharari S, Carroll FI, Negus SS, Damaj MI. Expression and pharmacological modulation of visceral pain-induced conditioned place aversion in mice. *Neuropharmacology*. 102:236-243, 2016.

4. **Bagdas D**, AlSharari SD, Freitas K, Tracy M, Damaj MI. The role of 5 nicotinic acetylcholine receptors in mouse models chronic inflammatory and neuropathic pain. *Biochemical Pharmacology*, 97(4):590-600, 2015.

5. **Bagdas D**, Targowska-Duda KM, López JJ, Perez EG, Arias HR, Damaj MI. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of 3-furan-2-yl-N-p-tolyl-acrylamide (PAM-2), a positive allosteric modulator of 7 nicotinic acetylcholine receptors, in mice. *Anesth Analg*. 121(5):1369-1377, 2015.

6. **Bagdas D**, Cam Etoz B, Gul Z, Ozyigit MO, Cinkilic N, Inan Ozturkoglu S, Isbil Buyukcoskun N, Ozluk K, Gurun MS. Chlorogenic Acid enhances abdominal skin flap survival based on superficial inferior epigastric artery in nondiabetic and diabetic rats. *Annals of Plastic Surgery*, 2015 (In press) DOI: 10.1097/SAP.0000000000000313

7. Papke RL*, **Bagdas D***, Kulkarni AR, Gould T, AlSharari SD, Thakur GA, Damaj MI. The analgesic-like properties of the alpha7 nAChR silent agonist NS6740 is associated with non-conducting conformations of the receptor. *Neuropharmacology*. 91C:34-42, 2015. *both first author

8. **Bagdas D**, Cam Etoz B, Gul Z, Ziyank S, Inan S, Gul NY, Topal A, Cinkilic N, Tas S, Ozyigit MO, Turacozen O, Gurun MS. Enhanced antioxidant defense may induce beneficial effects on wound healing in diabetic rats: an example treatment with Chlorogenic acid. *Food Chem Toxicol*. 81: 54-61, 2015.

9. Vatan O, **Bagdas D**, Cinkilic N, Wehrend A, Ozalp RG. Genotoxic and cytotoxic effects of the aglepristone, a progesteron antagonist, in mid-gestation pregnancy termination in rabbits. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University (Kafkas Univ Vet Fak Derg)*. 21(2):241-246, 2015.

10. **Bagdas D**, Muldoon PP, Zhu AZX, Tyndale RF, Damaj MI. Effects of methoxsalen, a CYP2A5/6 inhibitor, on nicotine dependence behaviors in mice. *Neuropharmacology*, 85C:67-72, 2014.

11. **Bagdas D**, Gul NY, Topal A, Tas S, Ozyigit MO, Cinkilic N, Gul Z, Cam Etoz B, Ziyankok S, Inan Ozturkoglu S, Turacozen O, Gurun MS. Pharmacologic overview of systemic Chlorogenic Acid therapy on experimental wound healing. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 387(11):1101-16, 2014.
12. **Bagdas D**, Ozboluk HY, Cinkilic N, Gurun MS. Antinociceptive effect of Chlorogenic Acid in rats with painful diabetic neuropathy. *J Med Food*. 17(6):730-732, 2014.
13. **Bagdas D**, Cam Etoz B, Inan Ozturkoglu S, Cinkilic N, Ozyigit MO, Gul Z, Isbil Buyukcoskun N, Ozluk K, Gurun MS. Effects of systemic Chlorogenic Acid on random-pattern dorsal skin flap survival in diabetic rats. *Biol Pharm Bull*. 37(3): 361–370, 2014.
14. Altinel Y, Taspınar E, Özgüç H, Öztürk E, Akyıldız EÜ, **Bagdas D**. The protective effect of ClinOleic against post-surgical adhesions. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 20(1): 1-6, 2014.
15. **Bagdas D**, Yucel-Ozboluk H, Orhan F, Kanat O, Isbil-Buyukcoskun N, Gurun MS. Role of central arginine vasopressin receptors in the analgesic effect of CDP-choline on acute and neuropathic pain. *Neuroreport*. 24(17):941-946, 2013.
16. Kanat O, **Bagdas D**, Ozboluk HY, Gurun MS. Preclinical evidence for the antihyperalgesic activity of CDP-choline in oxaliplatin-induced neuropathic pain. *J BUON*. 18(4):1012-1018, 2013.
17. **Bagdas D**, Cinkilic N, Ozboluk HY, Ozyigit MO, Gurun MS. Antihyperalgesic activity of chlorogenic acid in experimental neuropathic pain. *J Nat Med*. 67(4):698-704, 2013.
18. Erdem MG, Cinkilic N, Vatan O, Yilmaz D, **Bagdas D**, Bilaloglu R. Genotoxic and anti-genotoxic effects of vanillic acid against mitomycin C-induced genomic damage in human lymphocytes in vitro. *Asian Pac J Cancer Prev*. 13(10):4993-4998, 2012.
19. **Bagdas D**, Sonat F, Hamurtekin E, Sonat S, Gurun MS. The antihyperalgesic effect of CDP-choline in neuropathic and inflammatory pain model. *Behav Pharmacol*. 22(5-6):589-598, 2011.

20. Hamurtekin E, **Bagdas D**, Gurun MS. Possible involvement of supraspinal opioid and GABA receptors in CDP-choline-induced antinociception in acute pain models in rats. *Neurosci Lett*. 420(2):116-121, 2007.

21. Oruc HH, Yilmaz R, **Bagdas D**, Ozyigit MO. Cyanide poisoning deaths in dogs. *J. Vet. Med. A Physiol Pathol Clin Med*. 53, 509-510, 2006.

ULUSAL/ULUSLARARASI K TAPLARDA BÖLÜMLER

1. **Bagdas D**, Cam B, Gul Z, Cinkilic N, Gurun MS. Roles of Chlorogenic Acid on Inflammation, Pain and Wounds. In: Farah A (ed) *Chlorogenic acids: Natural Occurrence, Biological Effects and Potential Applications*. Nova Science Publishers, USA, 2016 (in press).
2. Damaj MI, Freitas K, **Bagdas D**, Flood P. Nicotinic receptors as targets for novel analgesics and anti-inflammatory drugs. In: Kenny PJ and Lester RAJ (eds) *Nicotinic Receptors*, in Series: *The Receptors*, Vol. 26, USA, Springer, 2014 (ISBN 978-1-4939-1166-0).

SCIENCE CITATION INDEX-EXPANDED KAPSAMINDAKI DERGİLERDE YER ALAN VE ULUSLARARASI TOPLANTILARDA SUNULAN POSTER ÖZETLER

1. **Bagdas D**, Cam Etoz B, Gul Z, Ziyankok S, Inan S, Gul NY, Topal A, Cinkilic N, Tas S, Ozyigit MO, Turacozen O, Gurun MS. Enhanced antioxidant defense by Chlorogenic acid accelerates cutaneous wound healing in diabetic rats. 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels. *Cell Membranes and Free Radical Research*, Vol 6., Number 1, pp 352, September 9-12, 2014 Isparta, Turkey, (Poster tebli).
2. **Bagdas D**, Ak Sonat F, Ozboluk Yucel H, Unal CB, Millington WR, Gurun MS. Glycyl-L-Glutamine Potentiates the Analgesic Effect Evoked by Morphine in Neuropathic Pain Model in Rats. 7th Congress of the European Federation of IASP Chapters (EFIC), European Journal

of Pain Supplements: Abstracts of Pain in Europe VII, pp 205-206, September 21 – 24, 2011, Hamburg, Germany, (Poster tebli).

ULUSAL / ULUSLARARASI TOPLANTILARDA SUNULAN POSTER ÖZETLER

1. **Bagdas D**, Wilkerson JL, Lichtman AH, Thakur GA, Damaj MI. Effects of GAT107, an Allosteric Agonist and Positive Modulator of $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors, on Chronic Inflammatory and Neuropathic Pain in Mice. Experimental Biology 2015, March 28th - April 1st, 2015, Boston, MA, USA.

2. Gurun MS, Ulkan-Gurbuzoglu MK, **Bagdas D**, Gok-Yurtseven D, Eyigor O. The contribution of Nucleus Raphe Magnus to the analgesia produced by centrally administered CDP-choline. 45th Annual Meeting, Society of Neuroscience, October 17th - 21st, 2015, Chicago, IL, USA.

3. AlSharari S, **Bagdas D**, Akbarali H, Lichtman P, Raborn E, Cabral G, Carroll I, McGee E, Damaj MI. Sex Differences and Drug Dose Influence the Role of the $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor in the Mouse Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis Model. 80th Annual Scientific Meeting of the American-College-of-Gastroenterology, October 16th - 21st, 2015, Honolulu, HI, USA.

4. Kulkarni A, **Bagdas D**, Papke R, Damaj MI, Thakur G. Allosteric Modulation of $\alpha 7$ nAChRs: Novel Pharmacotherapy for Treating Chronic/Neuropathic Pain and Cognitive Dysfunction. 2015 American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS) NERDG Annual Meeting, April 16th, 2015, Farmington, Connecticut.

5. **Bagdas D**, AlSharari SD, Freitas K, Tracy M, Damaj MI. The involvement of $\alpha 5$ nicotinic acetylcholine receptors in experimental inflammatory and neuropathic pain models. 3rd Annual Research Symposium and Poster Session: Virginia Commonwealth University, September 17th, 2014, Richmond, VA, USA.

6. Kulkarni A, **Bagdas D**, Papke R, Damaj MI, Thakur G. GAT-107, a novel

ago-allosteric $\alpha 7$ receptors: Novel Pharmacotherapy for Treating Chronic/Neuropathic Pain. Wellcome Trust Conference on Nicotinic Acetylcholine Receptors, July 23th – 26th, 2014, Churchill College, Cambridge, UK.

7. Dagdelen A, Ozyigit MO, Cam Etoz B, Cinkilic N, **Bagdas D**. Wound healing effects of Oriental Sweet Gum Storax in non-diabetic and diabetic rats. American Council for Medicinally Active Plants 5th Annual Conference, pp 15-16, June 15th – 18th, 2014, Fargo, North Dakota, USA.

8. **Bagdas D**, Muldoon PP, Tyndale RF, Damaj MI. Effects of methoxsalen, a CYP2A5/6 inhibitor, on nicotine dependence behaviors in mice. Central Virginia Chapter Society for Neuroscience (CVCSN) Fall Poster session: Virginia Commonwealth University, November 22nd, 2013, Richmond, VA, USA.

9. Gurun MS, **Bagdas D**, Ak Sonat F. Effect of Intracerebroventricular administration of CDP-Choline In Neuropathic Pain: Involvement $\alpha 7$ Nicotinic, Opioid and Gaba B Receptors. The 13th World Congress on Pain, Abstracts of the 13th World Congress on Pain (CD, ISBN: 978-0-931092-88-6), August 30th – September 2nd, 2010, Montreal, Canada.

10. Ülkan KM, **Ba da D**, Gok-Yurtseven D, Aydın S, Eyigor O, Gürün MS. Serebral ventriküle uygulanan CDP-kolin'in analjezik etkisinde nukleus rafe magnusun rolü. Türk Farmakoloji Derne i, 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Programı ve Bildiri Özet Kitabı, sf 338-339, 7 – 10 Eylül 2015, Ankara, Türkiye.

11. Gül Z, **Ba da D**, Büyükuysal RL. Klorojenik asidin oksidatif stres üzerine nöroprotektif etkisi: resveratrol ile kar ıla tırılması. 13. Ulusal Sinirbilim Kongresi. Kongre Programı ve Bildiri Özet Kitabı, sf 211, 30 Nisan - 3 Mayıs 2015, Konya, Türkiye.

12. **Ba da D**, Yücel-Özbölük H, Çinkılıç N, Gürün MS. Klorojenik asidin sıçanlarda diyabetik nöropatik a rı modelinde antihiperalezik etkisi. Türk Farmakoloji Derne i, 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Programı

ve Bildiri Özet Kitabı, sf 376, 4 – 7 Kasım 2013, Antalya, Türkiye.

13. **Ba da D**, Çam Etöz B, Özyi it MO, Çinkiliç N, Gül Z, nan Öztürko lu S, bil Büyükco kun N, Özlük K, Gürün MS. Klorojenik asidin diyabetik sıçanlarda olu turulan aksiyel paternli epigastrik cilt flebi modelinde flap ya ayabilirli i üzerine etkisi. Türk Farmakoloji Derne i, 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Programı ve Bildiri Özet Kitabı, sf 378-379, 4 – 7 Kasım 2013, Antalya, Türkiye.

14. Yücel-Özbölük H, **Ba da D**, Gök-Yurtseven D, Gürbüzö lu KM, Gürün MS. Nöropatik a rı modelinde Amigdala'ya uygulanan CDP-kolin'in analjezik etkisinin tanımlanması. Türk Farmakoloji Derne i, 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Programı ve Bildiri Özet Kitabı, sf 328-329, 4 – 7 Kasım 2013, Antalya, Türkiye.

15. **Ba da D**, Çinkiliç N, Gürün MS. Bir fincan kahveye ne dersiniz? Uluda Üniversitesi III. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Poster Sunumları, sf 318, 12-14 Kasım 2013, Bursa, Türkiye (Poster tebli).

16. Yücel-Özbölük H, **Ba da D**, Gök-Yurtseven D, Aydın S, Eyigör Ö, Gürün MS. Nöropatik a rı modelinde Amigdala'ya uygulanan CDP-kolin'in analjezik etkisinin tanımlanması. Uluda Üniversitesi III. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Poster Sunumları, sf 317, 12-14 Kasım 2013, Bursa, Türkiye (Poster tebli).

17. Yalçın E, Keser GO, **Ba da D**, Atlı F, Korkmaz . Çocuk-köpek etkile iminin bir proje ile irdelenmesi. Uluda Üniversitesi II. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Poster Sunumları, sf 269, 13-15 Kasım 2012, Bursa, Türkiye (Poster tebli).

18. Çopur ÖU, Evrensel T, Tarım ÖF, Sarandöl E, Ercan , Kaya E, Sönmez G, Uyla er V, Tamer CE, ncedayı B, **Ba da D**, Sarkut P, Suna S, Sinir GÖ, nan-Öztürko lu S. Yüksek Fruktozlu Mısır urubu Tüketiminin Obezite ve Pankreas Kanseri Olu umuna Etkisinin Ara tırılması. Uluda Üniversitesi II. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, Poster Sunumları, sf 159, 13-15 Kasım 2012, Bursa, Türkiye (Poster tebli).

19. Etöz BÇ, **Ba da D**, Özyi it MÖ, Özlük K, Büyükco kun N, Etöz A. Aksiyel paternli epigastrik cilt flebinde adrenomedullin (ADM) ve glukagon like peptid-1 (GLP-1) enjeksiyonunun flap ya ayabilirli ine ve kanlanması üzerine olan olumlu etkilerinin mekanizmaları. Türk Fizyolojik Bilimler Derne i, 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Özet Kitabı, sf 127, 25 – 29 Eylül 2012, Trabzon, Türkiye.

20. Özbölük HY, Uslu G, **Ba da D**, Oral S, Göktalay G, Gürün MS. izofreninin biyolojik belirteçlerinden ön uyaran aracılı inhibisyon (ÖUA) testine göre gruplandırılmı sıçanların a rı duyarlılı ı açısından de erlendirilmesi. Türk Farmakoloji Derne i, 21. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Kitabı, sf 416, 19 – 22 Ekim 2011, Eski ehir, Türkiye.

21. **Ba da D**, Ak Sonat F, Gürün MS. Kronik nöropatik a rı modeli uygulanan sıçanlarda intraserebroventriküler yolla uygulanan CDP-Kolin'in antihiperalezik etkisi. Türk Farmakoloji Derne i, 20. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Programı ve Bildiri Özet Kitabı, sf 312, 4 – 7 Kasım 2009, Antalya, Türkiye.

22. **Ba da D**, Hamurtekin E, Gürün MS. Merkezi yolla uygulanan CDP-Kolinin sıçanlarda akut inflamatuvar a rı modelinde antihiperalezik etkisi ve etki mekanizması. Türk Farmakoloji Derne i, 19. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Programı ve Bildiri Özet Kitabı, sf 271, 24 – 27 Ekim 2007, Trabzon, Türkiye.

ULUSAL / ULUSLARARASI TOPLANTILARDA YAPILAN SÖZLÜ SUNUMLAR

1. **Ba da D**, Muldoon P, AlSharari S, Carroll FI, Negus SS, Damaj MI. Farelerde visseral a rı modeli ile olu turulan aversif ko ullu yer tercihi modelinin karakterizasyonu ve farmakolojik modülasyonu. Türk Farmakoloji Derne i, 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Programı ve Bildiri Özet Kitabı, sf 151-152, 7 – 10 Eylül 2015, Ankara, Türkiye.
2. Gül Z, **Ba da D**, Büyükuysal RL. Sıçan kortikal dilimlerinde iki farklı model

ile olu turulan oksidatif strese kar ı klorojenik asit ve metabolitlerinin koruyucu etkilerinin kar ıla tırılması. Türk Farmakoloji Derne i, 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Programı ve Bildiri Özet Kitabı, sf 100, 7 – 10 Eylül 2015, Ankara, Türkiye.

3. **Ba da D**, Gül NY, Topal A, Ta S, Özyi it MÖ, Çinkılıç N, Gül Z, Etöz BÇ, Zıyanok S, nan Öztürko lu S, Turaçözen Ö, Gürün MS. Klorojenik asidin sıçanlarda yara iyile mesi üzerine etkisi. IV. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi, Kongre Kitabı, sf 38-39, 11 – 14 Eylül 2013, Elazı , Türkiye.
4. Gürün MS, **Ba da D**, Sonat FA, Özbölük HY, Ünal CB, Millington WR. Sıçan Nöropatik A rı Modelinde Morfinin Antihiperalezik Etkisi Glycyl-L-Glutamin Tarafından Potansiye Edilmektedir: Metabotropik Glutamat Reseptörlerinin Rolü. Türk Farmakoloji Derne i, 21. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Kitabı, sf 115, 19 – 22 Ekim 2011, Eski ehir, Türkiye.
5. **Ba da D**, Özkul T. İlk insandan modern insana hayvana bakı : sosyolojik açıdan bir inceleme. II. Ulusal Veteriner Hekimli i Tarihi ve Mesleki Etik Sempozyumu, Bildiriler Kitabı, sf 247-254, 24 – 26 Nisan 2008, Konya, Türkiye.
6. **Ba da D**, Hamurtekin E, Gürün MS. ntraserebroventriküler yolla uygulanan CDP-Kolinin inflamatuvar a rı modelindeki analjezik etkisi. kinci Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi, Kongre Bildiri Kitabı, sf 50-51, 6 – 8 Eylül 2007, Samsun, Türkiye.
7. Oruç HH, Yılmaz R, **Ba da D**, Özyi it MÖ. Erdekte köpeklerde ölümle sonuçlanan siyanür ve arsenik Zehirlenmeleri. III. Ulusal Küçük Hayvan Hekimli i Kongresi, Kongre Bildiri Özetleri, sf 186, 18 – 21 Mayıs 2006, Bursa, Türkiye.

Yenido an Sıçanlarda intratekal Yolla Uygulanan Levobupivakainin Spinal Toksisitesinin ve Uzun Dönem Spinal Refleks Fonksiyonlarının De erlendirilmesi

Yrd. Doç. Dr. Emre Hamurtekin

Do u Akdeniz Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, KKTC

G R ve AMAÇ

Spinal anestezi, günümüzde yenido anlarda ve pediatrik di er ya gruplarında başarıyla uygulanmaktadır (Walker ve ark., 2012). Ameliyat sonrası apneye yatkınlı ı olan ve birlikte solunum sıkıntısı olan premature yenido anlarda nöroaksiyel anestezi uygulamasının genel anestezi uygulamaları ile kar ıla tırıldı ında avantajları bulunmaktadır (Walker ve ark., 2012 ve Craven ve ark.; 2003). 7 günlük sıçanlarda yapılan bir çalı mada uzamı genel anestezi beyin korteksinde ve omurilikte apoptosiste artı a yol açarken, intratekal yolla uygulanan bupivakainin bu patolojik de i ikliklere yol açmadı ını göstermi tir (Yahalom ve ark.; 2011). Bununla birlikte, eri kin ya grubundaki deney hayvanlarında uygulanan farklı lokal anestetik ajanlar, çe itli nörotoksik etkilere neden olmu tur (Kirihara ve ark., 2003 ve Takenami ve ark.; 2012). Bu nedenle erken ya dönemlerinde spinal yolla uygulanan ajanların güvenilirli ini ortaya koymayı amaçlayan klinik-öncesi güvenilir deneysel modellere ve daha fazla bilgiye ihtiyaç bulunmaktadır.

Bupivakain'in S(-) enantiomeri olan levobupivakain, yenido anlarda ve çocuklarda etkili spinal anestezi olu turabilen bir lokal anestetik ajandır (Kokki ve ark, 2004 ve Frawley ve ark, 2009). intratekal yolla uygulanan levobupivakain'in bazı eri kin ya grubu deneysel hayvan modellerinde bupivakain ile kar ıla tırıldı ında daha az nörotoksik etkiler ortaya çıkardı ı gösterilmi tir (Takenami ve ark.; 2012).

Bu amaçla daha önce laboratuvarımızda geli tirilmi olan deneysel hayvan modeli kullanılarak, intratekal morfin, klonidin ve ketaminin omurilik dokusundaki toksik etkileri ara tırılmı tır (Westin ve ark, 2010, Walker ve ark, 2010 ve 2012). Bu çalı mamızda da aynı deneysel model kullanılarak, yenido an sıçanlarda intratekal levobupivakainin uygulanmasını takiben olası spinal toksisitesinin ara tırılması hedeflenmi tir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deney hayvanları: Hamile Sprague-Dawley sıçanların do um yaptıkları zaman kaydedilip, 3 (P3) ve 7 (P7) günlük sıçanlar her iki grupta e it sayıda erkek ve di i olacak ekilde rastgele gruplandırıldı. 3 günlük sıçan yavrularının a ırlıkları 8-11 gram, 7 günlük sıçan yavrularının a ırlıkları ise 12-18 gramdı. Tüm deneysel giri imlerde sıçan yavruları, vücut sıcaklıklarının dü memesi ve mümkün oldu unca sabit tutulması amacıyla ısıtıcı yastıkların üzerinde tutuldu. Deneysel süreçlerde tüm yavruların anneden ayrı kaldı ı süre minimum düzeyde tutulmaya çalı ıldı. Geç dönem spinal fonksiyonların de erlendirildi i çalı malarda ise 35 günlük sıçanlar (P35) kullanıldı. Tüm deneysel çalı malar IACUC (Institutional Animal Care and Use Commitee), California, USA ve United Kingdom Animal Act 1986, UK etik kurallar protokollerine uygun yapılmı tır.

intratekal enjeksiyonlar ve ilaçlar:

intratekal enjeksiyonlar perkutanöz yolla yapılmı tır. Buna göre, intratekal enjeksiyonlar burun yoluyla uygulanan

isofluran (%3) anestezisi altında P3 ve P7 sıçanların L4-L5 veya L5-L6 intervertebral aralıklarından bir Hamilton mikroenjektörüne bağlı 30G iğne kullanılarak yapıldı. P3 ve P7 sıçanlara %0.5 levobupivakain HCl veya steril tuzlu su 0.5 µl/g hacminde uygulandı (Westin ve ark., 2010).

Davranısal ölçümler:

A. Akut etkilerin değerlendirilmesi: P3 ve P7 sıçanların mekanik a rı e ikleri 0.4 - 15 gram arasında de i en von Frey filamentleri kullanılarak test edildi. Levobupivakain injeksiyonu yapılan sıçanlar anesteziden çıkmalarını takiben gözlemlendi ve tam motor blok geli en P3 ve P7 sıçanlarda mekanik a rı e i i de erlendirildi. Buna göre, anestezinin etkisi geçtikten sonra P3 ve P7 sıçanların arka pençesinin dorsal kısmına her von Frey filamentinin bir saniye aralıklarla 5 kez uygulanmasını takiben pençe çekme refleksleri sayıldı (Walker ve ark., 2005). Her Von Frey filamentini için bu uygulama yapıldı. Cut-off de eri (maximum a rılı uyaran iddeti) P3 sıçanlar için 10 gram, P7 sıçanlar için ise 15 gram olarak belirlendi. P3 ve P7 sıçanların mekanik a rı e ikleri kontrol ölçümlerini takiben levobupivakain veya tuzlu su injeksiyonu sonrası 15, 30, 45 ve 60. dakikalarla 24. saat veya 7. günde ölçüldü.

B. P35 sıçanlarda spinal refleks fonksiyonlarının de erlendirilmesi: Levobupivakain veya steril tuzlu su alan P3 ve P7 sıçanların bazılarında, do umlarının 5.haftasında (P35) spinal fonksiyonları açısından de erlendirilmek üzere bazı ölçümler alındı. Bunlar; termal ve mekanik pençe a rı e ikleri ile fleksör reflex EMG ölçümleri eklende sıralanabilir.

a) Termal ve mekanik pençe çekme testi: Termal pençe çekme testi, sabit sıcaklıktaki (30 °C) cam yüzey üzerindeki ayrı pleksiglass kafeslerin içindeki P35

sıçanların arka pençesinin plantar yüzüne radyan ısı kayna ı ile termal a rılı uyaran verilmesini takiben sıçanların pençesini çekme sürelerinin saniye cinsinden kaydedilmesi ile yapıldı. Termal pençe çekme e ikleri üç ölçümün ortalaması alınarak kaydedildi. Mekanik pençe çekme testi ise elektronik von Frey cihazı (Dynamic Plantar Aesthesiometer) ile sıçanların arka pençelerinin plantar yüzüne 0 – 50 gram arasında de i en kuvvetin uygulanması ve üç uygulamanın ortalaması alınarak yapıldı (Walker ve ark., 2012).

b) Fleksör reflex EMG ölçümleri: P35 sıçanların duysal-motor reflekslerinin ölçülmesi amacıyla biceps femoris kasından elektromyografi kayıtları alındı. Bu amaçla, halotan anestezisi altında ve trakeal tüp aracılı ı ile mekanik ventile edilen sıçanlarda cilt insizyonunu takiben biceps femoris kasına bipolar EMG elektrodları yerle tirildi. Arka pençenin plantar yüzüne uygulanan mekanik uyaranlar sonrası (maksimum 180 gram) EMG kayıtları alındı (Walker ve ark., 2007 ve 2009).

C. P35 sıçanlarda Gait analizi: intratekal levobupivakain eneksiyonu alan P3 sıçanlardan bazıları 5. haftalık iken CatWalk® (Noldus, Hollanda) sisteminde de erlendirildi. Bu amaçla, di er uca yerle tirilen yiyece i almak için 60 cm uzunlu undaki cam yüzeyi yürüyerek geçen P35 sıçanların yürüyü leri CatWalk® 7.1.6 programı yardımıyla kaydedildi.

Histopatolojik analizler:

A. Omurilik dokularının hazırlanması: Sıçanların dokuları intratekal injeksiyonları takiben 24. saat veya 7.günde analiz edildi. Bu amaçla, sıçanlar intraperitoneal 100mg/kg pentobarbital injeksiyonunu takiben %4 paraformaldehid ile perfüze edildi. Laminektomi sonrası, mikroskop altında omurilik ve kauda equina dokuları

alınır, yine %4 paraformaldehid içinde post-fiksasyon yapıldı. Ertesi gün %30 sukroz içeren solusyona transfer edilen dokular +4 °C'de saklandı. Omuriliklerin lumbosakral kısımlarından 7-14 µm'lik kesitler alınarak slaytlara yerleştirildi ve -30 °C'de histopatolojik incelemeler için saklandı. Sinir kökü histopatolojik incelemeleri amacıyla sıçanların alınan kauda equina dokuları ise %2.5 glutaraldehid (0.1 M PB içinde) içine transfer edildi.

