

Adenozin ve Kardiyak Korunum

ADENOSINE AND CARDIOPROTECTION

Dr.Nuran EKERBİÇER,^a Dr.Necip KUTLU^a

^aFizyoloji AD, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, MANİSA

Özet

Başlangıçtaki ölümcül olmayan miyokard iskemisi, miyokardın uzun süreli iskemiyi ve reperfüzyona dayanıklılığını artırır. Bu durum ilk kez Murry ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olup, iskemik ön şartlandırma olarak bilinir. Bu kardiyak koruyucu durum iki geçici farklı faz olarak sınıflandırılmıştır; erken faz 2-4 saat içinde ortadan kalkar iken, geç faz 24-48 saat sonra ortaya çıkar. Yoğun çalışmalar iskemik ön şartlandırmanın etkisini taklit etme potansiyelinde olabilen ön şartlandırmanın yeni tetikleyici ve efektörlerini keşfetme üzerindedir. Adenosin, erken ve gecikmiş ön şartlandırmanın önemli bir tetikleyicisi olarak düşünülen bir ajandır. Miyokard hücreleri üzerinde adenosin, var olan reseptörleri ile (A₁, A₃, ve olasılıkla A_{2A} ve A_{2B}), G proteinleri aracılığıyla enzim, kanal, taşıyıcı ve hücre iskelet yapısı gibi pek çok efektörle etkileşir. Koruyucu etki A₁ ve A₃ reseptör alt gruplarıyla sağlanır ve protein kinaz C'nin mitokondriyal membrana translokasyonu ve aktivasyonunu içerir. PKC'nin aktivasyonu ATP-duyarlı K⁺ kanallarının açılışını arttırmaktadır. Adenosin yada ön şartlandırma ile sağlanan kardiyak koruyuculukta olası diğer efektörler, özellikle gecikmiş ön şartlandırma için, MAP kinazları, ısı şok proteinlerini, 5'-nükleotidaz'ı ve iNOS'u kapsamaktadır. Ancak söz konusu ajanla aktive edilen koruyuculuğun temelindeki hücre içi sinyal mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Apoptoz ve hücre yaralanmasını oluşturan sinyal mekanizmalarını açıklamaya yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Ön şartlandırmayı oluşturacak sinyal mekanizmaları daha iyi anlaşıldığında farmakolojik ön şartlandırmanın klinik yönden kullanımının daha pratik olacağı umulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Adenozin, kardiyak korunum, ön şartlandırma, iskemiyi

T Klin J Med Sci 2004, 24:357-371

Abstract

Brief sublethal periods of myocardial ischemia enhance the myocardium's tolerance to a period of sustained ischemia and reperfusion. This phenomenon was first described by Murry et al and is known as ischemic preconditioning. This cardioprotective phenomenon has been classified into two temporally distinct phases: an early phase, which wanes within 2-4 h, and a late phase, which manifests 24-72 h later. Intense efforts are being made to discover the novel triggers and effectors of preconditioning that could potentially be developed to mimic the effect of ischemic preconditioning. Adenosine is one such agent that has been proposed as an important inducer of both early and delayed preconditioning. On myocardial cells, adenosine interacts with various receptor subtypes (A₁, A₃, and probably A_{2A} ve A_{2B}) that are coupled, via G proteins, to multiple effectors, including enzymes, channels, transporters and cytoskeletal components. The protective action is mediated by A₁ and A₃ receptor subtypes and involves the activation and translocation of PKC to mitochondrial membranes. PKC activation leads to an increased opening of ATP-sensitive K⁺ channels. Other effectors possibly contributing to cardioprotection by adenosine or preconditioning, and which seem particularly involved in the delayed, second window of protection, include MAP kinases, heat shock proteins, 5'-nucleotidase and iNOS. However, the underlying intracellular signaling mechanisms of protection induced by this agent are not completely understood. More studies are needed to clarify the signalling mechanisms that may promote apoptosis and cellular injury. It is expected that as the mechanism of preconditioning is more thoroughly understood, pharmacological preconditioning will become practical for clinical use.

Key Words: Adenosine, cardioprotection, preconditioning, ischemia

Koronar arter hastalıkları mortalitenin en önemli nedeni olduğundan, araştırmacılar yıllardır miyokardiyal iskeminin aşırı

zarar verici etkilerini en aza indirgeyebilecek tekniklerin tanımlanmasına ve miyokardiyal infarkt sahasının azaltılmasına çalışmaktadır.¹

İskemik miyokardın farmakolojik temelde korunabilmesine yönelik görüş, ilk kez 1971 yılında Braunwald ve arkadaşları tarafından tanımlanmasına karşın (Maroko ve ark.), bu yoğun araştırma konusu alan ile ilgili henüz kesin bir farmakolojik ajan bulunamamıştır.² Bu alan ile ilgili en gözde terapötik ajanlar zamanımıza değin; beta blokerler,

Geliş Tarihi/Received: 16.05.2003 Kabul Tarihi/Accepted: 02.03.2004

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr.Nuran EKERBİÇER
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji AD, MANİSA
aladag_nuran@hotmail.com

Copyright © 2004 by Türkiye Klinikleri

serbest radikal temizleyicileri ve kalsiyum antagonistleri olmuştur. Ancak 1986'da ilk kez iskemik ön şartlandırma adı altında endojen koruyucu bir mekanizmanın varlığı ortaya atılmıştır.^{1,3,4} Bu korumanın mekanizması tam olarak anlaşıldığında miyokard infarktüsü öncesi ve sırasında anti-infarkt ajanların uygulanabilirliği artacaktır.

İskemik ön şartlandırma sırasında miyokard tarafından bir çok kimyasal madde salınmaktadır. Bunlar arasında Adenozin(Ado), daha az derecede etkin katekolaminler(α_1 , β adrenoreseptörler ile), prostaglandinler, anjiotensin II, bradikinin, opioidler, ısı şok proteinleri, kalsiyum, aktive olmuş nitrik oksit sentaz ve endotelin bulunmaktadır.^{1,5,6}

Bir pürin nükleozidi olan Ado, doku fonksiyonunun otokrin ve parakrin zeminde önemli bir lokal düzenleyicisidir. Bu durum özellikle, hücre sel enerji gereksiniminin akut olarak yetersiz kaldığı durumlar için geçerlidir.^{1,7} Metabolizma hızı ne kadar fazla veya oksijen düzeyi ne kadar az ise, vazodilatör madde oluşumu da o kadar fazladır. Vazodilatör maddeler arasında Ado'nun yanı sıra karbondioksit, laktik asit, adenozin fosfat bileşikleri, histamin, potasyum, hidrojen iyonu, bradikinin ve prostaglandinler de yer almaktadır.^{6,8}

Ado; lokal kan akımı regülasyonunda en önemli lokal vazodilatör olup, vazodilatasyon yoluyla dokuya enerji sağlanmasını arttırmak için doku tarafından stres altında oluşturulur ve aynı dokunun stres altındaki enerji gereksinimini de azaltır.^{1,2,7,9-11} İskemiden doku korunmasına yönelik bu düzenleyici rolüne ek olarak Ado aynı zamanda oluşmuş mevcut iskemiyeye bağlı gelişebilecek hücre sel hasara karşı da koruyucu rol oynamaktadır.⁷ Ado, bahsedilen bu rollerini özellikle kalp, beyin, böbrek, sempatik sinir hücreleri, endotel hücreleri, lökositler ve trombositler gibi iskemik hasara aşırı duyarlılığı olan doku ve hücre gruplarında oluşturur. Özellikle iskemi sırasında miyokarddan bol miktarda salındığı saptanmıştır.^{7,12}

Kalpte, Ado'nun etkileri kalp kası hücreleri, vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücreler üzerinde direkt etki ile oluşurken, otonom sinir

sistemi içindeki sinaptik ileti ve nötrofiller gibi iltihap hücreleri üzerinde indirekt biçimde gerçekleşir.¹¹ Ado'nun dolaşım ve kalp fonksiyonları üzerindeki etkileri için süregelen yoğun araştırmalar yanısıra çeşitli hücre tipleri veya dokular üzerine de etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar mevcuttur,² bu yöndeki son bilgiler Ado'nun kardiyak koruyucu rolünü destekler niteliktedir. Bu kavram ilk olarak Ely ve arkadaşları tarafından öne sürülmüştür.¹²

Ado, özellikle iskemik ön şartlandırmada önemlidir.^{3,12-16} İskemik ön şartlandırma kavramı ilk kez Murry ve arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır.³ Bu durumda kalp geçici olarak ölümcül olmayan iskemiyeye tabii tutulmakta, izleyen iskemik dönemde ise infarktüse kendiliğinden dirençli hale gelmektedir.^{1,5,7} Bu süreç (klasik veya erken ön şartlandırma) iskemi sonrası ya da Ado uygulaması sonrası birkaç dakika içinde gelişir ve iki-üç saat sürer.^{6,16}

İskemi Sırasında Adenozinin Oluşumu

Ado, iskemi veya hipoksi sırasında birikir.^{1,2} Bir endojen nükleozid olan Ado'nun artan üretimi, dokulardaki oksijen gereksinimi ile oksijen desteği arasındaki dengesizlik nedeniyle.¹⁷ Miyokardiyal metabolizma ile ilişkili artan ATP kullanımı bir katabolik ürün olan Ado birikimine yol açar.^{1,2,18} Miyokardda yüksek enerjili fosfat deposu sınırlıdır ve daha çok ATP ile kreatin fosfat yapısındadır. Yüksek metabolik ihtiyaç ile eşleşmiş miyokardda bu sınırlı enerji depoları; miyokard hücrelerindeki normal metabolik ve kontraktıl fonksiyonun idamesinde sürekli oksijen ve substrat desteğini gerektirir. Miyokardiyal iskemiye takiben yüksek enerjili fosfatların hızlı kaybı ve iskemi sırasında devam eden ATP kullanımı, mitokondrilerin ADP'yi yeniden fosforilemeyi başaramaması sonucu ADP ve AMP birikimine yol açar. AMP, hipoksik ve iskemik ortamda 5'-nükleotidaz enzimi ile defosforile edilir, hücreden kolaylıkla çıkabilen serbest Ado'ya dönüştürülür. Bu durumda ise hücreler arası mesafede yer alarak kardiyak miyositler üzerindeki yüzey reseptörlerine bağlanır.^{1,7,18} Ado'nun normoksik ortamda AMP dışında S-adenosilhomosistein hidrolaz ile S-

adenosilhomosistein'den(SAH) oluştuğu, ancak bu oluşumun hipoksik ortamdaki 5'-nükleotidaz enzimi ile sağlanan dönüşümden daha güçsüz olduğu saptanmıştır.⁷

5'-nükleotidaz enziminin iki farklı formu mevcuttur. Bunlardan biri membrana bağlı ekto 5'-nükleotidaz; diğeri ise sitoplazmada serbest veya çözülmüş halde bulunan sitozolik 5'-nükleotidaz'dır. Ado'nun iskemik miyokardiyumda oluşumu ve salınımı temelde ekto 5'-nükleotidaz enzimi ile AMP'nin enzimatik defosforilasyonuna bağlıdır.⁷

İskemi sırasında Ado'nun birikimine neden olan önemli faktörlerden birisi de; metabolik ihtiyaç ve substrat (özellikle AMP) varlığı yanı sıra Ado dönüştürücü enzimlerin (nükleotidazlar) aktivitele- rindeki artıştır. Son zamanlarda bir Ado dönüştürücü enzim olan Ado-kinaz'ın nükleozid birikimi ve salınımindaki önemli rolü dikkatle incelenmiştir. Ado-kinaz'ın artmış inorganik fosfat vasıtasıyla inhibe edilmesi Ado oluşumunu, AMP düzeyindeki herhangi bir değişimden bağımsız olarak, arttırmaktadır. Hipoksi esnasında Adokinaz'ın inhibe olması yine Ado salınımı lehinedir.

