



İskemi Sonrası Verilen Kannabidiol Reperfüzyon ile Uyarılan Aritmilere Karşı Koruyucu Etkilidir

Cannabidiol Given Following the Ischemia Confers Protection Against Reperfusion-Induced Arrhythmia

Salih ERDEM , Ersöz GONCA , Günselin BAŞOĞLU , Elifnur AYDEMİR 

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zonguldak, Türkiye

ORCID ID: Salih Erdem 0000-0003-3277-0539, Ersöz Gonca 0000-0000-7527-4634, Günselin Başoğlu 0000-0003-0537-5904, Elifnur Aydemir 0000-0000-5021-0642

Bu makaleye yapılacak atıf: Erdem S ve ark. İskemi sonrası verilen kannabidiol reperfüzyon ile uyarılan aritmilere karşı koruyucu etkilidir. Med J West Black Sea. 2022;6(1):16-23.

Sorumlu Yazar

Ersöz Gonca

E-posta

ersozgonca67@hotmail.com

Geliş Tarihi

31.10.2021

Revizyon Tarihi

11.03.2022

Kabul Tarihi

06.04.2022

ÖZ

Amaç: Kannabidiol (KBD) psikolojik etkileri bulunmayan bir bitkisel kannabinoiddir. Klinik uygulamada Huntington hastalığı ve multipl skleroz tedavisinde kullanılmaktadır. Sıçanlarda koroner arter ligasyonu öncesi verilen KBD'nin reperfüzyon ile uyarılan ventriküler aritmilere karşı koruyucu etkili olduğu bildirilmiştir. Ancak reperfüzyon aritmilerinin klinik tedavisinde kullanılabilmesi için miyokardiyal iskemi sonrasında verildiğinde de etkili olduğu gösterilmelidir. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon periyotları boyunca infüzyon yolu ile uygulanan KBD tedavisinin reperfüzyon aritmilerine olan etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon, anestezi uygulanmış erkek sıçanlarda sırasıyla sol ana koroner arterin 6 dakika ligasyonu ve damar üzerindeki ligatürün 6 dakika açılmasıyla reperfüzyon gerçekleştirildi. Çalışma üç ayrı deney grubunda yürütüldü; (1) Kontrol (n= 6), (2) Lig-KBD (n=6), (3) Rep-KBD (n=6). KBD infüzyon ile sırasıyla Lig-KBD grubunda ligasyonu ve Rep-KBD grubunda reperfüzyon periyodu boyunca 9 µg/90 µL/dk/kg dozda intravenöz yolla verildi.

Bulgular: Ligasyon boyunca KBD tedavisi ventriküler prematüre kasılma (VPK) süresini kontrol grubuna göre anlamlı azalttı (p=0,024). Reperfüzyonda KBD tedavisi, aritmi skoru, ventriküler taşikardi (VT), ventriküler prematüre kasılma (VPK) ve toplam aritmi sürelerini kontrol grubuna göre azalttı (Toplam aritmi süresi: kontrol; 38,19(6,29-72,44) sn, Lig-KBD; 8,69(0-34,9) sn, Rep-KBD; 1,49(0,14-4,87)sn, p=0,007).

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları reperfüzyon periyodu boyunca verilen KBD'nin reperfüzyon ile uyarılan aritmilere karşı güçlü antiaritmik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. KBD reperfüzyon aritmilerinin klinik tedavisinde kullanılabilme potansiyeline sahiptir.

Anahtar Sözcükler: Kannabidiol, Reperfüzyon aritmileri, Sıçan, İnfüzyon

ABSTRACT

Aim: Cannabidiol (CBD) is a non-psychoactive plant cannabinoid. In clinical practice, it has been used in the treatment of Huntington's disease and multiple sclerosis. CBD given before the coronary ligation has been reported to be protective against reperfusion-induced arrhythmia in rats. However, it should also be demonstrated that is effective against ventricular arrhythmias during ischemia and reperfusion in order to be adapted to the clinical treatment of reperfusion arrhythmias. The aim of this study is to investigate the effects of CBD applied by infusion during both ischemia and reperfusion periods on reperfusion arrhythmias in rats.