B. Aktive caspase-3: P3 ve P7 sıçanlarda, levobupivakain veya tuzlu su enjeksiyonu sonrası 24. saatte programlı hücre ölümü kaskadının son üyesi olan aktive caspase-3'ün immünohistokimyasal analizi yapıldı. Bu amaçla özetle, 1:100 tav an monoklonal aktive caspase-3 antiserumu ve 1:250 keçi anti-rabbit sekonder antiserumu kullanılarak ve uygun inkubasyonlar ile slaytlar hazırlandı. İlk mikroskopu altında her sıçandan en az dört kesit olacak şekilde caspase-3 immunoreaktif hücreler sayıldı.

C. Fluoro-Jade C: intratekal enjeksiyonları takip eden 24. saatte P3 ve P7 sıçanların 14 µm'lik omurilik kesitleri nöron dejenerasyonunun bir göstergesi olan Fluoro-Jade C boyaması yapılarak florasan mikroskop altında her sıçandan en az dört kesit olacak şekilde Fluoro-Jade C (+) hücreler sayıldı (Schmued ve ark., 2005).

D. Glial reaktivitenin incelenmesi: P3 ve P7 sıçanların 14 µm kalınlığında omurilik kesitleri intratekal enjeksiyon sonrası 7. günde, mikroglyal (iyonize kalsiyum bağlayan adaptör molekül-1; Iba-1) ve astrosit (glial fibriller asidik protein; GFAP) işaretleyicileri ile boyandı. Bu amaçla, kesitler 1:500 fare anti-glial fibriller asidik protein ve 1:1000 tav an anti-Iba-1 ile 48 saat inkübasyonu takiben, 1:250 keçi anti-mouse Alexa 555 ve 1:250 keçi anti-rabbit Alexa 488 ikincil florasan anti-serumlar

ile 2 saat inkübasyona bırakıldı. Her sıçandan en az dört kesit olacak şekilde florasan mikroskop altında uygun dalga boyu altında incelenerek Image Pro Plus (Media Cybernetics, USA) programı kullanılarak kesitlerin immüno-florasan yoğunluğu analiz edildi (Walker ve ark., 2012).

D. Hematoksilen-Eozin boyaması: 7 µm kalınlığında omurilik kesitleri intratekal enjeksiyon sonrası 24. saat ve 7. günde, nöron dejenerasyonu, nekroz ve inflamasyon gibi histopatolojik değişiklikleri analiz etmek amacıyla Hematoksilen-Eozin ile boyandı.

E. Sinir kökü histopatolojik analizi: P3 ve P7 sıçanların kauda equina dokusundan 1 µm kalınlığında omurilik kesitleri, intratekal enjeksiyon sonrası 24. saat ve 7. günde, sinir köklerindeki olası nörotoksik etkilerin incelenmesi amacıyla metilen blue-azure II ile boyandı, takiben ilk mikroskopu altında alınan görüntüler patolojik değişiklikler için analiz edildi (Myers ve ark., 2011).

statistiksel analizler: P3 ve P7 sıçanların mekanik algı uyarana pençe çekme yanıtları (0, 15, 30, 45, 60 dakika ve 24. saat) non-lineer regresyon analizi kullanılarak sigmoidal uyaran (uygulanan mekanik kuvvetin logaritmik olarak gram cinsinden derinliği) - yanıt (pençe çekme sayısı) ilişkisinde çizildi ve derinliğin orta noktası EF₅₀ (maksimum yanıtın %50'sini ortaya çıkaracak mekanik uyaran derinliği) olarak belirlendi. Levobupivakain ile tuzlu su, iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben Bonferonni testi kullanılarak, intratekal enjeksiyon sonrası 7. günde alınan mekanik algı uyaran ilişkileri ise unpaired two-tailed Student's t-test ile analiz edildi. P35 sıçanlarda ise mekanik ve termal algı ilişkileri ise tek yönlü ANOVA'yı takiben Bonferonni testi kullanıldı. EMG ölçümleri derinliği altında kalan (AUC) ilişkisinde verildi ve istatistiksel analizi için tek yönlü ANOVA kullanıldı.

Histopatolojik incelemelerde incelenen doku kesitlerinin her sıçan için ortalama de erleri hesaplandı ve two-tailed Mann-Whitney testi kullanılarak istatistiksel analizi yapıldı.

BULGULAR

P3 ve P7 sıçanlarda mekanik a rı e ikleri: Kontrol mekanik a rı e ik de erleri P3 sıçanlarda, P7 sıçanlara nazaran daha dü ük olmakla birlikte ($1.9\pm 0.2g$; $2.7\pm 0.3g$; $P<0.05$) levobupivakain ve tuzlu su grupları arasında istatistiksel bir anlamlılık bulunmadı. 15. dakika ölçümlerinde ise levobupivakain alan sıçanların mekanik a rı e ik de erleri P3 ve P7 sıçanlarda anlamlı derecede yükselme ti (P3: $11.3\pm 1.1g$; $2.0\pm 0.1g$; $P<0.001$ ve P7: $14.9\pm 1.6g$; $2.4\pm 0.2g$; $P<0.001$). P7 sıçanlarda 30. dakika ölçümlerinde de levobupivakain ve tuzlu su grupları arasında istatistiksel anlamlılık devam ederken ($5.3\pm 1.1g$; $2.8\pm 0.7g$; $P<0.05$), P3 sıçanlarda ölçüm alınan di er zaman aralıklarında istatistiksel bir anlamlılık bulunmadı. ntratekal enjeksiyon sonrası 7. gün ölçümlerinde her iki ya grubunda da a rı e ikleri yükselme ti olmakla birlikte levobupivakain ve tuzlu su grupları arasında anlamlılık bulunmadı (ekil 1 ve 2).

P35 sıçanlarda spinal refleks fonksiyonu: 35 günlük sıçanlarda mekanik ve termal pençe çekme e ikleri açısından P3 ve P7 sıçanlarda, levobupivakain veya tuzlu su alan gruplar arasında istatistiksel bir anlamlılık ortaya çıkmadı (mekanik pençe çekme e ikleri: $F_{1,11}=0.64$, $P=0.44$; termal pençe çekme e ikleri: $F_{1,11}=0.39$, $P=0.54$). Benzer ekilde EMG kayıtları e ri açısından da intratekal levobupivakain alan 35 günlük P3 ve P7 gruplarında, tuzlu su alan

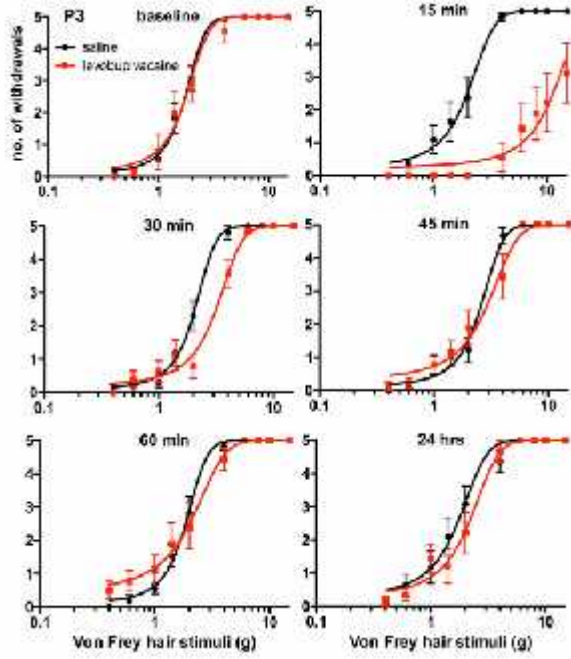
sıçanlara göre istatistiksel bir fark saptanmadı ($P=0.87$) (ekil 3A-D).

P35 sıçanlarda Gait analizi: 35 günlük sıçanlarda CatWalk® sistemi kullanılarak de erlendirilen gait analizinde, ölçülen tüm parametrelerde intratekal bupivakain ile tuzlu su alan gruplar arasında anlamlılık saptanmadı (Tablo 1).

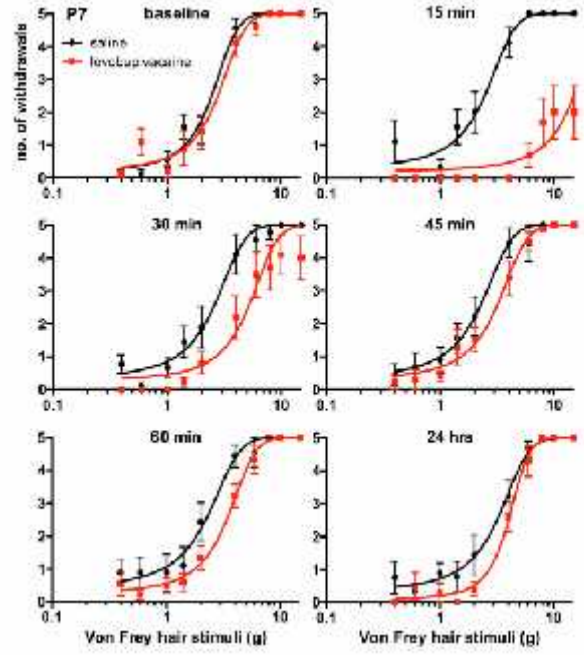
Apopitoz, nöronal dejenerasyon ve glial reaktivite: P3 sıçan grubunda apoptotik hücre sayısı, P7 sıçanlara nazaran daha yüksek olmakla birlikte, intratekal enjeksiyonu takiben 24. saatte ölçülen aktive caspase-3 pozitif hücre sayısı levobupivakain ve tuzlu su alan sıçanlarda anlamlı bir fark göstermedi (ekil 4A,B). Benzer ekilde Fluoro-Jade C pozitif hücre sayımları da tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya çıkarmadı (ekil 4C). Intratekal enjeksiyonu takiben 7. günde de erlendirilen mikrogial Iba-1 boyaması P7 sıçanların tuzlu su grubunda, levobupivakain grubuna nazaran daha yüksek görülmü iken ($P<0.05$), P3 sıçanlarda tedaviler arasında istatistiksel bir fark ortaya çıkmadı ($P=0.24$) (ekil 5A,B). Astroitik GFAP boyamasında da benzer ekilde levobupivakain ve tuzlu su enjeksiyonu alan sıçanlarda anlamlı bir fark görülmedi (P3: $P=1.0$; P7: $P=0.55$) (ekil 5C,D)

Omurilik ve kauda equinanın histopatolojik de erlendirilmesi: Omurilik kesitlerinin histopatolojik incelenmesinde, apoptotik hücreler erken ya grubu sıçanlarda (P3, enjeksiyon sonrası 24. saat) di er ya grubundakilere oranla daha fazla olmakla birlikte tedavi grupları arasında apoptoz, nekroz, inflamasyon ve gliosis açısından bir fark gözlemlenmemi tir. Sinir köklerinin histopatolojik incelenmesinde P3 ve P7 sıçanlarda, orta-derecede endonöral ödem ve erken ya gruplarında myelin olu umundaki artı nedeniyle fizyolojik

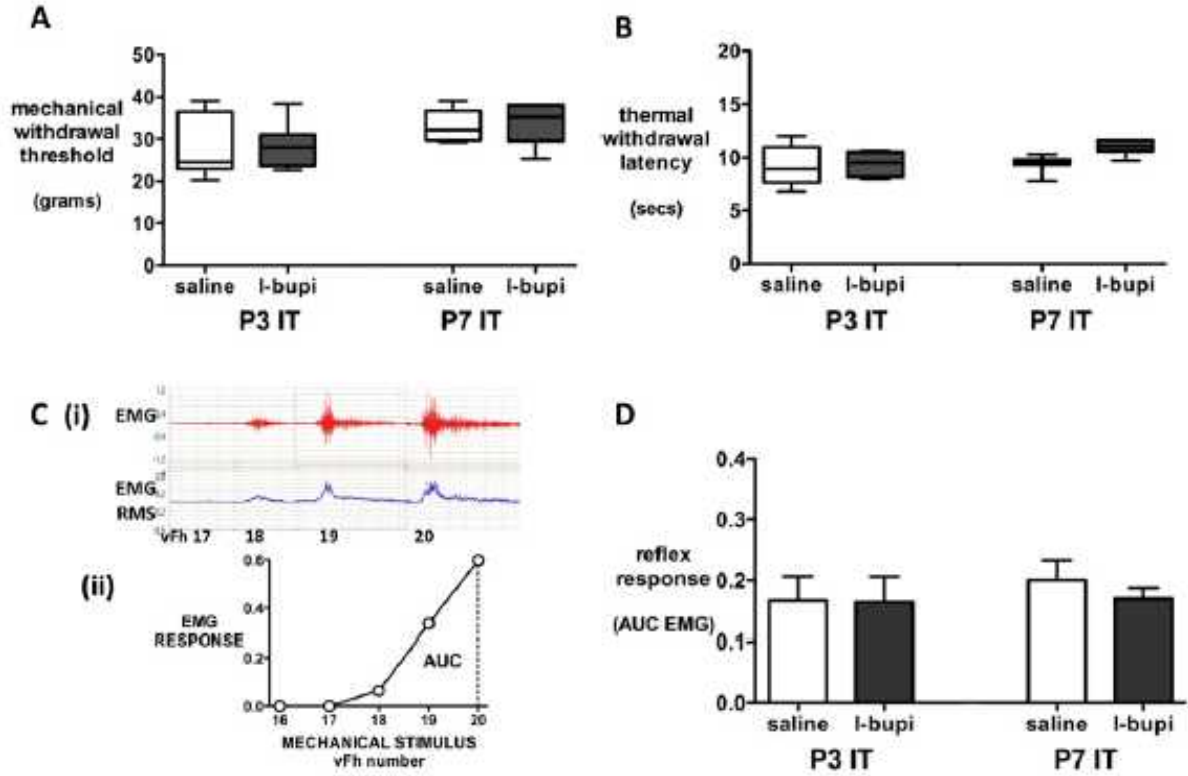
olarak de erlendirilen Schwann hücrelerinde hafif i me dında levobupivakain ve tuzlu su grupları arasında anlamlı bir fark görülmedi.



ekil 1: ntratekal %0.5 levobupivakain (n=9) veya steril tuzlu su (n=11) enjeksiyonunu takiben P3 sıçanlarda von Frey filamentleri ile de erlendirilen mekanik pençe çekme e ikleri. 15. dakika ölçümlerinde levobupivakain alan grubun a rı e ik de erleri (log EF₅₀: 11.3g) tuzlu su (log EF₅₀: 2.0g) alan gruba nazaran istatistiksel olarak anlamlı ölçüldü.



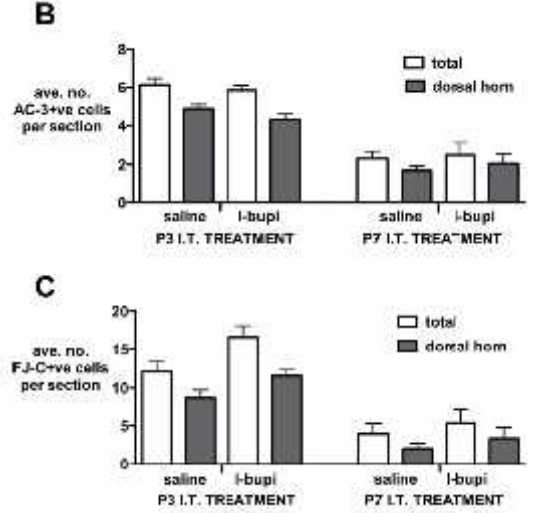
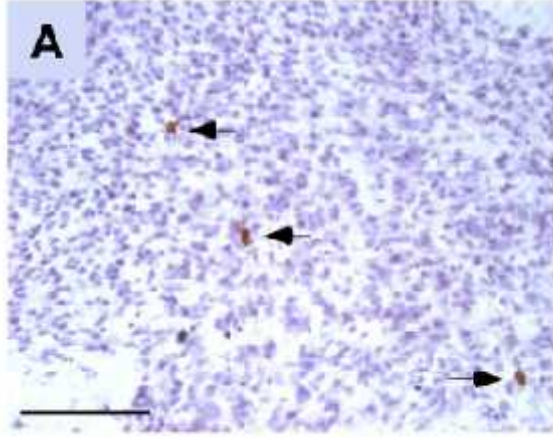
ekil 2: ntratekal %0.5 levobupivakain (n=9) veya steril tuzlu su (n=9) enjeksiyonunu takiben P7 sıçanlarda von Frey filamentleri ile de erlendirilen mekanik pençe çekme e ikleri. 15. ve 30. dakika ölçümlerinde levobupivakain alan grubun a rı e ik de erleri (15. dakika: log EF₅₀: 14.9g; 30. dakika: log EF₅₀: 5.1g) tuzlu su (15. dakika: log EF₅₀: 2.4g; 30. dakika: log EF₅₀: 2.5g) alan gruba nazaran istatistiksel olarak anlamlı ölçüldü.



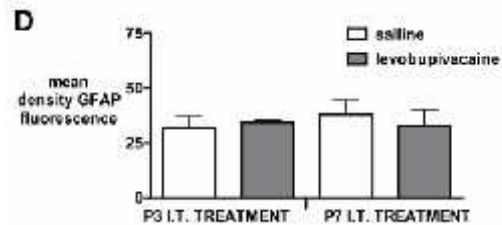
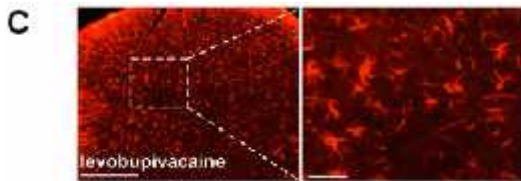
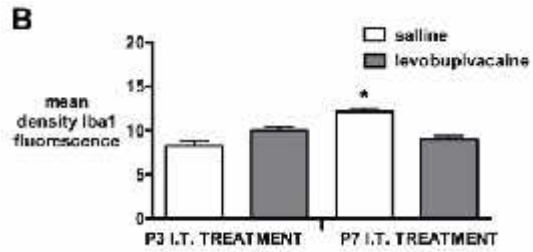
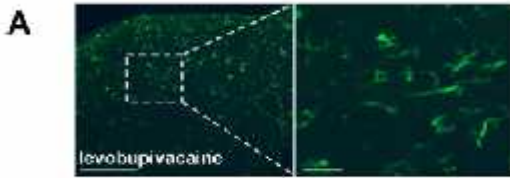
ekil 3: 35 günlük sıçanlarda intratekal %0.5 levobupivakain veya steril tuzlu su (n=6-8) enjeksiyonunu takiben P3 ve P7 sıçanlarda mekanik (a) ve termal (b) pençe çekme e ikleri (P=0.10 ve 0.51, tek yönlü ANOVA). 35 günlük sıçanda artan Von Frey filament uygulanması esnasında biceps femoris kasından alınan bir EMG kaydı örne i (i) ve e ri altında kalan (AUC) e klinde gösterimi (ii). (c) Levobupivakain ile tuzlu su alan grubun EMG kayıtlarının e ri altında kalan e klinde gösterilmesi (n=6, P=0.87, tek yönlü ANOVA) (d).

Tablo 1: 35 günlük sıçanlarda CatWalk® sistemi kullanılarak de erlendirilen gait analizi.

Treatment	Print Area	Regularity Index	Duty Cycle	Stride Length	Base of Support
saline *	40.3 ± 3.5	99.8 ± 0.2	54.1 ± 1.4	107.5 ± 2.1	27.6 ± 0.7
bupivacaine	40.5 ± 1.9	99.7 ± 0.3	57.7 ± 1.0	99.6 ± 3.5	31.0 ± 0.93



ekil 4: 3 günlük sıçanlarda intratekal steril tuzlu su enjeksiyonunu takiben 24. saatte omurilik arka boynuzda aktive caspase-3 pozitif hücrelerin görüldü ü bir kesit (a). P3 ve P7 sıçanlarda %0.5 levobupivakain veya tuzlu su enjeksiyonunu takiben aktive caspase-3 pozitif hücreler (n=4-5). Tedavi grupları arasında hem tüm omurilik kesiti (P3: $P=0.62$; P7: $P=0.88$) hem de arka boynuzda (P3: $P=0.17$; P7: $P=0.66$) anlamlı bir fark görülmedi (b). P3 ve P7 sıçanlarda %0.5 levobupivakain veya tuzlu su enjeksiyonunu takiben Fluoro-Jade C pozitif hücreler (n=4-5). Tedavi grupları arasında hem tüm omurilik kesiti (P3: $P=0.11$; P7: $P=0.56$) hem de arka boynuzda (P3: $P=0.10$; P7: $P=0.89$) anlamlı bir fark görülmedi (c).



ekil 5: 3 günlük sıçanlarda intratekal levobupivakain enjeksiyonunu takiben 7. günde Iba-1 immünoreaktivitesini gösteren lumbar omurilik arka boynuz kesiti (40–200 μ m kesitler) (a). P3 ve P7 sıçanlarda %0.5 levobupivakain veya tuzlu su enjeksiyonunu takiben analiz edilen Iba-1 ortalama immünoreaktivite yoğunlukları (n=4-5) (P7: $P<0.05$; P3: $P=0.24$) (b). 7 günlük sıçanlarda intratekal levobupivakain enjeksiyonunu takiben 7. günde GFAP immünoreaktivitesini gösteren lumbar omurilik arka boynuz kesiti (40–200 μ m kesitler) (c). P3 ve P7 sıçanlarda %0.5 levobupivakain

veya tuzlu su enjeksiyonunu takiben analiz edilen GFAP ortalama immünüreaktivite yo unluk de erleri (n=4-5) (P3: P=1.0; P7: P=0.55) (d).

TARTI MA

Çalı mamızda, tek doz intratekal yolla uygulanan levobupivakain 3 ve 7 günlük sıçanlarda belirgin derecede duysal ve motor blok yapmı tır. ntratekal levobupivakain alan gruplarda omurilik lumbar bölgede apoptozisde, kontrol grubuna nazaran bir artı gözlemlenmemi, benzer ekilde nöronal dejenerasyon, glial reaktivitede de tedavi ile ili kili anlamlı bir farka rastlanmamı tır. Omurilik ve sinir kökü histopatolojik incelemelerinde de tedavi grupları arasında bir fark ortaya çıkmamı tır. Benzer ekilde intratekal levobupivakain alan yenido an sıçanların uzun dönem (P35) takiplerinde de spinal refleks fonksiyonları kontrol grubu ile kar ıla tırıldı ında anlamlı de i iklik göstermemi tır.

Çalı mamız spinal levobupivakain ile olu turulan duysal blo un 3 günlük sıçanlarda, 7 günlüklere nazaran daha kısa sürdü ünü göstermi tır. Bu sonuçlarımız, daha önce bupivakain ile yapılmı çalı maların sonuçları (P7<P21) ile paralellik göstermektedir (Yahalom ve ark., 2011). Bu durumun beyin-omurilik sıvısındaki ya a ba lı hacim de i iklikleri ve sentez-salınım hızı farklılıklarından kaynaklanması olasıdır (Dalens ve ark.,2009).

Geli mekte olan omurilik dokusunun da beyin dokusuna benzer ekilde apoptozise duyarlılı ı artmı tır. Zira 3 günlük sıçanlarda analjezik dozdaki ketaminin (Walker ve ark., 2010) ve uzamı genel anestezinin (Yahalom ve ark., 2011) omurilikte apoptozisi artırdı ı bilinmektedir. Ancak, bundan farklı ekilde 3.5mg/kg bupivakain de i ik ya

gruplarındaki yenido an sıçanlarda apoptozisi artırmamı ve histopatolojik de i ikliklere yol açmamı tır (Yahalom ve ark., 2011). Biz de bu çalı mamızda, birbirlerini tamamlayan üç farklı metod kullanarak (aktive-caspase-3 antiserumu, Fluoro-Jade-C florasans boyaması ve Hematoksilen-Eozin boyaması) apoptotik de i ikleri ayrıntılı olarak inceledik.

Çe itli çalı malarla lokal anestezik ajanlara ba lı toksisite bazı in vitro ve in vivo modellerle de çalı ılmı ve doza ba ımlı toksisitede artı gösterilmı tır (Gold ve ark.; 1998 ve Friederich ve ark., 2002). Ancak, izole hücrelerin çe itli nedenlerden dolayı kimyasal ajanlara daha fazla hassasiyet gösterebilmesi nedeniyle in vitro modellerde lokal anestezik ajanların toksisitesinin oldu undan daha fazla ekilde analiz edilme ihtimali bulunmaktadır. Buna ek olarak, eri kin deney hayvanlarında da intratekal lokal anestezik uygulanmasının uygulanan lokal anestezik ajana ve doza ba lı de i kenlik gösterecek ekilde omurilik ve kauda equina toksisite bulguları elde edilmi tır (Kiriha ve ark., 2003, Sakura ve ark., 2005 ve Takenami ve ark.; 2005). Çalı mamızda, toksik etki elde edilen ara tırmalara nazaran daha dü ük bir doz olan 2,5 mg/kg dozundaki levobupivakain 0.5 µl/g hacminde intratekal yolla uygulandı ında 3 ve 7 günlük sıçanlarda belirgin omurilik ve sinir kökünde histopatolojik de i iklikler ortaya çıkarmamı tır. Çalı mamızın sonuçları, 7, 14 ve 21 günlük sıçanlara intratekal yolla enjekte edilen bupivakainin etkileri (Yahalom ve ark.; 2011) ile paralellik göstermektedir.

Daha önce yapılan çalı malar, dokuda histopatolojik de i ikliklere yol açan dozlarda uygulanan lokal anestezik ajanların eri kin deney hayvanlarında termal ve mekanik pençe çekme e iklerini ve motor fonksiyonlarını bozabildi ini

göstermi tir (Kirihsara ve ark.; 2003 ve Sakura ve ark., 2005). Çalı mamızda levobupivakain, intratekal enjeksiyon sonrası uzun dönem takiplerde (35 günlük sıçanlar) spinal refleks fonksiyonlarında ve duysal-motor koordinasyonda bir patolojiye neden olmamı tır.

Sonuç olarak, çalı mamızın sonuçları intratekal yolla uygulanan tek doz %0.5 levobupivakain 3 ve 7 günlük sıçanlarda belirgin spinal anestezi olu turmu ve omurilik ve sinir kökünde apoptosisi artırmamı ve histopatolojik de i ikliklere neden olmamı tır. Bu alı ma spinal anestezinin yenido anlarda kullanımının klinik-öncesi güvenilirli i ile ilgili literatüre katkı sa lamakta ve çalı mamızda kullanılan deneysel modelin intratekal yolla uygulanan ajanların davranı sal ve histopatolojik açıdan toksisitelerinin de erlendirilmesine olanak veren bir model oldu unu göstermektedir.

DESTEK ve TE EKKÜR

Bu alı ma NIH-DA02110 ve NIH-DA15353 (USA, T. Yaksh), British Journal of Anesthesia/Royal Collage of Anaesthetists Project Grant (UK, S. Walker), YÖK Doktora Sonrası Ara tırma Bursu (E. Hamurtekin, Türkiye) tarafından desteklenmi tir.

Çalı mamız, Anesthesiology dergisi, 119(1) sayısında yayınlanmı tır. Bu alı mada birlikte çalı tı ım Dr. Tony L. Yaksh, Suellen M. Walker, Bethany L. Fitzsimmons, Veronica I. Shubayev, Marjorie R. Grafe ve Ronald Deumens'e te ekkür ederim.

KAYNAKLAR

Craven PD, Badawi N, Henderson-Smart DJ, O'Brien M.; 2003. Regional (spinal, epidural,

caudal) versus general anaesthesia in preterm infants undergoing inguinal herniorrhaphy in early infancy. Cochrane Database Syst Rev.(3):CD003669.

Dalens, BJ.; Truchon, R. Neural blockade for pediatric surgery, Neural Blockade in Clinical Anesthesia and Pain Medicine. 4th edition. Cousins, MJ.; Bridenbaugh, PO.; Carr, D.; Horlocker, T., editors. Lippincott: Williams & Wilkins; 2009. P. 595-626.