Yeni teknikler, miyokardiyal interstisyel sıvının mikrodializatlarında Ado ölçümünü mümkün kılmıştır. Çoğu çalışma iskemik ön şartlandırma sırasındaki Ado birikimini incelemeye almıştır. İnterstisyel Ado, kısa iskemik periyotlar sırasında artar ve reperfüzyon süresince de yüksekliğini korur. İnterstisyel venöz sıvıdaki Ado düzeyleri, tekrarlayıcı kısa iskemilerle beraber düşüş gösterir. Bu durum reseptör aracılı olmaktan ziyade pürin metabolizması değişimiyle ilgili olabilir. Ön şartlandırma ya da Ado enjeksiyonu yolu ile meydana getirilen korumada alınan sonuçlar, kısa iskeminin ön şartlandırma ile oluşturulan kardiyak koruyuculuğun artışıında kritik bir role sahip olduğunu göstermiştir.^{4,7,15,19,20}

Yapılan bazı çalışmalar Ado'nun kardiyovasküler sistemin otonom kontrolünde etkisinin olup olmadığı üzerinedir.²⁰ Tao ve Abdel Rahman,²¹ Ado'yu Nucleus Tractus Solitarius (NTS)'a enjekte ederek, enjekte edilen bölgeye bağlı kardiyovasküler etkiler saptamışlardır. Rostral

NTS enjeksiyonu; kan basıncı ve kalp atım hızını arttırırken; kaudal bölgeye enjeksiyon aksine sonuçlar vermiştir. Ado ayrıca periferel noradrenerjik iletimde etkileyebilmektedir. Fuglsang ve arkadaşları,²² Ado'nun sempatik sinir iletimini presinaptik inhibe ettiğini iddia ettiler. Buna karşılık Kuan ve Jackson²³ Ado'nun, rat mezenterik yatağındaki sürekli sempatik sinir uyarımı üzerine hiçbir etkisi olmadığını gösterdiler. Ballard ve Karim ise,²⁴ Ado ve baroreflaks yanıt arasında etkileşimi araştırdı. Verilen hiçbir Ado dozu, karotid sinüs baroreflaksini etkilemedi. Son zamanlarda Dibner-Dunlap ile bazı araştırmacılar Ado'nun daha ziyade kardiyak sempatik afferent lifleri uyarma ile sempatik kardiyak sinirleri etkilediğini iddia ettiler.²⁵

Reseptörlere Bağlanma ve Etkiözelliklerinin Aktivasyonu

Ado reseptörleri (AdoRs) en az dört farklı alt tipte bulunurlar. Bunlar A₁, A_{2A}, A_{2B}, ve A₃'tür.^{5,6} Bu reseptörler başlangıçta farmakolojik özellikleri temel alınarak (inhibisyon veya stimülasyon) Adenilat siklaz (AC) üzerine olan etkileri itibariyle, sonraları primer amino asit dizilimlerine ve moleküler ağırlıklarına göre tanımlanmıştır. Her reseptör alt tipinin primer yapısal dizilimi türler arasında farklılık göstermektedir.

A_{2A}-AdoR mRNA'sı, revers transkripsiyon (RT)-PCR yöntemiyle sıçan kalbinde ve Northern blot yöntemiyle de insan ventriküllerinde saptanmıştır. Sıçanlarda, kalp kası hücrelerinde A_{2A}-AdoR mRNA'nın varlığı ve A_{2A}-AdoRs 'nin cAMP ile olan fonksiyonel birlikteliği ve pozitif inotropik özelliği gösterilebilmiştir.⁷ Aksine bir başka grup A_{2A}-AdoRs mRNA'sını, RT-PCT ve in-situ hibridizasyon teknikleri kullanarak kemirgen miyokardında yalnızca koroner arteriyollerde saptar iken, kalp kası hücrelerinde gösterememiştir. Son yapılan bir çalışmada, A_{2A}-AdoRs 'nin sıçan kalbindeki aktivasyonunun, A₁-AdoRs'nin anti-adrenerjik etkisini²⁶ ortadan kaldırdığı bulunmuştur. Sonuçta; A_{2A}-AdoR-aracılı etkilerin doku/hücre yerleşimindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği akla gelebilir.

Memeli kalp kası hücrelerinde A_{2B}-AdoRs 'nin varlığı ve fonksiyonlarına ilişkin tartışmalı durum

halen devam etmekle birlikte bunların kanatlı hücrelerindeki varlığına ilişkin fonksiyonel kanıtlar bulunmaktadır. Bu farklı fonksiyonel durumların çeşitli türlerdeki reseptör alt tiplerinin farklılığından kaynaklanıyor olması muhtemeldir.¹⁹

Tüm AdoRs 'leri G proteinleri aracılığıyla kendi efektörleri ile birleşmektedirler.²⁷ A₁ ve A₃ alt tipleri G proteinleri ile (G_o,G_i) birleşerek adenilat siklaz'ın inhibisyonuna aracılık eder ve aynı zamanda fosfolipidlerin katabolizmalarını düzenlerler.^{12,26} Reseptörlerin yüzdesi veya yüksek agonist affinite yaşlı hayvanlarda azalma eğilimindedir, bu ise infarkt alanının azalmaması gibi bir sonucu doğurmaktadır.²⁸ Bu nedendir ki; Ado etkilerinin yaşa bağımlı azalmasından özellikle de reseptör ile G proteinleri arasında (en azından kısmen) birleşme olamaması sorumlu tutulabilir. A₂ alt tipleri, stimüle edici protein G_s yoluyla Adenilat siklaz ile birleşme gösterirken, (en azından A_{2B}-AdoRs) G_q yoluyla fosfoinozitol metabolizması ile etkileşir.^{15,29}

A₁ ve A₂-AdoR alt tiplerinin Adenilat siklaz ile etkileştiği gösterilmiştir.²⁶ Damar sisteminde A₂-AdoR'ü vazodilatasyona aracılık eder, bu aracılık ise yüksek miktardaki A_{2A}-AdoR alt tipine bağlıdır.⁸ Miyokarda A₂-AdoRs aktivasyonu pozitif inotropik etki ile birliktelik gösterebilir. Bu pozitif inotropik etki sadece koroner vazodilatasyon ve sonuçta oluşan miyokard kasılmasına değil, aynı zamanda miyositler üzerindeki cAMP bağımlı ve bağımsız etkilerle de ilişkilidir.

AdoRs ile birleşme gerçekleştiren diğer enzimler arasında bulunan fosfolipazlar ve PKC (protein kinaz C), kardiyak korumadaki olası rolleri nedeniyle çoğu çalışmanın odak noktası haline gelmiştir.^{1,12,26,30,31} Son zamanlarda yapılan bir çalışmada kanatlı kalbinde A₁- ve A₃-AdoR alt tiplerinin protein kinaz C'ye bağlanabilmek için farklı yolları kullanmakta olduğu açığa çıkarılmıştır.¹⁷ Bu her iki reseptörün aktivasyonu diaçil gliserolün birikimini uyarırken, bu etki özellikle A₃-AdoR stimülasyonu sonrasında daha kalıcı bir hal almaktadır. A₁-AdoRs, fosfoinozitolin eş zamanlı birikimine yol açmaktadır ki, bu durum bu bahsedilen reseptörün fosfolipaz C ile birleşmiş olduğunu ifade etmektedir. Aksine A₃-AdoRs,

fosfotidil etanolamin oluşumunu uyarır ve de bunların kardiyak koruyucu etkileri etanol veya propranol tarafından engellenir (fosfotidik asidin diaçil gliserole dönüşümü durdurularak). Bundan dolayı en azından kanatlı kalbinde A₃-AdoRs seçici olarak veya tercihan fosfolipaz D ile etkileşmektedir.