Material and Methods: Myocardial ischemia and reperfusion were accomplished by the ligation of the left main coronary artery for 6 min and release of the tie on the vessel for 6 min in male anesthetized



Bu eser "Creative Commons Atımlı-GayriTicari-4.0 Uluslararası Lisansı" ile lisanslanmıştır.

rats, respectively. CBD was administered by infusion pump at a dose of 9 µg/90 µL/min/kg during the ligation in Lig-CBD group in Rep-CBD group reperfusion, respectively. Experimental groups of the study were: (1) Control (n = 6), (2) Lig-CBD (n = 6), and (3) Rep-CBD (n = 6).

Results: CBD treatment during the ligation significantly decreased the duration of ventricular premature contraction (VPC) compared to the control group (p=0.024). CBD that was given during the reperfusion period significantly decreased the ventricular premature contraction (VPC), ventricular tachycardia (VT) and total length of arrhythmias compared to the control group (total length of arrhythmias: control: 38.19(6.29-72.44) sec, Lig-CBD; 8.69(0-34.9) sec, Rep-CBD; 1.49(0.14-4.87) sec, p=0.007).

Conclusion: The results of the study indicate that CBD given during the reperfusion period has a strong antiarrhythmic effect on reperfusion-induced arrhythmia. These results strengthen the potential use of CBD in the clinical treatment of reperfusion arrhythmias.

Keywords: Cannabidiol, Reperfusion arrhythmias, Rat, Infusion

GİRİŞ

Miyokardiyal iskemi sonucu meydana gelen ventriküler aritmiler (iskemi ile uyarılan ventriküler aritmiler) miyokart enfarktüsün (kalp krizi) akut fazında ani hasta ölümlerine neden olmaktadır (1). Hastaneye kaldırılan hastalarda ise iskemik miyokardi nekrozdan korumanın tek yolu tıkalı koroner arteri açarak kan akımını tekrar sağlamaktır. Bunun için klinik uygulamada anti-trombotik ilaç tedavisi veya per-kutan müdahale işlemi ile iskemik miyokardın tekrar perfüzyonu (reperfüzyon) sağlanmaya çalışılır. Ancak reperfüzyon işlemi de ventriküler aritmilerin (reperfüzyonla uyarılan ventriküler aritmiler) meydana gelmesine yol açarak hasta ölümlerine neden olabilmektedir (2).

Hastaneye kaldırılan hastalarda tıkalı koroner arteri açmadan önce ya da reperfüzyon işlemi sonrasında uygulanabilecek anti-aritmik ilaç tedavisi olası hasta ölümlerini önleyebilir. Ancak klinikte bu amaçla uygulanan mevcut farmakolojik tedavi yöntemleri tam olarak başarılı değildir (3). Bu nedenle reperfüzyonla uyarılan aritmilere karşı yeni farmakolojik tedavi yöntemleri bulmak için araştırmalar yapılmaktadır (4). Bu çalışmalarda birçok etken maddenin iskemi reperfüzyon aritmilerini azalttığı bulunmuştur (5). Ancak etken madde deney hayvanlarına genellikle iskemi periyodundan önce verilmektedir (6-8). Oysa ki klinik tedavide kullanılabilirliği için iskemi ve reperfüzyon periyodunda verildiğinde de aritmileri önleyici etkili olduğu gösterilmektedir.

Kannabidiol (KBD) Cannabis sativa bitkisinden elde edilen psikoaktif olmayan bir bitkisel kannabinoiddir (9). Klinik pratikte multipl skleroz (MS) ve Huntington hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (10-13). KBD, antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-nekrotik etkileri de içeren çok çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir (14). Bu farmakolojik etkilerine kannabinoid reseptörü 1 (CB₁), kanabinoid reseptörü 2 (CB₂) ve G protein bağlı reseptör 55 modülasyonunun aracı etkisi bilinmektedir (15-18).

