

İskemik Önkoşullama Mekanizmaları

Geliş Tarihi : 11.07.2007
Düzeltilme Tarihi : 03.12.2007
Kabul Tarihi : 10.12.2007

Hasan AKKOÇ*^o

Giriş

İskemik önkoşullama (İÖ), tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemik periyotların daha uzun süreli iskemik periyotlarda gelişebilecek hücre, doku veya organ hasarına karşı belirgin bir direnç oluşturması ile gerçekleşen koruyucu bir mekanizmadır. İÖ ilk kez 1986 yılında Murry ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır¹. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda İÖ'nün miyokardiyal nekroza karşı koruyucu etkisinin yanında aritmi, miyokardiyal sersemleme, koroner endotelial hasar ve mikrovasküler fonksiyon bozukluğuna karşıda koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir.

Önkoşullama iki farklı dönem ile koruma sağlamaktadır. İlk dönem (*erken dönem, akut dönem, klasik dönem, korumanın birinci penceresi*), iskemiden sonra dakikalar içinde oluşmakta ve etkisi 1-3 saat kadar sürmektedir. İlk dönem geçici fakat önemli bir koruma sağlar ve oluşmasında protein sentezine ihtiyaç yoktur. Geç dönem (*gecikmiş dönem, korumanın ikinci penceresi*), önkoşullamadan 24 saat sonra belirginleşir. Geç dönemin koruyucu etkisi 72-96 saate kadar sürebilir ve bu dönemde protein sentezine ihtiyaç duyulur^{2,3}.

İskemik Önkoşullama Mekanizmaları

Miyokardiyal İÖ oluşumuna dahil olan moleküller tetikleyiciler, mediyatörler ve uç efektörler olarak sınıflandırılmıştır. İÖ oluşumuna dahil olan mekanizmalar Şekil-1'de gösterilmiştir⁴.

* Dicle Üniversitesi Tıp Fak. Farmakoloji AD. Diyarbakır

^o Corresponding Author: E-mail: hakkoc@dicle.edu.tr. Tel: +90 (412) 248 80 01-248 80 16

I. İÖ Tetikleyicileri

A) Reseptöre bağımlı tetikleyiciler

Adenozin (ADO), Bradikinin, Opioidler, Siklooksijenaz ve Lipoksijenaz ürünleri, Norepinefrin, Anjiotensin, Endotelin

B) Reseptör bağımsız tetikleyiciler

Serbest Radikaller, Nitrik Oksit (NO), Kalsiyum

II. İÖ Mediatörleri

G Proteinleri, Fosfolipazlar, Protein Kinaz C (PKC), Tirozin Kinaz (TK), Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinazlar (MAPK), Isı Şok Proteinleri, Endotoksin, Janus Kinaz (JAK)- Sinyal Transdüktörü ve Transkripsiyon Aktivatörü (STAT) yolu, Rho-Kinaz

III. İÖ Uç Eftörleri: Adenozin Trifosfata Duyarlı Potasyum (K^+_{ATP}) Kanalları,

Mitokondriyal Permeabilite Geçiş Poru (mPTP)