AdoRs aynı zamanda diğer kinazlarla da birleşir. AdoRs'nin aktivasyonu bu durumda; p38-mitojen aktivasyonlu protein kinazın (p38-MAPK) ve onun substratının (MAPK'nın aktiflediği protein kinaz 2=MAPKAPK2) ve de stresle aktiflenen protein kinazların (SAPKs) ve ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinazların (ERKs) aktivasyon ve fosforilasyonunu sağlar.^{5,6,29,32}

Düğüm dokularında AdoRs'nin nitrik oksit sentaz ile birleşimine dair kanıtlar saptanmıştır. Kobay ve tavşan atrioventriküler düğümünde Ado'nun anti-adrenerjik negatif dromotrop etkisi veya β-adrenerjikler yoluyla uyarılmış L-tipteki Ca⁺² akımı (I_{Ca-L})nın baskılanması, nitrik oksit sentazı (NOS) veya sitozolik guanilat siklazı inhibe eden ilaçlarca ortadan kaldırılır. Normal fizyolojik şartlarda sarkolemmal membrandaki L-tip Ca⁺² kanalları Ca⁺² salınımına ve kardiyak kontraksiyona neden olur. Ca⁺² paradoksu ve iskemi- reperfüzyon hasarının hücre içi Ca⁺² yüklenmesi ile oluştuğu bilindiğinden, ön şartlandırma miyokard dokusunda hücre içi Ca⁺² yüklenimini engelleyerek yararlı etkiler oluşturabilir. Bu fonksiyonu da Ca⁺²/kalmodulin-bağımlı protein kinaz II (CaMK II) aracılığı ile gerçekleştirdiği ifade edilmektedir.³¹

A₁-AdoRs'nin spesifik K⁺ kanalları ile kenetlenmesi doğrudan G proteininin βγ alt üniteleri ile gerçekleşirken; diğer kanallara kenetlenme cAMP, DAG ve olasılıkla da nitrik oksit(NO)/cGMP gibi ikinci haberciler yoluyla olmaktadır. Ayrıca NO, cGMP aracılığı ile ekto-5'-nükleotidaz'ın aktivitesini sağlayıp, interstisyel Ado yapımını da aktive edebilmektedir.⁷

Ado, cAMP aracılığıyla regüle edilen tüm kanalları etkileyebilir (bu kanallar arasında L-tip Ca⁺² kanalları, gecikmiş potasyum kanalları, kistik fibrozis transmembran kondüktans regülatör klorür

kanalları, I_f = içe doğru akım kanalları sayılabilir). Ado'nun bu kanalların çoğu üzerindeki etkisi sadece cAMP'nin önceden yükseldiği, yani β -adrenerjik veya histaminerjik reseptör uyarımını takiben gerçekleşmektedir. Fosfoinozitol yolağı itibariyle Ado, kanalları protein kinaz-C'yi aktive etmek suretiyle etkiler, bu durum sarkolemmal ATP-duyarlı potasyum kanallarının AdoR-aracılı aktivasyonu için geçerlidir. Protein kinaz-C'nin aktivasyonu, miyokard iskemisi sırasında ATP duyarlı potasyum kanal aktivasyonundaki gecikmeyi kısaltmaktadır.^{17,33} AdoRs aynı zamanda protein kinaz-C yoluyla L-tip kalsiyum kanallarını da modüle edebilir. Kısa süreli iskemi sonrasında trofik faktörlerin ortaya çıktığı ve bunların muhtemelen apoptozisi önlemek suretiyle hayati önemde olabileceği de düşünülmektedir.^{33,34}

Sonuç olarak; çeşitli tip ve sayıda reseptörlerin varlığı ve her bir reseptörün farklı G proteinleri ile olan etkileşmelerinden dolayı AdoRs'ne birleşen efektörler oldukça çoktur; bu durum ise farklı enzim, kanal ve taşıyıcılar düzeyinde etkili olabilmektedir.

Adenozin Reseptörleri Aracılığındaki Kardiyak Korunma

Ado, oksijen desteği ve gereksinimi arasındaki fizyolojik düzenleyici rolüne ek olarak, miyokard iskemisi sırasında da büyük miktarlarda salınmakta ve iskemik hasara karşı koruyucu bir rol üstlenmektedir.^{11,35-37}

Adenozin reseptörleri aracılığındaki kardiyovasküler etkiler birkaç mekanizma ile kardiyak korunuma neden olmaktadır. Bunlar;

1. Koroner vazodilatasyon: Oksijen temini, miyokardın ihtiyacından yetersiz kalacak olursa; Ado salınır ve kardiyak direnç damarları gevşer.

2. Antiadrenerjik etki: Ventriküller pozitif dromotropik, kronotropik ve inotropik etkileri ortaya çıkaran endojen katekolamin salınımı ile aktive olduğunda, miyokard oksijen ihtiyacı artar ve miyositlerden salınan Ado'nun sonucu olarak katekolamin etkileri, özellikle A_1 AdoRs aktivasyonu tarafından baskılanır, sempatik sinirlerden noradrenalin salınımı inhibe olur. Bu fonksiyonun

ortaya çıkmasında A_1 AdoRs'nin, kardiyak vagal afferentler dahil, vagal afferent nöronların başlangıç bölgelerine oturması da gösterilmiştir.³⁸ Ayrıca endojen salınan Ado, hipoksi sırasında oluşan vagal negatif kronotropik etkiyi arttırmakta³⁹ ve artan vagal tonus ise Ado'nun sinüs düğümü üzerindeki etkilerine tesir edebilmektedir.⁴⁰

3. Ön şartlandırma: İskemik yaralanma öncesi uygulanan Ado injeksiyonu ya da A_1 , olasılıkla A_3 agonistleri ana koroner arter oklüzyonu ile ortaya çıkarılan miyokard iskemisine karşı korunmayı taklit eder.^{17,34,41,42} İskemi ortamı taklit edilmiş tavuk miyosit modelinde hem A_1 , hem de A_3 -AdoR'nin aşırı sunumu, takip eden uzun süreli iskemiye direnci arttırmakta ve aynı zamanda iskemik ön şartlandırmanın koruyuculuğunu fazlaştırmaktadır.

4. Miyokard iskemisinde kardiyak doku ve fonksiyonun korunması: Eksojen Ado, miyokardiyal iskemi periyodu sonrası reperfüzyon sırasındaki kardiyak fonksiyonu düzeltir, kontraktil etkinliği artırır ve infark alanını küçültür.^{15,37,41,43} A_1 -AdoRs'nin; infarktüs, aritmi veya iskemi sonrası kontraktil bozunuma karşı ön şartlandırma ile aktive edilmiş miyokardiyal korumadaki aracı rolü iyi tanımlanmıştır.^{11,37,41} Her ne kadar hücre hasarının önlenmesinde reseptör yapısının temel rolde olmadığını ifade eden araştırmacılar olsa da,^{31,44} son çalışmalar A_1 -AdoR alt tipine ek olarak A_3 -AdoRs'nin de kalp kas hücresi korunumunda rolü olduğu yönündedir. Benzer biçimde koroner fonksiyon, hem A_1 hem de A_3 reseptörleri aracılığıyla korunabilmektedir.^{11,17,42,45} Kanatlı ve tavşan miyositleri ile ilgili veriler kardiyak koruma açısından A_1 - ve A_3 -AdoRs'nin sinerjik etkisini bildirmektedir.⁴⁶ Ancak böbrek açısından, her iki reseptör alt tipi antagonist çalışmaktadır. Tavşan kalbi açısından, hem A_1 hem de A_3 -AdoRs aktivasyonu benzer koruyucu etkileri sağlarken, Ado'nun A_3 -AdoRs'ye olan affinitesinin A_1 -AdoRs'ye oranla daha düşük olduğu A_1 -AdoRs aracılı koruyucu rolün daha belirgin olduğunu bildirilmektedir.⁴²

Ado bu koruyucu etkisini mikrosirkülatuar akımın idamesinde sahip olduğu kritik role de borçludur. Nötrofil adezyonunu ve nötrofil kaynak-

lı hücre hasarını azaltarak; ayrıca vazodilatatör etki ile reperfüzyon sonrası vasküler yatakta mevcut endotelin, lökotrienler ve trombosit aktive edici faktör gibi vazokonstriktör maddelerin etkilerine zıt yönde etki oluşturarak fonksiyon görür. Üstelik A₁ AdoRs'ü aracılığıyla sempatik sinir sonlanmalarından noradrenalin salınımı inhibisyonu ve renin salınımının azalması reperfüze bölgede vazokonstriktör etkiyi azaltacaktır. Bu ise ATP depolarının tekrar dolabilmesi için metabolik ihtiyaçların dokuya ulaşımını ve oksijen desteğinin yeniden teminini sağlayacaktır.^{14,18} Ayrıca özellikle A₃-AdoR'nin aşırı sunumunun kalp hızını ve kontraktileti düşürdüğü ve iskemik ortamda ATP korunumu sağladığı, iskemi sonrası fonksiyon bozunumu da azalttığı bildirilmektedir.⁴² Başka bir çalışmada da; klinikte A₃-AdoRs agonistleriyle sağlanan farmakolojik ön şartlandırmanın, kontraktıl yan etkiler oluşturmaması nedeniyle, A₁-AdoRs agonistlerinden daha avantajlı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca hem A₁-AdoRs ve hem de A₃-AdoRs agonistleri, iskemik ön şartlandırmanın aksine, apoptozisi azaltır.³⁴

Tavşan izole kalp kası hücrelerinde ve fare kalbinde A₃-AdoRs aracılı iskemi sonrası mekanik fonksiyonda düzelme, insan atrium kasında da gösterilmiştir.⁴⁷ Bu sonuçlar A₃-AdoRs'nin memelilerde de, reperfüzyonla aktive olmuş kontraktıl bozunuma karşı kardiyak korumada rol aldığını destekler niteliktedir. Ancak aynı reseptör grubu için transgenik hayvanda yapılan çalışmalar, A₃-AdoRs'nin düşük düzeyli sunumlarının iskemik hasara karşı koruyucu olduğunu, ancak yüksek düzeyli sunumlarının dilate kalbe neden olabileceğini ortaya koymuştur.⁴⁸

5. Endotel korunumu ve mikrovasküler tıkanmanın önlenmesi: Ado, A₁ AdoRs aktivasyonu üzerinden nötrofilleri aktive ederek kemotaksisi arttırmasına rağmen, A_{2A} AdoRs aktivasyonu üzerinden nötrofillerden serbest oksijen radikallerinin salınımını inhibe etmektedir. Bu yolla nötrofillerin endotel hücrelerine tutunmaları ve sitotoksite oluşturmalarını önler.^{7,11,18} Bu koruyucu etki aynı zamanda trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve endotele trombosit yapışmasının inhibisyonu şeklinde kendini gösterir. Adenozin ayrıca A₁ AdoRs

aracılı lipolizi azaltır. Bunu, hücresele membranları stabilize ederek ve sonraki lipid peroksidasyonunu engelleyerek başarır. Antilipolitik etki hücre içi laktat üretimi ve asidozu azaltacaktır. Reperfüzyon sonrası ksantin oksidaz enzimi yolu ile sonraki ATP bozunumunu azaltarak superoksit anyonu oluşumunu da sınırlar.

6. Artmış enerji temini: Adenozin, reaksiyon zincirindeki bazı adımların atlanarak adenozin kinaz enzimi yolu ile AMP'ye dönüşümü hızlandırmaktadır. Nükleotid transportunda diğer adenin nükleotidleri ile karşılaştırıldığında, oldukça yüksek affiniteye sahiptir. Adenozin keza, anaerobik glikolizi arttırma yolu ile oluşturduğu vazodilatatör etkisinden bağımsız glikozun hücreye alımını da artırır.¹¹ Ayrıca anaerobik glikolizin aktive olmasıyla, miyokardın oksijen kullanımı azalmakta ve pürin depoları arttırılmaktadır.