Önceki çalışmamızda, iskemi periyodundan önce sıçanlara verilen tek doz KBD'nin reperfüzyonda meydana gelen toplam aritmi süresini, ventriküler taşikardi (VT) süre ve sıklığını azaltarak reperfüzyon aritmilerine karşı koruyucu etkili olduğu gösterilmiştir (19). Walsh ve ark. iskemi per-

yodundan hemen sonra uygulanan tek doz KBD tedavisinin sıçanlarda miyokardiyal reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkili olduğunu göstermişlerdir (20). Benzer şekilde, KBD iskemi ve/veya reperfüzyon periyodunda verildiğinde de reperfüzyon ile uyarılan aritmilere karşı koruyucu etkili olabilir. KBD'nin farklı uygulama zamanlarında reperfüzyon ile uyarılan aritmiler üzerine olası koruyucu etkileri araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda iskemi ve reperfüzyon periyotları boyunca infüzyon yolu ile uygulanan KBD tedavisinin reperfüzyon aritmileri üzerine olası koruyucu etkilerini araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Hayvanlar

Bu çalışmada 250-300 gr. ağırlığında 38 adet Wistar albino türü erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi'nden (Ankara/Türkiye) satın alındı. Hayvanlar sıcaklığı 21±2 °C, nem oranı %40 - %65 ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü olan bir odada barındırıldı. Standart pelet yem ile beslenerek istedikleri kadar şebeke suyu verildi. Çalışmada uygulanan tüm deneysel operasyonlar Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (protokol no: 2015-11-04/03).

İlaç Uygulamaları ve Deney Grupları

KBD iskemi ve reperfüzyon aritmilerine karşı koruyucu etkili olduğu bildirilen önceki çalışmalarda, 50 µg/kg tek dozda intravenöz yolla verilmişti (19, 20). Çalışmamızda uygulanan KBD dozu önceki çalışmalarda uygulanan bu doz (50 µg/kg) esas alınarak tespit edildi (20). Bu toplam doza göre (50 µg/kg) KBD 6 dakika boyunca 9 µg/kg olacak şekilde intravenöz yolla femoral venden infüzyon pompası (Deney-sel İnfüzyon Pompası, Enzo-Life Sciences; ALX-430-152, Farmingdale, New York) kullanılarak verildi. Böylece çalışmamızda ilaç gruplarında deney hayvanlarına 6 dakikanın sonunda 54 µg/kg KBD verildi. Kannabidiol (KBD) Enzo-Life Sciences firmasından satın alındı (No: ALX-430-152, Farmingdale, New York). İlaç içeren çözeltiler günlük olarak hazırlandı. Rastgele seçilen sıçanlar üç ayrı gruba ayrıldı: (1) Kontrol, (2) Lig-KBD, (3) Rep-KBD (Şekil 1). KBD, Lig-KBD grubunda ligasyon periyodunda ve Rep-KBD gru-

bunda reperfüzyon periyodunda 6 dakika boyunca verildi. Kontrol grubunda ise SF çözeltisi (90 µL/dk/kg), iske mi ve reperfüzyon periyodunda 12 dakika boyunca verildi (Şekil 1).