Adenozin

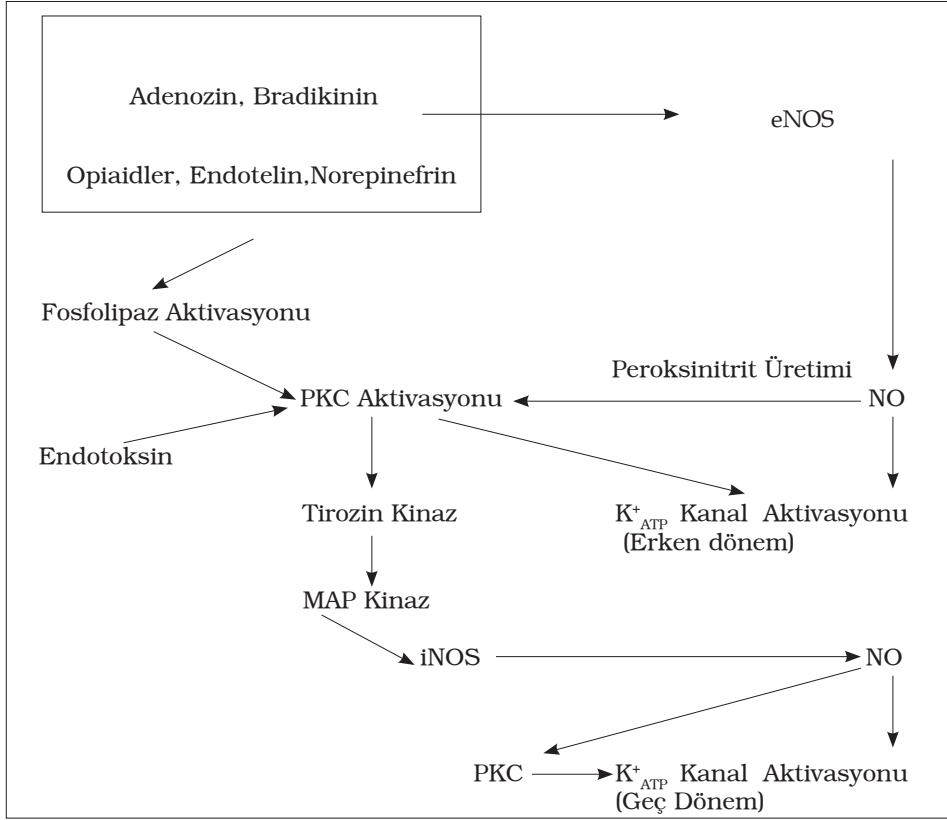
ADO, bütün hücrelerde doğrudan yada adenozin trifosfatın (ATP) hidrolizi sonucunda oluşan lokal bir hormondur. ADO'nun şimdiye kadar A_1 , A_2 ve A_3 olmak üzere üç reseptör alt tipi tanımlanmış ve klonlanmıştır.

İlk olarak 1991 yılında Liu ve arkadaşları, tavşan kalbinde ADO reseptör blokajı ile önkoşullamaya bağlı korumanın ortadan kalktığını göstermişlerdir⁵. Daha sonraki yıllarda yapılan bir çok çalışmada sıçan, tavşan, köpek, domuz ve insan dokularında İÖ süresince hücreler arası bölgede ADO seviyelerinin yükseldiği ortaya konulmuştur⁶⁻¹⁰.

ADO önkoşullamadaki etkilerini A_1 ve A_3 reseptörleri üzerinden gösterir. Bu reseptörlerin uyarılması ile aktive olan PKC, önkoşullamanın uç eftörleri olan sarkolemmal ve mitokondriyal K^+_{ATP} kanallarını açılmasını sağlar (Şekil 1)¹¹.

Bradikinin

Miyokardiyal iskemi sonrası hücreler arası bölgede bradikinin düzeyleri artar. Hücreler arası mesafede bradikinin düzeylerinin artması ADO düzeylerinin artmasından daha önce gerçekleşir. Bradikinin,

**Şekil 1**

İskemik önkoşullama oluşum mekanizmaları (4). ADO, Bradikinin gibi moleküllerin tetiklemesiyle başlayan İÖ'da, PKC aktivasyonu ve NO oluşumu kritik öneme sahiptir.

eNOS: Endotelial Nitrik Oksit Sentaz, NO: Nitrik Oksit

PKC: Protein Kinaz C, K⁺ATP Kanalı: Adenozin Trifosfata Duyarlı Potasyum Kanalı, MAP Kinaz: Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz, iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Senta

önkoşullama süresinin kısaltıldığı veya siklus sayısının azaltıldığı durumlarda, koruma üzerinde adenozinden daha önemli rol oynar. Örneğin üç dakikalık İÖ periyotları bradikininini ön plana çıkarırken, bu sürenin on dakikaya çıkması ADO'nun önemini artırır. Önkoşullama öncesi veya önkoşullama sırasında bradikinin B₂ reseptörlerini seçici olarak bloke eden ikatibantın (HOE-140) uygulaması İÖ'nün koruyucu etkilerin ortadan kaldırır. Yapılan bir çok çalışma ile bradikinin uygulamasının önkoşullamaya benzer koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bradikinin, önkoşullama korumasını tetikleyici etkilerini B₂ reseptörleri üzerinden salıverilmesini veya oluşumunu artırdığı NO ve prostasiklin aracılığı ile gösterir (Şekil 1)¹²⁻¹⁴.

Opioidler

Deney hayvanlarında İÖ ile elde edilen korumanın opioid reseptör antagonistisi olan naloksan ile blokajı, opioidlerin önkoşullamaya bağlı korumada rol aldıklarını düşündürmektedir. Bu etki delta reseptörleri üzerinden gerçekleşir. (Şekil 1)^{15,16}.