7. Yeni mikrodamarların gelişimi: Uzamış hipoksi de Ado endotel hücre proliferasyonunu arttırmakta ve kardiyak damarlanmayı fazlaştırmaktadır.³⁶

Ado, aynı zamanda Ca⁺² paradoksu tarafından aktiflenen sarkoplazmik retikulum disfonksiyonunda olduğu üzere hasarın diğer nedenlerine karşı da koruyucu özellik göstermektedir ki, bu koruyucu özellik reseptör antagonisti olan 8-sülfofenil teofilin (SPT) tarafından ortadan kaldırılabilmektedir. Zira A₁ AdoRs aracılı ATP duyarlı K kanallarının açılması, miyokard hücrelerini hiperpolarize ederek, voltaj duyarlı kalsiyum kanallarından kalsiyum içe akışına engel olmaktadır. Bu da hücrenin daha fazla kasılarak ATP kullanım artışına engel olur, enerji korunur, iskemiye dayanma süresi artar.^{11,31,41} Ayrıca yine aynı reseptör üzerinden protein kinaz A aktivasyonunu azaltarak kalsiyum yavaş kanallarının fosforilasyonu azalmakta ve bu kanallara doğru kalsiyum akımı düşmektedir. Böylece reperfüzyon hasarından korunabilmek mümkündür.⁷

Özetle, yapılan çalışmaların çoğu; A₁-AdoRs aracılı koruyucu rolü ve bu reseptörlerin iskemik ön şartlandırma tarafından oluşturulan ortamlarda kardiyak korumaya olan katkısını desteklemektedir,^{44,45,47} ancak A₃-AdoRs için benzer etkiler aç-

sından oldukça uyumsuz sonuçlar söz konusu olduğundan daha kapsamlı deneysel ortam ve hayvan türlerinde çalışmalara gerek vardır.^{46,48}

Adenozince Oluşturulan Kardiyak Koruyuculuğun Mekanizmaları

Miyokardda iskemi ve reperfüzyon tarafından oluşturulan hasara karşı koruma sürecinde daha çok reseptör aracılı birçok basamak ve işlem yer almaktadır.³⁷ Bunlar, iskemi ile ilişkili artmış sempatik aktivasyona karşı olan anti-adrenerjik etkileri kapsamaktadır.

A. Protein Kinaz-C'nin Rolü

Ado-aracılı korumayla ilgili olan temel mekanizmalar tam anlamıyla aydınlatılmamış olmakla beraber, Ado-aktifli yararlı etkilerin bu kinaz enziminin (PKC'nin) inhibitörleri olan keleritrin, staurosporin, polimixin B ve bisindolmaleimite tarafından baskılanıyor olması bu bağlamda protein kinaz C'nin rol alabileceğini göstermektedir. Protein kinaz C aynı zamanda iskemik ön şartlandırma durumundaki korumada da rol almaktadır.^{1,31} İskemik ön şartlandırma, fosfotidil inozitol 3 kinazı uyararak Ado ve protein kinaz C aktivatörlerinin oluşumunu arttırmaktadır. Ado dışında bazı endojen agonistlerin de (norepinefrin, bradikinin gibi) PKC ile eşlenik iskemik ön şartlandırmayı taklit ettiği görülür.⁷ Sonuçta ATP duyarlı potasyum kanal aktivasyonu, mitojenin aktiflediği protein kinazların (MAP kinazların) ve diğer kinazların aktivasyonu veya ısı şok proteinlerinin translokasyonu gerçekleşebilir.¹ Kısa ön şartlandırma iskemisi veya Ado tarafından aktive edilen kaskad olayları şöyle sıralanabilir:

1. Kısa ön şartlandırma iskemi periyodu ve reperfüzyon, Ado ve diğer potansiyel kardiyak koruyucu maddelerin (bradikinin gibi) salınımını artırır.

2. Ado ve diğer maddelerin aktive ettiği reseptörler, G proteinleri aracılığıyla fosfolipazlarla kenetlenir.

3. PLC (fosfolipaz C) ve/veya PLD (fosfolipaz D) etkisi ile salınımı gerçekleşen DAG, protein kinaz C'nin aktivasyon ve translokasyonunu aktive eder. ϵ - ve α PKC sarkolemmal membrana

transloke olurken, δ -PKC mitokondriyal membrana geçer.

4. Diğer kinazlar (özellikle de P38-MAPK= mitojenin aktiflediği protein kinaz) aktive hale gelerek MAPKAPK2 (mitojenin aktiflediği kinazla aktive olan protein kinaz)'in fosforilasyonunu indükler.

5. Son bahsedilen enzim, HSP27 (sitoskeletal aktin filament polimerazyonunu kontrol eden ısı şok proteini)'yi fosforiller.

6. Bu bahsedilen kaskad'ın bir noktasında ATP duyarlı potasyum kanallarının artmış açılımı gerçekleşerek miyokardın korunumu sağlanmış olur.^{12,49}

Son çalışmalar P38-MAPK'ın, sinyali PKC'den mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanallarına taşıdığını ve böylece kanalların açılmalarına yol açarak kalbi koruduğunu göstermektedir.^{1,17,26} Benzer mekanizmalar çeşitli ajanlarla oluşturulan farmakolojik ön şartlandırma için de söz konusudur.⁵

Reperfüzyon aritmilerinin önlenmesinde temel rolde görülmesi de,⁵⁰ çalışmaların çoğu protein kinaz C'nin kardiyak koruyuculukdaki kritik rolünü destekler niteliktedir. Ancak bu korunumun hangi yollar üzerinden (sarkolemmal ve mitokondriyal iyon transportu, hücre iskeleti yapısı yada hücre içi sinyal iletim mekanizmalarının değişimi) gerçekleştiği henüz açık değildir.

B. ATP Duyarlı Potasyum Kanallarının Rolü: Sarkolemmal ve Mitokondriyal Kanallar

ATP-duyarlı potasyum kanalları, damar düz kas hücresinde ve kalp kası hücresinde bulunur. Damarsal K_{ATP} kanal açılması, kan akımını regüle eder. Vasküler fonksiyon Ado veya iskemik ön şartlandırma durumundaki kalplerde iyi korunmakla beraber,¹³ koroner damarlarda, Ado aktivasyonlu bu kanallar kardiyak koruyucu etkinin temel düzenleyicisi olarak görünmemektedir. Bunun yerine miyositlerdeki ATP duyarlı potasyum kanalları korumada anahtar rol oynamaktadır.²⁷

İskemik şartlandırmada K_{ATP} kanallarının etkilenimi uzun zaman münakaşalı bir konu olmak-

la birlikte özellikle glibenklamid gibi K_{ATP} kanal blokörlerinin kullanılması, ön şartlanmadaki koruyucu rollerini ortaya koyabilmiştir. K_{ATP} kanallarının açılması aksiyon potansiyeli süresinde kısalmaya ve erken iskemi sırasında kısmi K atılımına neden olur.¹² İskemi sırasında bu kanalların açılması bir miktar seri aritmi oluşumu ve şiddetlenmesine aracılık edebilir;⁴ ancak açılmaları hücre hasarına karşı koruma, infarkt alanının sınırlanması ve reperfüzyon sırasında kardiyak fonksiyonun iyileşiminin hızlanması,^{37,49} aritmilerin baskılanması gibi 'kardiyak koruyucu etkilere'de sahiptir.^{50,51} Ado'nun GTP bağlayan protein aktivasyonu vasıtasıyla, hücre içi ATP'nin indüklediği kanal kapanımını⁵¹ antagonize ettiği öne sürülmektedir.²⁷ Hipoksi veya iskemi sırasında K_{ATP} etkileniminin tanımlanmasına rağmen, bu kanalların aktivasyonunda AdoRs'nin rolü her zaman gösterilememiştir. Mitokondri iç membranında ATP duyarlı potasyum kanallarının keşfi ile birlikte ön şartlandırma zemininde oluşan miyokard korunmasında sarkolemmal ya da mitokondriyal ATP duyarlı K kanallarının etki düzeyleri tartışmalı ve belirsiz bir konuma gelmiştir. Fakat mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanallarının daha önemli rolde olduğuna ilişkin bulgular çoğunluktadır.^{14,45,49,52,53} Sarkolemmal ATP duyarlı potasyum kanalları spesifik blokörleri korumayı inhibe etmemekte, ancak kardiyak koruyuculuk sıklıkla ATP duyarlı potasyum kanal açıcıları tarafından aktive olmaktadır. 10 saat boyunca kardiyoplejik solüsyonda bekletilmiş sıçan kalplerindeki koruma, bekletilme öncesi iskemik ön şartlandırma veya mitokondri selektif ATP duyarlı potasyum kanal açıcı diazoksit tarafından artırılabilirken,⁵⁴ bu koruma etkisi söz konusu kanalın blokörü 5-hidroksidekanoat tarafından ortadan kaldırılmıştır.^{49,51} Diazoksit'in iskemi-reperfüzyon hasarına karşı kalbi korumayı, dış mitokondriyal membran permeabilitesini özellikle nükleotidler için koruyarak ve reperfüzyon sırasında yeterli enerji transferini sağlayarak başardığı sanılmaktadır.⁵⁴

İskeminin uyarıldığı hücresel modelde, Ado hücre hasarını azaltmış ve mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanal aktivitesini yükseltmiştir. Bu etki, AdoR antagonisti olan SPT

(sulfonilteofilin) veya protein kinaz C inhibitörlerince engellenmiştir, ve 5-hidroksi dekanoat'la bloke edilebilmiş, ancak selektif olarak sarkolemmal ATP duyarlı K kanal blokeri ile önlenmemiştir. Langendorf-perfüze kalplerde bölgesel iskeminin uygulandığı sıçan modelinde, dinitrofenol ve siklosporin gibi mitokondriyal fonksiyon inhibitörleri iskemik ön şartlandırma konumunu aktive edebilmişlerdir. Bu ajanlarla veya Ado ile oluşturulan koruyuculuk 5-hidroksidekanoat ya da trimetazidin gibi 'mitokondriyal koruyucu' lar tarafından önlenemediğinden, kardiyak koruyuculuk altında yatan mekanizmaların mitokondriyal bölge ile ilişkili olduğu desteklenmektedir. Sonuçlar, kardiyak korumada sarkolemmal potasyum duyarlı ATP kanallarının rolünü dışlayamamakla birlikte, bu kanalların açılmasının kritik rolünün olmadığını niteler durumdadır. Mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanallarının aktivasyonundaki mekanizma bilinmemektedir. Ancak, δ -protein kinaz C 'nin aktive edilmesiyle bu kanalların açılma olasılığındaki artış primer rolde olabilir.⁴⁵