Frawley G, Smith KR, Ingelmo P.; 2009. Relative potencies of bupivacaine, levobupivacaine, and ropivacaine for neonatal spinal anaesthesia. Br J Anaesth.;103(5):731-8.

Friederich P, Schmitz TP.; 2002. Lidocaine-induced cell death in a human model of neuronal apoptosis. Eur J Anaesthesiol.;19(8):564-70.

Gold MS, Reichling DB, Hampl KF, Drasner K, Levine JD.; 1998. Lidocaine toxicity in primary afferent neurons from the rat. J Pharmacol Exp Ther.;285(2):413-21.

Kirihsara Y, Saito Y, Sakura S, Hashimoto K, Kishimoto T, Yasui Y.; 2003. Comparative neurotoxicity of intrathecal and epidural lidocaine in rats. Anesthesiology. 99(4):961-8.

Kokki H, Ylönen P, Heikkinen M, Reinikainen M.; 2004. Levobupivacaine for pediatric spinal anesthesia. Anesth Analg.; 98(1):64-7

Myers RR, Shubayev VI.; 2011. The ology of neuropathy: an integrative review of the role of neuroinflammation and TNF- axonal transport in neuropathic pain. J Peripher Nerv Syst.;16(4):277-86.

Sakura S, Kirihsara Y, Muguruma T, Kishimoto T, Saito Y.; 2005. The comparative neurotoxicity of intrathecal lidocaine and bupivacaine in rats. Anesth Analg., 101(2):541-7

Schmued LC, Stowers CC, Scallet AC, Xu L.; 2005. Fluoro-Jade C results in ultra high resolution and contrast labeling of degenerating neurons. Brain Res.; 1035(1):24-31.

Takenami T, Wang G, Nara Y, Fukushima S, Yagishita S, Hiruma H, Kawakami T, Okamoto H.; 2012. Intrathecally administered ropivacaine is less neurotoxic than procaine, bupivacaine, and levobupivacaine in a rat spinal model. *Can J Anaesth.*;59(5):456-65.

Takenami T, Yagishita S, Murase S, Hiruma H, Kawakami T, Hoka S.; 2005. Neurotoxicity of intrathecally administered bupivacaine involves the posterior roots/posterior white matter and is milder than lidocaine in rats. *Reg Anesth Pain Med.*; 30(5):464-72.

Walker SM, Howard RF, Keay KA, Fitzgerald M., 2005. Developmental age influences the effect of epidural dexmedetomidine on inflammatory hyperalgesia in rat pups. *Anesthesiology.*;102(6):1226-34.

Walker SM, Grafe M, Yaksh TL., 2012. Intrathecal clonidine in the neonatal rat: dose-dependent analgesia and evaluation of spinal apoptosis and toxicity. *Anesth Analg.*;115(2):450-60.

Walker SM, Meredith-Middleton J, Lickiss T, Moss A, Fitzgerald M.; 2007. Primary and secondary hyperalgesia can be differentiated by postnatal age and ERK activation in the spinal dorsal horn of the rat pup. *Pain*;128(1-2):157-68.

Walker SM, Tochiki KK, Fitzgerald M.; 2009. Hindpaw incision in early life increases the hyperalgesic response to repeat surgical injury: critical period and dependence on initial afferent activity. *Pain*;147(1-3):99-106.

Walker SM, Westin BD, Deumens R, Grafe M, Yaksh TL.; 2010. Effects of intrathecal ketamine in the neonatal rat: evaluation of apoptosis and long-term functional outcome. *Anesthesiology*; 113(1):147-59.

Walker SM, Yaksh TL.; 2012. Neuraxial analgesia in neonates and infants: a review of clinical and preclinical strategies for the development of safety and efficacy data. *Anesth Analg.*;115(3):638-62.

Westin BD, Walker SM, Deumens R, Grafe M, Yaksh TL.; 2010. Validation of a preclinical spinal safety model: effects of intrathecal

morphine in the neonatal rat. *Anesthesiology*;113(1):183-99.

Yahalom B, Athiraman U, Soriano SG, Zurakowski D, Carpino EA, Corfas G, Berde CB.; 2011. Spinal anesthesia in infant rats: development of a model and assessment of neurologic outcomes. *Anesthesiology*;114(6):1325-35

ÖZGEÇİM

1. K ML

Adı, Soyadı:

Emre HAMURTEK N

Do um Yeri ve Tarihi:

Eski ehir, 15.08.1977

Medeni hali:

Evli, 1 çocuklu

adres:

Do u Akdeniz Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Gazima usa, KKTC

Telefon:

+(392) 630 2401

Medeni hali:

+(392) 630 2819

e-posta:

emre.hamurtekin@emu.edu.tr,
hamurtekin@gmail.com

2. E T M ÖYKÜSÜ

Ortaö renim: 1988-1995, Milli Piyango Anadolu Lisesi, ANKARA

Lisans:1995-2001, Tıp, Uluda Üniversitesi Tıp Fakültesi, BURSA

Tıpta Uzmanlık: 2002-2007, Tıbbi Farmakoloji, Uluda Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı, BURSA

3. MESLEK DENEYMLER :

2001-2002 Pratisyen Hekimlik,
BURSA

2002-2007 Ara tırma Görevlisi,
Uluda Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji
Anabilim Dalı, BURSA

2008-2011 Yardımcı Doçent
(18.12.2008), Uzmanlık Sonrası Mecburi
Hizmet, Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, KARS

2009-2011 Ba hekim Yardımcısı,
Uzmanlık Sonrası Mecburi Hizmet,
Kafkas Üniversitesi Sağlık Ara tırma ve
Uygulama Merkezi, Tıbbi Farmakoloji
Anabilim Dalı, KARS

2011-2012 University of California, San
Diego, Anesthesiology Research
Laboratories, Dr. Tony L. Yaksh's Lab.,
San Diego, California, USA, Visiting
Research Fellow, Haziran 2011-Haziran
2012 (1 yıl)

2012-2013 Tabur Hekimliği, Askerlik
Hizmeti, Aktütün Karakolu, emdinli,
HAKKAR

2013-halen Yardımcı Doçent
(15.09.2013), Do u Akdeniz Üniversitesi,
Eczacılık Fakültesi, Gazima usa, KKTC

2015 Binding Laboratory of the
Department of Neuroscience, Psychology,
Drug Research and Child's Health
(NEUROFARBA) of the University of
Florence, ITALY, Researcher,
25.06.2015-05.08.2015

4. TIPTA UZMANLIK TEZ :

"CDP-kolin'in analjezik etkisi ve etkiye
aracılık eden mekanizmalar", Uluda
Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve
Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı, Bursa,
2007

5. PROJELER:

1. The Analgesic Effect of CDP-Choline and the Mechanisms Involved in the Effect" – Uluda Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı, Yardımcı ara tırıcı, 2003
2. YÖK Doktora Sonrası Ara tırma Bursu (E. Hamurtekin, Türkiye), NIH-DA02110 ve NIH-DA15353 (USA, T. Yaksh), British Journal of Anesthesia/Royal Collage of Anaesthetists Project Grant (UK, S. Walker) (2011).

6. BURSLAR:

1. Türk Farmakoloji Derne i
SERVIER IUPHAR 2006- 15. Dünya
Farmakoloji Kongresi, Ç N, Katılım Bursu-
2006
2. YÖK Doktora Sonrası Ara tırma
Bursu (2011)

7. ÜYEL KLER:

1. Türk Farmakoloji Derne i (Üye
no:636)
2. International Association for the
Study of Pain – IASP (Üye no: 68028)

8. ÖDÜLLER:

NOVARTIS Farmakoloji Ara tırma
Ödülleri, ikincilik ödülü, 2007. "The
antinociceptive effects of centrally
administered CDP-choline on acute pain
models in rats: the involvement of
cholinergic system"

9. YABANCI D L:

NG L ZCE (ÜDS: 82,5)

10. YAYIN L STES

SCIENCE CITATION INDEX-SCIENCE CITATION INDEX EXPANDED KAPSAMINDAKI DERGILERDE YER ALAN ARA TIRMA MAKALELER

1. Ilcol YO, Ozbek R, **Hamurtekin E**, Ulus IH (2005) Choline status in newborns, infants, children, breast-feeding women, breast-fed infants and human breast milk. *J Nutr Biochem.*, 16(8):489-99. Uluslararası atıf sayısı: 43
2. **Hamurtekin E**, Gurun MS (2006) The antinociceptive effects of centrally administered CDP-choline on acute pain models in rats: the involvement of cholinergic system. *Brain Res.*, 1117(1):92-100. Uluslararası atıf sayısı: 10
3. **Hamurtekin E**, Bagdas D, Gurun MS (2007) Possible involvement of supraspinal opioid and GABA receptors in CDP-choline-induced antinociception in acute pain models in rats. *Neurosci Lett.*, 420(2):116-21. Uluslararası atıf sayısı: 6
4. Cansev M, Yilmaz MS, Ilcol YO, **Hamurtekin E**, Ulus IH (2007) Cardiovascular effects of CDP-choline and its metabolites: involvement of peripheral autonomic nervous system. *Eur J Pharmacol.* Dec 22;577(1-3):129-42. Uluslararası atıf sayısı: 9
5. Ilcol YO, Cansev M, Yilmaz MS, **Hamurtekin E**, Ulus IH (2007) Intraperitoneal administration of CDP-choline and its cholinergic and pyrimidinergic metabolites induce hyperglycemia in rats: involvement of the sympathoadrenal system. *Arch Physiol Biochem.* Oct Dec;113(4-5):186-201. Uluslararası atıf sayısı: 0
6. Ilcol YO, Cansev M, Yilmaz MS, **Hamurtekin E**, Ulus IH (2008) Peripheral administration of CDP-choline and its cholinergic metabolites increases serum insulin: muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors are both involved in their actions. *Neurosci Lett.* Jan 24;431(1):71-6. Uluslararası atıf sayısı: 8
7. Cansev M, Ilcol YO, Yilmaz MS, **Hamurtekin E**, Ulus IH (2008) Peripheral administration of CDP-choline, phosphocholine or choline increases plasma adrenaline and noradrenaline concentrations. *Auton Autacoid Pharmacol.* Jan;28(1):41-58 Uluslararası atıf sayısı: 1
8. Isbil-Buyukcoskun N, Ilcol YO, Cansev M, **Hamurtekin E**, Ozluk K, Ulus IH (2008) Central choline suppresses plasma renin response to graded haemorrhage in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*;35(9):1023-31. Uluslararası atıf sayısı: 1
9. Cansev M, Ilcol YO, Yilmaz MS, **Hamurtekin E**, Ulus IH (2008) Choline, CDP-choline or phosphocholine increases plasma glucagon in rats: involvement of the peripheral autonomic nervous system. *Eur J Pharmacol* 589 (1-3):315-22. Uluslararası atıf sayısı: 6
10. Huseyinoglu U, Huseyinoglu N, **Hamurtekin E**, Aygun H, Sulu B (2011) Effect of pregabalin on post-dural-puncture headache following spinal

anesthesia and lumbar puncture. J Clin Neurosci.; 18(10):1365-8 Uluslararası atf sayısı: 4

11. Bagdas D, Sonat FA, **Hamurtekin E**, Sonal S, Gurun MS (2011) The antihyperalgesic effect of cytidine-5'-diphosphate-choline in neuropathic and inflammatory pain models. Behav Pharmacol.; 22(5-6):589-98. Uluslararası atf sayısı: 5

12. **Hamurtekin E**, Fitzsimmons BL, Shubayev VI, Grafe MR, Deumens R, Yaksh TL, Walker SM (2013) Evaluation of Spinal Toxicity and Long-term Spinal Reflex Function after Intrathecal Levobupivacaine in the Neonatal Rat. Anesthesiology. 2013 Jul;119(1):142-155. Uluslararası atf sayısı: 6

11. B L D R L STES

a. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (*Proceedings*) basılan bildiriler

1. Ilcol Y, Ozbek R, **Hamurtekin E**, Ulus IH (2004). Elevated choline concentrations in normal human infants and the levels of choline compounds in human breast milk. AACC 2004 Annual Meeting and Clinical Lab. Exposition July 25-29, 2004 Los Angeles, California / USA
2. Gurun MS, **Hamurtekin E**. (2005). The antinociceptive effect of centrally administered CDP-choline in rats. Poster no: 291.23 Neuroscience 2005 SfN 35th

Annual Meeting, 12-16 November 2005, Washington D.C./ USA

3. Yildiz Y, Seyrek M, **Hamurtekin E**, Dogrul A (2006). The mouse skin twitch test; a new preclinical method to evaluate the local antinociceptive activity of NSAIDs. Poster no: 318.; PAIN IN EUROPE V. 5th Congress of the European Federation of IASP Chapters (EFIC). September 13-16, 2006 Istanbul / TURKEY

4. **Hamurtekin E**, Gurun MS (2006). The involvement of central cholinergic system in the analgesic effect of intracerebroventricularly injected CDPcholine in acute pain models of rats. Poster no: P 060117.; The 15th World Congress of Pharmacology (IUPHAR-2006), July 2-7, 2006, Beijing International Convention Center, CHINA

b. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

1. **Hamurtekin E**, Cansev M, Yılmaz MS, Ulus IH (2003). Effects of CDP-choline and its hydrolysis products on serum glucose levels: the role of sympathoadrenal system. Poster no: 149;
2. Ulusal Nörobilim Kongresi. 16-20 Nisan 2003; Bursa / TÜRK YE
2. Yılmaz MS, **Hamurtekin E**, Cansev M, Ulus IH (2003). Effects of CDP-choline and its hydrolysis products on blood pressure and the role of sympathoadrenal system in the effect. Poster no: 148;
2. Ulusal Nörobilim

- Kongresi. 16-20 Nisan 2003; Bursa / TÜRK YE
3. Cansev M, Yılmaz MS, **Hamurtekin E**, Ulus IH. (2003). Neuroendocrine effects of CDP-choline and its hydrolysis products: Changes in plasma insulin, glucagon and catecholamine levels. Poster no: 152; 2. Ulusal Nörobilim Kongresi. 16-20 Nisan 2003; Bursa / TÜRK YE
 4. Cansev M, Yılmaz MS, **Hamurtekin E**, Ulus IH (2003). Cardiovascular effects of CDP-choline and its hydrolysis products: Investigating the mechanisms of action. Poster no: 99; 17. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 17-21 Ekim 2003; Antalya / TÜRK YE
 5. **Hamurtekin E**, Gürün MS, Ulus IH (2003). The antinociceptive effect of central administered choline in rats. Poster no: 137; 17. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 17-21 Ekim 2003; Antalya / TÜRK YE
 6. **Hamurtekin E**, Cansev M, Yılmaz MS, Ulus IH (2004). Effects of CDP-choline and its endogenous metabolites on plasma catecholamine response to graded hemorrhage in rats. Poster no:84.; 3. Ulusal Nörobilim Kongresi. 7-11 Nisan 2004; Denizli / TÜRK YE
 7. Yılmaz MS, Cansev M, **Hamurtekin E**, Ulus IH (2004). Effects of CDP-choline and its endogenous metabolites on plasma vasopressin response to graded hemorrhage in rats. Poster no: 56; 3. Ulusal Nörobilim Kongresi. 7-11 Nisan 2004; Denizli / TÜRK YE
 8. **Hamurtekin E**, Gürün MS. (2005). The antinociceptive effect of centrally administered CDP-Choline in rats. Poster no:17.; 4. Ulusal Nörobilim Kongresi. 29 Mart-2 Nisan 2005; Mersin / TÜRK YE
 9. **Hamurtekin E**, Gürün MS. (2005). Merkezi yolla uygulanan CDP-kolin'in akut a rı modellerinde antinosiseptif etkisi. Poster no: S 10; 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi. 28 Eylül-1 Ekim 2005, DESEM / ZM R
 10. Bagdas D, **Hamurtekin E**, Gürün MS. (2007). Merkezi yolla uygulanan CDP-kolin'in sıçanlarda akut inflamatuvar a rı modelinde antihiperalezik etkisi ve etki mekanizması. Poster no: P 014; 19. Ulusal Farmakoloji Kongresi. 24-27 Ekim 2007, TRABZON

Sıçan kalbinde R hasarına karşı Rosuvastatin ile farmakolojik ve iskemik ön- veya ard-koşullamaların kombine etkileri

Iker KELLE

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır

GİRİŞ VE AMAÇ

Uzun süreli iske mi sonrasında kalp kasına kan akımının sağlanması hücrelerin yaşayabilirliği için gerekli olmakla birlikte istenmeyen birtakım etkilere de yol açabilmektedir (Zhou ve ark., 2013). Reperfüzyon kaynaklı ciddi iskemik ve yapısal bu hasarın azaltılmasına yönelik iskemik önkoşullama ve ardkoşullama gibi yöntemler tanımlanmıştır (Vinten-Johansen ve ark., 2007, Zhao ve ark., 2003). Son dönemde yine aynı amaçla denenilen farmakolojik ajanlar arasında statinler reperfüzyon hasarını azaltmada başarı sağlanmıştır (Prinz ve ark., 2008). Statinler ile elde edilen koruyuculuğun anılan bileşenlerin antiinflamatuvar, antioksidan ve koroner endotelial disfonksiyonu sınırlandırıcı etkileriyle ilişkili kabul edilmekte ve iskemik önkoşullama (ÖK) veya iskemik ardkoşullama (AK) ile mukayese edilebilir seviyede olduğu ifade edilmektedir (Beckman ve ark., 2006). Son dönemde yapılan bazı çalışmalarda yine aynı gruptan simvastatin ve atorvastatinin antiapoptotik özellikleri de ortaya konulmuştur (Li ve ark., 2014). Fakat tüm bu çalışmalarda statinler tek başına veya kronik uygulama şeklinde ÖK veya AK protokolleriyle birlikte denenmiştir.

Bu çalışmadaki amacımız, in vivo sıçan kalbinde rosuvastatinin ÖK ve AK protokolleriyle eş zamanlı uygulanması suretiyle koruyuculukta olası bir artışı gözlemlemek ve tek başına farmakolojik veya iskemik ön-/ard-koşullama yaklaşımlarına göre etkinliğini de değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneylerde Wistar albino sıçanlar (erkek, 250-300 g) kullanıldı. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Laboratuvarında yapılan deneyler için Deney Hayvanları Etik Kurulu karar no: 11TF18.

Bu çalışmada sol koroner arter ligasyonu ile miyokard iskemisi oluşturuldu. Sekiz grup üzerinden deneyler gerçekleştirildi (n=12).

Sham: [150 dk perfüzyon]

R: [30 dk iske mi (I)] + [120 dk reperfüzyon (R)]

ÖK: [3 x (5 dk (I) + 5 dk (R))] + [30 dk (I)] + [120 dk (R)]

AK: [30 dk (I)] + [6 x (10 sn (R) + 10 sn (I))] + [120 dk (R)]

RsÖK: [3 x (5 dk **Rs** infüzyonu + 5 dk boşluk)] + [30 dk (I)] + [120 dk (R)]

RsAK: [30 dk (I)] + [6 x (10 sn **Rs** infüzyonu + 10 sn boşluk)] + [120 dk (R)]

ÖK + RsÖK: [3 x (5 dk (I) + 5 dk (**Rs**))] + [30 dk (I)] + [120 dk (R)]

AK + RsAK: [30 dk (I)] + [6 x (10 sn **Rs** infüzyonu + 10 sn (I))] + [120 dk (R)]

Deney hayvanı intraperitoneal Tiyopental sodyum (40 mg/kg) ile anestezize edildi. Trakeotomiye takiben entübe edilen sıçanlar 7025/7125 Hugo Sachs Rodent Ventilator yardımıyla yapay solunuma (70/dk) alındı. Deney süresince bir feedback kontrollü ısıtıcı sistem aracılığıyla sıçanların vücut ısıları 37°C düzeyinde tutuldu. Kan basıncı ve kalp atım hızı MAY BPHR 9610 cihazı aracılığıyla kesintisiz olarak kaydedildi.

Sağ juguler ven kan örneklemeleri; sol femoral ven ise Rosuvastatin (5 mg/kg) infüzyonu için kanüle edildi. Heparinizasyonu (iv; 200 Ü) takiben sol torakotomi ile kalbe ulaşıldı. Çevreleyen dokuların diseksiyonu sonrasında sol koroner arter (SKA) bulundu ve atravmatik 6/0 ipek sütür materyali ile SKA'nın altından geçildi. Koroner oklüzyon kan basıncında düşüş, ventriküler akinezi ve iskemik bölgede rengin açık hale gelmesi ile; reperfüzyon ise miyokard dokusunun rengindeki değişim ile doğrulandı.

Tüm gruplarda stabilizasyon sonunda, iskemi sonrası ve reperfüzyonun 60. ve 120. dk'larında kreatin kinaz-miyokardiyal band (CK-MB) enzim seviyelerinin ölçümü için kan örneği alındı. Deneylerin sonunda her gruptan 6 kalp nekroz alanı değerlendirildi; diğer 6 kalp ise immünohistokimyasal inceleme için kullanıldı.

Kapatılan arter ile beslenen bölgenin saptanması amacıyla SKA'nın çevresindeki sütürün sıkı tırılmasını takiben 2 ml % 2'lik Evans mavisi uygulandı. Göğüs boşluğundan çıkarılan kalp, 2-3 mm kalınlığında dilimlendi ve %1'lik TTC boyası ile muamele edildi. Miyokardiyal nekroz alanı toplam sol ventrikül hacmi ve ağırlığının yüzdesi şeklinde gösterildi.

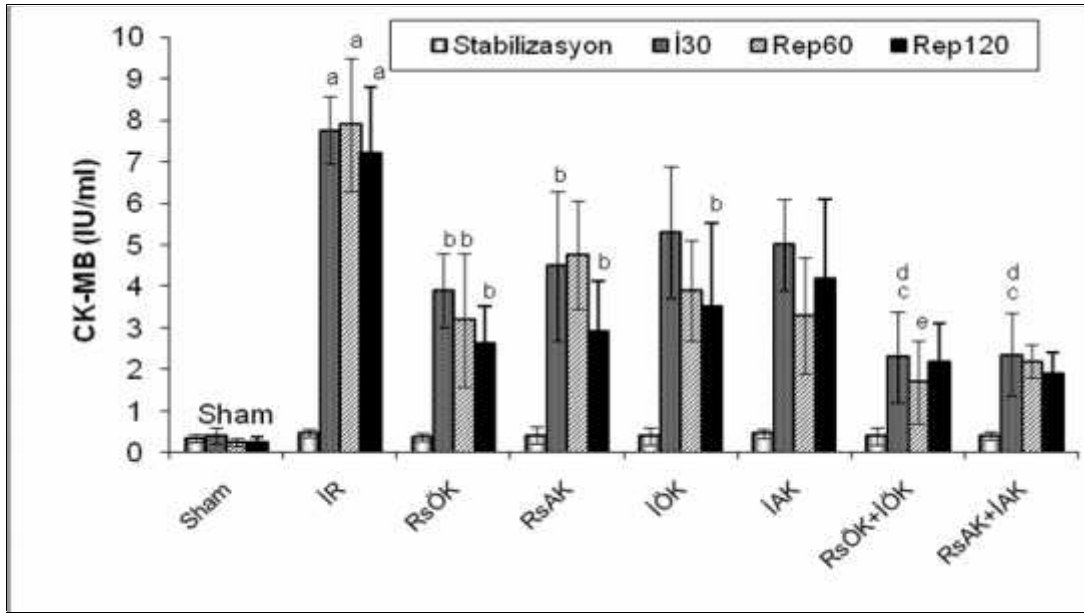
STATİSTİKSEL ANALİZ

statistiksel analizler Windows SPSS Programı kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm sonuçlar ortalamanın \pm standart sapması şeklinde gösterildi. Kardiyak CK-MB enzim ve infarkt alanı değişimleri için gruplar arası karşılaştırılarda One-way-Anova ve Post hoc Tukey's HSD testleri kullanıldı ($p < 0.05$ anlamlı kabul edildi). immünohistokimyasal incelemeler için gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri ile değerlendirildi ($p < 0.05$ anlamlı kabul edildi).

BULGULAR

1) Çalışma gruplarında stabilizasyon, iskemi sonrası, reperfüzyonun 60. ve 120. dakikalarında alınan kan örneklerinde saptanan CK-MB enzim seviyeleri

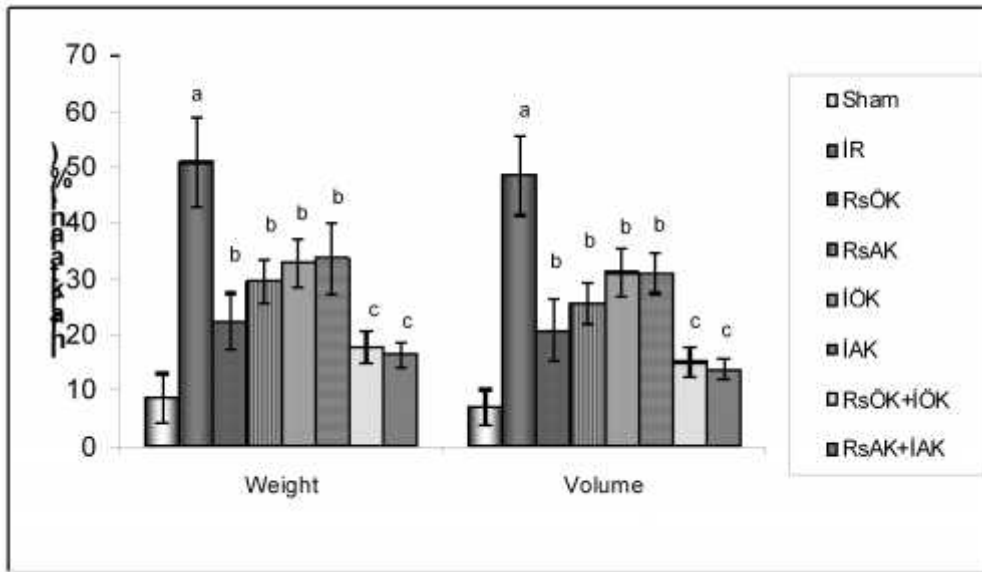
R grubunda reperfüzyon ile birlikte alınan tüm örneklerde CK-MB seviyelerinde belirgin artış gözlemlendi ($p < 0.05$, ekil 1). RsÖK ve RsAK gruplarında ise CK-MB enzim aktivitesi iskemi sonu ve reperfüzyonun 120. dakikasında R'na göre anlamlı şekilde düşük bulundu ($p < 0.05$, ekil 1). Gerek ÖK + RsÖK, gerekse AK + RsAK gruplarında her 3 ölçüm zamanı için CK-MB seviyeleri diğer gruplara göre düşük bulunmakla birlikte en düşük değerler iskemi sonunda izlendi ve ÖK ile AK gruplarına göre aradaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.05$, ekil 1). Reperfüzyonun 60. dakikası için ÖK + RsÖK ile RsAK grupları arasında anlamlı bir farklılık saptandı ($p < 0.05$, ekil 1).



ekil 1: Çalışma gruplarında stabilizasyon, iskemi sonu, reperfüzyonun 60. ve 120. dakikalarındaki CK-MB enzim seviyeleri. ^a $p < 0,05$ iskemi sonu, reperfüzyonun 60. ve 120. dakikalarında Sham ile karşılaştırıldığında anlamlı. ^b $p < 0,05$ iskemi sonu, reperfüzyonun 60. ve 120. dakikalarında R ile karşılaştırıldığında anlamlı. ^c $p < 0,05$ iskemi sonunda AK ile karşılaştırıldığında anlamlı. ^d $p < 0,05$ iskemi sonunda ÖK ile karşılaştırıldığında anlamlı. ^e $p < 0,05$ reperfüzyonun 60. dakikasında RsAK ile karşılaştırıldığında anlamlı. Veriler ortalama \pm SD şeklinde ifade edilmiştir. CK-MB: Kreatin kinaz – Miyokardial Band, R: iskemi reperfüzyon, RsÖK: Rosuvastatin ile farmakolojik önko ulla, RsAK: Rosuvastatin ile farmakolojik ardko ulla, ÖK: skemik önko ulla, AK: skemik ardko ulla, RsÖK+ÖK: Rosuvastatin ile farmakolojik önko ulla + skemik önko ulla, RsAK+AK: Rosuvastatin ile farmakolojik ardko ulla + skemik ardko ulla.