Siklooksijenaz ve Lipoksijenaz Ürünleri

Siklooksijenaz enzim ürünü olan prostaglandinlerin önkoşullamayı tetikleyici etkisi kanıtlanamazken, 12-lipoksijenaz enzim eksikliği bulunan farelerde ve 12-lipoksijenaz enzim inhibitörü uygulanan sıçanlarda önkoşullama koruması tamamen ortadan kaldırılabilmiştir¹⁷.

Norepinefrin, Anjiyotensin, Endotelin

Endotelin ET₁, anjiyotensin AT₁ ve α_1 -adrenerejik reseptörler kalpte PKC ile ilişkilidirler. Bu reseptörlerin eksojen olarak uyarılması önkoşullama korumasını taklit ederken, reseptör blokörlerinin uygulanmasının herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Bu durum norepinefrin, anjiyotensin ve endotelinin endojen seviyelerinin önkoşullama korumasını uyaracak düzeye çıkamayışı ile açıklanmıştır¹⁸⁻²⁰.

Serbest Radikaller

Antioksidan olan N-2-merkaptopropiyonil (MPG) ve radikal temizleyici özelliği olan dimetiltiyöre uygulamasının beklenmedik bir şekilde önkoşullama korumasını bloke etmesi, serbest radikallerin sadece hasar oluşturmadığını, aynı zamanda düşük konsantrasyonlarda önkoşullamayı tetikleyebileceklerini göstermiştir²¹.

Nitrik Oksit

Önkoşullamanın erken dönemi boyunca bradikinin ve ADO tarafından endotelial nitrik oksit sentazın (eNOS) uyarılmasıyla NO salınımı gerçekleşir. NO, dönüştüğü peroksinitrit aracılığıyla doğrudan veya PKC aktivasyonuna yol açarak K_{ATP}⁺ kanallarının açılmasına neden olur (Şekil 1)²². Tavşan kalbindeki önkoşullama modelinde nitrik oksit sentaz inhibitörü olan L-N-nitro-arjinin (L-NNA) uygulanmasının önkoşullama korumasını azalttığı gözlenmiştir²³. Keçi kalbinde yapılan çalışmalarda da aynı sonuca ulaşılmıştır²⁴. Fakat L-N-nitro-arjinin-metil-ester (L-NAME)

ve L-N-monometil-arjinin (L-NMMA) ile yapılan çalışmalarda elde edilen farklı sonuçlar bu bileşiklerin antimuskarinik etkilerine bağlanmıştır²⁵⁻²⁷.

Korumanın geç döneminde, PKC'nin başlattığı bir dizi reaksiyonla önce TK, daha sonra da MAPK aktive olur. MAPK indüklenebilir nitrik oksit sentazı (iNOS) uyararak NO oluşumunu sağlar. Erken dönemde gerçekleştiği gibi NO, peroksinitrite dönüşür ve doğrudan veya PKC üzerinden K^+_{ATP} kanallarını aktive eder (Şekil 1)²⁸.

G Proteinleri ve Fosfolipazlar

Reseptör aracılı mekanizmalarla önkoşullamayı tetikleyen moleküller, G proteinleri ile kenetlidirler. Bunlardan ADO, bradikinin ve opioidler kalpte inhibitör G proteini (G_i) ile kenetlidirler (29). Reseptör-G protein etkileşimi fosfolipaz C (FLC) enzimini aktifler. FLC membran fosfolipidlerinden fosfatidilinozitol 4,5-bifosfat'ın hidrolizini hızlandırır. Bu hidroliz sonucunda inozitoltrifosfat (IP_3) ve diaçilgliserol (DAG) oluşur. IP_3 endoplazmik retikulumdan Ca^{++} salıverilmesini artırırken, DAG PKC'yi aktifler³⁰.

ADO G_i proteinleri aracılığıyla, serbest radikaller doğrudan, fosfolipaz D (FLD) enzimini aktifleyebilirler. FLD aktivasyonu ile fosfatidilkolinin hidrolizi hızlanır; bunun sonucunda fosfatidik asit oluşur. Fosfatidik asit fosfohidrolaz enzimi tarafından diaçilgliserole dönüştürülür ve PKC aktiflenir²⁹.

FLC enzimi ile DAG üretimi çok hızlı başlar fakat yarılanma ömrü 30 saniyedir. FLD enzimi ile DAG üretimi daha geç başlar ve PKC'nin uzamış aktivasyonu ile ilişkilidir.