Sonuçta;mitokondriyal fonksiyon özellikle de mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanallarının açılması kardiyak korumada hem tetikleyici, hem de aracı olarak major rolü oynuyor gibi görünmektedir.⁵¹⁻⁵³ Yapılan bir çalışmada bu kanal açılımının, bazı reaktif oksijen yapılarını ortaya çıkararak kinazları aktifleyen farklı bir yol oluşturduğu da bildirilmektedir.⁵²

C. Ekto 5' nükleotidaz'ın Oynadığı Rol

Ön şartlandırma tarafından oluşturulan kardiyak korumanın temelinde artmış ekto-nükleotidaz aktivitesi öne sürülen önemli mekanizmalardan birisidir.^{7,55} İskemi ve inflamasyon sırasında biriken nükleotidler; CD39 ve CD73 içeren anahtar enzim rolündeki ekto-nükleotidaz ailesi aracılığı ile hızla Ado'ya dönüşür.^{7,17} Endojen norepinefrin hem adrenoreseptörleri hem de protein kinaz C'yi aktifleyerek ekto-5'-nükleotidaz üzerinden interstisyel Ado yapımını artırır.^{7,16} Histamin salgılatan norepinefrin, PKC aktivitesini sağlayarak, ekto-5'-nükleotidaz'ın da aktivitesini artırır. Dolayısıyla Ado salınımı artar.⁷

Lizofosfatidilkolin (LPC) endojen amfifilik yapıda bir lipid metaboliti olup, endojen ekto-5'-nükleotidaz'ın PKC aracılı aktivasyonu yolu ile sıçan kalbinde interstisyel Ado konsantrasyonunu artırır. NO keza Ado yapımını bir diğer yol olan cGMP aracılı ekto-5'-nükleotidaz aktivitesi üzerinden gerçekleştirmektedir.⁷ Sıçan kalplerinde HSP(ısı şok proteini)'nin aşırı salınımı olduğunda, kontrol kalplere oranla hem ekto-5'-nükleotidaz aktivitesi ve hem de iskemik hasardan iyileşme daha yüksek oranda gerçekleşmiştir,¹⁵ bu nedenledir ki; artmış Ado sentezi HSP aracılı kardiyak koruma mekanizmalarından biri olabilir.

Ancak, bazı veriler iskemik ön şartlandırmanın pürin metabolitlerinin artmış depolanımından ziyade azalmış düzeyleriyle olan birlikteliğinden bahsetmektedir. Tavşan deneylerinde alfa,beta-metilen-adenozin difosfat (AOPCP) ile ekto-5'-nükleotidaz'ın inhibisyonu iskemik ön şartlandırmanın yararlı etkilerini önleyememiştir.¹⁶ Ayrıca köpeklerde miyokardiyal 5' nükleotidaz aktivitesi ile ön şartlandırılmalı koruma arasında pozitif bir korelasyona rastlanmamıştır ve aynı zamanda ön şartlandırma durumundaki hayvanlarda en yüksek enzim aktiviteleri en geniş infarktlar ile beraberlik göstermiştir. Bu veriler, artmış 5'-nükleotidaz aktivitesinin ön şartlandırma için kritik bir olay olmadığını akla getirmektedir. Diğer yandan iskemik ön şartlandırma tarafından oluşturulan azalmış pürin metabolit birikimi miyokardı, ekstrasellüler ATP-uyarılı(ATP_o) aritmileri önlemek suretiyle koruyabilmektedir. Ancak ekstrasellüler ATP'nin in vivo aritmi oluşumuna katkıda bulunduğunu destekleyecek daha fazla deneysel kanıtı ihtiyacı vardır.

Gecikmiş Koruma

İskemik ön şartlandırma, kısa ön şartlandırma epizotlarından sonraki birkaç dakika içinde oluşabilen uzamış iskemi bağımlı hasara karşı korumayı sağlamakla birlikte(erken), aynı zamanda 24 saat sonraki uzun süreli iskemi bağımlı gecikmiş hasara karşı da koruyucu etki göstermektedir (geç yada gecikmiş ön şartlandırma). Başlangıç iskemisinden 24 saat sonra başlayan bu süreç iki-üç gün sürmektedir.^{6,16,56} Erken ön şartlandırmanın geç dönemde

oluşana göre infarkt alanını azaltmada daha güçlü olduğu, buna karşılık gecikmiş olanın miyokardiyal şoku azaltmada etkin olduğu bildirilmektedir.⁶

Ön şartlandırmanın bu her iki tipi kısa iskemi veya çeşitli farmakolojik ajanlarla açığa çıkabilmektedir. Örneğin, A₁-AdoRs agonisti ile iskeminin aktiflediği ön şartlandırma gecikmiş olan ile; infarkt alanını azaltma yönünden benzerlikler göstermektedir. Ancak her durumda da iskemi-reperfüzyon modeli kapsamında anti-aritmik etki oluşmamıştır.⁵⁷

Ön şartlandırma tarafından oluşturulan bu gecikmiş koruma ('korumanın 2.penceresi' olarak da isimlendirilir) ile ilgili temeldeki mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır. Bu olayda Ado, A₁-AdoRs,¹⁷ A₃-AdoRs⁵⁸ ve mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanalları sorumlu araçılar^{18,19,56,59} olarak kabul edilebilmektedir. İskemik stres sayesinde oluşan NO'nun ise mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanal açılışından sorumlu olduğu iddia edilmektedir.⁵⁶ Son yapılan bir çalışma; A₁-AdoR agonistinin yavru farelere injeksiyonunun 24 saat sonraki infarkt alanını azaltabildiğini belirtmektedir.⁵⁷ Bu etki antagonisti (1,3-dipropil-8-siklopentilksantin) tarafından ortadan kaldırılmıştır. Aynı zamanda infarkt sahasını küçültücü bu etki genetik olarak işaretlenmiş(knock out) yavru farelerde yada iNOS'un farmakolojik olarak inhibe edilmesiyle de ortadan kaybolmuştur. Bu nedenle devam eden iskeminin artan NO üretimine ve iNOS'un artan transkripsiyonuna neden olduğu düşünülmektedir.^{6,58,60,61} Bu bulgu A₃-AdoRs'ü ile aktiflenen gecikmiş ön şartlandırmanın, nükleer transkripsiyon faktör kapp B ile ve yine İNOS'un varlığıyla gösterilmesiyle de desteklenmiştir.^{56,58}

A₁-AdoR agonisti ile yapılan tedavi P38 mitojen-aktivasyonlu protein kinaz aktivitesinde aşırı bir artışa yol açmış ve tedavi sonrası 24.saatte elde edilen miyokard örneklerinde ısı-şok proteini HSP27'nin fosforillenmiş izoformları da artmıştır.⁵⁹ Ne var ki bir başka çalışmada, benzer durumda, ısı-şok proteinlerinin artmış düzeylerine rastlanmamıştır.⁶² Protein kinaz-C veya tirozin kinaz'ın başlangıçtaki inhibisyonu, p38 MAPK

aktivitesinin ve HSP27 fosforilasyonunun artışı önlemiştir. İnsan kalp kası hücrelerinin kullanıldığı hücrel modellerde kısa iskemi benzeri ortam veya Ado verilmesi, nükleotid uygulanması sonrası 24 saatlik uzun süreli iskemi benzeri ortamlara göre hücre ölümüne karşı bir koruma sağlamıştır. Bu koruma hareketi p38-MAP kinaz inhibitörünün ön şartlandırma sağlayıcı iskemi yada Ado 'den önce verilmesiyle veya hemen ölümcül iskemi öncesi 5-hidroksidekanoat verilmesiyle baskılanır.⁶³

Sonuçta ön şartlandırma tarafından oluşturulan gecikmiş kardiyak koruyuculuk, akut korumanın yolakları ile karşılaştırıldığında daha bir kompleksdir. Gecikmiş koruma olasılıkla, MAPK'ların^{28,59} ve iNOS'un⁵⁶ sunum miktarlarındaki değişimleri içermektedir.

Uzak Koruma

Bir organdaki kısa süreli iskemi sadece o organın ön şartlandırma konumunu etkilemez, aynı zamanda uzak bir organdaki uzun süreli iskemiye karşı da koruyucu etki gösterir. Bu ise ön şartlandırılmış organ tarafından oluşturulan uyarı ile uzak organın sinirsel yoldan etkilenimine veya hormon salınımına bağlıdır. Ön şartlandırılmış verici kalbinin transferi yoluyla 40 dakikalık global iskemi ve 60 dakikalık reperfüzyonla oluşan hasara karşı kardiyak koruyuculuk sağlanmıştır, bu ise uzak korunumda humoral mekanizmaların varlığını göstermektedir.^{20,64} Aracı roldeki maddenin ne olduğu hakkında tam bir anlaşmaya varılmamasına rağmen, Ado'nun uzak organ korunumunda humoral aracı olduğunu bildiren yayınlar vardır. Tavşanlarda hem kısa koroner arter oklüzyonu (kardiyak veya lokal ön şartlandırma) hem de kısa renal arter oklüzyonu (renal veya uzak ön şartlandırma) hallerinin sonrasında kısa bir reperfüzyon süreci takibinde infarkt boyutlarında bir azalma olmuş, ATP düzey azalmalarında bir gecikme meydana gelmiş ve de sonraki (40 dk) uzun süreli miyokard iskemisinde intrasellüler pH düzeyi korunmuştur, ve reperfüzyon sırasında fosfokreatin ve ATP'de daha iyi bir iyileşme gözlenmiştir.^{25,26} Sıçanlarda şiddetli intestinal iskemi periyodu sıra-

sında salınan Ado, reperfüzyon süresince mezenterik yataktaki afferent sinirleri stimüle ederek miyokardiyal Ado reseptörlerinin nörojenik yoldan aktivasyonuna yol açmıştır.⁶⁴