2) infarkt alanı değerlendirme sonuçları

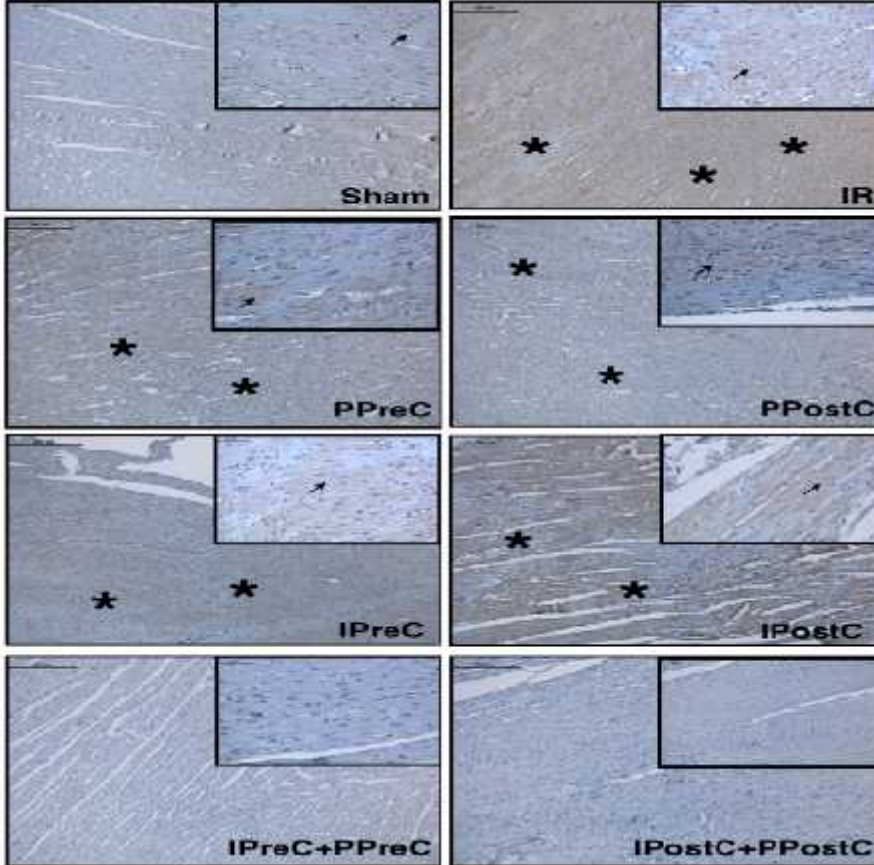
Ağırlık ve hacim değerleri bakımından infarkt alanı için en düşük değerler ÖK + RsÖK ve AK + RsAK gruplarında izlendi ve ÖK ve AK'ya göre aralarındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.05$, ekil 2). ÖK, AK, RsÖK ve RsAK grupları arasında ise infarkt alanını sınırlamada anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$, ekil 2).



ekil 2: Çalışma gruplarında infarkt alanı verileri. infarkt alanı ağırlık ve hacim metoduna göre belirlenmiştir. ^a $p < 0,05$ Sham ile karşılaştırıldı, ^b $p < 0,05$ R grubu ile karşılaştırıldı, ^c $p < 0,05$ ÖK ve AK grupları ile karşılaştırıldı, ^d $p < 0,05$ RsÖK ve RsAK grupları ile karşılaştırıldı. Veriler ortalama \pm SD şeklinde ifade edilmiştir. R: skemik reperfüzyon, RsÖK: Rosuvastatin ile farmakolojik önkoüllama, RsAK: Rosuvastatin ile farmakolojik ardkoüllama, ÖK: skemik önkoüllama, AK: skemik ardkoüllama, RsÖK+ÖK: Rosuvastatin ile farmakolojik önkoüllama + skemik önkoüllama, RsAK+AK: Rosuvastatin ile farmakolojik ardkoüllama + skemik ardkoüllama.

3) Miyokardiyal doku kesitlerinde immünohistokimyasal inceleme sonuçları

Miyokardiyal dokulardaki Bcl-2 ile immünohistokimyasal boyanma yoğunluğu 0-3 arasında puanlandı (0 = tutulum yok; 1 = zayıf tutulum; 2 = orta seviyede tutulum; 3 = belirgin tutulum). Buna göre, boyanma R, ÖK, AK, RsÖK ve RsAK gruplarındakinin aksine ÖK + RsÖK ve AK + RsAK gruplarında en düşük seviyede izlendi ($p < 0.05$, ekil 3). Sham, ÖK + RsÖK ve AK + RsAK gruplarından alınan miyokardiyal doku kesitlerinde düşük seviyedeki tutulumun yanı sıra sıklıkla miyozit hücre morfolojisi izlendi ve aralarında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$, ekil 3). R, ÖK, AK, RsÖK ve RsAK grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$, ekil 3).



ekil 3: Bcl-2'nin miyokardiyal dokuda tutulumu R[§], RsÖK[§], RsAK[§], ÖK[§] and AK[§] gruplarında izlenmektedir. ($p < 0,05$ Sham, ÖK+RsÖK ve AK+RsAK gruplarıyla karşılaştırıldığında anlamlı). Bcl-2 tutulumu bakımından R, RsÖK, RsAK, ÖK ve AK grupları arasında fark saptanmadı ($p > 0,05$). Miyokardiyal dokuda boyanma yoğunluğu bakımından Sham, ÖK+RsÖK ve AK+RsAK grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). Dikey oklar: Yüksek büyütmede immün reaksiyon; *Asteriks: Düşük büyütmede immün reaksiyon. R: skemi Reperfüzyon, RsÖK: Rosuvastatin ile farmakolojik önko ullaama, RsAK: Rosuvastatin ile farmakolojik ardko ullaama, ÖK: skemik Önko ullaama, AK: skemik Ardko ullaama, ÖK+RsÖK: skemik ve Rosuvastatin ile Farmakolojik Önko ullaama, AK+RsAK: skemik ve Rosuvastatin ile Farmakolojik Ardko ullaama.

TARTI MA VE SONUÇ

Bu çalı madaki bulgularımız **“The combined effect of rosuvastatin and ischemic pre- or post-conditioning on myocardial ischemia-reperfusion injury in rat heart”** ba lı ı altında *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* dergisinde [19, 2468-2476, 2015] yayımlanmı tır. Bulgularımıza göre, iskemi sonrasında ölçülen CK-MB seviyelerindeki en belirgin dü ü ÖK + RsÖK ile AK + RsAK gruplarında izlenmi olup tek ba ına ÖK veya AK gruplarındaki de erlere göre aralarında anlamlı fark bulunması reperfüzasyonun bile iminin önemine i aret etmektedir (Herrmann ve ark.,2002). Nitekim, deneysel bir inme modelinde V yolla verilen rosuvastatinin reperfüzyon hasarını önlemede ba arı sa ladı ı ve bir tedavi seçene i olarak de erlendirilmesi gerekti i ifade edilmi tir (Laufs ve ark., 2002).

A ırlık ve hacim tayinine göre yapılan miyokardial infarkt alanı de erlendirmesinde yine ÖK + RsÖK ile AK + RsAK gruplarında infarkt alanının ÖK veya AK gruplarıyla kar ıla tırıldı ında anlamlı biçimde sınırlandı ı görülmü tür. Dolayısıyla, reperfüzasyonun bile iminin sitoprotektif ve antiapoptotik bile iklerle zenginle tirilmesi, miyokardial R hasarına kar ı ilave bir koruyuculu un sa lanabilece ini dü ündürmektedir. İmmünohistokimyasal incelemede ise Bcl-2 için ÖK + RsÖK ile AK + RsAK gruplarında, Sham grubundaki gibi normal miyozit hücre morfolojisiyle birlikte çok zayıf bir tutulum izlenmi tir. Tutulum ÖK, AK, RsÖK ve RsAK gruplarına göre anlamlı olarak dü ük bulunmu tur. Bu sonuçlar, rosuvastatinin ÖK ve AK ile bir arada uygulandı ında reperfüzyon hasarına kar ı sinerjistik bir koruyuculuk olu turabilece ini ve apoptotik süreci daha ba langıç a amasında inaktive edebilece ini dü ündürmektedir. İnflamasyon ve oksidatif stres, reperfüzyonun ba langıç a amasında ortaya çıkmakta ve apoptotik hücre ölümünün tetikleyicileri olarak kabul edilmektedir. Literatürde apoptosisin geri dönü lü bir süreç oldu u ve etkin anti-apoptotik ajanların reperfüzyonun henüz ba langıç a amasında bir di er ifadeyle akut dönemde verilmesi ile sürecin durdurulabilece i ifade edilmektedir (Li ve ark., 2014). Nitekim, atorvastatinin antiinflamatuvar etkinli iyle apoptotik sinyal yollarını inhibe edebildi i gösterilmi tir. Yine rosuvastatinin kardiyak miyozitlerde ve koroner endotelial hücrelerde hücre ölüm yolları üzerinde bir kontrol sa ladı ını ve hücre koruyucu etkiler olu turdu unu öne süren çalı malar bulunmaktadır (Kostapanos ve ark., 2008). Statinler, antiapoptotik, antiinflamatuvar etkileri ve endotel fonksiyonları üzerindeki koruyuculu un yanında benzer mekanizmalar ile koruyuculuk sa ladı ı ifade edilen ÖK ve AK prosedürlerindeki gibi RISK (Reperfüzyon Hasarı Kurtarma Kinaz) ve AMPK (AMP ile aktive olan protein kinaz) yollarını da aktive edebilmektedir ((Vinten-Johansen ve ark., 2007, Kostapanos ve ark., 2008, Morales-Villegas ve ark., 2011). Statinlere ba lı koruyuculuk büyük ölçüde izoprenoid türevlerinin sentezinin bloke edilmesinden ileri gelmektedir. Mevalonat yola ının statinler ile inhibisyonu GGPP (geranilgeranil pirofosfat) gibi izoprenoid türevlerinin olu umunu azaltmak suretiyle Rho gibi hücre içi sinyal moleküllerinin izoprenilasyonunu önleyebilmekte ve RhoA/Rho-kinaz yola ını baskılayabilmektedir (Beckman ve ark., 2006, Li ve ark., 2014). Statinlerin ayrıca eNOS için kofaktör olan tetrahidrobiopterinin oksidasyonunu önleyebildi i, plazminojen aktivatör inhibitör-1'i dü ürüplü doku plazminojen aktivatör seviyelerini yükselterek fibrinolitik aktivite sergileyebildi i ve son olarak da R hasarında miyokardiyal apoptozis için bir proinflamatuvar sitokin olan HMGB1 ekspresyonunu baskılayabildi i ifade edilmektedir (Du ve ark., 2014, Hu ve ark., 2014). Statinlerin anılan etkileri büyük ölçüde lipid dü ürücü etkilerinden ba ımsız geli mekte ve ‘Statinlerin Pleiotropik etkileri’ ekinde tanımlanmaktadır. Çalı mamızda ÖK ve AK ile e zamanlı uyguladı ımız rosuvastatinin CK-MB artı ını ve nekroz alanı boyutlarını sınırlamadaki ba arısı statinlerin sayılan özellikleri ile açıklanabilir. Buna göre, rosuvastatinin V formlarının perkütan koroner anjiyoplasti gibi elektif yakla ımlar öncesinde veya akut MI gibi durumlarda revaskülarizasyon protokolleriyle birlikte uygulanmasının klinik açıdan terapötik de eri bulunabilir.

Destek

Bu çalı ma **Dicle Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Destekleme Birimi [Proje no: 11TF18]** tarafından desteklenmi tir.

Te ekkür

Bu çalı maların yürütülmesindeki desteklerinden dolayı Sayın Prof. Dr. Candan Özo ul, Doç. Dr. Osman Evliyao lu ve Ar . Gr. Sanem Arık'a te ekkür ederim.

KAYNAKLAR

Beckman JA, Creager MA. The nonlipid effects of statins on endothelial function. Trends Cardiovasc Med 2006; 16: 156-162.

Du X, Hu X, Wei J. Postconditioning with rosuvastatin reduces myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting high mobility group 1 protein expression. Exp Ther Med 2014; 7: 117-120.

Herrmann J, Lerman A, Baumgart D, Volbracht L, Schulz R, Von Birgelen C, Haude M, Heusch G, Erbel R. Preprocedural statin medication reduces the extent of periprocedural non-Q-wave myocardial infarction. Circulation 2002; 106: 2180-2183.

Hu X, Zhang K, Xu C, Chen Z, Jiang H. Anti-inflammatory effect of sodium butyrate preconditioning during myocardial ischemia/reperfusion. Exp Ther Med 2014; 8: 229-232.

Kostapanos MS, Milionis HJ, Elisaf MS. An overview of the extra-lipid effects of rosuvastatin. J Cardiovasc Pharmacol Ther 2008; 13: 157-174.

Laufs U, Gertz K, Dirnagl U, Böhm M, Nickenig G, Endres M. Rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, upregulates endothelial nitric oxide synthase and protects from ischemic stroke in mice. Brain Res 2002; 942: 23-30.

Li Q, Zhuang QK, Yang JN, Zhang YY. Statins exert neuroprotection on cerebral ischemia independent of their lipid-lowering action: the potential molecular mechanisms. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2014; 18: 1113-1126.

Morales-Villegas EC, Di Sciascio G, Briguori C. Statins: cardiovascular risk reduction in percutaneous coronary intervention-basic and clinical evidence of hyperacute use of statins. Int J Hypertens 2011; 2011: 904742.

Prinz V, Laufs U, Gertz K, Kronenberg G, Balkaya M, Leithner C, Lindauer U, Endres M. Intravenous rosuvastatin for acute stroke treatment: an animal study. Stroke 2008; 39: 433-438.

Vinten-Johansen J, Zhao ZQ, Jiang R, Zatta AJ, Dobson GP. Preconditioning and postconditioning: innate cardioprotection from ischemia-reperfusion injury. 2007; 103: 1441-1448.

Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003; 285: 579-588.

Zhou J, Cheng M, Liao YH, Hu Y, Wu M, Wang Q, Qin B, Wang H, Zhu Y, Gao XM, Goukassian D, Zhao TC, Tang YL, Kishore R, Qin G. Rosuvastatin enhances angiogenesis via eNOS-dependent mobilization of endothelial progenitor cells. PLoS One 2013; 8: e63126.

ÖZGEÇM

1. K İML :

Adı, soyadı: İker Kelle

Do um yeri ve tarihi: Diyarbakır, 1971 Aralık

Medeni hali: Evli, 1 çocuklu

adres: Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, 21280 Sur,
Diyarbakır

Telefon: +(412) 248 80 01-12 / 4394 - 4409, 0532 618 20 04

Fax:

e-posta: ikel@dicle.edu.tr

2. E T M ÖYKÜSÜ:

Ortaö renim: 1983-1989; Diyarbakır Anadolu Lisesi

Lisans: 1990-1997; Tıp Hekimi, Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Diyarbakır

Yüksek Lisans/Tıpta Uzmanlık: 1999-2004; Uzman Farmakolog, Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır

3. MESLEK DENEY MLER :

1997 - 1999 Pratisyen Hekim / Diyarbakır İ Sa lık Müdürlü ü

1999 - 2004 Ar . Gr. / Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD.

2006 - Halen Yr.Doç. Dr.

4. B L M UZMANLI İ TEZ :

“ Antikolinesteraz ilaçların sıçan mide ve ileum düz kası üzerine antimuskarinik etkileri”, Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır (2003).

5. DOKTORA TEZ :

6. PROJELER:

- 1) “ n Vivo Sıçan Kalbinde Olu turulan skemi Reperfüzyon Hasarında Rosuvastatin'in Koruyucu Etkisinin skemik Önlo ulla ve skemik Ardko ulla ile Kar ıla tırılması. DÜBAP Projesi, 2011”, Dicle Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Destekleme Birimi, Proje no: 11TF18.
- 2) “ zole Perfüze Rat Kalbinde Myokardiyal skemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine 3-Aminobenzamid ve Siklosporin A Kombinasyonunun Muhtemel Koruyucu Etkilerinin Ara tırılması.” DÜBAP Projesi, 2011.
- 3) zole Perfüze Sıçan Böbre inde Sisplatin Nefrotoksitesisi Üzerine Necrox-7'nin Etkilerinin Ara tırılması. DÜBAP Projesi, 2013.
- 4) Doksorubisin Kardiyotoksitesisi Üzerine Necrox-7'nin Etkilerinin Ara tırılması. DÜBAP Projesi, 2013.
- 5) zole Perfüze Rat Kalbinde Myokardiyal skemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine 3-Aminobenzamid ve Siklosporin A Kombinasyonunun Muhtemel Koruyucu Etkilerinin Ara tırılması. DÜBAP Projesi, 2011.
- 6) zole Perfüze Sıçan Kalbinde Olu turulan skemi Reperfüzyon Hasarı Üzerine Poli(ADP-Riboz) Polimeraz nhibitörü 5-Aminoisoquinolinone ve Na⁺-H⁺ Antiport nhibitörü Zoniporide'nin Etkilerinin Ara tırılması. DÜBAP Projesi, 2011.
- 7) zole Perfüze Rat Kalbinde Doksorubisin Kardiyotoksitesisi Üzerine Melatonin'in Koruyucu Etkilerinin Ara tırılması. DÜBAP Projesi, 2009.

7. BURSLAR:

8. ÜYEL KLER:

Türk Farmakoloji Derne i, 1997 -

9. YABANCI D L:

ngilizce: yi (ÜDS 91)

YAYIN L STES

SCIENCE CITATION INDEX-EXPANDED KAPSAMINDAK DERG LERDE YER ALAN ARA TIRMA MAKALELER

- 1) **I. Kelle**, Hasan Akkoc, Selcuk Tunik, Yusuf Nergiz, Meral Erdinc & Levent Erdinc, “Protective effects of ethyl pyruvate in cisplatin-induced nephrotoxicity”, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 28:4, 674-680 pp., 2014, DOI: 10.1080/13102818.2014.942489
- 2) **I. Kelle**, H. Akkoç, E. Uyar, M. Erdinç, O. Evliyao lu, S. Sarıba , S. Tunik, C. Özo ul, “The combined effect of rosuvastatin and ischemic pre- or post-conditioning on myocardial ischemia-reperfusion injury in rat heart”, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2015; 19(13): 2468-2476.
- 3) A. Tas Hekimoglu, G. Toprak, H. Akkoc, O. Evliyaoglu, T. Tas, **I. Kelle**, L. Colpan, "Protective effect of 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly (ADP-Ribose) polymerase in distant liver injury induced by renal ischemia-reperfusion in rats", *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, (ISI) , 34-34 pp., 2014

- 4) Askin Ender Topal, Hasan Akkoc, **Ilker Kelle**, Sedat Yilmaz, Derya Topal and Murat Akkus, "Impact of N-acetylcysteine and Etodolac Treatment on Systolic and Diastolic Function in a Rat Model of Myocardial Steatosis Induced by High-Fat-Diet", *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 14, 313-319 pp., 2014, DOI: 2212-3873/14
- 5) A. Tas Hekimoglu, G. Toprak, H. Akkoc, O. Evliyaoglu, S. Ozekinci, **I. Kelle**, "Oxytocin Ameliorates Remote Liver Injury Induced by Renal Ischemia-Reperfusion in Rats", *Korean J Physiol Pharmacol (ISI)*, 169-173 pp., 2013, DOI: 10.4196/kjpp.2013.17.2.169
- 6) H. Akkoc, S. Tunik, **I. Kelle**, A. Gurkan, Z. Erdogmus, S. Simsek, M. Erdinc, "Ethyl Pyruvate Prevents Ischemia Reperfusion Injury in Isolated Perfused Rat Heart", *Lat Am J Pharm (ISI)*, 364-370 pp., 2013
- 7) H. Akkoc, A. Gurkan, **I. Kelle**, A. Tas Hekimoglu, M. Erdinc, "Investigating the effect of the poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor 5-aminoisoquinolinone and the Na⁺- H⁺ exchanger inhibitor zoniporide on isolated perfused rat hearts during ischemia-reperfusion injury", *Drug Research (ISI)*, 521-526 pp., 2013, DOI: 10.1055/s-0033-1347241
- 8) H. Akkoc, **I. Kelle**, S. Tunik, S. Bahceci, L. Sencar, E. Ayaz, Y. Nergiz, L. Erdinc, M. Erdinc, "Protective effect of ethyl pyruvate on liver injury in streptozotocin-induced diabetic rats", *Acta Gastroenterol Belg (ISI)*, 336-341 pp., 2012
- 9) H. Akkoc, **I. Kelle**, S. Tunik, M. Erdinc, L. Erdinc, Y. Nergiz, "Effects of ethyl pyruvate on testicular damage in rats with streptozotocin-induced diabetes", *Acta Endocrinologica (Buc) (ISI)*, 35-45 pp., 2012, DOI: 10.4183/aeb.2012.35

SCIENCE CITATION INDEX-EXPANDED KAPSAMINDAKI DERGİLERDE YER ALAN VE ULUSLARARASI TOPLANTILARDA SUNULAN POSTER ÖZETLERİ

- 1) H. Akkoc, S. Tunik, **I. Kelle**, A. Gurkan, Z. Erdogmus, Z. Gul, M. Erdinc, 4th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels. konferansı dahilinde "Cell Membranes and Free Radical Research" bildiri kitapçığındaki "Ethyl pyruvate prevents ischemia reperfusion injury in isolated perfused rat heart", 51 pp., Isparta, Turkey, June 2012
- 2) H. Akkoc, A. Gurkan, **I. Kelle**, A. Tas Hekimoglu, M. Erdinc, 4th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels konferansı dahilinde "Cell Membranes and Free Radical Research" bildiri kitapçığındaki "The effects of Na⁺- H⁺ exchanger inhibitor –zoniporide – and poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor – 5-aminoisoquinolinone – on ischemiareperfusion injury in isolated perfused rat heart", 51-52 pp., Isparta, Turkey, June 2012
- 3) H. Akkoc, S. Tunik, **I. Kelle**, A. Gurkan, Z. Erdogmus, Z. Gul, M. Erdinc, 4th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels konferansı dahilinde "Cell Membranes and Free Radical Research" bildiri kitapçığındaki "The effects of L-NAME and glibenclamide on ethyl pyruvate induced cardioprotection in isolated perfused rat heart during ischemia reperfusion injury", 81-82 pp., Isparta, Turkey., June 2012
- 4) M. Erdinc, L. Erdinc, Y. Nergiz, **I. Kelle**, H. Akkoc, Z. Erdogmus, 4th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels konferansı dahilinde "Cell Membranes and Free Radical Research"

bildiri kitapçı indaki "The effects of carvedilol on isolated perfused rat kidney during cisplatin-induced nephrotoxicity", 72 pp., Isparta, Turkey, June 2012

- 5) Y. Nergiz, M. Erdinc, O. Karabulut, L. Erdinc, **I. Kelle**, Anatomist 2009 10th Congress of European Association of Clinical Anatomy konferansı dahilinde "Surgical & Radiologic Anatomy" bildiri kitapçı indaki "The effects of N-asetylcystein on nephrotoxicity induced by cisplatin in rats", 130pp., Istanbul Turkey, September 2009

ULUSAL / ULUSLARARASI TOPLANTILARDA SUNULAN POSTER ÖZETLER

- 1) **. Kelle**, H. Akkoç, S. Tunik, Y. Nergiz, M. Erdinç, L. Erdinç, E. Uyar, 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi konferansı dahilinde "22. Ulusal Farmakoloji Kongre Kitabı" bildiri kitapçı indaki "Sisplatin nefrotoksisitesinde etil pirüvat'ın koruyucu etkileri.", P-019 pp., Antalya, Türkiye, Kasım 2013
- 2) **. Kelle**, E. Uyar, H. Akkoç, A. Ta Hekimo lu , M. Erdinç, O. Evliyao lu, 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi konferansı dahilinde "22. Ulusal Farmakoloji Kongre Kitabı" bildiri kitapçı indaki " n vivo sıçan kalbinde olu turulan iskemi reperfüzyon hasarında rosuvastatin'in koruyucu etkisinin iskemik önko ulla ile kar ıla tırılması.", P-122 pp., Antalya, Türkiye, Kasım 2013
- 3) M. Erdinç, Z. Erdo mu , H. Akkoç, A. Ta Hekimo lu, **. Kelle**, L. Erdinç, Y. Nergiz, 21. Ulusal Farmakoloji Kongresi konferansı dahilinde "21. Ulusal Farmakoloji Kongresi-Kongre Kitabı" bildiri kitapçı indaki " zole perfüze rat kalbinde doksorubisin kardiyotoksisitesi üzerine melatonin'in koruyucu etkileri", 176 pp., Eski ehir, Türkiye, Ekim 2011.
- 4) H. Akkoç, **. Kelle**, S. Bahçeci, S. Tunik, L. Sencar, E. Ayaz , Y. Nergiz, L. Erdinç , M. Erdinç, 21. Ulusal Farmakoloji Kongresi konferansı dahilinde "21. Ulusal Farmakoloji Kongre Kitabı" bildiri kitapçı indaki "Streptozotosin ile diyabet olu turulmu ratlarda geli en karaci er hasarı üzerine etil pirüvat'ın koruyucu etkileri", 257 pp., Eski ehir, Türkiye, Ekim 2011
- 5) H. Akkoç, **. Kelle**, S. Tunik, M. Erdinç, L. Erdinç , Y. Nergiz, 21. Ulusal Farmakoloji Kongresi konferansı dahilinde "21. Ulusal Farmakoloji Kongre Kitabı" bildiri kitapçı indaki "Streptozotosin ile diyabet olu turulmu ratlarda geli en testis hasarı üzerine etil pirüvat'ın koruyucu etkileri", 273 pp., Eski ehir, Türkiye, Ekim 2011
- 6) Ö. Baran, H. Akkoç, S. Tunik, **. Kelle**, Y. Nergiz, S. Polat, M. Erdinç, L. Erdinç, 20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi. konferansı dahilinde "20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongre Kitabı" bildiri kitapçı indaki "Deneysel diyabet olu turulmu ratların böbrek hasarında etil pirüvat'ın koruyucu etkisi", PBIII-27 pp., Antalya Türkiye, Ekim 2011
- 7) H. Akkoç, **. Kelle**, S. Tunik, M. Erdinç, L. Erdinç , Y. Nergiz, , 20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi. konferansı dahilinde "20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongre Kitabı" bildiri kitapçı indaki "Deneysel diyabet olu turulmu ratların testis hasarında etil pirüvat'ın koruyucu etkisi", PBIII-3 pp., Antalya Türkiye, Ekim 2011
- 8) H. Akkoç, **. Kelle**, S. Bahçeci, S. Tunik, L. Sancar, E. Ayaz, Y. Nergiz, , L. Erdinç , M. Erdinç, 20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi. konferansı dahilinde "20. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongre Kitabı" bildiri kitapçı indaki "Deneysel diyabet olu turulmu ratların karaci er hasarında etil pirüvat'ın koruyucu etkisi", PBIII-24 pp., Antalya Türkiye, Ekim 2011
- 9) M. Erdinç, Y. Nergiz, S. Tunik, S. Solako lu, L. Erdinç, **. Kelle**, 19. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi konferansı dahilinde "19. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongre

Kitabı" bildiri kitapçı ındaki "Sisplatin nefrotoksisitesinde nifedipinin koruyucu etkisi", PBIII-98 pp., Trabzon Türkiye, Haziran 2009

- 10) Y. Nergiz, M. Erdiñç, L. Erdiñç, S. Tunik, S. Solako lu, . **Kelle**, 19. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi konferansı dahilinde "19. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongre Kitabı" bildiri kitapçı ındaki "Sisplatin'in olu turdu u böbrek hasarına kar ı L-Arginin'in koruyucu etkisi", PBIII-187 pp., Trabzon Türkiye, Haziran 2009
- 11) M. Erdiñç, L. Erdiñç, Y. Nergiz, . **Kelle**, 9. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi konferansı dahilinde "Turkish Histology and Embryology Association, Cell & Tissue Biology Research: Volume1 / 2008 Supplement" bildiri kitapçı ındaki "Effects of melatonin on nephrotoxicity induced by cisplatin in rats", PBIII-58 pp., Adana Türkiye, Mayıs 2008
- 12) . **Kelle**, H. Akkoç, E. Uyar, M. Erdiñç, O. Evliyao lu, S. Sarıba , S. Tunik, C. Özo ul, 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi konferansı dahilinde "23. Ulusal Farmakoloji Kongre Kitabı" bildiri kitapçı ındaki "Sıçan kalbinde iskemi-reperfüzyon hasarına kar ı rosuvastatin farmakolojik ardko ullaması ile iskemik ardko ullamanın kombine etkisi.", P-098 pp., Hacettepe Üniversitesi Kültür Merkezi, Ankara, Türkiye, Eylül 2015

ULUSAL / ULUSLARARASI TOPLANTILARDA YAPILAN SÖZLÜ SUNUMLAR

- 1) **Iker Kelle. (2014).** "Farmakovijilans ve laç Etkile imlerinin Yönetimi" III. Güneydo u Anadolu Hepatit Günleri. Güneydo u Nöroloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derne i. Diyarbakır

zoprenalin ile indüklenen kardiyak hipertrofi modelinde nebivolol tedavisinin β_1 -adrenoseptör sinyal yolağı ve kardiyak hipertrofi gelişimi üzerindeki etkileri.