Protein Kinaz C

PKC, substrat proteinlerin serin veya treonin kalıntılarını fosforilleyen kinaz grubunun bir üyesidir. Ping ve arkadaşları tavşan kalbinde yaptıkları çalışmada PKC'nin 11 değişik izoformunu belirlemişlerdir³¹.

Korumanın erken döneminde PKC, mitokondriyal ve sarkolemmal K^+_{ATP} kanallarını doğrudan aktive ederek etki gösterir^{3,28,32}. Geç dönemde ise PKC, TK aracılığı ile başlattıkları bir dizi reaksiyon aracılığıyla K^+_{ATP} kanallarını aktive eder (Şekil 1) (3).

Tirozin Kinaz

Hücredeki serin-treonin kalıntılarını etkileyen PKC'ye benzer şekilde, tirozin kalıntılarını fosforilleyen kinaz grupları mevcuttur. Bunlar TK olarak isimlendirilmektedir.

PKC, tirozin kinaz olan mitojenle aktive edilen protein kinaz kinazı (MEK), o da MAPK'ı fosforilasyon suretiyle aktive eder. Sonuçta oluşan MAPK, miyokardiyal iNOS aktivasyonu ile NO oluşumunu sağlar. NO, peroksinitrite dönüşerek doğrudan veya PKC'yi aktive ederek dolaylı olarak sarkolemmal ve mitokondriyal K^+_{ATP} kanallarını aktive ederler. Bu mekanizma ile önkoşullama korumasının geç dönemi ortaya çıkar (Şekil 1)³³.

Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinazlar

Dokulardan elde edilen bir grup kinaz MAPK olarak isimlendirilmiştir. Kalp dokusunda MAPK'ların, ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK), NH_2 terminal kinazlar/stres aktivasyonlu protein kinazlar (JNK) ve p38 mitojenle aktive edilen protein kinazlar (p38 MAPK) olmak üzere alt grupları izole edilmiştir. Sayılan MAPK alt grupları sırasıyla G proteine bağlı reseptörler, iskemiye de içeren hücre stres oluşturan faktörler ve fosfolipaz C tarafından aktive edilirler.

Genel olarak MAPK'lar çekirdekte özgül genlerin transkripsiyonu ve/veya ribozomlarda gerçekleşen translasyonu stimüle edebilirler, bazı yapısal faktörlerin aktivasyonunu sağlayabilirler. Bu etkileriyle hedef hücrelerde proliferasyon, farklılaşma, hipertrofi, morfolojik değişimler, apoptozla hücre ölümünün engellenmesi, glikojen ve küçük ısı şok proteinlerinin sentezinin artırılması ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi gibi olaylara aracılık ederler³⁰.

Isı Şok Proteinleri

Isı şok proteini olan HSP27, MAPK'larla aktive edilen protein kinazlar-2 (MAPKAPK-2) tarafından fosforillenerek aktive edilir. HSP27'nin hücre içi proteinlerin spesifik olmayan agregasyonunu önlediği, aktin filamentlerinin organizasyonunu sağladığı, oksidatif stres ve ısı şoku sonrasında aktin filamentlerinin stabilizasyonunda görev aldığı düşünülmektedir.

Tavşan ve sıçan modellerinde hiperteminin önkoşullamanın geç döneminde ortaya çıkan korumayı arttırdığı ve bu dönemde HSP27 yüksekliğinin korumanın boyutuyla pozitif bir ilişki içerisinde olduğu gözlenmiştir^{34,35}. Önkoşullama korumasındaki rolü ile ilgili yapılan bir çok çalışmaya rağmen HSP27'nin bir mediyatör mü olduğu ya da sadece aktin filamentlerinin iskemik strese maruziyeti sonucunda yükselen bir belirteç mi olduğu hususu henüz açıklığa kavuşmamıştır³⁶.

Endotoksin

Toksik olmayan bir endotoksin olan monofosforil lipid A'nın (MLA) düşük dozlarda, tavşan ve sıçan kalplerinde reperfüzyon hasarına karşı erken ve geç dönemde koruyucu etki oluşturduğu gözlenmiştir³⁷.

Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar endotoksinin erken ve geç dönemdeki koruyucu etkisinin K^+_{ATP} kanalları üzerinden geliştiğini göstermiştir. Endotoksin, korumanın geç döneminde iNOS aktivasyonuyla bu etkiyi gösterirken, erken dönemde PKC'yi uyararak K^+_{ATP} kanallarını etkiler (Şekil 1)³⁸.