Ön şartlandırma Sırasındaki Olaylar Zinciri

Ön şartlandırma tarafından oluşturulan kardiyak koruyuculuğdaki olaylar ile bunların oluşum sıralaması arasındaki ilişki tam anlamıyla açık değildir. Aktive olmuş PKC, Ado uygulanması sonrası koruyucu etkiyi artırır, ancak bunun Ado olmadan ön şartlandırılmış kalpte yada AdoRs antagonistleri varlığında olması PKC aktivasyonunun aşağı doğru AdoR aktivasyonu olduğunun göstergesidir.^{27,31} Genel olarak ATP duyarlı potasyum kanallarının Ado reseptörlerinden etkilenmesi³⁷ ve oluşan PKC'nin koruyucu etkiye aracılık ettiğinin inanılmasına rağmen, bazı çalışmalarda doğrudan mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanal açılışı ile sağlanan koruyuculuğun PKC'ye bağlı olduğu rapor edilmiştir.^{28,30} Aktive edilmiş ϵ -PKC sunumunun, iskemik H⁺ azalmasına neden olmaksızın iskemik kalbi koruduğu da bildirilmektedir.³⁰ Ayrıca ATP duyarlı potasyum kanal açılışı ve AdoR aktivasyonunun hipoksinin hücrel modelinde protein kinaz C aktivasyonundan bağımsız biçimde etkileştiği, ancak koruma üzerine olan etkilerinin sinerjizm gösterdiği iddia edilmektedir. Koruyucu etki, 5-hidroksidekanoat ve starosporin ve kalpostin C ile PKC inhibisyonuna dirençli olduğundan; ön şartlandırmanın antiaritmik etkisine PKC veya K_{ATP} kanallarının aracılığı sorgulanmıştır.⁴ Diğer taraftan Ado'nun, protein kinaz C'yi aktive ettiği, protein kinaz C aktivasyonunda ekto-5'-nükleotidaz enzimini aktive etmek suretiyle Ado oluşumunu uyardığı bilinmektedir. AdoR aktivasyonu PKC translokasyonundan önce gelir ve PKC aktivasyonu ekto-5'-nükleotidaz aktivasyonu üzerinden Ado oluşumunu artırıcı etki gösteriyorsa, bu durumda pozitif bir geri besleme sözü konusu olacaktır. Ado ve ön şartlandırmanın iskemi/reperfüzyon sırasında TNF (tümör nekrozis faktör) düzeyini azalttığı da rapor edilmiştir. Bu nedenle, bazı çalışmalarda vurgulandığı gibi PKC aktivasyonunun yararlı olmayan etkilere sebep

olabileceği belirtilmelidir.²⁹

Adenozinle Korumada Diğer Etketörler

Serbest oksijen radikalleri iskemi/reperfüzyonla ilişkili hücre hasarında yer alabildiğinden, bu oksidanların baskılanması ön şartlandırma ortamını oluşturacaktır. Tavuk izole kalp kası hücrelerinde uygulanan hipoksi veya Ado'nun, takip eden iskemi/reperfüzyon dönemindeki oksidan oluşumunu azaltmak suretiyle koruyuculuğu sağladığı rapor edilmiştir.³⁰ Benzer olarak A₁-AdoR aktivasyonu reperfüzyonu takiben hidroksil radikali oluşumunda azalmaya yol açar. Buna rağmen oksijen radikallerinin ön şartlandırılmış kalpte düşük düzeyleri miyokardiyal korunuma sebep olmaktan ziyade sonuç olabileceğinden, gerçekten belirgin bir çözüme gitmek zor olabilecektir. Ayrıca serbest radikaller miyokardiyal reperfüzyon sırasındaki hücre hasarına yardım etmektedirler, ancak bunların kısa iskemi periyodları sırasında, özellikle norepinefrin salınımı sayesinde oluşumları yararlı etki gösterebilir; yani mitokondri tarafından serbest radikal oluşumu mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanallarının açılmasını arttırabilir ve ön şartlandırmanın (ör; protein kinaz C aktivasyonu) sinyal yolağına yardımcı olabilir.^{7,31,52,61}

İskemik ön şartlandırmanın sarkoplazmik retikulum fonksiyonlarındaki değişimi uyardığı gösterilmiştir. Ön şartlandırılmış sıçan miyokardından alınan mikrozomal parçalar ya da homojenatlarda riyanodin bağlanma bölgelerinin sayısı ve Ca²⁺-aktifli Ca²⁺ salınım oranı azalmıştır.³² Benzer etkiler A₃-AdoRs'ü aktivasyonu yolu ile de oluşabilmektedir.³¹

Ön şartlandırma aracılı koruyuculukta bildirilen diğer faktörler arasında; glukoz alımında ve enerji metabolizmasında,³⁴ devamlı iskemi sırasındaki intrasellüler asidozda¹⁹ ve sodyum-hidrojen değişiminin inhibisyonunda Ado aktifli değişimlerin bulunmasıdır. Koruyuculuğun pre-iskemik glikojen seviyesi ve iskemi sırasındaki glikojenolizden ilişkiz olduğu da bildirilmektedir.⁶⁵ Bir başka çalışma ise, iskemik ön şartlandırmanın eksojen glukoz alımı ve kullanımına aracılık ettiğini; ancak A₁-AdoRs aktivasyonunun, iskemik

hasarlı sıçan kalbinde glikoz kullanım artışıyla sağlamadığını bildirmektedir.¹² İntrakoronar östrojen verilerek yapılan farmakolojik ön şartlandırmada ise miyokard, izleyen dönemdeki iskemiye nisbeten dirençli hale gelmiş ve bunu olasılıkla miyokardiyal ATP duyarlı potasyum kanalları üzerinden gerçekleştirmiştir.⁶⁶ Ayrıca iskemik ve farmakolojik ön şartlandırma farklı mekanizmaları kullanıyor olabilir.⁶⁷ Çalışmalardan birinde, A₁-AdoRs'nin, sodyum-hidrojen değişimini alfa adrenerjik agonistler aracılığıyla inhibe edebileceği öne sürülmektedir.⁶⁸

Adenozin'in Kardiyak Koruyucu Etkisinin Klinik Önemi

İnvitro çalışmalar Ado'nun, hipoksiye maruz kalan³⁶ veya iskemi ortamı yaratılmış³⁷ insan kardiyak miyositlerini koruduğunu göstermiştir,¹¹ bu etki ise protein kinaz C aracılığıyla gerçekleşmektedir.³⁶ Böylece insan kardiyak miyositleri, diğer türlerdeki kalp kası hücrelerinin Ado'ya vermiş olduğu yanıt ile benzer yolağı izlemektedir.

Akut miyokardiyal iskemili hastalarda iskeminin sonlandırılmasında ya da önlenmesinde Ado kullanımı önerilmektedir.^{14,38,41} Özellikle Ado alımının, iskemi öncesi ve reperfüzyonun başında uygulanmasının yararlı sonuçları üzerinde durulmaktadır.¹¹ Ado kullanımının kalp iskemisindeki koruyucu rolüne ilişkin olarak Ado birikimini sağlayabilen dipiridamol'un düşük dozları tedavide kullanılmış, sonuçta; eforlu stres testi sırasında artmış tolerans (oluşan göğüs ağrısında azalma, egzersiz süresinde artış, EKG'de düşük ST segment depresyonu, ve anormal duvar hareketi frekansında azalma) elde edilmiştir.³⁹ Aynı zamanda dipiridamol ile yapılan kronik tedavi, iskemi-reperfüzyon hasarına karşı devamlı bir kardiyak koruma sağlamıştır. Ne var ki Ado'nun kronik yükselmeleri, reseptör düzeylerindeki duyarsızlaşmaya bağlı olarak, düşük yanıtla sonuçlanabilmektedir. Ado ile kronik tedaviyi takiben A₁-AdoR aktivasyonuna yavaş duyarsızlaşma, G_i/G_o 'ın düşmesi ile ilişkili reseptör yoğunluğunda azalmaya neden olur.

Ado'nun alımı keza, stabil olmayan angina ve perkutan transluminal koroner anjioplasti (PTCA)

sırasında oldukça yararlı olabilir.^{6,16} PTCA'ya giden hastaların sol ön inen koroner arterlerine intrakoronar Ado infüzyonu, iskeminin belirgin bulgularının azalması ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ya da izovolümetrik kontraksiyonda gerilemenin azalması ile ilişkili bulunmuştur.³⁹ PTCA sırasında Ado uygulanımı, iskemik bölge üzerine seçici etki edebilmek için, infarkla ilişkili arteri hedeflemektedir. Bu şekildeki bir uygulama, herhangi bir yan etki oluşmaksızın akımın ve kontraktıl fonksiyonun iyileştirilmesiyle ilişkilidir. PTCA öncesi Ado'nun intrakoronar infüzyonu, takip eden iskemiye dirençli hale getirilmiş miyokarda balon şişirilmesiyle oluşan iskemik ön şartlandırmadan daha etkin bulunmuştur. Ayrıca iskeminin aktiflediği aritmilerin şiddetinde azalmaya da neden olmaktadır.⁴¹ Dipiridamol benzer yararlı etkilere sahiptir. Ado akut miyokard infarktüsülerde test edilmiş ve miyokard infarktüsü sonrası ilk birkaç saat içindeki hastalara trombolizis oluşturmada kullanılmıştır; Ado alan ön duvar infarklı hastalarda infark alanı azalmıştır.

Kardiyak cerrahi sırasında kısa Ado uygulananın yararlı etkileri koroner arter bypass cerrahisi uygulanacak hastalarda ve kardiyak anestezi sırasında da araştırılmıştır.⁶⁸ Ado'nun oluşturduğu ön şartlandırma; insan miyokardında iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı gelişen pre ve postiskemik taşiaritmilerin frekansını baskılamaktadır.⁶⁹ Kısa Ado uygulananı troponin I salınımını azaltmamakta, agonistlerle ön şartlandırma operasyon sonrası ilk 48 saatteki hücre nekrozunu düşürmemekte, ancak koroner arter bypass sırasında yüksek enerjili fosfatların bozulmasını azaltmaktadır. Koroner bypassa giden hastaların ön şartlandırılmalı ya da ön şartlandırmasız ameliyat sonrası kardiyak fonksiyonlarının geriye dönük değerlendirilmesinde, Ado alan hasta grubunun fonksiyonlarında hızlı bir iyileşme saptanmıştır.^{2,14} Ado alımı yoluyla güçlendirilen ön şartlandırma, kardiyak cerrahi sırasındaki morbidite ve mortaliteyi azaltmaktadır.^{53,70}

Ado aynı zamanda doku korunmasında da yararlıdır. Sıçan kalplerinin diadenosin tetrafosfat ile korunması, laktat dehidrogenaz ve kreatin kinazın daha düşük salınımı kadar kalbin mekanik ve

koroner fonksiyonu üzerine daha yüksek bir geri dönüş sağlamıştır, ve bu artmış korunum 5-hidroksidekanoat ile önlenabilir. Benzer olarak izole edilmiş hücrelere Ado uygulanması, β -adrenerjik reseptör uyarımına olan inotropik yanıtı korumaktadır.