I İL ÖZAKÇA

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara

GİRİŞ VE AMAÇ:

Plazma katekolamin düzeyleri kardiyak fonksiyonun kısa ve uzun dönem düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Akut dönemde, sempatik sistem aktivasyonuna yanıt olarak kardiyak β_1 -adrenoseptör (AR) aracılığıyla pozitif inotropik, kronotropik ve lusitropik etkiler gözlenmektedir. Ancak, artmış plazma katekolamin düzeyleri ile β_1 -AR'lerin uzun süreli aktivasyonu kalp üzerinde olumsuz etkiler olmaktadır. Bu fenomen, kalp yetmezliğin gelişiminde gözlenmektedir; patolojinin erken dönemlerinde plazma katekolamin düzeylerindeki artış kalp kasındaki fonksiyon bozukluğunu kompanse ederken, uzun dönemde aşırı sempatik aktivasyon kalpteki fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunmaktadır (Lohse ve ark., 2003). Bu durumda β_1 -bloker ilaçlar kronik kalp yetmezliğinde ilk sıra terapi olarak yer almaktadırlar (HFSA, 2010). Kalp yetmezliği tedavisinde kullanılan klinik açıdan etkili β_1 -blokerlerin ortak farmakolojik özelliği β_1 -AR aktivasyonunu antagonize etmeleridir. Bu ajanlar kardiyoselektif β_1 -blokerler (örn, metoprolol, atenolol) olarak adlandırılmaktadırlar. β_1 -AR selektivitesi ve hibrid etkinlikleri ile üç farklı kuşağa de erlendirilen β_1 -blokerlerin üçüncü kuşağı üyeleri (nebivolol, karvedilol) selektif β_1 -AR bloğuna ek olarak farklı mekanizmalarla vazodilatasyona aracılık etmektedirler. Nebivolol, nitrik oksit (NO)-aracılı vazodilatasyona neden olmakta, bu etkisi ile ilk iki kuşağa yer alan β_1 -blokerlere üstünlük sağlamaktadır (Nodari ve ark., 2003 ; Dhakam ve ark., 2008; Mahmud ve Feely, 2008; Liu ve ark., 1999). Nebivololün β_1 -AR bloğuna ve vazodilatör aktivitesi ile ilişkili kardiyoprotektif etkileri SENIORS (Study of Effects of Nebivolol Intervention on Outcomes and Rehospitalization in Seniors with Heart Failure) çalışması ile kanıtlanmıştır (Flather ve ark., 2005; van Veldhuisen ve ark., 2009). Nebivolol ile indüklenen vazodilatasyon β_3 -adrenoseptör uyarımının sonucunda oluşan nitrik oksit aracılığıyla gerçekleşmektedir (Balligand, 2009; de Groot ve ark., 2003; Dessy ve ark., 2005; Rozec ve ark., 2006).

Çalışmamızda, izoprenalin ile indüklenen kardiyak hipertrofi modelinde gözlenen morfolojik, moleküler ve fonksiyonel değişimler üzerine nebivolol tedavisinin etkileri metoprolol ile karşılaştırılarak incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM:

Deney hayvanları:

Çalışmamızda Bilkent Üniversitesi Deney Hayvanı Yetiştirme Bölümü'nden sağlanan 8 haftalık erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanların bakımı Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nde (07.00-19.00 saatleri arası aydınlık, 19.00-07.00 saatleri arası karanlık, oda sıcaklığı $22 \pm 1^\circ\text{C}$) yapılmıştır. Çalışmanın etik kurul onayı, Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 2009-50-249 karar numarası ile alınmıştır.

Deneysel modelin oluşturulması:

Deney gruplarında, in vivo kardiyak hipertrofi modeli %0,9'luk serum fizyolojik (kontrol grubu) ve izoprenalin (ISO-tedavili) ketamin/ksilazin (50:10 mg/kg) anestezisi altında sıçanların sırtlarına subkutan olarak yerleştirilecek ozmotik mini pompa (Alzet, 2002, $0.5 \mu\text{l/saat}$ hızda) aracılığıyla yapılmıştır. izoprenalin infüzyon hızı ön deneylerle 14 gün süresince $2.4 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{gün}^{-1}$ olacak şekilde belirlenmiştir. Ozmotik mini pompanın yerleştirilmesinden 24 saat sonra sıçanlar rastgele (i) taşıyıcı ile tedavi edilen kontrol grup ($30/70 \text{ DMSO/su}$, ISO), (ii) metoprolol tartarat ($30 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{gün}^{-1}$, M) ve (iii) nebivolol hidroklorit ($10 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{gün}^{-1}$, N) olacak şekilde üç gruba ayrılmıştır. Taşıyıcı, metoprolol ve nebivolol tedavileri cerrahi işlemden bir sonraki gün (1. gün) oral yolla uygulanmıştır. "Sham" olarak operasyona alınan sıçanlar kontrol grubu olarak de erlendirilmiştir. Ara çalışma süresince tüm gruplardaki sıçanların sistolik kan basınçları ve kalp atım hızları tedavi öncesi (0. gün) ve sonrasında indirekt tail-cuff yöntemi ile günlük olarak ölçülmüştür.

ndirekt yolla kan basıncı ve kalp atım hızı ölçümü:

Çalı mamızda sıçanların sistolik kan basınçları ve kalp atım hızları indirekt "tail-cuff" yöntemi kullanılarak ölçülmü tür. Gerçek ölçümler yapılmadan önce, ölçüm ko ullarına uyum sa layabilmeleri için, sıçanların ortalama bir hafta süreyle deney ortamına alı maları sa lanmı tır. Bu yönteme göre sıçanlar, 45 dakika boyunca 32°C sıcaklıktaki özel bir dolapta tutulduktan sonra hareketsiz olarak durmalarını sa layan küçük kafeslere yerle tirilmi lerdir. "Tail-cuff" ve piezoelektrik nabız sensörü, sıçanların kuyruklarına takılarak otomatik kan basıncı aletine ba lanmı tır. "Tail-cuff" birer dakika arayla otomatik olarak i rilip bo altılmı tır. Bu sistemde, "cuff" i irildikten sonra bo alma süresi içinde geçen zamanda kalp atımlarının sensör ile alındı ı ilk noktadaki basınç, sistolik kan basıncı olarak kaydedilmi tır. Her bir sıçan için en az 10 ölçüm yapılmı , en büyük ve en küçük de erler atılarak kalan ölçümlerin ortalaması sıçanların bireysel kan basıncı ve kalp atım hızı de erleri olarak alınmı tır.

zole kalp preparatı deneyleri (Langendorff sistemi):

Eter ile anestezi edilen sıçanların kalpleri hızlı bir ekilde çıkarılarak oksijenlendirilmi (%95 O₂-%5 CO₂, pH 7.35-7.40) Krebs çözeltisine (120 mM NaCl, 25 mM NaHCO₃, 4.8 mM KCl, 1.2 mM KH₂PO₄, 1.25 mM MgSO₄, 1.25 CaCl₂ ve 10 mM glukoz) alınmı tır. Aorta kanüle edilerek kalbin sabit basınç (60mmHg) altında oksijenlendirilmi Krebs çözeltisi ile perfüze olması sa lanmı tır. Sol ventrikül içine yerle tirilen içi su ile doldurulmu lateks bir balon ile ba lantılı basınç transdüseri aracılı ıyla kalp kontraktilesi sürekli olarak kayıt altına alınmı tır. Her preparat için, deneyin ba langıcında ventriküler hacim-basınç ili kisinin de erlendirilebilmesi için sol ventrikül içine yerle tirilen balonun içindeki sıvı hacmi kademeli olarak arttırılmı tır. Maksimum basınca ula ıldı ında, sol ventrikül diastol-sonu basıncı (LVEDP) ayarlanmı tır. LVEDP'nin ayarlanmasının ardından "baseline" verisi en az on dakika kaydedilerek preparatın dengeye ula ması beklenmi tır. Bu a amanın ardından preparat, deney protokolünün sonuna kadar 8.3Hz'de elektriksel olarak uyarılmı tır. Kalp atım hızı, sol ventrikül içi geli en basınç (LVDP) ve sol ventrikül içi basınçta olu an pozitif ve negatif de i iklik hızları (+dP/dt_{max} ve -dP/dt_{max}) kayıt altına alınmı tır. Ek olarak, akı hızı de erleri de perfüzyon hattına yerle tirilen akı ölçer aracılı ıyla ölçülmü tür.

Süperfüzyon sistemi deneyleri:

Deneyden yakla ık on dakika önce heparinize (3000U/kg, i.p.) edilen sıçanlar eter ile anestezi edilerek kalpleri izole edilmi tır. Çıkarılan kalp, oksijenlenmi ve heparinlenmi Krebs çözeltisi bulunan küçük cam beherlere konulmu , böylece kalbin içindeki kandan ve olası pıhtılardan temizlenmesi sa lanmı tır. Ardından özel olarak hazırlanmı ve sürekli oksijenlendirilen petriye alınan kalplerin sa ventrikül dokusu ayrıldıktan sonra aort çıkı ından girilerek sol ventrikülleri açılmı tır. Sol ventrikülde bulunan 2 adet papiller kastan biri izole edilerek "Steiert tipi yatay süperfüzyon sistemi" ne yatay olarak takılmı tır. Sıcaklı ı 30°C'de sabit tutulan 3 ml hacmindeki banyo 5 ml/dak perfüzyon hızında, 2ms boyunca 0,6Hz frekansta ve 6-8 volt de erinde (e ik voltaj de erinin 2 katı) 1 saatlik inkübasyon periodundan sonra papiller kasın maksimum gerimi (L_{max}) ayarlanmı tır. L_{max} de eri 10µm'lik artı lara kar ı olu an gerimlerin artık de i medi i noktadır. Bu noktadaki de erin %90'ına denk gelen gerim de eri hesaplanarak kasın gerimi bu de ere ayarlanmı tır. Agonist yanıtverirli inin de erlendirilmesi amacıyla izoprenalin (selektif olmayan -AR agonisti), noradrenalin (prazosin ve desipramin varlı ında, selektif ₁-AR agonisti), fenoterol (selektif ₂-AR agonisti), BRL37344 (selektif ₃-AR agonisti) ve forskolin ile kümülatif konsantrasyon-yanıt e rileri çıkartılmı tır. Deney sonunda ise kasın boyu ve a ırlı ı ölçülerek CSA de erleri hesaplanmı tır.

Total RNA izolasyonu ve kantitatif PCR:

Total RNA izolasyonu guanidyum tiosiyanat-fenol-kloroform ekstraksiyonu ile gerçekleştirilmi tir (Chomczynski ve Sacchi, 1987). Likit nitrojen icinde dondurularak -80°C'de saklanan sol ventrikül dokuları, sıvı azot içinde toz edilmi tir. Ardından 1ml Trizol kullanılarak homojenizatör yardımıyla homojenize edilmi tir. 30 dakika oda sıcaklı ında bekletilen homojenatlar, bu süre sonunda çözünmeyen parçaların çöktürülmesi için, 4°C'de kısa süre yüksek hızda santrifüj edilmi tir. Santrifüj sonunda supernatantlar yeni tüplere alınmı ve üzerlerine 100'er µl 1-bromo-3-kloropropan (1,3-BCP) (Trizol/1,3-BCP: 1/10) eklenerek 15 saniye boyunca tüpler hızlı bir ekilde çalkalanmı tir. Bu i lemin sonunda örnekler 15 dakika oda sıcaklı ında bekletilmi tir. Örnekler 12000 rpm'de 4°C'de 15 dakika santrifüj edilmi tir. Santrifüj sonunda üst kısımda bulunan aköz faz, yeni tüplere alınmı tir. Tüplere alınan üst fazın hacmi kadar

izopropanol eklenerek (aköz faz/izopropanol: 1/1) birkaç kez hafif ekilde karı tırılmı tır. Hazırlanan örnekler 30 dakika oda sıcaklı ında bekletildikten sonra, 12000 rpm'de 4°C'de 30 dakika boyunca santrifüj edilerek total RNA'nın çökmesi sa lanmı tır. Santrifüj sonunda izopropanol fazı uzakla tırılarak pelletin üzerine 1 ml -20°C'de so utulmu %75'lik etanol eklenmi tır. RNA pelleti pipet yardımıyla yıkanmı ve örnekler 12000 rpm'de 4°C'de 15 dakika santrifüj edilmi tır. Santrifüj tamamlandıktan sonra etanol uzakla tırılmı ve olu an pellet oda sıcaklı ında 10 dakika bekletilerek hafifçe kurutulmu tur. Pelletin büyüklü üne göre 10-20µl nükleaz içermeyen su (NFW) kullanılarak RNA pelleti tamamen çözülmü tür. Hazırlanan total RNA'nın saflı ı ve konsantrasyonu spektrofotometrik olarak (NanoDrop), RNA bütünlü ü ise jel elektroforezi ile de erlendirilmi tır.

Revers transkriptaz PCR (RT-PCR) deneylerinin ilk a amasında 1 µg RNA ve 2 µl random primer (600 pmol/ µl) ile reaksiyon kurulmu tur. Bu a amada, her bir örne in e it konsantrasyonda (1 µg) reaksiyona girecek hacmi (µl) belirlenmi ve daha sonra reaksiyon hacmi NFW ile 13 µl'ye tamamlanmı tır. Bu a amanın reaksiyon ko ulları 65°C'de 10 dakika olarak çalı ılmı tır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra hemen buza alınan RNA-primer karı ımına 4 µl 5X tampon, 2 µl dNTP (10 mM), 0.5 µl RNase inhibitör (40U/µl) ve 0.5 µl RT enzim (20U/µl) eklenmi ve toplam hacim 20 µl'ye tamamlanmı tır. Hazırlanan örnekler PCR makinasına yerle tirildikten sonra üç basamaklı [(1) 25°C'de 10 dakika, (2) 42°C'de 60 dakika ve (3) 80°C'de 10 dakika] reaksiyon kurularak cDNA eldesi gerçekte tirilmi tır.

Kantitatif PCR (QPCR) deneylerinde 2 µl cDNA, 1 µl primer çifti karı ımı (10 pmol/ µl), 5 µl Syber Green karı ımı (2X) ve 2 µl NFW ile reaksiyon kurulmu tur. Reaksiyon sırasındaki amplifikasyon ko ulları kullanılan primer çiftine göre de i iklik gösterece inden ön çalı malarla primer çiftleri için en uygun sıcaklık ve reaksiyon ko ulları belirlenmi tır. QPCR sonucunda elde edilen verilerin daha do ru ve güvenilir bir ekilde yorumlanabilmesi için her bir örnek üçlü setler halinde (triplicate) çalı ılmı ve üç de erin ortalaması o örne e ait olan veri olarak alınmı tır.

Western blot:

Likit nitrojen icinde dondurularak -80°C'de saklanan sol ventrikül dokuları, sıvı azot içinde toz edilmi tır. Ardından dokular proteaz

inhibitör kokteyli ve sodyum ortovanadat eklenmi RIPA tamponu kullanılarak homojenizatör yardımıyla homojenize edilmi tır. Homojenatlar 2 saat +4°C'de çalkalanarak tüm doku partiküllerinin çözümlenmesi sa lanmı tır. 2 saat sonunda 1300 g'de 5 dakika +4°C'de santrifüj yapılmı ve santrifüj sonrasında alınan supernatant 16000 g'de 30 dakika +4°C'de ikinci kez santrifüj edilerek elde edilen supernatantlar protein miktar tayini için kullanılmı tır.

Protein miktar tayini BCA (bicinchoninic acid) protein analizi ile yapılmı tır. Bu yöntem ile bazik bir ortamda Cu^{+2} 'nin Cu^{+1} 'e protein ile redüksiyonunun ardından bakır katyonunun (Cu^{+1}) BCA ile yüksek duyarlılıkta ve kolorimetrik olarak belirlenmesi amaçlanmı tır. İlk basamakta bazik ortamda protein ile bakırın (Cu^{+2}) elasyonu gerçekte ir ve açık mavi renkte bir kompleks olu ur. İkinci basamakta ise ilk basamakta olu an redüklenmi bakır (Cu^{+1}) BCA ile reaksiyona girer ve yo un mor renkli bir ürün olu ur. BCA/ Cu^{+1} kompleksi suda çözünmekte ve artan protein konsantrasyonları ile 562 nm absorbansta güçlü bir do rusallık göstermektedir. BCA yöntemi bir kit yardımıyla uygulanmı ve reaksiyon kitte belirtilen direktifler do rultusunda gerçekte tirilmi tır. Standart e ri çizilmesi sırasında sı ır serum albumini (BSA) standart olarak kullanılmı tır.

SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) için, toplama (stacking) ve ayırma (separating) olmak üzere iki katmanlı denatüre poliakrilamid jel kullanılmı tır. Ayırma jeli için seçilecek akrilamid %'si çalı ılan proteinlerin büyüklüklerine göre %8-12 arasındadır. Toplama jeli ise standart olarak %4'lüktür. Elektroforez ko ulları jele yüklenen protein miktarına göre de i mekle birlikte, ilk 45 dakika 30V ve toplamda 120 dakika olacak ekilde 100V'tur. Elektroforez tamamlandıktan sonra, jeldeki proteinler nitroselüloz ya da PVDF membrana transfer edilmi tır. Transfer ko ulları buz içinde, %20 metanol içeren transfer tamponu kullanılarak 120 dakika 100V olarak uygulanmı tır. Transfer sonrasında membranlar oda sıcaklı ında 1 saat BSA ile bloklanmı , ardından BSA ile dilüe edilmi primer antikor ile gece boyu +4°C'de inkübe edilmi tır. Primer antikor inkübasyonu sonrasında membranlar 3 kere %0.1 Tween içeren Trisile-tamponlanmı salin (T-TBS) ile yıkanmı tır. Yıkamalar sonrasında 2 saat +4°C'de sekonder antikor ile inkübe edilen membranlar tekrar T-TBS ile yıkanmı ve 1-2 dakika ECL (*enhanced chemiluminescence*) solüsyonu uygulanarak X-ray film çekilmi tır.

Elde edilen protein bantları dansitometrik olarak ölçülmü , çalı ılan protein bantları kontrol protein bantlarına göre düzeltilerek kontrolün %'si olarak hesaplanmı tır. **Histomorfometrik analiz:**

Sol ventrikül örnekleri OCT (*optimal cutting temperature*) içine gömülerek dondurulmu ve kryostat ile örne in orta bölümünden çoklu transvers kesiler (5µm) alınmı tır. Miyosit alanı ve kapiller yo unlu u için, kesiler aseton içinde yava ça çözünmü ve fosfat ile tamponlanmı salin (PBS) ile 3 kere yıkandı tır. Endotelial hücrelerin immunohistokimyasal boyamaları izolektin B4 (1 saat, oda sıcaklı ı) ile gerçekleştirilmi tır. PBS ile yapılan yıkama (3x5 dakika) ardından Avidin-FITC uygulaması (2 saat, oda sıcaklı ı) yapılmı tır. PBS ile yapılan ikinci yıkamanın (3x5 dakika) ardından "wheat germ agglutinin" (2 saat, oda sıcaklı ı) uygulaması yapılmı tır. PBS ile yapılan üçüncü yıkamanın (3x5 dakika) ardından dokular Vectashield ile kapatılmı tır. Doku örneklerinin görüntülenmesi MRm Rev3 AxioVision-Deconvolution 3D kamera ile Axioimager Z1 Apotome sistemi ile yapılmı tır. Veri analizi Axiovision yazılımı ile gerçekleştirilmi tır. Her sol ventrikül örne inden alınan 20 kesiden 50-100 hücre/kesi olacak ekilde ölçüm alınmı tır.

statiksel analiz:

Tüm sonuçlar ortalama±SEM ekinde ifade edilmi tır. statiksel analiz tek-yönlü Anova ve ardından Newman-Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gerçekleştirilmi tır. p değeri <0.05 istatiksel olarak anlamlı kabul edilmi tır. Veriler GraphPad Prism 5 kullanılarak analiz edilmi tır.

BULGULAR:

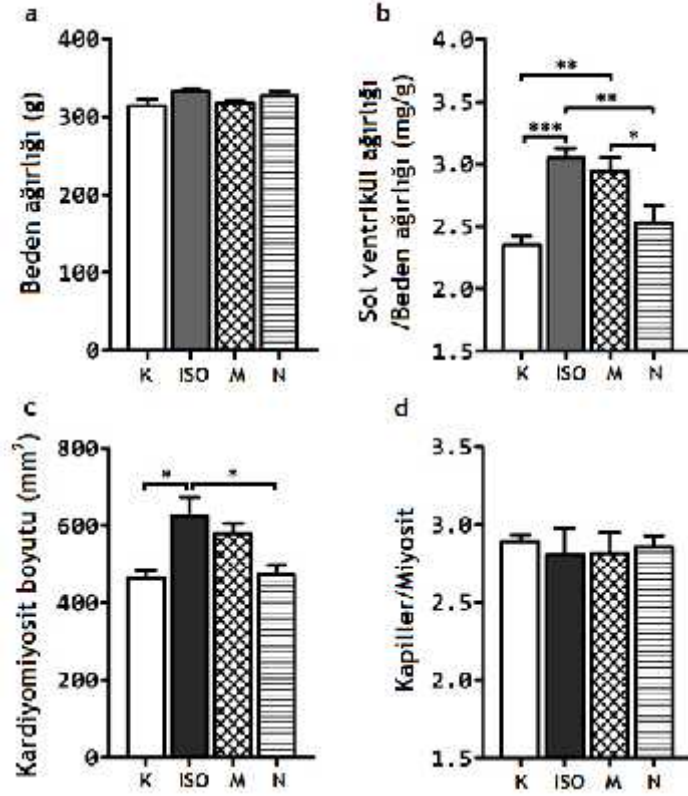
I. zoprenalin infüzyonu sonrası metoprolol ve nebivolol tedavilerinin kalp atım hızı ve kardiyak morfoloji üzerine olan etkileri:

metoprolol-tedavili kontrol grubu, KN: nebivolol-tedavili kontrol grubu).

14 günlük izoprenalin infüzyonu sırasında sıçanların kalp atım hızı kontrollerle karşılaştırıldı ında yaklaşık %30 oranında artmı tır (Tablo 1). -bloker tedavi protokolünde, metoprolol ve nebivololün etkin dozları izoprenalin ile indüklenen ta ikardi üzerinde her iki -blokerin negatif kronotropik etkileri de değerlendirilerek belirlenmi tır. Metoprolol ve nebivololün seçilen dozları izoprenalin ile indüklenen ta ikardi üzerinde benzer azalmaya (metoprolol için %9.3, nebivolol için %11.2) neden olmu tur (Tablo 1). 14 günlük izoprenalin infüzyonu sonrasında, kardiyak hipertrofi sol ventrikül a ırlı ı/beden a ırlı ı oranındaki ve kardiyomiyosit boyutundaki artı ile gözlenmi tır. Deney gruplarının beden a ırlıkları arasında farklılık olmamasına karşın (ekil 1A), kronik izoprenalin infüzyonu kontrollerle karşılaştırıldı ında sol ventrikül a ırlı ı/beden a ırlı ı oranında artı a neden olmu tur (ekil 1B). Nebivolol, metoprololden farklı olarak izoprenalin infüzyonuna yanıt olarak artmı olan sol ventrikül a ırlı ı/beden a ırlı ı oranı ile kardiyomiyosit boyutunda istatistiksel olarak anlamlı olarak azalmaya neden olmu tur (ekil 1B ve 1C). Miyosit başına dü en kapiller sayısı gruplar arasında de ğişimi tır (ekil 1D).

Tablo 1. In vivo tedavi protokolü süresince metoprolol ve nebivolol tedavilerinin kalp atım hızı üzerindeki etkileri. Her gruptaki örnek sayısı 5-10'dur. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 vs. K; †p<0.05; ††p<0.01; †††p<0.001 vs. ISO. Gruplar arası anlamlılık test yönlü Anova ile değerlendirilmi , post-hoc test olarak Newman-Keuls uygulanmı tır. (K: Kontrol grup, ISO: zoprenalin infüzyonu uygulanmı grup, M: zoprenalin infüzyonuna ek olarak metoprolol tedavisi almı grup, N: zoprenalin infüzyonuna ek olarak nebivolol tedavisi almı grup, KM:

	K	ISO	M	N	KM	KN
0. Gün	386,3±8,4	372,9±5,7	373,7±2,5	375,4±4,6	369,0±3,0	359,8±4,0
7. Gün	386,5±3,7	527,6±11,2***	462,7±16,9***††	484,9±14,5***†	333,8±3,3**	329,4±2,3***
14. Gün	374,1±4,9	531,3±10,2***	481,5±4,4***††	470,8±6,6***†††	334,4±1,0*	334,0±2,1**



ekil 1. Kardiyak hipertrofinin morfolojik de erlendirilmesi. Beden a ırlıkları e le tirilerek olu turulan deney gruplarının, 14 gnlük infüzyon ve/veya tedavi sürelerinin sonucunda ula tıkları beden a ırlıklarının de erlendirilmesi (a). Deney gruplarının sol ventrikül a ırlı ı/beden a ırlı ı oranları (b). Her gruptaki örnek sayısı 9-11'dir. Kardiyomiyosit boyutları (c). Miyosit ba ına dü en kapiller sayısı (d). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. Gruplar arası anlamlılık tek yönlü Anova ile de erlendirilmi , post-hoc test olarak Newman-Keuls uygulanmı tır. (K: Kontrol grup, ISO: zoprenalin infüzyonu uygulanmı grup, M: zoprenalin infüzyonuna ek olarak metoprolol tedavisi almı grup, N: zoprenalin infüzyonuna ek olarak nebivolol tedavisi almı grup).