JAK-STAT Yolağı

JAK-STAT yolağı strese cevap olarak aktive olur ve hücre membranında oluşan sinyalleri hücre çekirdeğine taşır³⁹. Son yıllarda yapılan çalışmalarda JAK-STAT yolağının aktivasyonunun iNOS transkripsiyonunu artırmak suretiyle önkoşullamanın geç dönemine katkıda bulunduğu gösterilmiştir⁴⁰.

Rho-Kinaz

Rho-Kinaz bir serin-treonin protein kinazdır. Miyozin fosfotaz enzimi ve miyozin hafif zinciri, Rho-Kinazın substratları arasındadır. Rho-Kinaz bu moleküllere etkileri ile hücrede Ca^{++} 'a bağlı olarak oluşan kasılmayı idame ettirir. Rho-Kinaz inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda önkoşullama korumasına benzer etkilerin gözlemlenmesi, Rho-Kinaz inhibisyonunun, İÖ oluşum mekanizmasına dahil olduğunu düşündürmüştür⁴¹.

ATP'ye Duyarlı Potasyum Kanalları

K^+_{ATP} kanalları, hücrede ATP düzeylerinin yeteri kadar yüksek olduğu durumlarda kapalıdır. İskemi gibi kalpte ATP düzeylerini düşüren olay-

larda aktive olur. Kalpteki K^+_{ATP} kanalları sarkolemma ve mitokondri dış zarında yerleşmişlerdir.

Sarkolemmal K^+_{ATP} kanallarının aktivasyonu, hücre içinden dışına doğru potasyum iyonunun akışını artırır ve repolarizasyon hızlanır. Bu etkiyle beraber voltaj bağımlı kanallardan akışın azalması sonucunda, hücre içi Ca^{++} konsantrasyonlarının düşmesi iskemik hasarı azaltır.

Mitokondriyal K^+_{ATP} kanal aktivasyonunun korumaya nasıl katkıda bulunduğu konusunda iki farklı görüş öne sürülmüştür. Bu görüşlerden ilki mitokondriyal K^+_{ATP} kanal aktivasyonunun mitokondride Ca^{++} aşırı yükünü engellediği ve bu etkiyle Ca^{++} 'a bağlı mitokondriyal yapılar üzerindeki muhtemel hasarı önlediği yönündedir⁴². Diğer görüş ise mitokondriyal K^+_{ATP} kanal aktivasyonunun aslında bir uç efektör olmadığı, sonrasında henüz aydınlatılmamış bir çok mekanizmanın tetikleyicisi olduğu şeklindedir^{43,44}.

Hücredeki K^+_{ATP} kanallarını bloke eden veya aktive eden maddeler kullanılarak yapılan bir çok çalışmada, kanal aktivasyonunun önkoşullama koruması üzerine etkisi net bir şekilde tanımlanmıştır. K^+_{ATP} kanallarının önkoşullama korumasındaki etkileri anlaşıldıktan sonra, hangi yerleşimdeki kanal aktivasyonu daha fazla etkilidir sorusu gündeme gelmiştir. Sıçan ve tavşan kalplerinde mitokondriyal K^+_{ATP} kanalları üzerinde aktive edici etkisi olduğu varsayılan diazoksit ile yapılan çalışmalarda koruyucu etki gözlenmiştir⁴³. Buna karşılık, mitokondriyal K^+_{ATP} kanallarını bloke edici etkinliğe sahip 5-hidrosidekonoat, tavşan ve sıçan kalplerinde korumayı bloke etmiştir. Bu ve benzeri çalışmalardan yola çıkılarak sadece mitokondriyal K^+_{ATP} kanallarının korumada etkili olduğu öne sürülmüştür. Fakat sarkolemmal K^+_{ATP} kanallarını bloke eden HMR 1098 ya da HMR 1883 kullanılarak diazoksitle oluşturulan korumanın ortadan kaldırılabilmesi üzerine, kullanılan aktivatör veya blokörlerin varsayıldığı kadar seçici olmadığı, mitokondriyal K^+_{ATP} kanalları daha fazla olmak üzere her iki kanalın da korumada etkili olduğu ileri sürülmüştür⁴⁵.

Mitokondriyal Permeabilite Geçiş Poru

Fizyolojik koşullarda mitokondri iç membranı iyonlara karşı geçirgen değildir. Hüresel stres oluşturan durumlarda, mitokondri iç membranında yer alan mPTP geçirgen hale gelir ve bu durum mitokon-

drilerde Ca^{++} aşırı yüküne, inorganik fosfatın, serbest oksijen radikal-lerinin birikimine, adenin nükleotidlerinin kaybına ve mitokondri dış membranında rüptüre neden olur.