Son zamanlarda ön şartlandırma ve buna bağlı kardiyak koruyuculukta Ado dışında, pirüvat'a bağımlı etkileşimler araştırılmış ve pirüvatın sağladığı ilave faydalanımda yine Ado aracılığı ve/veya hücrel kalsiyum değişimlerinin olabileceği öne sürülmüştür.⁷¹

Ado'nun İstenmeyen Etkileri

Genelde Ado, kalpte sinoatriyal ve atrioventriküler düğümler üzerine antiaritmik etki de olmasına rağmen, iskemik ön şartlandırma yoluyla reperfüzyon aritmileri üzerine etkisiz olduğunu⁷² ya da proaritmik etki de oluşturabildiğini ifade edenler vardır. Ado'nun bu etkisi çoğunlukla atriumda oluşmaktadır ve ikincil olarak atriyal aksiyon potansiyeli süresi ve refrakter periyodunda fizyolojik bir kısalma meydana gelmektedir.¹² Ado'nun proaritmik etkisi diğer yapılardan da kaynaklanabilir ve sinus bloğu, sinus uyarımına ara vermesi, AV blok gibi olaylara neden olabilir. Bu aritmiler Ado'nun bolus tarzında verilmesi ile aktive olabilir. Ado yeni doğan kalp kası hücreleri üzerinde, yüksek derişimlerde uygulandığında (>200 μ M) toksik ve proapoptoziktir. Özellikle A₃-Ado Rs'lerinin yüksek dozda spesifik aktivasyonu keza, apoptozu aktiflemektedir.⁴⁴ Buna karşılık A₁-Ado Rs'nün aşırı sunulduğu transgenik hayvanda iskeminin aktive ettiği apoptoz oranı azalmaktadır.⁷³

Ado'nun hipotansiyon, bradikardi, narkozis, bronşiyal spazm, renal arter konstriksiyonu gibi yan etkileri oluşturduğu da bildirilmektedir.^{15,53,74} Bu istenmeyen yan etkileri bertaraf etmede Adonorepinefrin birlikte infüzyonu denenmiş ve kalbi ön şartlandırma durumuna sokmada güvenli ve uygulanabilir bir parenteral yol olarak önerilmiştir.⁷⁴ Ayrıca norepinefrinin G_i proteini ile eşlenik alfa-1 adrenoreseptörler⁴ ve protein kinaz C üzerinden ekto-5'-nükleotidaz'ı aktive ettiği ve

interstisyel Ado yapımını arttırdığı da bildirilmektedir.⁷

Sonuçlar

Ado kalp kasının oksijen ihtiyacını düzenleyen ve miyokard korumasını A₁-AdoRs ve olasılıkla da A₃-AdoRs üzerinden belirleyebilen bir ajandır.

Kardiyak koruma için oluşmuş iskemi zeminindeki olaylar dizisi oldukça komplekstir. Bunlar arasında protein kinaz C ve tirozin kinaz gibi bazı kinazlar, ısı-şok proteinleri, mitokondriyal (belki bir miktar sarkolemmal) ATP duyarlı potasyum kanalları yer almaktadır.

Endojen Ado'nun koruyucu etkisi iskemik ön şartlandırma sırasında açıkça belirtilmiştir ve eksojen Ado miyokardın korunması veya ön şartlandırma konumunda farmakolojik ajan olarak kullanılabilir. Son çalışmalar ön şartlandırma ile sağlanan iyileşme mekanizmalarının kompleks yapısını açıklama üzerinedir. O nedenle miyokardiyal korunum için kullanılmadan önce daha çok çalışmanın bu konuyu aydınlatmasına ihtiyaç vardır.

A₃-AdoRs'in kardiyak koruyuculukta rolüne ilişkin (reseptör aktivasyonu ve mitokondriyal ATP duyarlı potasyum kanallarının açılması ve buna MAP kinazların katkısı) tartışmalı değerlendirmelerin açıklığa kavuşmasında daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Miyokardın korunmasına ilişkin yeni mekanizmalar üzerinde durulmaktadır. Bu yeni koruyucu mekanizmaların bir kısmı Ado'yla benzer iletim yollarını kullanmaktadır. Örneğin, isofluran gibi anestezipler kalpte ön şartlandırma yapabilir ve bu etkinin, SPT ve gibenklamid ile baskılanıyor olmasından dolayı, AdoRs'leri ve ATP duyarlı potasyum kanalları aracılığıyla bu etkiyi oluşturduğu sanılmaktadır. Ado'yu kullanmayan yeni koruyucu mekanizmalar, yine de aynı sinyal iletim yolları üzerinde birleşmektedir. Bunların kullandığı reseptör yapıları arasında muskarinik asetilkolin reseptörleri veya opioid reseptörler bulunmakta ve bunlarda kalbin, takip eden uzun iskemiye karşı ön şartlandırma ya da korunmasında, kısa Ado uygulanmasını veya iskemiye taklit eden tabloları oluşturmaktadır. Örneğin delta1-opioid reseptör agonistlerinin aktivas-

yonu, A₁-AdoRs'in uyarılması gibi, reaktif oksijen yapılarının azaltılması ya da ATP duyarlı K kanalları aktivasyonu sonucunu doğurmaktadır.

Teşekkürler

Bilgi ve desteğiyle derlememize katkıda bulunan ve 'danışman' niteliğiyle bizleri yönlendiren Anabilim Dalı Başkanımız sayın Yrd. Doç.Dr. Mustafa Özbek'e teşekkürlerimizi sunuyoruz.

Not: Adenozin ve kardiyak koruyuculuğu üzerine Anabilim Dalımız'da son zamanlarda yapılan çalışmalarda Ado'nun arter basıncı üzerine refleks etkileşimleri araştırılmakta, ileriye yönelik çalışmalarda ise aşağıda belirtilen konular üzerinde durulması planlanmaktadır:

- Ratlarda Ado ve vagal sinir kesisinin kalp hızı ile arteriyel kan basıncı üzerine etkileri.
- Ratlarda ve imkan dahilinde tavşanda Ado ile oluşturulan ön şartlandırmanın; EKG, aritmi skorları ve hücre içi iletim mekanizmalarını göstermek üzere iNOS ve apoptoz üzerine etkileri.

KAYNAKLAR

1. Nakano A, Cohen MV, Downey JM. Ischemic preconditioning: from basic mechanisms to clinical applications. *Pharmacology and Therapeutics* 2000; 86(3):263-75.
2. Maroko PR, Kjekshus JK, Sobel BE, et al. Factors influencing infarct size following experimental coronary artery occlusions. *Circulation* 1971; 43:67-82.
3. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74:1124-36.
4. Ravingerova T, Pancza D, Ziegelhoffer A, Styk J. Preconditioning modulates susceptibility to ischemia-induced arrhythmias in the rat heart: the role of alpha-adrenergic stimulation and K(ATP) channels. *Physiol Res* 2002; 51(2):109-19.
5. Laubani M, Galinanes M. Pharmacological and ischemic preconditioning of the human myocardium: mitoKATP channels are upstream and p38MAPK is downstream of PKC. *BMC Physiol* 2002;2(1):10-23.
6. Post H, Heusch G. Ischemic preconditioning. Experimental facts and clinical perspective. *Minerva Cardioangiol* 2002;50(6):569-605.
7. Obata T. Adenosine production and its interaction with protection of ischemic and reperfusion injury of the myocardium. *Life Sciences* 2002;71(18):2083-103.
8. Guyton AC, Hall JE. Kan Akımının Dokular Tarafından Lokal Kontrolü ve Humoral Düzenleme. In: *Textbook of Medical Physiology*. 9. baskı. Pennsylvania: WB Saunders Company Publishing; 1996. p.200-59.
9. Heusch G. Control of vasomotor tone in ischaemic myocardium by local metabolism and neurohumoral mechanisms. *Eur Heart J* 1991;12:99-106.