Cerrahi Operasyon

Cerrahi işlemler Lepran ve ark. tanımladığı şekilde yapıldı (21). Üretan (1,5 g/kg, ip) ile anestezi edilen hayvanlar rektal sıcaklık kontrolü bulunan ısı tablası üzerine yerleştirildi. İske mi ve reperfüzyon periyotları boyunca vücut sıcaklıkları 37±1 °C'de sabit tutuldu (Deney hayvanı operasyon masası, model 9404-A; Commat Ltd, Ankara, Türkiye). Suni solunumun uygulanabilmesi için trakeostomi yapıldı. Arteriyal kan basıncı ölçümü için sağ karotid arter kanülasyonu yapıldı (kan basıncı ölçüm cihazı, SS 13 L; Biopac Sistemleri, Kaliforniya, ABD). Etken maddelerin ve çözücülerin intravenöz (i.v) yolla sıçana verilebilmesi için sol femoral ven kanüle edildi. Deri altına elektrokardiyogram (EKG) elektrotları yerleştirildi (derivasyon II yerleşimine göre). EKG ve arteriyal kan basıncı kaydı deney boyunca bir bilgisayar ekranında (Lenova V15- PRC) monitörize edildi. EKG ve kan basıncı verileri deney sonunda kayıt edilerek daha sonra yapılacak olan analizler için depolandı (Veri ölçüm ve analiz sistemi MP35; Biopac sistemleri, Kaliforniya, ABD). Sol göğüs kafesinin dört ve beşinci kaburgaları kesilerek torakotomi yapıldı. Akciğer ventilasyonunun devam edebilmesi için hayvanlar suni solunum cihazına bağlandı (Deney Hayvanı Solunum Cihazı; Life Science, Kaliforniya, ABD, hız: 60 atım/dk, hacim: 1,5 ml/100g). Perikart zarı yırtıldıktan sonra kalp nazikçe dışarı alındı. Aort kökünden yaklaşık 2-3 mm uzaklıktan sol koroner arter (LAD) altından 5/0'lık ipek sütün geçirildi. Kalp tekrar yerine konulduktan sonra 10 dakika beklendi. Bu süre sonunda, kalp hızı ve kan basıncı değerleri kalbi dışarı çıkarmadan önceki düzeylerine geri geldi. Ancak, ortalama arteriyal kan basıncı değişken olan

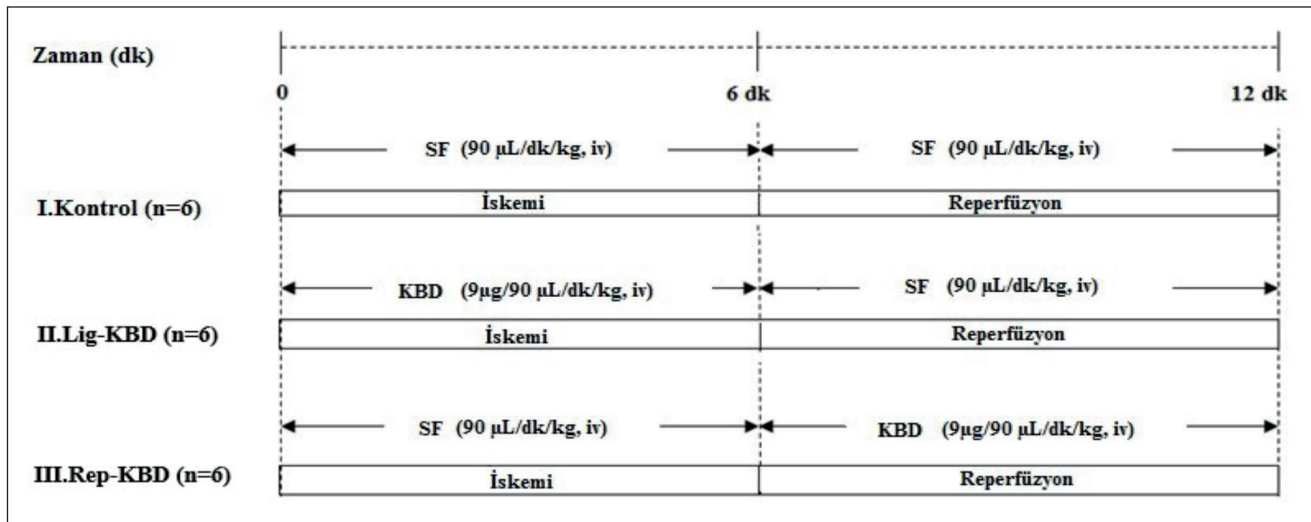
(stabil olmayan) ve 70 mmHg'nın altında kalan veya ligasyon işleminden önce devam eden ventriküler aritmisi bulunan hayvanlar deney dışı bırakıldı. Sol ana koroner arter (LAD) çevresinden geçirilmiş olan ipek sütün serbest olan uçları fiyonk yapılarak bağlandı. Böylece miyokardiyal iske mi yapıldı. İske mi işlemi 6 dakika süreyle uygulandı. Fiyonk gevşetilerek damar üzerindeki düğüm çözüldü. Böylece reperfüzyon işlemi yapıldı. Reperfüzyon 6 dakika süreyle uygulandı.