Son yıllarda yapılan iskemi reperfüzyon çalışmalarında mPTP'nin, daha çok reperfüzyon döneminde aktif hale geldiği ve bu aktivasyonun öldürücü reperfüzyon hasarından sorumlu olduğu gösterilmiştir. Spesifik olarak mPTP'nin inhibe edildiği çalışmalarda reperfüzyon hasarının engellendiğinin gösterilmesi, mPTP inhibisyonunun İÖ korumasının oluşumunda önemli bir role sahip olduğunu düşündürmüştür^{46,47}.

Özet

İskemik Önkoşullama Mekanizmaları

İskemik önkoşullama, tek veya tekrarlayan kısa süreli iskemik periyotların daha uzun süreli iskemik periyotlarda gelişebilecek hücre, doku veya organ hasarına karşı belirgin bir direnç oluşturması ile gerçekleşen koruyucu bir mekanizmadır. Önkoşullama korumasına dahil olan moleküller tetikleyiciler, mediyatörler ve uç efektörler olarak sınıflandırılmıştır. Adenozin, bradikinin ve nitrik oksit gibi moleküllerin tetiklemesiyle başlayan bir dizi reaksiyon, önkoşullamanın uç efektörleri olan adenozin trifosfata duyarlı potasyum kanallarının aktivasyonu ve mitokondriyal permeabilite geçiş porunun inhibisyonuyla sonuçlanır.

Anahtar Kelimeler: İskemik Önkoşullama, Adenozin, Bradikinin, Nitrik Oksit, Adenozin Trifosfata Duyarlı Potasyum Kanalları.

Summary

The Mechanisms of Ischemic Preconditioning

Ischemic preconditioning is a protective mechanism elicited by single or repeating brief episodes of ischemia which constitutes a significant resistance against cell, tissue or visceral injury caused by prolonged episodes of ischemia. The molecules involving in protective effect of preconditioning are classified as triggers, mediators and end-effectors. A row of reactions triggered by molecules such as adenosine, bradykinin and nitric oxide leads to activation of ATP-sensitive K^+ channels and inhibi-

tion of mitochondrial permeability transition pore which are end-effector of preconditioning.

Key Words: Ischemic Preconditioning, Adenosine, Bradykinin, Nitric Oxide, ATP-sensitive K⁺ Channels.

KAYNAKLAR

1. Murry, C.E., Jennings, R.B., Reimer, K.A.: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium, *Circulation*, 74, 1124, (1986)
2. Carroll, R., Yellon, D.M.: Myocardial adaptation to ischemia the preconditioning phenomenon, *Int J Cardiol*, 68, 93 (1999)
3. Schulz, R., Cohen, M.V., Behrends, M., Downey, J.M., Heusch, G.: Signal transduction of ischemic preconditioning, *Cardiovasc Res*, 52, 181 (2001)
4. Kandilci, H.B., Gümüşel, B.: Akciğerlerde İskemi-Reperfüzyon Hasarı ve İskemik Önkoşullama, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 25, 35 (2005)
5. Liu, G.S., Thornton, J., Van Winkle, D.M., Stanley, A.W., Olsson, R.A., Downey, J.M.: Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart, *Circulation*, 84, 350 (1991)
6. Kuzmin, A.I., Gourine, A.V., Molosh, A.I., Lakomkin, V.L., Vassort, G.: Effects of preconditioning on myocardial interstitial levels of ATP and its catabolites during regional ischemia and reperfusion in the rat, *Basic Res Cardiol*, 95, 127 (2000)
7. Lasley, R.D., Kohn, P.J., Hegge, J.O., Mentzer, R.M.: Effects of ischemic and adenosine preconditioning on interstitial fluid adenosine and myocardial infarct size, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 38, 1460 (1995)
8. Viehman, G.E., Ma, X.L., Lefer, D.J., Lefer, A.M.: Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during coronary arterial occlusion, *Am J Physiol*, 261 (3 Pt 2), H874 (1991)
9. Schulz, R., Rose, J., Post, H., Heusch, G.: Involvement of endogenous adenosine in ischaemic preconditioning in swine, *Pflügers Arch*, 430, 273 (1995)
10. Peart, J.N., Headrick, J.P.: Adenosinergic cardioprotection: multiple receptors, multiple pathways, *Pharmacol Ther*, 114, 208 (2007)
11. Germack, R., Dickenson, J.M.: Adenosine triggers preconditioning through MEK/ERK1/2 signalling pathway during hypoxia/reoxygenation in neonatal rat cardiomyocytes, *J Mol Cell Cardiol*, 39, 429 (2005)
12. Marktanner, R., Nacke, P., Feindt, P., Hohlfeld, T., Schipke, J.D., Gams, E.: Delayed preconditioning via Angiotensin-converting enzyme inhibition: pros and cons from an experimental study, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 33, 787 (2006)
13. Schulz, R., Post, H., Vahlhaus, C., Heusch, G.: Ischemic preconditioning in pigs: a graded phenomenon. Its relation to adenosine and bradykinin, *Circulation*, 8, 1022 (1998)
14. Goto, M., Liu, Y., Yang, X.M.: Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts, *Circ Res*, 77, 611 (1995)
15. Schulz, R., Gres, P., Heusch, G.: Role of endogenous opioids in ischemic preconditioning but not in short-term hibernation in pigs, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 280, 2175 (2001)