10. Krajcar M, Heusch G. Local and neurohumoral control of coronary blood flow. *Basic Res Cardiol* 1993;88:25-42.
11. Vinten-Johansen J, Zhao ZQ, Corvera JS, Morris CD, Budde JM, Guyton RA. Adenosine in myocardial protection in on-pump and off-pump cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2003;75(2):S691-9.
12. Takeo S, Nasa Y. Role of energy metabolism in the preconditioning heart—a possible contribution of mitochondria. *Cardiosource* 1999;43(1):32-43.
13. Ely SW, Mentzer RM, Lasley RD, Lee BK, Berne RM. Functional and metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance to ischemia and reperfusion with adenosine. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985;90:549-56.
14. Zarro DL, Palanzo DA, Sadr FS. Myocardial preconditioning using adenosine: review and clinical experience. *Perfusion* 1998;13(2):145-50.
15. Mubagva K, Flameng W. Adenosine, adenosine receptors and myocardial protection: an updated overview. *Cardiovascular Research* 2001;52(1):25-39.
16. Mullenheim J, Schlack W, Frassdorf J, Heinen A, Preckel B, Thamer V. Additive protective effects of late and early ischaemic preconditioning are mediated by the opening of KATP channels in vivo. *Pflügers Arch-Eur J Physiol* 2001;442:178-87.
17. Linden J. Molecular approach to adenosine receptors: receptor-mediated mechanisms of tissue protection. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:775-87.
18. Forman MB, Velasco CE, Jackson EK. Adenosine attenuates reperfusion injury following regional myocardial ischaemia. *Cardiovascular Research* 1993;27:9-17.
19. Headrick JP. Ischemic preconditioning: bioenergetic and metabolic changes and the role of endogenous adenosine. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28(6):1227-40.
20. Persson PB. Modulation of cardiovascular control mechanisms and their interaction. *Physiol Rev* 1996;76(1):193-244.
21. Tao S, Abdel Rahman. Neuronal and cardiovascular responses to adenosine microinjection into the nucleus tractus solitarius. *Brain Res Bull* 1993;32:407-417.
22. Fuglsang A, Therkildsen P, Crone C. Presynaptic modulation of sympathetic nerve transmission—an element in vasomotor control. *Int J Microcirc Clin Exp* 1989;8:71-84.
23. Kuan CJ, Jackson EK. Role of adenosine in noradrenergic neurotransmission. *Am J Physiol* 1988;255(Heart Circ Physiol 24):H386-H393.
24. Ballard HJ, Karim F. Lack of interaction between adenosine-induced vasodilatation and carotid baroreflex-induced changes in sympathetic activity in dog hindlimb artery. *Exp Physiol* 1990;75:497-503.
25. Thames MD, Dipner-Dunlap ME, Minisi AJ, Kinugawa T. Reflexes mediated by cardiac sympathetic afferents during myocardial ischaemia: role of adenosine. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996;23(8):709-14.
26. Terzic A, Jahangir A, Kurachi Y. Cardiac ATP-sensitive K⁺ channels: regulation by intracellular nucleotides and K⁺ channel-opening drugs. *Am J Physiol* 1995;269:C525-45.
27. Borst MM, Simonis G, Rothele J, Gerlach E, Marquetant R, Strasser RH. Blockade of A1 adenosine receptors prevents the ischaemia-induced sensitisation of adenylyl cyclase: evidence for a protein kinase C-mediated pathway. *Basic Res Cardiol* 1999;94(6):472-80.
28. Schulman D, Latchman DS, Yellon DM. Effect of aging on the ability of preconditioning to protect rat hearts from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281(4):H1630-6.
29. Ganote CE, Armstrong SC. Adenosine and preconditioning in the rat heart. *Cardiovascular Research* 2000;45(1):134-40.
30. Cross HR, Murphy E, Bolli R, Ping P, Steenbergen C. Expression of activated PKC epsilon protects the ischemic heart, without attenuating ischemic H⁺ production. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34(3):361-7.
31. Kawabata KI, Netticadan T, Osada M, Tamura K, Dhalla NS. Mechanisms of ischemic preconditioning effects on Ca²⁺ paradox-induced changes in heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278(3):H1108-15.
32. Liu X, Wang S, Wu X, Tang C. Association between delayed cardioprotection of aged rat myocytes and activation of mitogen-activated protein kinase. *Chin Med J* 2000;113(1):5-9.
33. Schaper W, Vogt A, Htun P. The role of adenosine in 'ischemic preconditioning'. *Z Kardiol* 1996;85(6):185-90.
34. De Jonge R, Out M, Mass WJ, De Jonge JW. Preconditioning of rat hearts by adenosine A1 or A3 receptor activation. *Eur J Pharmacol* 2002;441(3):165-72.
35. Liang BT, Jacobson KA. Adenosine and ischemic preconditioning. *Curr Pharm Des* 1999;5(12):1029-41.
36. Berne RM. Adenosine—a cardioprotective and therapeutic agent. *Cardiovascular Research* 1993;27:2.
37. McCully JD, Toyoda Y, Uematsu M, Stewart RD, Levitsky S. Adenosine-enhanced ischemic preconditioning: adenosine receptor involvement during ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:H591-602.
38. Middlekauff HR, Rivkees SA, Raybould HE, Bitticaca M, Goldhaber JI, Weiss JN. Localization and functional effects of adenosine A1 receptor on cardiac vagal afferents in adult rats. *Am J Physiol* 1998;274:H441-7.
39. Verlato G, Borgdorff P. Endogenous adenosine enhances vagal negative chronotropic effect during hypoxia in the anaesthetised rabbit. *Cardiovasc Res* 1990;24(7):532-9.
40. Kou WH, Man KC, Goyal R, Strickberger SA, Morady F. Interaction between autonomic tone and the negative chronotropic effect of adenosine in humans. *Pacing Clin Electrophysiol* 1999;22(12):1792-6.
41. Miyatake Y, Kusama Y, Kishida H, Hayakawa H. Adenosine mediates the antiarrhythmic effect of ischemic preconditioning in isolated rat hearts. *Japanese Circulation Journal* 1996;60(6):341-48.
42. Cross HR, Murphy E, Black RG, Auchampach J, Steenbergen C. Overexpression of A(3) adenosine receptors decreases heart rate, preserves energetics, and protects ischemic hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(4):H1562-8.
43. Sunderdiek U, Schmitz-Spanke S, Korbmayer B, Gams E. Preconditioning: myocardial function and energetics during coronary hypoperfusion and reperfusion. *Ann Thorac Surg* 2002;74(6):2147-55.
44. Tani M, Suganuma Y, Takayama M, et al. Low concentrations of adenosine receptor blocker decrease protection by hypoxic preconditioning in ischemic rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30(3):617-26.
45. Peart J, Willems L, Headrick JP. Receptor and non-receptor-dependent mechanisms of cardioprotection with adenosine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284(2):H519-27.

46. Wang J, Drake L, Sajjadi F, Firestein GS, Mullane KM, Bullough DA. Dual activation of adenosine A₁ ve A₃ receptors mediates preconditioning of isolated cardiac myocytes. *Eur J Pharmacol* 1997; 12;320(2-3):241-8.
47. Peart J, Flood A, Linden J, Matherne GP, Headrick JP. Adenosine-mediated cardioprotection in ischemic-reperfused mouse heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;39(1):117-29.
48. Black RG Jr, Guo Y, Ge ZD, et al. Gene dosage-dependent effects of cardiac-specific overexpress the A₃ adenosine receptor. *Circ Res* 2002; 91(2):165-72.
49. Nakani Y, Horimoto H, Mieno S, Sasaki S. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channel plays a dominant role in ischemic preconditioning of rabbit heart. *Eur Surg Res* 2001;33(2):57-63.
50. Kita H, Miura T, Tsuchida A, Hasegawa T, Shimamoto K. Suppression of reperfusion arrhythmias by preconditioning is inhibited by an ATP-sensitive potassium channel blocker, 5-hydroxydecanoate, but not by protein kinase C blockers in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32(5):791-7.
51. Hiraoka M. Pathophysiological functional of ATP-sensitive K⁺ channels in myocardial ischemia. *Jpn Heart J* 1997;38(3):297-315.
52. Oldenburg O, Cohen MV, Yellon DM, Downey JM. Mitochondrial K(ATP) channels: role in cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2002; 55(3):429-37.
53. McCully JD, Levitsky S. The mitochondrial K(ATP) channel and cardioprotection. *Ann Thorac Surg* 2003;75(2):s667-73.
54. Dos Santos P, Kowaltowski AJ, Laclau MN, et al. Mechanisms by which opening the mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel protects the ischemic heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(1):H284-95.
55. Kitakaze M, Hori M, Takashima S, Sato H, Kamada T. Augmentation of adenosine production during ischemia as a possible mechanism of myocardial protection in ischemic preconditioning. *Circulation* 1991;84(II):II-306.
56. Wang Y, Kuda M, Xu M, Ayub A, Ashraf M. Mitochondrial K(ATP) channel as an end effector of cardioprotection during late preconditioning: triggering role of nitric oxide. *J Mol Cell Cardiol* 2001;33(11):2037-46.
57. Tissier R, Souktani R, Parent de Curzon O, et al. Pharmacological delayed preconditioning against ischaemia-induced ventricular arrhythmias: effect of an adenosine A₁-receptor agonist. *Br J Pharmacol* 2001;134(7):1532-8.
58. Zhao TC, Kukreja RC. Late preconditioning elicited by activation of adenosine (A₃) receptor in heart: role of NF-kappa B, Inos and mitochondrial K(ATP) channel. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34(3):263-77.
59. Zhao TC, Hines DS, Kukreja RC. Adenosine-induced late preconditioning in mouse hearts: role of p38 MAP kinase and mitochondrial K_{ATP} channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280(3):H1278-85.
60. Bolli R, Bhatti ZA, Tang XL, et al. Evidence that late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is triggered by the generation of nitric oxide. *Circ Res* 1997;81:42-52.
61. Lebuffe G, Schumacher PT, Shao ZH, Anderson T, Iwase H, Vanden TL. ROS and NO trigger early preconditioning: relationship to mitochondrial KATP channel. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284(1):H299.
62. Baxter GF, Yellon DM. Time course of delayed myocardial protection after transient adenosine A₁-receptor activation in the rabbit. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997;29:631-638.
63. Carroll R, Yellon DM. Delayed cardioprotection in a human cardiomyocyte-derived cell line: the role of adenosine, p38MAP kinase and mitochondrial K_{ATP}. *Basic Res Cardiol* 2000; 95:243-249.
64. Liem DA, Verdouw PD, Ploeg H, Kazim S, Duncker DJ. Sites of action of adenosine in interorgan preconditioning of the heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283(1):H29-37.
65. de Jonge R, de Jong JW, Giacometti D, Bradamente S. Role of adenosine and glycogen in ischemic preconditioning of rat hearts. *Eur J Pharmacol* 2001; 414(1):55-62.
66. Lee TM, Su SF, Chou TF, Tsai CH. Pharmacological preconditioning of estrogen by activation of the myocardial adenosine triphosphate-sensitive potassium channel in patients undergoing coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(5):871-7.
67. De Jonge R, de Jong JW. Ischemic preconditioning and glucose metabolism during low-flow ischemia: Role of the adenosine A₁ receptor. *Cardiovascular Research* 1999; 43(4):909-18.
68. Sirvinskas E, Macas A. Use of adenosine and high-energy phosphates in cardiac anesthesiology. *Medicina* 2002; 38(3):261-6.
69. Pomerantz BJ, Joo K, Shames BD, Cleveland JC Jr, Banerjee A, Harken AH. Adenosine preconditioning reduces both pre and postischemic arrhythmias in human myocardium. *J Surg Res* 2000; 90(2):191-6.
70. McCully JD, Levitsky S. Alternatives for myocardial protection: adenosine-enhanced ischemic preconditioning. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 874:295-305.
71. Flood A, Hack BD, Headrick JP. Pyruvate-dependent preconditioning and cardioprotection in murine myocardium. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003; 30(3):145-52.
72. Miura T, Ishimoto R, Sakamoto J, et al. Suppression of reperfusion arrhythmia by ischemic preconditioning in the rat: is it mediated by the adenosine receptor, prostaglandin, or bradykinin receptor? *Basic Res Cardiol* 1995; 90(3):240-6.
73. Regan SE, Broad M, Byford AM, Lankford AR, Cerniway RJ, Matherne GP. A₁ adenosine receptor overexpression attenuates ischemia-reperfusion -induced apoptosis and caspase 3 activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284(3):H859-66.
74. Cohen MV, Thornton JD, Thornton CS, Sato H, Miki T, Downey JM. Intravenous co-infusion of adenosine and norepinephrine preconditioning the heart without adverse hemodynamic effects. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 1997; 114(2):236-42.