İskemik Risk Bölgesinin Tespiti

İskemik risk alanının tespiti Vajda ve ark. bildirdiği yöntem ile belirlendi (7). Reperfüzyon periyodu sonunda kalp hızlıca çıkarıldı. Kulakcıklar ve bağ doku ayrıldı. Aort damarı kanüle edildi. Koroner damarlar aorttan verilen 37 °C'de 10 mL serum fizyolojik (SF) çözeltisi ile yıkandı. Risk alanını belirlemek için tekrar ligasyon yapılarak sol koroner arter tıkandı. Aorttan %96'lık 2 mL etanol verildi. Kalbin iskemik olmayan bölgesi etanol ile tamamen perfüze oldu. Perfüze olan alan beyaz bir renk aldı. Etanol sol koroner arterin beslediği alana ulaşmadı. Perfüze olmayan bu bölge kırmızı (orijinal doku rengi) renkte kaldı. Bu alan iskemik risk alanı olarak tespit edildi. Bu iki bölge renk ayrımının olduğu hat boyunca kesilerek, risk alanı ile kalbin geri kalan bölümü birbirinden ayrıldı. Risk alanı ağırlığı ve toplam ventrikül ağırlığı tartıldı. Risk alanının toplam ventrikül ağırlığına oranı yüzde olarak hesaplandı (7) (Şekil 2).

Başarılı Deney Kriterleri

Koroner arter oklüzyonunun başarıyla yapıldığı tüm sıçanlarda, EKG kaydında belirgin bir ST-segment yükselmesi görüldü. EKG kaydında QRS dalgasının genliği artış gösterdi. Ligasyondan hemen sonra arteriyal kan basıncında bazal (pre-iskemik) değerler ile karşılaştırıldığında % 30 - % 50'lık bir azalma görüldü. Reperfüzyondan sonra artan QRS



Şekil 1: Deney gruplarında ilaç ve çözücü uygulama protokolleri. KBD: Kannabidiol, SF: Serum fizyolojik.

genlikleri azaldı. Risk alanı % 40'dan daha fazla bulunan denekler değerlendirildi. Bu kriterlere uymayan 11 hayvan değerlendirme dışı bırakıldı.

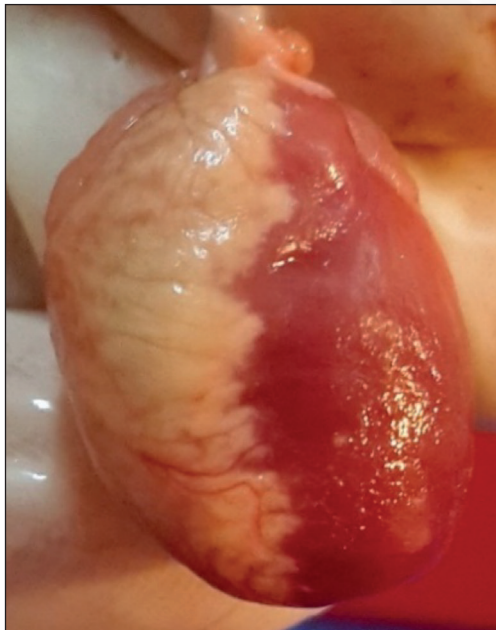
Veri Analizi

EKG ve kan basıncı kayıtlarından iskemi ve reperfüzyon periyotları boyunca ortalama arteriyal kan basıncı (OAKB) ve kalp atım hızı hesap edildi (Veri ölçüm ve analiz sistemi; Biopac sistemleri, MP35 Kaliforniya, ABD). Aritmiler her iki periyotta da Lambeth Anlaşmasına göre ventriküler fibrilasyon (VF), ventriküler taşikardi (VT) ve ventriküler prematüre kasılma (VPK) olarak belirlendi (22) (Şekil 3).