16. Aitchison, K.A., Baxter, G.F., Awan, M.M.: Opposing effects on infarction of delta and kappa opioid receptor activation in the isolated rat heart: implications for ischemic preconditioning, *Basic Res Cardiol*, 95, 1 (2000)
17. Gabel, S.A., London, R.E., Funk, C.D., Steenbergen, C., Murphy, E.: Leukocyte-type 12-lipoxygenase-deficient mice show impaired ischemic preconditioning-induced cardioprotection, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 280, 1963 (2001)
18. Duda, M., Konior, A., Klemenska, E., Beresewicz, A.: Preconditioning protects endothelium by preventing ET-1-induced activation of NADPH oxidase and xanthine oxidase in post-ischemic heart, *J Mol Cell Cardiol*, 42, 400 (2007).
19. Liu, Y., Tsuchida, A., Cohen, M.V., Downey, J.M.: Pretreatment with angiotensin II activates protein kinase C and limits myocardial infarction in isolated rabbit hearts, *J Mol Cell Cardiol*, 27, 883 (1995).
20. Lazou, A., Markou, T., Zioga, M., Vasara, E., Efstathiou, A., Gaitanaki, C Dopamine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via activation of alpha1-adrenoceptors in the isolated rat heart, *Physiol Res*, 55, 1 (2006)
21. Baines, C.P., Goto, M., Downey, J.M.: Oxygen radicals released during ischemic preconditioning contribute to cardioprotection in the rabbit myocardium, *J Mol Cell Cardiol*, 29, 207 (1997)
22. Csonka, C., Csont, T., Onody, A., Ferdinandy, P.: Preconditioning decreases ischemia/reperfusion-induced peroxynitrite formation, *Biochem Biophys Res Commun*, 285: 1217 (2001).
23. Williams, M.W., Taft, C.S., Ramnauth, S., Zhao, Z.Q., Vinten-Johansen, J.: Endogenous nitric oxide (NO) protects against ischaemia-reperfusion injury in the rabbit, *Cardiovascular Research*, 30, 79 (1995)
24. Pagliaro, P., Penna, C., Gattullo, D.: The effects of ischemic preconditioning on resting coronary flow and reactive hyperemia: involvement of A1 adenosine receptors, *Life Sciences*, 64, 1071 (1999)
25. Schulz, R., Wambolt, R.: Inhibition of nitric oxide synthesis protects the isolated working rabbit heart from ischaemia- reperfusion injury, *Cardiovascular Research*, 30, 432 (1995)
26. Woolfson, R.G., Patel, V.C., Neild, G.H., Yellon, D.M.: Inhibition of nitric oxide synthesis reduces infarct size by an adenosine-dependent mechanism, *Circulation*, 91, 1545 (1995)
27. Vinten-Johansen, J., Zhao, Z-Q., Nakamura, M., Jordan, J.E., Ronson, R.S., Thourani, V.H., Guyton, R.A.: Nitric oxide and the vascular endothelium in myocardial ischemia reperfusion injury, *Annual New York Academy of Sciences*, 874, 354 (1999)
28. Sasaki, N., Sato, T., Ohler, A., O'Rourke, B., Marbán, E.: Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide, *Circulation*, 101, 439 (2000)
29. Downey, J.M., Cohen, M.V.: Reducing infarct size in the setting of acute myocardial infarction, *Prog Cardiovasc Dis*, 48, 363 (2006)
30. Kayaalp, S.O., "Endokrin sistem Farmakolojisinin Esasları" Rasyonel Tedavi Yöntünden Tıbbi Farmakolji, Onuncu baskı, Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık; (2002), Sayfa 1165
31. Ping, P., Zhang, Y., Tang, X.L.: Ischemic preconditioning induces selective translocation of protein kinase C isoforms δ and ϵ in the heart of conscious rabbits without subcellular redistribution of total protein kinase C activity, *Circ Res*, 81, 404 (1997)