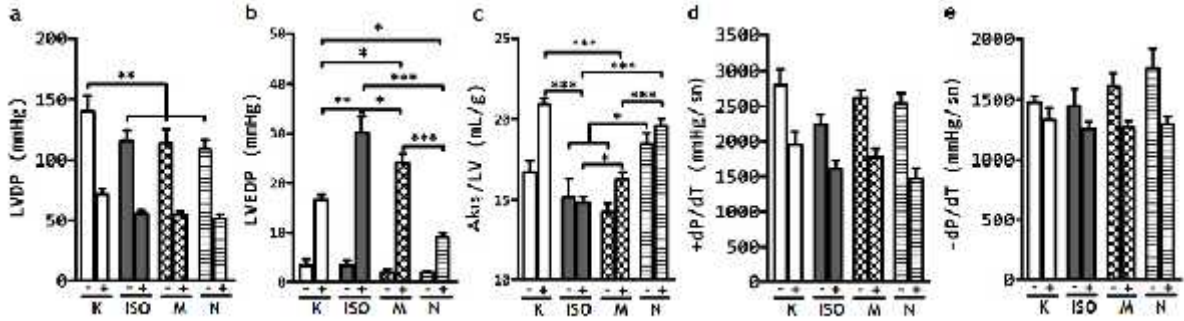
II. zoprenalin infüzyonu sonrası metoprolol ve nebivolol tedavilerinin izole kalp preparatı üzerine olan etkileri:

Çalı mamızda hipertrofi modelini karakterize etmek ve -bloker tedavilerinin kardiyak hemodinami üzerindeki olası etkilerini de erlendirebilmek için miyokard fonksiyonu izole Langendorff kalp preparatı kullanılarak de erlendirilmi tir. Kontrol ve izoprenalin-tedavili gruplarda izole kalp preparatlarının performansı spontan atım halinde (-) ve elektriksel uyarı varlı ında (+) incelenmi tir. Deney gruplarının spontan kalp atım hızı de erleri arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmemi tir [K vs. ISO vs. M vs. N (atım/dak): 190 ± 15 vs. 213 ± 14 vs. 242 ± 16 vs. 227 ± 15 ; $p > 0.05$]. Spontan atım sırasında, LVDP de erleri kontrollerle kar ıla tırıldı ında ISO, M ve N gruplarında anlamlı olarak dü ük bulunmu , buna kar ın LVEDP, +dP/dt ve -

dP/dt de erlerinin gruplar arasında istatistiksel olarak farklı olmadı ı gözlenmi tir (ekil 2). Modelimizde, tüm kalp preparatları sabit basınçta (60mmHg) perfüze edilmi tir. Bu deneysel protokol, koroner akı taki olası farklılıkların koroner vasküler direncin bir göstergesi olarak de erlendirilmesine olanak tanımakta ve izoprenalin infüzyonuna yanıt olarak artan kardiyak kütle nedeniyle her kalbin ihtiyacı olan perfüzyon hacmindeki de i iklinin normalize edilmesini sa lamaktadır. zole sistemde elektriksel uyarı için 8.3Hz'in seçilmesinin nedeni, bu de erin izoprenalin ile tedavi edilen sıçanların in vivo kalp atım hızı ortalamalarına en yakın de er olmasıdır. Elektriksel uyarı altında, LVDP de erleri spontan atım ko ulları ile kar ıla tırıldı ında tüm gruplarda azalmı ancak gözlenen azalma miktarı gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulunmamı tır (ekil 2A). Elektriksel

uyarı tüm gruplarda LVEDP de erlerini spontan atım ko ulla rı ile kar ıla tırıldı ında tüm gruplarda yükselmesine neden olmu tur (ekil 2B). Elektriksel uyarı varlı ında LVEDP de erleri daha ayrıntılı olarak incelendi inde, sadece nebivolol tedavisinin diyastol-sonu basınç de erlerinde daha az bir artışa neden oldu u gözlenmi tir. Bu bulguya dayanarak nebivolol tedavisinin daha iyi bir diyastolik dolum sa ladı ı ileri sürülebilir (ekil 2B). Çalı mamızda koroner akı de erleri sol ventrikül (LV) a ırlı ına oranlanarak (akı /LV) normalize edilmi tir. Elektriksel uyarının yapılmadı ı spontan atım ko ulla rında, koroner akı (akı /LV) izoprenalin infüzyonuna yanıt

olarak hafifçe azalmı tır (ekil 2C). Metoprolol tedavisi bazal koroner akı ı iyile tirmemi , buna kar ın nebivolol tedavisi koroner akı ı ISO ve M grupları ile kar ıla tırıldı ında anlamlı olarak düzeltmi tir (ekil 2C). Elektriksel uyarının yapıldı ı ko ulla rda, koroner akı ın kontrol ve -bloker tedavili gruplarda artma e iliminde oldu u görülmesine kar ın, N grubunda koroner akı ın M grubu ile kar ıla tırıldı ında anlamlı olarak farklı oldu u gözlenmektedir (ekil 2C). Elektriksel uyarının yapıldı ı ko ulla rda +dP/dt ve -dP/dt de erleri arasında deney grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemi tir (ekil 2D ve 2E).



ekil 2. Langendorff izole kalp sistemine ait bazal veriler. LVDP (Sol ventrikül içi geli en basınç) de erleri (a). LVEDP (Sol ventrikül diyastol-sonu basıncı) de erleri (b). Koroner akı ile sol ventrikül (LV) a ırlı ının oranı (c). +dP/dt_{max} (Sol ventrikül içi basınçta olu an pozitif de i iklik hızı) (d). -dP/dt_{max} (Sol ventrikül içi basınçta olu an negatif de i iklik hızı) (e). Tüm de erler spontan atım (-) ve elektriksel uyarı (+) ko ulla rında gösterilmi tir. Her gruptaki örnek sayısı 5-7'dir. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001. Gruplar arası anlamlılık tek yönlü Anova ile de erlendirilmi , post-hoc test olarak Newman-Keuls uygulanmı tır. (K: Kontrol grup, ISO: zoprenalin infüzyonu uygulanmı grup, M: zoprenalin infüzyonuna ek olarak metoprolol tedavisi almı grup, N: zoprenalin infüzyonuna ek olarak nebivolol tedavisi almı grup).

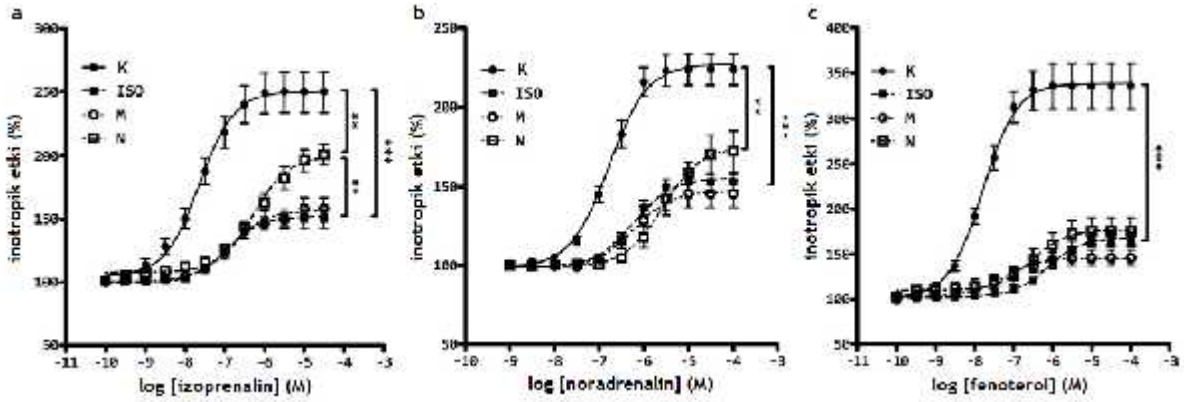
III. zoprenalin infüzyonu sonrası metoprolol ve nebivolol tedavilerinin papiller kas düzeyinde fonksiyonel yanıtlar üzerine etkileri:

14 günlük izoprenalin infüzyonu izoprenalin, noradrenalin ve fenoterol-aracılı pozitif inotropik yanıtlarda kontrollerle kar ıla tırıldı ında sırasıyla %67, %57 ve %72 oranında azalmaya ve belirtilen agonistlerin konsantrasyon-yanıt e rilerinde belirgin sa a kaymalara neden olmu tur (Tablo 2 ve ekil 3). zoprenalin infüzyonuna ek olarak, metoprolol tedavisi her üç agonistin konsantrasyon-yanıt e rilerinde ISO grubu ile kar ıla tırıldı ında E_{max} ve pD₂ de erlerinde herhangi bir de i ikli e neden olmamı tır (Tablo 2). Buna kar ın, nebivolol tedavisi

izoprenalin yanıtının E_{max} de erini kontrollerin %68'ine çıkarmı ve izoprenalin konsantrasyon-yanıt e risini ISO grubu ile kar ıla tırıldı ında anlamlı bir ekilde sa a kaydırmı tır (Tablo 2 ve ekil 3A). Nebivolol noradrenalin maksimum yanıtında da küçük bir artışa neden olmu ve noradrenalin konsantrasyon-yanıt e risini ISO grubu ile kar ıla tırıldı ında sa a kaydırmı tır (Tablo 2 ve ekil 3B). Metoprolol ile benzer ekilde nebivolol, fenoterol konsantrasyon-yanıt e risinin maksimum de erinde herhangi bir de i ikli e neden olmamı tır. Nebivolol, fenoterol konsantrasyon-yanıt e risini, metoprolol tedavisinin tersine ISO grubu ile kar ıla tırıldı ında sa a kaydırmı tır (Tablo 2 ve ekil 3C).

BRL37344 kontrol gruba ait izole papiller kas preparatlarında 0.01 ile 100 nM konsantrasyonlarda negatif inotropiye, 300 ile 1000 nM konsantrasyonlarda ise pozitif inotropiye aracılık etmektedir (ekil 4A). BRL37344'ün konsantrasyon-ba ımlı zıt inotropik etkileri, yüksek konsantrasyonlarda -AR alttıpleri üzerinde selektifli ini kaybetmesi ve 1^- ve/veya 2^- -AR'leri uyararak pozitif inotropik etkilere aracılık etmesi ile açıklanmaktadır. ISO ve M gruplarında, BRL37344-aracılı olarak gözlenen hem negatif hem de pozitif inotropik yanıtlar kaybolmu tur. Buna kar ın, nebivolol tedavisi 100nM konsantrasyonda BRL37344 ile gözlenen negatif inotropik yanıtı iyile tirmi tir (K vs. N: %100.0±14.8 vs. %62.91±11.51, p<0.05) (ekil 4B). 100nM'dan yüksek konsantrasyonlarda, nebivolol tedavisi kontrol grubundan farklı olarak, BRL37344-aracılı pozitif inotropik etkinli i tümüyle inhibe etmi tir. gözlenmemi tir (ekil 5A).

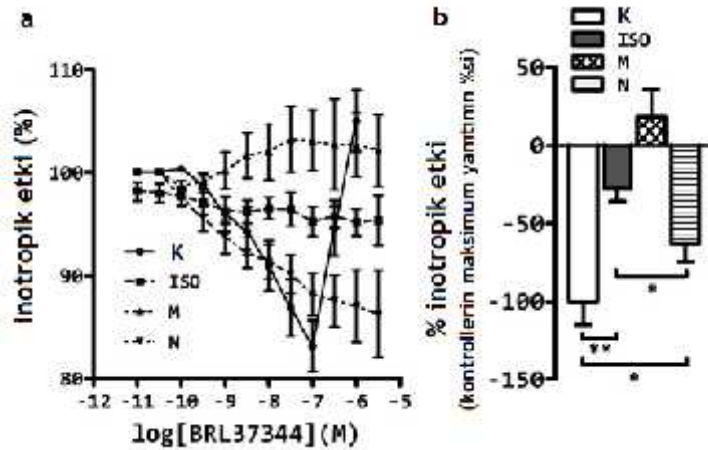
Forskoline ait inotropik yanıtlar üç farklı konsantrasyonda (1, 3 ve 10µM) kümülatif olarak çalı ılmı tir. 1µM konsantrasyonda forskoline alınan inotropik yanıtın %'si kontrol ile kar ıla tırıldı nda tüm gruplarda anlamlı olarak azalmı tir (ekil 5A ve 5B). 3µM konsantrasyonda, sadece ISO ve M gruplarına ait forskolin-aracılı inotropik yanıtlar kontrole göre anlamlı olarak dü ük bulunmu tur (ekil 5A). 10µM konsantrasyonda ise forskolin-aracılı inotropik yanıtta gruplar arasında hiçbir farklılık



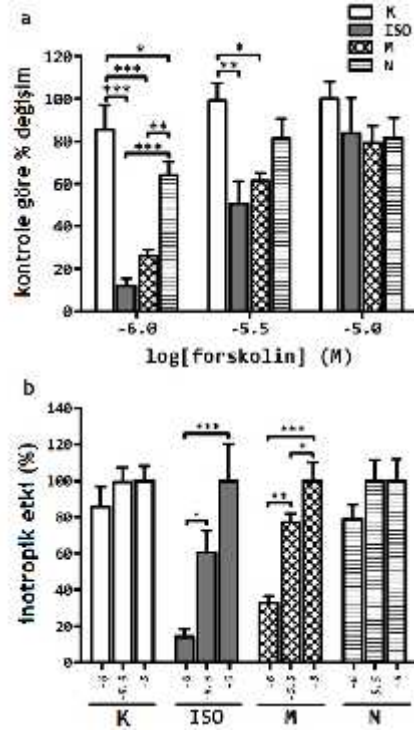
ekil 3. 14 günlük deney protokolü sonunda deney gruplarından izole edilen papiller kas preparatlarına ait izoprenalin (a), noradrenalin (b) ve fenoterol (c) konsantrasyon-yanıt e rileri. Gruplardaki örnek sayıları 6-10'dur. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001. Gruplar arası anlamlılık tek yönlü Anova ile de erlendirilmi , post-hoc test olarak Newman-Keuls uygulanmı tir. (K: Kontrol grup, ISO: zoprenalin infüzyonu uygulanmı grup, M: zoprenalin infüzyonuna ek olarak metoprolol tedavisi almı grup, N: zoprenalin infüzyonuna ek olarak nebivolol tedavisi almı grup).

Tablo 2. Papiller kas preparatında farklı selektiviteye sahip β -AR agonistlerine ait pD_2 ve E_{max} de erleri. Her gruptaki örnek sayısı 6-10'dur. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$ vs. K; † $p<0.05$; †† $p<0.01$; ††† $p<0.001$ vs. ISO; ‡ $p<0.05$; ‡‡ $p<0.01$ vs. M. Gruplar arası anlamlılık tek yönlü Anova ile de erlendirilmi , post-hoc test olarak Newman-Keuls uygulanmı tır. (K: Kontrol grup, ISO: zoprenalin infüzyonu uygulanmı grup, M: zoprenalin infüzyonuna ek olarak metoprolol tedavisi almı grup, N: zoprenalin infüzyonuna ek olarak nebivolol tedavisi almı grup).

		K	ISO	M	N
Izoprenalin	pD_2	7,60±0,06	6,91±0,08***	6,91±0,20***	6,32±0,01***†††‡‡
	E_{max} (%)	150,08±15,76	50,47±7,44***	51,86±4,97***	101,56±8,30*††
Noradrenalin	pD_2	6,70±0,06	6,17±0,07**	6,06±0,19***	5,53±0,10***†††
	E_{max} (%)	123,56±9,98	53,51±5,35***	45,32±8,43***	72,33±12,94*
Fenoterol	pD_2	6,77±0,10	6,11±0,06**	6,06±0,19**	5,39±0,24***†
	E_{max} (%)	235,33±24,63	66,39±8,18***	45,70±8,64***	75,63±15,02***



ekil 4. 14 günlük deney protokolü sonunda deney gruplarından izole edilen papiller kas preparatlarına ait BRL37344 konsantrasyon-yanıt e rileri (a) ve 100nM BRL37344-aracılı inotropik yanıtlardaki % de i im (b). (b) grafi inde, kontrol grubun 100nM BRL37344'e verdi i yanıt %100 olarak ifade edilmi tır. 100nM BRL37344'e ait yanıtların istatistiksel anlamlılı ı K, ISO ve N grupları arasında tek yönlü Anova ile de erlendirilmi tır. Gruplardaki örnek sayıları 6'dır. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$. Gruplar arası anlamlılık tek yönlü Anova ile de erlendirilmi , post-hoc test olarak Newman-Keuls uygulanmı tır. (K: Kontrol grup, ISO: zoprenalin infüzyonu uygulanmı grup, M: zoprenalin infüzyonuna ek olarak metoprolol tedavisi almı grup, N: zoprenalin infüzyonuna ek olarak nebivolol tedavisi almı grup).

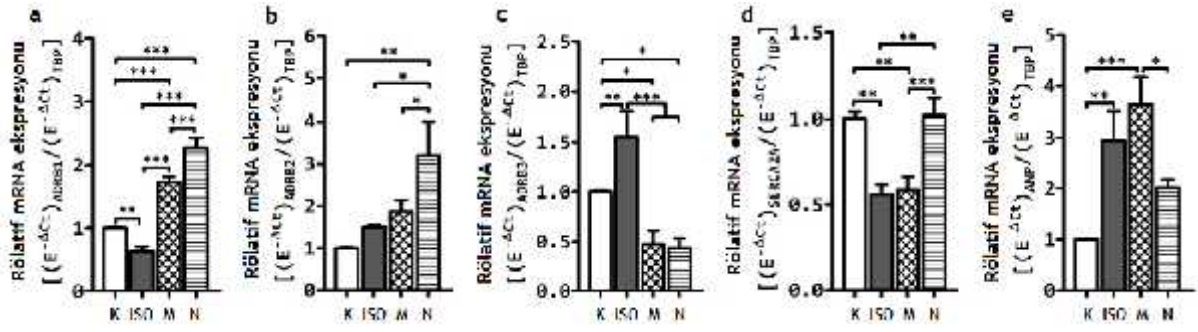


ekil 5. Farklı forskolin konsantrasyonlarına (1, 3, 10 μ M) deney gruplarının verdi i inotropik yanıtların maksimum kontrol yanıtına göre % olarak de erlendirilmesi (a). Deney gruplarının üç farklı forskolin konsantrasyonuna (1, 3, 10 μ M) verdikleri yanıtların her bir grubun kendi maksimum yanıtına göre % olarak gösterimi (b). Her gruptaki örnek sayısı 6'dır. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. Gruplar arası anlamlılık tek yönlü Anova ile de erlendirilmi , post-hoc test olarak Newman-Keuls uygulanmı tır. (K: Kontrol grup, ISO: zoprenalin infüzyonu uygulanmı grup, M: zoprenalin infüzyonuna ek olarak metoprolol tedavisi almı grup, N: zoprenalin infüzyonuna ek olarak nebivolol tedavisi almı grup).

IV. zoprenalin infüzyonu sonrası metoprolol ve nebivolol tedavilerinin kardiyak β -AR alttıplerine ve kardiyak hipertrofi belirteçlerine ait mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri:

Kronik izoprenalin infüzyonu β_1 -AR mRNA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olmu tur (ekil 6A). Metoprolol ve nebivolol tedavileri K ve ISO grupları ile kar ıla tırıldı ında β_1 -AR mRNA düzeylerinde anlamlı bir artışa neden olmu lardır (ekil 6A). Nebivolol tedavisi, metoprolol ile kar ıla tırıldı ında β_1 -AR ekspresyon düzeylerini daha belirgin ölçüde artırmı tır. Hem izoprenalin infüzyonu hem β -bloker tedavileri β_2 -AR mRNA düzeylerinde artışa neden olmu lardır. Ancak, sadece nebivolol tedavisine yanıt olarak gözlenen artış kontrol grubu ile kar ıla tırıldı ında istatistiksel olarak anlamlı bulunmu tur (ekil 6B). Uzun

sürelili izoprenalin infüzyonu β_3 -AR mRNA düzeylerini anlamlı bir şekilde artırmı tır (ekil 6C). Her iki β -bloker tedavisi de artımı olan β_3 -AR mRNA düzeylerini K ve ISO grupları ile kar ıla tırıldı ında anlamlı olarak azaltmı tır (ekil 6C). Kardiyak hipertrofi belirteçlerinden biri olarak kabul edilen sarkoplazmik retikulum Ca^{2+} ATPaz (SERCA2a) mRNA düzeylerindeki azalma, çalı mamızdaki deneysel kardiyak hipertrofi modelinde de gözlenmi tir (ekil 6D). Metoprolol tedavisinin azalmı SERCA2a mRNA düzeyleri üzerinde etkisi olmamasına kar ın, nebivolol tedavisi SERCA2a mRNA düzeylerini kontrol düzeylerine yükseltmi tir (ekil 6D). Çalı mamızda ikinci bir hipertrofi belirteci olarak çalı ılan atrial natriüretik peptid (ANP) mRNA düzeyleri, literatürde gösterildi i gibi, izoprenalin infüzyonuna yanıt olarak anlamlı bir şekilde artmı tır (Izumo ve ark., 1988; van den Bosch ve ark., 2006) (ekil 6E). Nebivolol tedavisi, metoprololün tersine, artımı ANP mRNA düzeylerini kontrol düzeyine dü rümmü tür (ekil 6E).

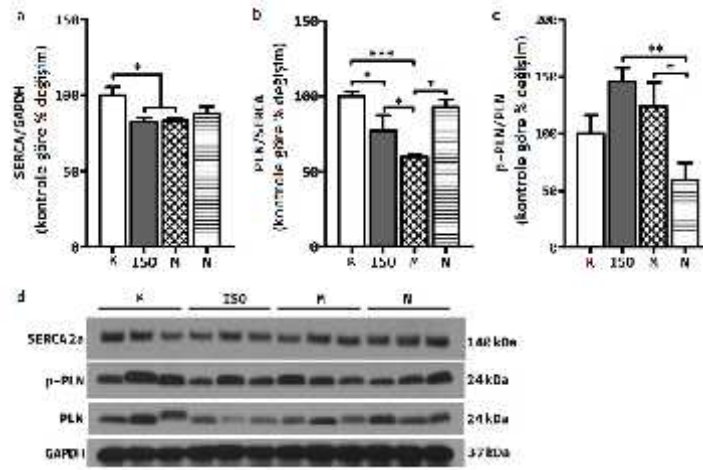


ekil 6. -AR alttiplerinin ve kardiyak hipertrofi belirteçlerinin ekspresyonlarındaki de i iklikler. ₁-AR mRNA düzeyleri (a). ₂-AR mRNA düzeyleri (b). ₃-AR mRNA düzeyleri (c). Sarkoplazmik retikulum Ca²⁺ ATPaz (SERCA2a) mRNA düzeyleri (d). Atrial natriüretik peptid (ANP) mRNA düzeyleri (e). De erler TATA-box ba lanma proteini (TBP)'ne göre normalize edilmi ve kontrol de erlerin %'si olarak ifade edilmi tir. Her gruptaki örnek sayısı 6-8'dir. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001. Gruplar arası anlamlılık tek yönlü Anova ile de erlendirilmi , post-hoc test olarak Newman-Keuls uygulanmı tir. (K: Kontrol grup, ISO: zoprenalin infüzyonu uygulanmı grup, M: zoprenalin infüzyonuna ek olarak metoprolol tedavisi almı grup, N: zoprenalin infüzyonuna ek olarak nebivolol tedavisi almı grup).

V. zoprenalin infüzyonu sonrası metoprolol ve nebivolol tedavilerinin eksitasyon-kontraksiyon kenetinde yer alan protein düzeyleri üzerine etkileri:

Western blot analiz sonuçlarımız, SERCA2a ekspresyonlarının izoprenalin infüzyonuna yanıt olarak azaldı nı göstermektedir (K vs ISO: %100.0±5.2 vs. %82.3±2.8; p<0,05) (ekil 7A). Metoprolol tedavisinin aksine, nebivolol tedavisi azalmı SERCA2a ekspresyonları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif bir iyile meye neden olmu tur (M vs N: %83.2±1.8 vs %87.8±4.8, p>0,05) (ekil 7A). Total fosfolamban (PLN) ekspresyonunun anlamlı bir ekilde azalması sonucunda (K vs. ISO vs. M vs. N: %100.0±3.8 vs. %70.3±13.1 vs. %56.6±5.0 vs. %102.2±17.9; K vs. M, p<0,05; M vs. N, p<0,05) PLN/SERCA2a oranı ISO ve M gruplarında azalmı (ekil 7B), ancak nebivolol

tedavisine yanıt olarak PLN/SERCA2a oranı kontrol düzeylerine yükselme tir (ekil 7B). Ser16/Thr17 fosforile PLN (p-PLN)/total PLN oranı ISO ve M gruplarında yükselme , buna kar n nebivolol tedavisi ile p-PLN/PLN oranı anlamlı bir ekilde azalmı tır (ekil 7C). Sonuç olarak, adrenerjik a rı aktivasyonun oldu u ko ullarda SERCA2a protein düzeylerinde gözlenen azalma, SERCA2a aktivasyonu üzerinde PLN'in inhibitör etkisinin azalması ile kompanse edilebilmektedir. Nebivololün eksitasyon-kontraksiyon kenetinde yer alan proteinler üzerindeki ters etkisi, kardiyak hipertrofi üzerindeki iyile tirici etkisi ile paralellik göstermektedir.



ekil 7. Eksitasyon-kontraksiyon kenetinde yer alan proteinlerinin analizi. SERCA2a (a). SERCA2a/fosfolamban (PLN) (b). Fosfo-PLN (p-PLN)/PLN (c). Western blot görüntülerinin sunumu (her grup için 3 örnek gösterilmi tir) (d). De erler yükleme kontrolü olarak kullanılan GAPDH'e göre normalize edilmi ve kontrol de erlerin %'si olarak ifade edilmi tir. Her gruptaki örnek sayısı 5-6'dır. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. Gruplar arası anlamlılık tek yönlü Anova ile de erlendirilmi , post-hoc test olarak Newman-Keuls uygulanmı tir. (K: Kontrol grup, ISO: zoprenalin infüzyonu uygulanmı grup, M: zoprenalin infüzyonuna ek olarak metoprolol tedavisi almı grup, N: zoprenalin infüzyonuna ek olarak nebivolol tedavisi almı grup).

TARTI MA VE SONUÇ:

Çalı mamızda, nebivolol tedavisinin izoprenalin infüzyonu ile indüklenen kardiyak hipertrofinin morfolojik ve moleküler belirteçleri ile birlikte β -AR-aracılı inotropik yanıtlardaki de i iklikleri kısmen önledi i gösterilmi tir. Di er taraftan metoprolol tedavisinin aynı parametreler üzerinde etkisiz olması, nebivololün kendi etki mekanizması üzerinde önemli olabilecek ek özelliklere sahip oldu unu kanıtlamaktadır. Nebivololün kardiyoselektif β -blokerlere göre üstünlük gösterdi i özellikleri nitrik oksit- (NO-)aracılı ve/veya β -AR-aracılı vazodilatasyondur (de Groot ve ark., 2003; Dessy ve ark., 2005; Rozec ve ark., 2006).

Daha önce yayınlanan di er çalı malarla benzer ekilde (McMartin ve Summers, 1999), çalı mamızda izoprenalin infüzyonu ile kardiyak hipertrofi modeli olu turulmu tur. Deneysel modelin özellikleri u ekilde sıralanabilir: (i) izoprenalin infüzyonu süresince artmı kalp atım hızı, (ii) sol ventrikül a ırlı ı/beden a ırlı ı oranında ve kardiyomiyosit boyutlarında artı , (iii) hipertrofi belirteci olarak bilinen SERCA2a ve ANP mRNA ekspresyonlarının sol ventriküldeki ekspresyonlarındaki de i iklikler. zoprenalin infüzyonuna yanıt olarak azalmı LVDP

de erleri de kardiyak fonksiyon bozuklu unun bir göstergesi olarak de erlendirilebilir.