Tüm gruplarda her bir aritmi tipinin görülme sıklığı ve ölüm oranı tespit edildi. Her bir denekte aritmi tiplerinin süresi ve toplam aritmi süresi hesaplandı. Lepran ve ark. aritmi şiddetinin bir göstergesi olarak bir skala belirlemiştir (21).

Bu skalaya göre her deney hayvanına 1 den 6 ya kadar bir skor verildi. Aritmi skoru skalası:

- (0) Aritmi yok.
- (1) 10 saniyeden daha az süreli VPK ve/veya VT, VF yok.
- (2) 11-30 saniye arasında VPK ve/veya VT, VF yok.
- (3) 31-90 saniye arasında VPK ve/veya VT, VF yok.
- (4) 91-180 saniye arasında VPK ve/veya VT ya da 10 saniyeden daha az süreli VF.
- (5) 180 saniyeden daha uzun süreli VPK ve/veya VT ya da 10 saniyeden uzun süreli VF.
- (6) Geri dönüşümsüz VF.



Şekil 2: Risk alanı belirlendikten sonra kalbin görüntüsü. Beyaz görünen bölüm etil alkol ile perfüze edilen bölgedir. Kırmızı görünen bölüm ise risk alanıdır.

İstatistiksel Analiz

Veriler GraphPad Prism 5 (GraphPad yazılımı, versiyon II, La Jolla, Kaliforniya) kullanılarak analiz edildi. Gruplar arasında karşılaştırma için veriler önce Kolmogorov-Smirnov testi ile analiz edilerek normal dağılıma uyup uymadığı saptandı. Gruplar arası karşılaştırma için Kruskal-Wallis testi ile Dunn post hoc testi kullanıldı. Sonuçlar ortanca (min-maks) olarak verildi. KBD'nin aritmi sıklığı ve ölüm oranları üzerine etkilerinin istatistiksel analizi için ise Fisher kesin ki-kare testi kullanıldı. *P* değeri 0.05'ten küçük olan karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

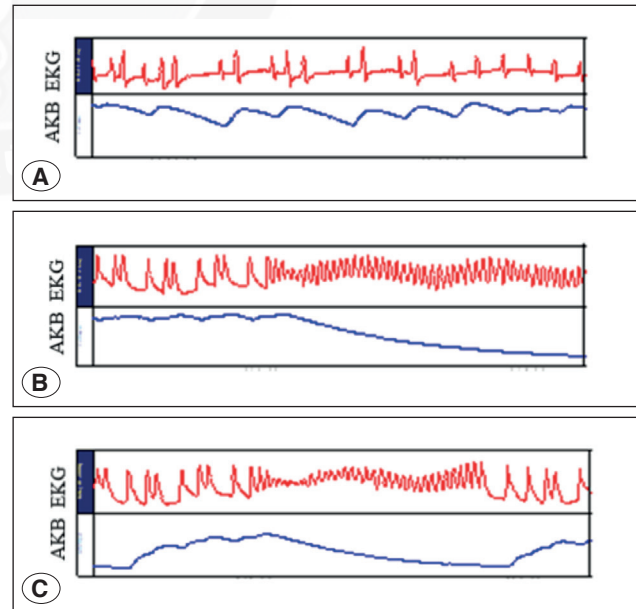
BULGULAR

Hemodinamik Parametreler

Tablo 1 ligasyon öncesi, ligasyon ve reperfüzyon boyunca kayıtlı edilen ortalama arteriyal kan basıncı (OAKB) ve kalp atımı değerlerini özetlemektedir. OAKB tüm gruplarda beklenildiği gibi anlamlı bir azalma gösterdi ($p=0,045$). KBD tedavisi iskemi ve reperfüzyon periyodunda kalp atımı ve kan basıncı değerleri üzerine anlamlı bir etki göstermedi (Tablo 1).