32. Watanabe, K., Yaoita, H., Ogawa, K., Oikawa, M., Maehara, K., Maruyama, Y.: Attenuated cardioprotection by ischemic preconditioning in coronary stenosed heart and its restoration by carvedilol, *Cardiovasc Res*, 71, 537 (2006).
33. Ludwig, L.M., Weihrauch, D., Kersten, J.R., Pagel, P.S., Warltier, D.C.: Protein kinase C translocation and Src protein tyrosine kinase activation mediate isoflurane-induced preconditioning in vivo: potential downstream targets of mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channels and reactive oxygen species, *Anesthesiology*, 100, 532 (2004)
34. Marber, M.S., Latchaman, D.S., Walker, J.M., Yellon, D.M.: Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress associated with resistance to myocardial infarction, *Circulation*, 88, 1264 (1993)
35. Hutter, M.M., Sievers, R.E., Barbosa, V., Wolfe, C.L.: Heat-shock protein induction in rat hearts. A direct correlation between the amount of heat-shock protein induced and the degree of myocardial protection, *Circulation*, 89, 355 (1994)
36. Saganek, L.J., Ignasiak, D.P., Batley, B.L., Potoczak, R.E., Dodd, G., Gallagher, K.P.: Heat stress increases cardiac HSP72 but fails to reduce myocardial infarct size in rabbits 24 hours later, *Basic Research in Cardiology*, 92, 331 (1997)
37. Sharony, R., Frolkis, I., Froylich, D., Wildhirt, S.M., Shapira, I., Reichart, B., Neshet, N., Uretzky, G.: Pharmacological preconditioning with monophosphoryl lipid A improves post ischemic diastolic function and modifies TNF-alpha synthesis, *Eur J Cardiothorac Surg*, 27, 501 (2005)
38. Hu, K., Duan, D., Li, G.R., Nattel, S.: Protein kinase C activates ATP-sensitive K1 current in human and rabbit ventricular myocytes, *Circulation Research*, 78, 492 (1996)
39. Bolli, R., Dawn, B., Xuan, Y.T.: Role of the JAK-STAT pathway in protection against myocardial ischemia/reperfusion injury, *Trends Cardiovasc Med*, 13, 72 (2003)
40. Xuan, Y.T., Guo, Y., Han, H., Zhu, Y., Bolli, R.: An essential role of the JAK-STAT pathway in ischemic preconditioning, *Proc Natl Acad Sci*, 98, 9050, (2001).
41. Demiryürek, S., Kara, A.F., Celik, A., Tarakçioğlu, M., Bağcı, C., Demiryürek, A.T.: Effects of Y-27632, a selective Rho-kinase inhibitor, on myocardial preconditioning in anesthetized rats, *Biochem Pharmacol*, 69, 49 (2005)
42. O'Rourke, B.: Myocardial K_{ATP} channels in preconditioning, *Circ Res*, 87: 845 (2000)
43. Kowaltowski, A.J., Seetharman, S., Paucek, P., Garlid, K.D.: Bioenergetic consequences of opening the ATP-sensitive K^+ channel of heart mitochondria, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 280, 649 (2001)
44. Garlid, K.D.: Opening mitochondrial K_{ATP} in the heart -what happens, and what does not happen, *Basic Res Cardiol*, 95, 275 (2000)
45. Bernardo, N.L., Okubo, S., Maaieh, M., Wood, M.A., Kukreja, R.C.: Delayed preconditioning with adenosine is mediated by opening of ATP-sensitive K^+ channels in rabbit heart, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 277, 128 (1999)
46. Lim, S.Y., Davidson, S.M., Hausenloy, D.J., Yellon, D.M.: Preconditioning and postconditioning: the essential role of the mitochondrial permeability transition pore, *Cardiovasc Res*, 75, 530 (2007)
47. Argaud, L., Gateau-Roesch, O., Muntean, D., Chalabreysse, L., Loufouat, J., Robert, D., Ovize, M.: Specific inhibition of the mitochondrial permeability transition prevents lethal reperfusion injury, *J Mol Cell Cardiol*, 38, 367 (2005)