Birçok ara tırma grubu nebivololün vazodilatör etkinli ini farklı damar yataklarında göstermi lerdir. Bu damar yatakları arasında, koroner direnç ve perfüzyon rezervinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan koronerler oldukça önemli terapötik öneme sahiplerdir. Sabit basınçla perfüzyonun gerçekleştirildi i Langendorff sisteminde koroner akı taki artı a i aret eden sonuçlarımız, nebivolol tedavisi ile izole kalpte daha iyi bir perfüzyonun sa landı ını göstermektedir. Ek olarak nebivolol tedavisi ile miyosit ba ına dü en kapiller sayısının de i medi i ancak kardiyomiyosit boyutlarında azalmanın oldu u da dikkat çekici bir bulgudur. Her iki bulgu birarada de erlendirildi inde nebivololün koroner akı üzerindeki etkisinin vazodilatasyondan kaynaklanabilece ini ileri sürmek mümkündür. Elektriksel uyarının LVEDP üzerindeki etkisi de nebivolol tedavisinin di er gruplar ile kar ıla tırıldı ında diyastol sırasında daha iyi bir gev emeye aracılık etti ine i aret etmektedir.

Forskolin ile gerçekleştirildi imiz deneylerimiz, nebivololün β -AR sinyal yola ının hangi noktası üzerinde etkili olabilece ini test etmemizi sa lamı tir. Forskolinin adenilat siklazı do rudan aktive etmesi ile gerçekleştirilen kontraktilite nebivolol tedavisi ile düzelmi tir.

Nebivolol tedavisi sonucu izoprenalin-, BRL37344- ve forskolin-aracılı yanıtların birarada düzelmesi, nebivololün α_1 - ve α_3 -AR'ler ile cAMP sinyal yolları ile bağıntılı ortak bir alana etki edebileceğini ileri sürmemize neden olmuştur. Çalı mamızda bir eksiklik olarak α_1 -AR'lerin protein ekspresyonları incelenmemi olsa da, reseptör-aracılı (izoprenalin) ve cAMP-aracılı (forskolin) yanıtların tüm gruplarda karşılaştırılması bu sonucu desteklemektedir.

Çalı mamıza ilişkin ikinci önemli sonuç ise metoprololün aksine nebivolol tedavisinin kardiyak küttele azalmaya ve kardiyak hipertrofi belirteçlerinin mRNA ekspresyonlarında iyileşmeye neden olmasıdır. Çalı mamızda gösterildiği gibi, ANP gibi fetal genlerin yeniden eksprese olması ve SERCA2a gibi Ca^{+2} tutulumundan sorumlu proteinlerin ekspresyonlarındaki değişiklikler kardiyak hipertrofiye gözlenmektedir (Lorell ve Carabello, 2000). Bilindiği gibi, SERCA2a mRNA düzeylerinde meydana gelen azalma, uzun süreli sitozolik Ca^{+2} düzeylerindeki artışın bir sonucu olarak düşünülebilir (Lorell ve Carabello, 2000). Nebivolol tedavisinin kardiyak kütle ve kardiyak hipertrofi belirteci olan genlerin ekspresyonu üzerinde olumlu etkisi de değişiklikler göz önüne alındığında, nebivololün α_1 -AR blokajı etkisinden bağımsız olarak sitozolik Ca^{+2} miktarını yüküne zıt yönde çalıştıran bir mekanizma aracılığıyla etki gösterebileceği speküle edilebilir.

Nebivololün Ca^{+2} miktarını yükünü azaltma yönünde etkisi olabileceğine ilişkin bir dizi kanıt ise, nebivolol tedavisinin SERCA2a ve PLN ekspresyonları üzerinde olumlu etkisi de değişikliklerdir. Kalpte hücre içi Ca^{+2} dengesi hem sitozolik Ca^{+2} düzeyini hem de sarkoplazmik retikulum içindeki Ca^{+2} yükünü kontrol eden SERCA2a aktivitesi tarafından düzenlenmektedir. Sarkoplazmik retikulum tarafından gerçekleştirilen Ca^{+2} düzeyinin hızı esas olarak SERCA2a, PLN ve fosforile PLN'nin ekspresyon düzeyleri ile kontrol edilmektedir (Kranias ve Hajjar, 2012). α_1 -AR-aracılı PLN fosforilasyonu sitozolik kompartmandan sarkoplazmik retikulum lümenine Ca^{+2} taşınmasının hızını arttırmaktadır. PLN'nin fosforilasyonunun ve sarkoplazmik retikulum içinde biriken Ca^{+2} düzeylerinin artması gevşemeyi hızlandırmakta ve kontraktileti arttırmaktadır, bu durum sempatik aktivasyon sonrasında kardiyak

output'un artmasına katkıda bulunmaktadır (Hagemann ve Xiao, 2002). Çalı mamızda izoprenalin infüzyonu sonucunda SERCA2a protein düzeylerinde gözlenen azalma daha önce yapılmış çalımlarda da gösterilmiştir (Shibata ve ark., 2011). Ancak azalmış PLN/SERCA2a oranı ve artmış PLN fosforilasyonu ISO ve M gruplarında SERCA2a aktivitesi üzerinde baskılanmanın olduğunu iddia etmektedir. SERCA2a aktivitesi üzerinde PLN'nin düzenlenmesi, izoprenalin ile indüklenen kardiyak hipertrofiye kardiyak fonksiyonun sürdürülmesi için azalan SERCA2a ekspresyonuna karşı bir kompensatuvar mekanizma olarak düşünülebilir. Özellikle kardiyak hipertrofinin erken dönemlerinde söz konusu kompensatuvar mekanizmaların dekompanse kalp yetmezliğine dönüşümü geciktirmek için devreye girebileceği hipotez edilmektedir. Nebivolol tedavisi alan grupta, PLN'a ilişkin kompensatuvar düzenlenmenin ortadan kalkması, nebivololün bozulan Ca^{+2} tutulumu üzerindeki olumlu etkisine işaret edebilir. Nebivolol tedavisinin p-PLN/PLN oranı üzerindeki etkisi, elektriksel uyarı altında LVEDP'da gözlenen azalma (ekil 2B) ve farklı afinitelere sahip ligandlara alınan inotropik yanıtlardaki düzelme (ekil 3A, 4B ve 5B) olarak gözlenebilir.

Çalı mamızdaki önemli eksikliklerden biri α_1 -AR alttıplerinin protein ekspresyonlarındaki değişikliklerin değerlendirilememesidir. Özellikle α_3 -AR mRNA düzeylerindeki değişiklikler ile α_1 -bloker tedavisi alan gruplardaki BRL37344-aracılı inotropik yanıtlardaki düzelme arasında korelasyon yakalanamamıştır. Sonuçlarımız, her iki α_1 -bloker ile sağlanan α_1 -AR blokajının α_1 - ve α_3 -AR mRNA düzeylerinin kontrolünde etkili olduğunu, buna karşın inotropik yanıt verilerinin sadece nebivolol tedavisi ile sağlandığını göstermektedir.

Sonuçlarımız, adrenerjik uyarımın yüksek olduğu koşullarda nebivolol tedavisinin α_1 -AR sinyal yollarını α_3 -AR uyarımı aracılığıyla düzelttiğini göstermektedir. Nebivololün etkisinde α_3 -AR aktivasyonunun mekanizma olarak ileri sürüldüğü, metoprolol tedavisi sonucunda aynı iyileşmenin görülmemesi ile speküle edilmektedir.

DESTEK

Bu çalı ma 110S006 nolu TÜB TAK projesi ile desteklenmi tir.

TE EKKÜR

Bu çalı manın yapılabilmesi için desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. V. Melih Altan ve Prof. Dr. A. Tanju Özçelikay'a te ekkür ederim.

KAYNAKLAR

Balligand, J.L., 2009. (3)-Adrenoceptor stimulation on top of (1)-adrenoceptor blockade "Stop or Encore?" *J Am Coll Cardiol* 53, 1539-1542.

Chomczynski, P., Sacchi, N., 1987. "Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction" *Anal Biochem*, 162,156-159.

de Groot, A.A., Mathy, M.J., van Zwieten, P.A., Peters, S.L., 2003. Involvement of the 3 adrenoceptor in nebivolol-induced vasorelaxation in the rat aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 42, 232-236.

Dessy, C., Saliez, J., Ghisdal, P., Daneau, G., Lobysheva, I.I., Frérart, F., Belge, C., Jnaoui, K., Noirhomme, P., Feron, O., Balligand, J.L., 2005. Endothelial 3-adrenoreceptors mediate nitric oxide-dependent vasorelaxation of coronary microvessels in response to the third-generation -blocker nebivolol. *Circulation* 112, 1198-1205.

Dhakam, Z., McEniery, C.M., Burton, T., Brown, M.J., Wilkinson, I.B., 2008. "A comparison of atenolol and nebivolol in isolated systolic hypertension" *J Hypertens*, 26, 351-356.

Flather, M.D., Shibata, M.C., Coats, A.J., Van Veldhuisen, D.J., Parkhomenko, A., Borbola, J., Cohen-Solal, A., Dumitrascu, D., Ferrari, R., Lechat, P., Soler-Soler, J., Tavazzi, L., Spinarova, L., Toman, J., Böhm, M., Anker, S.D., Thompson, S.G., Poole-Wilson, P.A.; SENIORS Investigators., 2005. Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *Eur Heart J* 26, 215-225.

Hagemann, D., Xiao, R.P. 2002. Dual site phospholamban phosphorylation and its physiological relevance in the heart. *Trends Cardiovasc Med* 12, 51-56.

Heart Failure Society of America, Lindenfeld, J., Albert, N.M., Boehmer, J.P., Collins, S.P., Ezekowitz, J.A., Givertz, M.M., Katz, S.D., Klapholz, M., Moser, D.K., Rogers, J.G., Starling, R.C., Stevenson, W.G., Tang, W.H., Teerlink, J.R., Walsh, M.N., 2010. Comprehensive Heart Failure Practice Guideline. *J Card Fail* 16, e1-e194.

Izumo, S., Nadal-Ginard, B., Mahdavi, V., 1988. Protooncogene induction and reprogramming of cardiac gene expression produced by pressure overload. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85, 339-343.

Kranias, E.G., Hajjar, R.J., 2012. Modulation of cardiac contractility by the phospholamban/SERCA2a regulatome. *Circ Res* 110, 1646-1660.

Liu, G.S., Wang, L.Y., Nueten, L.V., Ooms, L.A., Borgers, M., Janssen, P.A., 1999. "The effect of nebivolol on left ventricular hypertrophy in hypertension" *Cardiovasc Drugs Ther*, 13, 549-551.

Lohse, M.J., Engelhardt, S., Eschenhagen, T., 2003. What is the role of -adrenergic signaling in heart failure? *Circ Res* 93, 896-906.

Lorell, B.H., Carabello, B.A., 2000. Left ventricular hypertrophy: pathogenesis, detection, and prognosis. *Circulation* 102, 470-479.

Mahmud, A., Feely, J. 2008. "Beta-blockers reduce aortic stiffness in hypertension but nebivolol, not atenolol, reduces wave reflection" *Am J Hypertens*, 21, 663-667.

McMartin, L., Summers, R.J., 1999. Functional analysis of desensitization of the -adrenoceptor signalling pathway in rat cardiac tissues following chronic isoprenaline infusion. *Br J Pharmacol* 127, 1012-1020.

Nodari, S., Metra, M., Cas, L.D., 2003. " -Blocker treatment of patients with diastolic heart failure and arterial hypertension. A prospective, randomized, comparison of the long-term effects of atenolol vs. nebivolol" *Eur J Heart Fail*, 5, 621-627.

Rozec, B., Quang, T.T., Noireaud, J., Gauthier, C., 2006. Mixed α -adrenoceptor agonist and α -adrenoceptor antagonist properties of nebivolol in rat thoracic aorta. *Br J Pharmacol* 147, 699-706.

Shibata, M., Takeshita, D., Obata, K., Mitsuyama, S., Ito, H., Zhang, G.X., Takaki, M., 2011. NHE-1 participates in isoproterenol-induced downregulation of SERCA2a and development of cardiac remodeling in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 301, H2154-H2160.

van den Bosch, B.J., Lindsey, P.J., van den Burg, C.M., van der Vlies, S.A., Lips, D.J., van der Vusse, G.J., Ayoubi, T.A., Doevendans, P.A., Smeets, H.J., 2006. Early and transient gene expression changes in pressure overload-induced cardiac hypertrophy in mice. *Genomics* 88, 480-488.

van Veldhuisen, D.J., Cohen-Solal, A., Böhm, M., Anker, S.D., Babalis, D., Roughton, M., Coats, A.J., Poole-Wilson, P.A., Flather, M.D., SENIORS Investigators., 2009. β -blockade with nebivolol in elderly heart failure patients with impaired and preserved left ventricular ejection fraction: Data From SENIORS (Study of Effects of Nebivolol Intervention on Outcomes and Rehospitalization in Seniors With Heart Failure). *J Am Coll Cardiol* 53, 2150-2158.

ÖZGEÇM

1. KİMLİK :

Adı, soyadı: İl İl Özakca

Doğum yeri ve tarihi: Bolu, 1980 Ekim

Medeni hali: Bekar

Adresi: Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan, Ankara

Telefon: +(312) 2033139

e-posta: ozakca@ankara.edu.tr

2. EĞİTİM ÖYKÜSÜ:

Lisans: 1998-2002; Eczacı, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Ankara

Yüksek Lisans: 2002-2005; Uzman Eczacı, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara

Doktora: 2005-2011; Doktor Eczacı, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara

3. MESLEK DENEYMLERİ :

2007- Araştırma Görevlisi, Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara

2014- Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul Üyesi

4. BİLİM UZMANLIĞI TEZİ :

"Streptozotisin-Diyabetik Sıçan zole Gastrik Fundus Preparatında β -Adrenerjik Reseptör Yanıtlarındaki Olası Değişiklikler", Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara (2005).

5. DOKTORA TEZİ :

"Kronik zoprenalin nüfzyonunun Sıçan Kalbindeki Beta Adrenoseptör Altıpleri Üzerindeki Fonksiyonel Ve Moleküler Etkisi", Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara (2011).

6. PROJELER:

1. "In vitro hiperglisemik ortamda gözlenen endotel kaynaklı kastırıcı faktör (EDCF) yanıtlarına Rho kinaz ve AMPK sinyal yollarının katkısı." TÜB TAK 115S995, Araştırıcı, 2015-2016.
2. "Deneysel in vivo kardiyak hipertrofi modelinde nebivolol tedavisinin antihipertrofik etkinliğinin olası mekanizmaları." TÜB TAK 114S563, Yürütücü, 2014-2017.
3. "Serotonin reseptör altıpleri aracılı gerçekte en hücre içi ve damar düz kası yanıtlarında epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin rolü." TÜB TAK 111S131, Araştırıcı, 2011-2014.
4. "Insulinin diabetik ratlarda β -AR'ler ile uyarılan kardiyak yanıtlar üzerindeki etkisine tiroid hormonlarının olası katkısı." TÜB TAK 110S179, Araştırıcı, 2010-2012.

5. "Kronik izoprenalin infüzyonunun sıçan kalbindeki beta adrenoseptör alttıpleri üzerindeki fonksiyonel ve **moleküler** etkisi." TÜB TAK 110S006, Bursiyer, 2010-2011.
6. "Beta adrenoseptör alttıplerinin diabetin yol açtığı kardiyak komplikasyonlardaki olası rolü." TÜB TAK 106S157, Bursiyer, 2006-2008.

7. BURSLAR:

TÜB TAK Yurt çİ Yüksek Lisans Burs Programı, 2002-2004

TÜB TAK Yurt çİ Doktora Burs Programı, 2005-2010

TÜB TAK Yurt Dışı Ara tırma Burs Programı, Aralık 2008- Mayıs 2009;
Université Catholique de Louvain, IREC-FATH, Brüksel, Belçika

8. ÜYEL KLER:

Türk Farmakoloji Derne ği, 2005

9. YABANCI D L:

ngilizce

YAYIN L STES :

SCIENCE CITATION INDEX-EXPANDED KAPSAMINDAK DERG LERDE YER ALAN ARA TIRMA MAKALELER

1. **OZAKCA I**, ARIOGLU E, GUNER S, ALTAN VM, OZCELIKAY AT. Role of beta3-adrenoceptor in catecholamine-induced relaxations in gastric fundus from control and diabetic rats. *Pharmacology*, 80: 227-238, 2007.
2. BESIKCI-ONAY A, GUNER S, ARIOGLU E, **OZAKCA I**, OZCELIKAY AT, ALTAN VM. The effects of chronic trimetazidine treatment on mechanical function and fatty acid oxidation in diabetic rat hearts. *Can J Physiol Pharmacol*. 85: 527-535, 2007.
3. ARIOGLU E, GUNER S, **OZAKCA I**, ALTAN VM, OZCELIKAY AT. The changes in beta-adrenoceptor-mediated cardiac function in experimental hypothyroidism: the possible contribution of cardiac beta3-adrenoceptors. *Mol Cell Biochem*. 335: 59-66, 2010.

4. BASGUT B, KAYKI G, BARTOSOVA L, **OZAKCA I**, SEYMEN A, KANDILCI HB, UGUR M, TURAN B, OZCELIKAY AT. Cardioprotective effects of 44Bu, a newly synthesized compound, in rat heart subjected to ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*. 640: 117-123, 2010.

5. **OZAKCA I**, ARIOGLU-INAN E, ESFAHANI H, ALTAN VM, BALLIGAND JL, KAYKI-MUTLU G, OZCELIKAY AT. Nebivolol prevents desensitization of β -adrenoceptor signaling and induction of cardiac hypertrophy in response to isoprenaline beyond β 1-adrenoceptor blockage. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 304: H1267-H1276, 2013.

6. ARIOGLU-INAN E, **OZAKCA I**, KAYKI-MUTLU G, SEPICI-DINCEL A, ALTAN VM. The role of insulin-thyroid hormone interaction on β -adrenoceptor-mediated cardiac responses. *Eur J Pharmacol*. 718: 533-543, 2013.

7. KAYKI-MUTLU G, ARIOGLU-INAN E, **OZAKCA I**, OZCELIKAY AT, ALTAN VM. β 3-Adrenoceptor-mediated responses in diabetic rat heart. *Gen Physiol Biophys*. 33: 99-109, 2014. **SCIENCE CITATION INDEX ve SCIENCE CITATION INDEX-EXPANDED KAPSAMINDAK DERG LERDE YER ALAN VE ULUSLARARASI TOPLANTILARDA SUNULAN POSTER ÖZETLER**

1. GUNER S, ONAY-BESIKCI A, ARIOGLU E, **OZAKCA I**, ALTAN VM, OZCELIKAY AT. Substrate Metabolism and Function of Fructose-fed rat heart. Society for Heart and Vascular Metabolism. 4th Annual Meeting, 6-9 Eylül 2006, Semiahmoo, Washington, USA.
2. ONAY-BESIKCI A, GUNER S, ARIOGLU E, **OZAKCA I**, OZCELIKAY T, ALTAN VM. The effects of chronic trimetazidine treatment on mechanical parameters and fatty acid oxidation in 14 week diabetic rat hearts. Cardiac energy metabolism in Heart Failure: From Concepts To Therapies. 6-9 Eylül 2006, Semiahmoo, Washington State, USA.
3. GUNER S, ARIOGLU E, **OZAKCA I**, BESIKCI-ONAY A, ALTAN VM, OZCELIKAY AT. The Effects of Prediabetes on Responsiveness and Expression of Cardiac Beta-

- adrenoceptors. 2nd International Congress on Prediabetes and the Metabolic Syndrome. 25-28 Nisan 2007, Barcelona, spanya.
4. KAYKI G, ARIOGLU E, **OZAKCA I**, OZCELIKAY AT, ALTAN VM. The effects of diabetes on B3-adrenoceptor-mediated cardiac responses. 14th Annual Meeting of the European Council for Cardiovascular Research (ECCR), 9-11 Ekim 2009, Nice, Fransa.
 5. OZCELIKAY AT, BASGUT B, KAYKI G, BARTOSOVA L, **OZAKCA I**, SEYMEN A, KANDILCI HB, UGUR M, TURAN B. Cardioprotective effects of 44Bu, a newly synthesized compound, in rat heart subjected to ischemia/reperfusion injury. ISHR 20. World Congress, 13-16 Mayıs 2010, Kyoto, Japonya.
 6. GUNER S, ARIOGLU E, **OZAKCA I**, ALTAN VM. Functional consequences of diabetes-induced changes on the expression of cardiac β -adrenoceptors in rats. 4th Annual Meeting D&CVD EASD Study Group Meeting, 27-29 Ekim 2011, Mnih, Almanya.
 7. OZCELIKAY AT, **OZAKCA I**, ARIOGLU E, ALTAN VM. Nebivolol but not metoprolol prevents functional, morphologic and molecular abnormalities induced by isoprenaline in rat heart. 6th European Congress of Pharmacology, EPHAR 2012, 17-20 Temmuz 2012, Granada, spanya.
 8. ARIOGLU-İNAN E, **OZAKCA I**, KAYKI-MUTLU G, SEPICI-DİNCEL A, ALTAN VM. The possible contribution of thyroid hormones to insulin effect on beta adrenoceptor mediated cardiac responses in diabetic rats. D&CVD 2012, 15-17 Kasım 2012, Paris, Fransa.
 9. GUNER S, **OZAKCA I**, KANDILCI HB, ZOTO-MUSTAFAYEVA T, DUMAN-DALKILIC B, GURDAL H. 5-Hydroxytryptamine mediated vasocontraction and Ca^{2+} /Calmodulin and Src-kinase dependent epidermal growth factor receptor transactivation in rat aorta. The FASEB Journal 28: 1065.7, Experimental Biology 2014, 26-30 Nisan 2014, San Diego, USA.
- ULUSAL / ULUSLARARASI TOPLANTILARDA SUNULAN POSTER ÖZETLER**
1. **OZAKCA I**, ARIOGLU E, GUNER S, ALTAN VM, OZCELIKAY AT. Deneysel diabetik izole gastrik fundus preparatında beta 3 adrenoseptör yanıtlarındaki de i iklikler. 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi Özet Kitapçısı, 28 Eylül-1 Ekim 2005, zmir.
 2. CICEK M, **OZAKCA I**, OZIS SE, OZCELIKAY AT. Doca-tuz hipertansif sıçan modelinde kalp fonksiyonu ve Ca^{2+} regülasyonundan sorumlu proteinlerin düzeylerindeki de i imler. 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi Özet Kitapçısı, 7-10 Eylül 2015, Ankara.
- ULUSAL / ULUSLARARASI TOPLANTILARDA YAPILAN SÖZLÜ SUNUMLAR**
1. **OZAKCA I**, ALTAN VM, OZCELIKAY AT. Nebivololün metoprolol ile karıla tırmalı olarak sıçan papiller kas ve torakik aortasındaki etkileri. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi Özet Kitapçısı, 4-7 Kasım 2013, Antalya.

Gastroözofageal Reflü Hastalarında Proton Pompa İnhibitorü Grubundan İlaçlar ile Tedaviye Yanıtsızlıkta Farmakogenetik Parametrelerin ve Akılcı İlaç Kullanımının Etkisinin Araştırılması

Zeynep Güne ÖZÜNAL

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ VE AMAÇ

Peptik asit hastalıklarının tedavisinde proton pompa inhibitörleri (PPİ), yaygın kullanılan histamin-tip 2 (H_2) reseptör antagonistlerinin yerini alarak son yirmi yılda önemli bir değişim sağlamışlardır. Bu hastalıklardan biri olan gastroözofageal reflü (GÖR) tedavisinde PPİ, H_2 reseptör antagonistlerinden daha fazla etkili bulunmaktadır (Poynard ve ark., 1995) ve en fazla bu endikasyon alanında kullanılmaktadır. Bununla birlikte, GÖR hastalarında etkin PPİ dozda ılımlı belirgin bireysel farklılıklar vardır (Egan ve ark., 2003) ve günde bir alınan standart dozda PPİ ilaçlara hastaların yaklaşık %30'unda yanıt elde edilemediği tahmin edilmektedir (Fass ve ark., 2005). GÖR komplikasyonu olabileceği düşünülen özofagus adenokarsinomunun görülme sıklığı ise artmaktadır (Patrick, 2011). Tüm bu nedenlerle, GÖR tedavi başarısını artıracak yeni protokollere gereksinim doğmuştur. PPİ ilaçlar, mide parietal hücrelerinde proton pompasını (H^+K^+ ATPaz) seçici ve geri dönüşümlü olarak inhibe eden benzimidazol türevi bileşiklerdir. İlk kullanıma sunulan PPİ ilaç omeprazolden sonra pantoprazol, lansoprazol, rabeprazol, esomeprazol ve dekslansoprazol geliştirilmiştir. Ön-ilaç olan PPİ ilaçların çoğunun metabolizmasında sitokrom P450 2C19 enzimi (CYP2C19) önemli rol almaktadır. Enzimin yavaş, orta ve hızlı olmak üzere tanımlanan üç genotipinde PPİ ilaçların farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri farklı bulunmuştur. Bu enzimin saptanan polimorfizmlerinin, PPİ ilaçların etkililiğinde ve güvenliliğinde rolü olabileceğini destekleyen çalışmalar rapor edilmekle birlikte henüz yeterli bir protokol oluşturulmamıştır (Klotz ve ark., 1999, Furuta ve ark., 2012, Lima ve Franciosi

2014, Chao-Hung ve ark. 2014). PPİ ilaç tedavisine yanıtsızlıkta, genetik farklılıkların rolü olabileceği gibi hastanın fenotip özellikleri, ilaç kullanım özellikleri, ilaç-ilaç etkileşimleri, ilaç uyuncu ilaç kili parametrelerin ve ilaç doz önerilere uyumun da katkısı olabilmektedir. İlaç-ilaç etkileşimindeki farklı yanıtların bazılarında CYP2C19 polimorfizmi sorumlu bulunmaktadır (Gwen ve ark., 2014). Sunulan çalışmada, tüm bu nedenlerle GÖR hastalarında PPİ ilaçların etkililiğinde ve güvenliliğinde olası değişkenlerin rolünü belirlemek üzere planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya en az bir ay süreyle PPİ'leri kullanan gastroözofageal reflü hastaları dahil edilmiştir. Tedavi başarısına etki eden faktörlerden, hasta özgeçmiğinde özofagus ve mide ilaç alması, sfinkter disfonksiyonu, kanser, korozif madde alımı gibi ek hastalık öyküsü bulunan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmaya omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, esomeprazolü uygun dozda kullanan hastalar dahil edilmiştir. Aydınlatılmış gönüllü olarak alınan hastaların ilaç yanıtı sorgulanmıştır; boy, ağırlık bilgileri, ilaç kullanım özellikleri, etkililiğindeki ilaç kullanımları, ilaç uyumu ilaç kili parametreleri, ilaç etkisi ve olası istenmeyen etkileri yapılandırılmış olarak sorulmuştur. İlaç-ilaç etkileşimleri Lexicomp ilaç etkileşimi veri tabanı kullanılarak değerlendirilmiştir. Hastanın ilaç yanıtını etkileyebileceği için ilaç doz önerilere uyumları da öznel olarak görsel analog ölçeği ile değerlendirilmiştir. Genotipleme için EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinden kit ile (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Almanya) DNA izole edilmiştir. İzolasyon sonrasında sitokrom P450 2C19

ili kili bölge polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile DNA amplifikasyonu yapılmı tır. Mikrodizin yöntemi ile biyofilm çipler kullanılarak Infinity Analiz cihazı (AutoGenomics Inc., ABD) ile 2C19 alellerindeki *2, *3, *4, *6, *7, *8, *9, *17 polimorfizmleri araştırılmı tır.

Etik Kurulu karar no: 30/1/2015-2 tarihinde uygun bulunmu tur.