Reperfüzyonla Uyarılan Ventriküler Aritmiler

Tablo 2 KBD'nin reperfüzyonla uyarılan ventriküler aritmiler üzerine etkilerini özetlemektedir. Lig-KBD grubunda, Ligasyon periyodu boyunca verilen KBD reperfüzyonda görülen toplam aritmi süresini ve aritmi skorunu değiştirmede (Tab-



Şekil 3: Operasyon sonrası elde edilen EKG ve kan basıncı grafikleri. **A)** Kontrol KBD Lig grubundan elde edilen kayıttaki ventriküler prematür kasılma (VPK). **B)** KBD Rep grubundan elde edilen kayıttaki VT. **C)** Kontrol grubundan elde edilen kayıttaki VF.

lo 2). Ancak ventriküler prematüre kasılma (VPK) süresini kontrol grubuna göre anlamlı azalttı (VPK süresi (sn); Kontrol: 5,17(2,34-39,27); Lig-KBD: 0,54(0-0,88); Rep-KBD: 0,38(0,14-0,65), P=0,003) (Tablo 2; Şekil 4B). Reperfüzyon boyunca verilen KBD ise aritmi skoru, VPK, VT ve toplam

aritmi sürelerinde kontrol grubuna göre anlamlı azalma sağladı (Toplam aritmi süresi (sn); Kontrol: 38,19(6,29-72,44), Lig-KBD; 8,69(0-34,9), Rep-KBD; 1,49(0,14-4,87), p=0,007) (Tablo 2; Şekil 4 A-C).

Tablo 1: İlaç uygulamalarının ligasyon öncesi ve iskemi reperfüzyon periyotlarında ölçülen ortalama arteriyel kan basıncı (OAKB) (mmHg) ve kalp atımı (KA) (atım/dk) değerleri

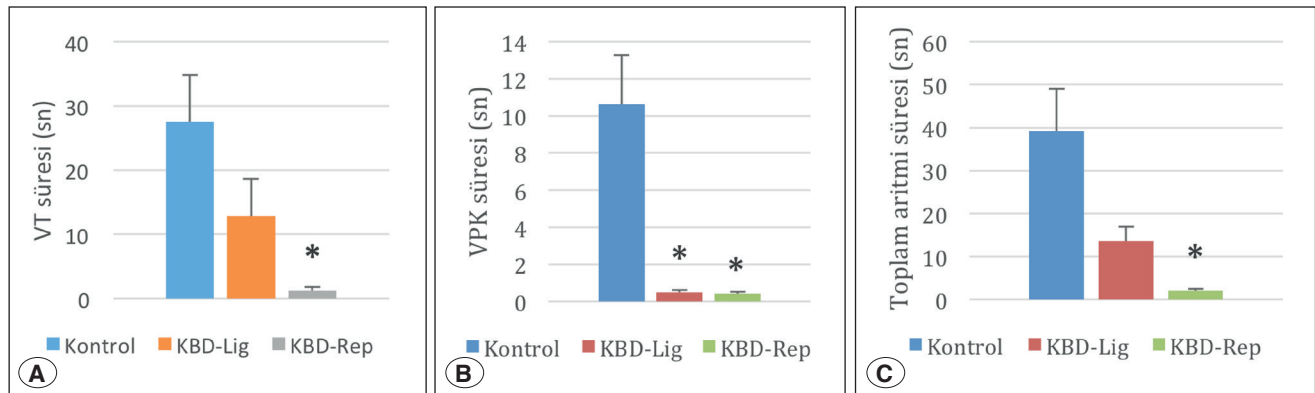
Zaman (dk)	I. Kontrol	II. KBD-Lig	III. KBD-REP
OAKB (mmHg)			
0 (bazal)	78 (75-110)	77 (70-94)	79 (75-106)
1 (lig 1dk.)	62 (31-86)*	65 (62-87)*	65 (53-80)*
5 (lig 5 dk.)	59 (31-73)	60 (48-87)	58 (40-80)
11 (rep 5 dk.)	55 (44-77)	60 (36-86)	61 (28-70)
KA (atım/dk)			
0 (bazal)	389 (340-491)	390 (341-484)	395 (323-462)
1 (lig 1dk.)	374 (214-441)	403 (280-469)	385 (300-462)
5 (lig 5 dk.)	367 (206-454)	380 (259-461)	393 (122-435)
11 (rep 5 dk.)	377 (337-461)	353 (303-441)	351 (300-428)