BULGULAR

I. Hastaların ya , cinsiyet, boy, a ırlık bilgileri

Çalı maya 24-88 ya ları arasında 45 hasta alınmı tır. Gönüllülerin %80'i kadın, %20'si erkektir. Hastaların boyu 160.04 ± 1.25 cm, a ırlı ı 76.86 ± 16.30 kg olarak tespit edilmi tır. Hastaların %18'i (n=8) PP grubundan ilaçlarla tedavi ile ikayetlerinin tamamen gerilemedi ini bildirmi tır.

Tablo 1. Hastaların cinsiyet, ya , boy ve a ırlık verileri

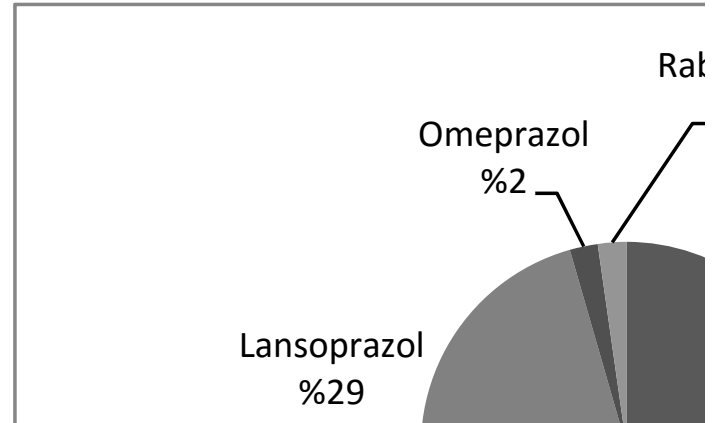
Erkek/kadın oranı	9/36
Ya (ortalama \pm SE)	$53,89 \pm 2,26$
Boy (cm, ortalama \pm SE)	$160,04 \pm 1,25$
A ırlık (kg, ortalama \pm SE)	$76,86 \pm 2,43$

II. Hastaların ilaç kullanım özellikleri, e lik eden ilaç kullanımları, ilaç ve ilaç dı ı önerilere uyum ili kili parametreleri

PPI ilaçlarının kullanım süresi 1-300 ay arasında tespit edilmi tır. Hastaların %35,5'i esomeprazol (N=16), %28,9'u lansoprazol (n=13), %31,1'i pantoprazol (n=14) ve %2,2'si omeprazol(n=1), %2,2'si rabeprazol (n=1) kullanmaktadır. Hastaların %26,7'sinin ilaç hikayesinde *Helicobacter pylori* te hisi ile ilaç kullanımı mevcuttur. PP kullanımı özellikleri sorgulandı nda hastaların tamamının ilacını sabah tek doz olarak aldı ı,

%88,9'unun (n=40) açlık ko ulunu sa ladı ı, %86,7'sinin (n=39) ilacını düzenli kullandı ı saptanmı tır. Hastaların toplam kullandıkları ilaç sayısı 1-10 arasındadır ve ortanca de er dördür. Birden fazla ilaç kullanan hastaların (n=43) olası ilaç-ilaç etkile imleri de erlendirildi inde hastaların %22,2'sinde (n=10) bilinen ilaç etkile imi saptanmazken, %86,7'sinde (n=9) tedavinin izlenmesini gerektirecek C grubu ilaç etkile imi, %4,4'ünde (n=2) birlikte kullanımının engellenmesini vurgulayan X grubu ilaç etkile imi saptanmı tır. Hastaların %51,1'i (n=23) ilaçlarını zamanında almayı unuttu unu ifade etmi tir. laç dı ı ya am tarzı önerilerine uyumu de erlendiren görsel analog skalasına verilen yanıt 0-100 arasında de i kenlik göstermi ve ortanca de er 66 (n=41) olarak tespit edilmi tir

Tablo 2. Çalı maya dahil edilen hastaların kullandıkları PP ilaçlarına göre da ılımı.



III. Hastaların sitokrom P450 2C19 polimorfizm sonuçları

Hastaların %42'sinde CYP2C19*1/*1, %24'ünde CYP2C19*1/*2, %22'sinde CYP2C19*1/*17, %2'sinde CYP2C19*1/*4, %2'sinde CYP2C19*1/*8, %2'sinde CYP2C19*2/*17, %4 CYP2C19*17/*17 genotipi tespit edilmi tir. Genotipleme sonuçlarına göre *3,*7,*9 polimorfizmleri tespit edilmemi tir.

Tablo 3. Genotip dağılımı (n=45)

Genotip	N	%
*1/*1	19	42
*1/*2	11	24
*1/*17	10	22
*1/*4	1	2
*1/*8	1	2
*2/*17	1	2
*17/*17	2	4

TARTI MA VE SONUÇ

Sunulan çalı ma ile saptanan sitokrom P450 2C19 *1/*2 polimorfizm sıklı ı, Türkiye'de Aynacıoğlu ve ark. tarafından yapılmı olan (1999) çalı ma sonucunda tespit edilenden daha fazla bulunmu tur. Bu çalı madan farklı olarak çalı mamızda 1/*4 (0.02) ve *1/*8 (0.02) heterozigot mutasyonları ara tırılmı ve tespit edilmi tir.

Sitokrom p450 2C19 alelinin nükleotid de i ikli i tanımlanmı 35 mutasyonu mevcuttur, *8, *9, *10 mutasyonlarının in vivo azalmı enzim aktivitesi ile ili kili oldu u gösterilmi , *2,*3, azalmı aktivite ve *17 artmı enzim aktivitesi ile ili kili bulunan polimorfizmlerdir. Farklı kaynaklara göre polimorfizmlere göre fenotipler farklı gruplandırılmaktadır (Furuta ve ark., 2012). Çalı ma sonucunda %4 oranında çok hızlı metabolize edici tip ile ili kilendirilebilecek genotip saptanmı tir.

Ara tırılan parametreler arasında *3,*6,*7,*9 polimorfizmleri çalı ma hastalarımızda tespit edilmemi tir. Bu çalı ma, planlanan hasta sayısı ve örnek seçim yöntemi nedeniyle bir popülasyon geneti i çalı ması olmamakla beraber,

Türkiye popülasyonunda gastroözafageal reflü tanısı almı hastalarda, hastanın klinik bilgilerinin dahil edildi i, ilaç uyuncu ili kili belirteçlerin de erlendirildi i, ilaç istenmeyen etkilerinin sorgulandı ı, sitokrom P450 2C19 alellerinde dokuz mutasyonun ara tırıldı ı, Türkiye'de yapılmı en geni kapsamlı çalı malardan biri olmaya adaydır.

Destek

Bu çalı ma stanbul Üniversitesi Bilimsel Ara tırmalar Birimi Proje no: 51586 tarafından desteklenmi tir.

Te ekkür

Bu çalı maların yürütülmesindeki katkı ve her a amadaki desteklerinden dolayı ba ta çok de erli hocalarım Prof. Dr. Ali Ya ız Üresin, Prof. Dr. Pınar Yamantürk-Çelik, Prof. Dr. Akçahan Gepdiremen ve Doç. Dr. Selma Düzenli olmak üzere Prof. Dr. Filiz Akyüz, Dr. Kadir Emre Yakı ık, Dr. Mehmet Baykal'a te ekkür ederim.

KAYNAKLAR

- Aynacıoğlu, A.S., Sachse, C., Bozkurt, A., Kortunay, S., Nacak, M., Schröder, T., Kayaalp, S.O., Roots, I., Brockmöller, J. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. *Clinical Pharmacology&Therapeutics*, 1999; 66: 185-192.
- Chao-Hung Kuo, Chien-Yu Lu, Hsiang-Yao Shih, Chung-Jung Liu, Meng-Chieh Wu, Huang-Ming Hu, Wen-Hung Hsu, Fang-Jung Yu, Deng-Chyang Wu, Fu-Chen Kuo CYP2C19 polymorphism influences Helicobacter pylori eradication. *World J Gastroenterol* 2014; 20:16029-1603.
- Egan LJ, Myhre GM, Mays DC, Dierkhising RA, Kammer PP, Murray JA, CYP2C19 pharmacogenetics in the clinical use of proton-pump inhibitors for gastro-oesophageal reflux disease: variant alleles predict gastric acid suppression, but not oesophageal acid exposure or reflux Symptoms. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 1521-1528.
- Fass R, Shapiro M, Dekel R, Sewell J. Systematic review: proton-pump inhibitor failure in gastro-oesophageal

reflux disease – where next? Aliment Pharmacol Ther 2005; 22: 79–94.

Furuta T, Sugimoto M, Shirai N. Individualized therapy for gastroesophageal reflux disease: potential impact of pharmacogenetic testing based on CYP2C19. Mol Diagn Ther. 2012; 16:223-34.

Gwen M. C. Masclee • Miriam C. J. M. Sturkenboom , Ernst J. Kuipers. A Benefit–Risk Assessment of the Use of Proton Pump Inhibitors. in the Elderly. Drugs Aging 2014; 31:263–282.

Klotz, U., Schwab, M. and Treiber, G., CYP2C19 Polymorphism and Proton Pump Inhibitors. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2004; 95: 2–8.

Lima JJ, Franciosi JP. Pharmacogenomic testing: the case for CYP2C19 proton pump inhibitor gene-drug pairs. Pharmacogenomics. 2014; 15:1405-16.

Patrick L. Gastroesophageal Reflux Disease (GERD): A Review of Conventional and Alternative Treatments. Altern Med Rev 2011; 16:116-133.

Poynard T, Lemaire M, Agostini H. Meta-analysis of randomized clinical trials comparing lansoprazole with ranitidine or famotidine in the treatment of acute duodenal ulcer. Eur J Gastroenterol Hepatol 1995; 7: 661–5.

ÖZGEÇM

1. K İML :

Adı, soyadı: Zeynep Güne Özunal

Do um yeri ve tarihi: Ankara, 1980 Aralık

adres: stanbul Üniversitesi, stanbul Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Çapa, Fatih stanbul

Telefon: 02124142240

Fax: 02124142052

e-posta: zguslu@istanbul.edu.tr

2. E T M ÖYKÜSÜ:

Ortaö renim: 1991-1998; Be ikta Atatürk Anadolu Lisesi

Lisans: 1998-2004; Pratisyen Hekim, stanbul Üniversitesi, stanbul Tıp Fakültesi, stanbul

Yüksek Lisans: 2005- 2010; Uzman Farmakolog, stanbul Üniversitesi, stanbul Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı

3. MESLEK DENEY MLER :

2005-2010 Tıpta Uzmanlık Ö rencisi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji AD, stanbul Tıp Fakültesi, stanbul Üniversitesi

Temmuz 2010 - Eylül 2011 Uzman Doktor, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Abant zzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi

Eylül 2011 - Eylül 2012 Yardımcı Doçent Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Abant zzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi

Eylül 2012 - Uzman Doktor Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, stanbul Tıp Fakültesi, stanbul Üniversitesi

4. TIPTA UZMANLIK TEZ BA LI I VE DANI MANI:

Tez Ba lı ı : “Sa lıklı Gönüllülerde stres yanıtının elektrofizyolojik ve biyokimyasal olarak de erlendirilmesi ve bu yanıtta egzersizin etkisinin ve renin anjiyotensin sisteminin rolünün ara tırılması”

Tez Danı manı: Prof. Dr. Ya ız Üresin

6. PROJELER:

1. nme Riski Yüksek ve Dük HipertansifHastalarda Antihipertansif Tedavinin Kognitif Fonksiyonlarla lgili Elektrofizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelere Etkisi, ÜBAP 481/27122005, Ara tırmacı, Proje durumu: Bitti.

2. Sa lıklı Gönüllülerde stres yanıtının elektrofizyolojik ve biyokimyasal olarak de erlendirilmesi ve bu yanıtta egzersizin etkisinin ve renin anjiyotensin sisteminin rolünün ara tırılması, ÜBAP 3024, Proje Yürütücüsü, Proje durumu: Bitti.

3. Kır bireylerde ve normallerde kortikal eksitabilitenin sirkadiyen özelliklerinin belirlenmesi ÜBAP 5803, Ara tırmacı, Proje durumu: Bitti.

4. Moleküler ara tırmalar alanında ara tırmacının e itimi", A BÜ, MARKA-DPT 2010 yılı Teknik Destek projesi. Ara tırmacı, Proje durumu: Bitti.

5. A-172 ve chp hücre kültürlerinde H202 ile indüklenen nörotoksisite modelinde Hederacolchside-E ve F'nin muhtemel nöroprotektif etkilerinin ara tırılması, A BÜBAP 2010.08.03.359, Ara tırmacı, Proje durumu: Bitti

6. zole pulmoner arterlerde metforminin vazoaaktif etkinli inin de erlendirilmesi, A BÜBAP 2011.08.01.395, Ara tırmacı, Proje durumu: Bitti.

7. Renin anjiyotensin sistemini bloke eden ilaçların akci er kanseri hücre kültürü üzerine muhtemel etkilerinin ara tırılması, Proje Yürütücüsü, A BÜBAP 2011.08.03.383, Proje durumu: Bitti.

8. Makam müzi i koro çalı masının katılan koristlerin kan basıncı, nabız dakika sayısı ve kortizol seviyesine etkisinin ara tırılması, Proje Yürütücüsü, Proje durumu: Bitti.

9. Di hekimli i Fakültesi Kliniklerine ba vuran hastaların dental anksiyete ve tükürük kortizol seviyeleri açısından de erlendirilmesi, Ara tırmacı, ÜBAP, Proje durumu: Bitti.

10. Gastroözafageal Reflü Hastalarında Proton Pompa nhibitörü Grubundan laçlar ile tedaviye yanıtızlıkta farmakogenetik parametrelerin ve akılıcı ilaç kullanımının etkisinin ara tırılması, ÜBAP, Proje durumu: Yürüyor

7. ÜYEL KLER:

Ateroskleroz Derne i

istanbul Tabip Odası

Türk Farmakoloji Derne i

8. YABANCI D L:

ngilizce: Çok iyi

Fransızca: Ba langıç

9. YURTDI I/YURT Ç

GÖREVLEND RMELEK VE E T MLEK:

Yurtdı ı Görevlendirmeler ve E itimler:

Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı, Prof. Dr. Jan Danser, Erasmus MC, Rotterdam, Hollanda, Haziran-A ustos 2008 (Ara tırma E itimi)

Klinik Farmakogenetik Anabilim Dalı, Prof. Dr. Ron van Schaik, Erasmus MC, Rotterdam, Hollanda (Ara tırma E itimi)

Erasmus Summer school, 2008 çerçevesinde alınan e itimler

-) Klinik ara tırma yöntemleri (Methods of clinical research),
-) Sa lık hizmetlerini ara tırma yöntemleri (Methods of health services research)
-) Büyük ölçekli çok merkezli çalı malar (Large scale multicenter studies)
-) Klinik ara tırmalar (Clinical Trials)
-) Farmakoepidemioloji (Pharmacoepidemiology)

Yurtiçi Görevlendirmeler ve E itimler:

Seçmeli Staj, istanbul Tıp Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Prof. Dr. Hülya Kayserili, 1-23 Temmuz 2004.

Doku ve hücre kültürü Laboratuvarı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Prof. Dr. Ayhan Bilir, 25 Kasım 2010-25 Mayıs 2011.

10. KONGRE VE KURS KATILIMLARI:

-) An International association for medical education conference, AMEE, Cenova, talya, 16-18 Eylül 2006,

- J 77th European Atherosclerosis Society Congress, EAS, stanbul, Türkiye, 26-29 Nisan 2008.
- J 19th European Meeting on Hypertension, European Society of Hypertension, Milano, talya, 12-16 Haziran 2009.
- J 25th International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function and the Xth International Conference on Quantification of Brain Function with PET, Barselona, spanya. 24 – 28 Mayıs 2011.
- J Türk Farmakoloji Derne i 18. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 1. Klinik Toksikoloji Sempozyumu, 2. Klinik Farmakoloji Sempozyumu, zmir, 28 Eylül-1 Ekim 2005,
- J 4th International Symposium and Workshop on Pharmacoeconomy & Pharmacoepidemiology, EACPT, stanbul, stanbul, 17-20 Kasım 2005.
- J Ateroskleroz Kampüsü, Ateroskleroz Derne i, stanbul, 2-4 Aralık 2005.
- J 5. Ulusal Sinirbilimleri Kongresi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 10-14 Nisan 2006.
- J Davranı Nörolojisinde kullanılan leri Yöntemler Kursu, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 10 Nisan 2006.
- J 4. Ulusal Tıp E itimi Kongresi, Çukurova Üniversitesi, 2-5 Mayıs 2006.
- J Probleme Dayalı Ö renimde Senaryo Yazım lkeleri Kursu, Çukurova Üniversitesi, 5 Mayıs 2006.
- J Genetik Ara tırmalarda kullanılan Yöntemlerin Farmakolojide Uygulamaları, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2 Haziran 2006.
- J Klinik Ara tırmalarda Temel Kavramlar E itimi, YELKEN, Novartis destekli.
- J Ateroskleroz ve Ya am Tarzı Toplantısı, Ateroskleroz Derne i, zmit, 20-22 Nisan 2007.
- J Farmakoloji Asistanı ve Uzmanlara Yönelik Farmakovijilans Sempozyumu, stanbul, 11 Mayıs 2007.
- J Deney Hayvanları Uygulama ve Etik kursu, Ü Cerrahpa a Tıp Fakültesi, Haziran 2007.
- J Moleküler ara tırmalar alanında ara tırmacının e itimi”, A BÜ, MARKA 2010 yılı Teknik Destek.
- J Klinik Toksikoloji Kursu, stanbul, 22-24 Aralık TÜB TAK destekli.
- J 21. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Eski ehir, 19-22 Ekim 2011
- J 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, 4-7 Kasım 2013
- J 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi , Ankara, 7-10 Eylül 2015

YAYIN L STES

A. SCIENCE CITATION INDEX-EXPANDED KAPSAMINDAK DERG LERDE YER ALAN ARA TIRMA MAKALELER

A1. Uresin Y; Mehtar Bozkurt M; Sabirli S; **Ozunal ZG.** Aliskiren, the future of reninangiotensin system blockade? Expert review of cardiovascular therapy 2007;5(5):835-49.

A2. Enginar N, Nurten A, **Ozunal ZG,** Zengin A. Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: The effect of duration of food deprivation. *Epilepsia* 2009;50(1): 143-

A3. Krop M, Ozunal ZG, Chai W, de Vries R, Fekkes D, Bouhuizen AM, Garrelds IM, Danser AH. Mast cell degranulation mediates bronchoconstriction via serotonin and not via renin release. *Eur J Pharmacol.* 2010 Aug 25;640(1-3):185-9.

A4. Çelik F, Ula F, **Özünal ZG,** Fırat T, Çelebi S, Dogan Ü. Comparison of the effect of intravitreal bevacizumab and intravitreal fasudil on retinal VEGF, TNF , and caspase 3 levels in an experimental diabetes model. *Int. J of Ophtalmol.* 2014;7(1):57-61

A5. Ucbek A, **Özünal ZG,** Uzun Ö, Gepdiremen A. Effect of metformin on the human T98G glioblastoma multiforme cell line, *Experimental and Therapeutic Medicine,* 7: 1285-1290, 2014

A6. Sen S, Ufuktepe B, Özunal ZG, Üresin Y. Renin inhibitors in diabetes and hypertension: an update. *EXCLI J.* 2014 Sep 24;13:1111-9.

**SCIENCE CITATION INDEX-EXPANDED
KAPSAMINDA OLMAYAN DERGİLERDE
YER ALAN ARA TIRMA MAKALELER**

A7. Ozunal ZG, Bayram R, Yavuz MZ, Ucbek A, Aydogar A, Uzun Ö, and Gepdiremen A. The Effect of NF-Kappa B and Angiotensin II on the Proliferation in Human Breast Adenocancer Cell Line. *RJPBCS.* 2013; 4(4): 411-416.

**B. ULUSLARARASI BİLİMSEL
TOPLANTILARDA SUNULAN VE BLDİRİLEN
KATILIMLAR (PROCEEDINGS) BASILAN
BLDİRLER :**

B1. Uresin Y, Uslu ZG, Sabirli S, Eroglu L. An alternative in pharmacology education model. Congress of International association for medical education. Cenova 2006

B2. Uresin Y, Sabirli S, Ozunal ZG, Karamürsel S. EEG as a possible diagnostic tool for mild cognitive impairment in atherosclerosis. *Atherosclerosis Supplements* 9(1):155 Abstracts 77 Th Congress of the European Atherosclerosis Society. istanbul 05/2008

B3. M Krop, W Chai, Ozunal ZG, RJA de Bruin JMG van Gool AHJ Danser. Bronchial constriction following mast cell degranulation does not involve renin. European Society of Hypertension. 19th European meeting on hypertension, Milano 12-16/06/2009.

B4. A Nurten, A Zengin, Ozunal ZG, Ozturk E, Enginar N. The evaluation of the effect of food deprivation on the development of morphine dependence in rats. 22. ECNP congress. Journal of the European College of Neuropsychopharmacology 19(3):664. istanbul. 12-16/9/2009.

B5. Z.G. Özunal, S. Sabirli, S. Sen, S. Karamürsel, B. Ömer, S. Yıldız, Y. Üresin. Event Related Potentials (ERP) in stress and nonstress conditions before and after chronic exercise. XXVth International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function and the Xth International Conference on Quantification of Brain Function with PET, Barselona 24 – 28 Mayıs 2011, spanya.

B6. Z. Ozunal, S. Duzenli, A. Arslan, R. Bayram, A. Gepdiremen; Perceptions of physicians on pharmacogenetics in Abant İzzet Baysal University, Medical Faculty, Turkey. *European Journal of Human Genetics, Volume 21 Supplement , Conference European Human Genetics Conference 2013.* Paris 8-11 Haziran 2013, Fransa.

B7. Ucbek A, Özunal ZG, Uzun Ö, Gepdiremen A. The effect of metformin in human glioblastoma multiforme (T98G) cells line. 7th Conference on Experimental and Translational Oncology p:62, 165, 20-24 April 2013, Portoroz, Slovenia.

B8. Sen S, Gürel N, Ufuktepe B, ZG, Büyüklü Ç, Üresin Y. Relationship between renin angiotensin aldosterone system parameters and cognitive functions in patients with hypertension, 20th Annual scientific meeting of the international society of cardiovascular pharmacotherapy (ISCP) , 25-26 Haziran 2015, Buenos Aires, Arjantin.

B9. Ozunal ZG, Drug development, drug repositioning in oncology, 19th World Congress on Advances in Oncology and 17th International Symposium on Molecular Medicine, 9-11 Ekim, 2014, Atina, Yunanistan.(sözlü sunum)

Yamantürk Çelik P, **Ozunal ZG.** Nimodipine does not improve ethyl acetate-induced memory impairment in rats. 1st Regional Tiaft Meeting, 8-10 Mayıs, Izmir, Turkey.

C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

C1. Uresin Y, **Ozunal ZG**. Direk Renin inhibitasyonu. Trakya Univ Tıp Fak Derg; 2010,27 Suppl 1:82-84.

C2. Kandi B, Kaya H, **Ozunal ZG**, Kozmetik Emilim Sistemleri, Türkiye Klinikleri J Cosm Dermatol-Special Topics 2012;5(1):1-6.

D. ULUSAL B L MSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE B LD R K TAPLARINDA BASILAN B LD R LER:

D1. Uresin Y, Kiziltan E, Sabirli S, **Uslu ZG**. Screening hypertensive patients with

psychiatric scales. 5th National Congress of Neuroscience, Neuroanatomy suppl. 5:39. 1014/04/2006.

D2. Uslu ZG, Nurten A, Enginar N. The investigation of the effect of repeated food deprivation on the convulsions induced by scopolamine treatment and food intake in fasted mice. Neuroanatomy suppl. 5:32, 5th National Congress of Neuroscience. Zonguldak, 10-14/04/2006.

D3. Sabırlı S, **Uslu ZG**, Yamantürk Çelik P, Üresin Y, Ero lu L stanbul Tıp Fakültesi V. Dönem öğrencilerinin farmakoloji ve klinik farmakoloji ders başarılarını etkileyen faktörlerin araştırılması ve öğrencilerin geri bildirimleri. 4. Ulusal Tıp E itimi Kongresi. 5/2006.

D4. Zengin A, **Ozunal ZG**, Nurten A, Enginar N. The effect of familiar environment on scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake. Neuroanatomy suppl. 6:45, 6th National Congress of Neuroscience , Safranbolu/Karabük, 9-13 Nisan 2007.

D5. Yumak T, Sözer N, **Ozunal ZG**, Yeniad B, Yayla V, Calay M, Ovalı T, Öge AE. Kör Bireyler Ve Normallerde Kortikal Eksitabilitenin Sirkadiyen Özelliklerinin Belirlenmesi, 27. Ulusal Klinik Nörofizyoloji Eeg-Emg Kongresi.

D6. Çelik F, Ula F, **Ozunal ZG**, Fırat T, Çelebi S. Deneysel Diyabet modelinde intravitreal uygulanan bevacizumabın vasküler endotelial büyüme faktörü ve kazpaz 3 düzeylerine etkisi. TOD 46. Ulusal kongresi, Antalya, 17-21 Ekim 2012.

D7. Akbilek S, **Ozunal ZG**, Sen S, Nermin G, Canberk A, Uresin Y. laç ile indüklenen deri reaksiyonu, 29. Uluslararası katılımlı Türk Kardiyoloji Kongresi, Antalya, 26-29 Ekim 2013.

D8. Ozunal ZG, Gurel N, Enginar N.; stanbul Tıp Fakültesi üçüncü sınıf öğrencilerinin klinik öncesi ve klinik ilaç çalı malarına ilgileri. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, 4-7 Kasım 2013.

D9. Ozunal ZG, Arısoy O, Yıldız S, Nimet Kabakus, Düzenli S, Gepdiremen A. Abant zzet Baysal Üniversitesi Uygulama ve E itim Hastanesi Laboratuvarı verileri. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, 4-7 Kasım 2013.

D10. Aydogar A, Bayram R, Gepdiremen A, **Ozunal ZG**. Phellavin'in insan meme kanseri hücreleri üzerine olan apoptotik ve sitotoksik etkileri. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, 4-7 Kasım 2013.

D11. Zeynep Gunes Ozunal, Nermin Gurel, Nurhan Enginar. Istanbul Tıp Fakültesi Üçüncü sınıf öğrencilerinin klinik öncesi ve klinik ilaç ara tırmalarına ilgileri, Antalya, 4-7 Kasım 2013.

D12. Özunal ZG , Alloqi Tahirbegolli , Baykal M , Terlemez B , Tahirbegolli B, Kılıç Y, en S, Üresin AY. laç uyumu ve ili kili de i kenlerin kan basıncı kontrolü üzerine etkisi, Türk Farmakoloji Derne i 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi 7-10 Eylül 2015.

D13. Ozunal ZG, Yakı ık KE, Baykal M, Akyüz F, Düzenli S, Gepdiremen A. Gastroözafageal reflü hastalarında proton pompa inhibitörler ile tedavide akılcı ilaç kullanımı ili kili de i kenlerin ara tırlması,

Türk Farmakoloji Derne i 23. Ulusal Farmakoloji Kongresi 7-10 Eylül 2015.

E. D ER YAYINLAR

E1. Üresin Y, Sabırlı S, **Ozunal ZG.** Antihipertansif laçlar ve Klinik Farmakolojisi. Hipertansiyon El Kitabı ISBN:978-605-60279-0-1, 2008.

E2. Ozunal ZG, Beyin ve Renin anjiyotensin sistemi, www.ateroskleroz.org, Ekim 2010.

E3. Ozunal ZG. E lenceli Bilim Dergisi. On Be Yıl Süren laç Geli tirme Serüveni, ubat 2011.

E4. Uslu ZG, Uresin AY. Hipertansiyon Tedavisi, Goodman Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli, kitap bölümü çevirisi. ISBN:978-975-420-658-6, 2009.