Lig: Ligasyon, **Rep:** Reperfüzyon, **KBD:** Kannabidiol, **Bazal:** Ligasyon öncesi. *P<0.05: Bazal'a göre. Değerler ortanca(min-maks) olarak verilmiştir.

Tablo 2: İlaç tedavilerinin reperfüzyon periyodu boyunca görülen aritmiler üzerine etkisi.

Gruplar	n	Risk Bölgesi (%)	Ölüm Oranı (N/%)	Aritmilerin görülme sıklığı (N/%)			Aritmi Süreleri (sn)				Aritmi Skoru
				VF	VT	VPK	VF	VT	VPK	Toplam	
Kontrol	9	44 (40-56)	3/33	0/0	5/56	9/100	0(0-1)	28,98 (0-54,6)	5,17 (2,34-39,27)	38,19 (6,29-72,44)	3,5 (2-4)
Lig-KBD	9	48 (40-61)	3/33	0/0	4/50	6/67	0(0-0,7)	8,21 (0-32,6)	0,54 (0-0,88)*	8,69 (0-34,9)	1,5 (1-2)
Rep-KBD	9	50 (40-56)	3/33	0/0	3/33	9/100	0(0-0,6)	0,94 (0-3,52)*	0,38 (0,14-0,65)*	1,49 (0,14-4,87)*	1 (0-4)*

KBD: Kannabidiol, **Lig:** Ligasyon, **Rep:** Reperfüzyon, **n:** Ligasyon öncesi hayvan sayısı, **N:** Ligasyon veya reperfüzyon periyodunda ölen hayvan sayısı. **M:** Aritmilerin görüldüğü hayvan sayısı, **VF:** ventriküler fibrilasyon, **VT:** ventriküler taşikardi, **VPK:** Ventriküler prematüre kasılma, **Toplam:** VF, VT ve diğer tip aritmilerin toplam uzunluğu. *P<0.05 kontrole göre. Değerler ortanca(min-maks) olarak verilmiştir.



Şekil 4: Kannabidiol'ün ventriküler aritmi süreleri üzerine etkileri. **VT:** Ventriküler taşikardi, **VPK:** Ventriküler prematüre kasılma. **Lig KBD:** Ligasyon boyunca kannabidiol verilen grup. **Rep KBD:** Reperfüzyon boyunca kannabidiol verilen grup.

TARTIŞMA

Çalışma sonuçları iskemiye müteakiben reperfüzyonda verilen KBD'nin reperfüzyonla uyarılan ventriküler aritmilere karşı koruyucu etkili olduğunu göstermektedir. Daha önce yapılmış olan bir çalışmada, Gonca ve Darıcı KBD'nin reperfüzyonla uyarılan ventriküler aritmileri baskıladığını gösterdiler (19). Bu çalışmada çalışmamızdan farklı olarak KBD iskemiden önce 50 µg/kg dozda bolus olarak verildi. Çalışmamızda ise KBD reperfüzyon boyunca infüzyonla 9 µg/kg/dk dozda verilmiş olup toplam 54 µg/kg KBD dozu uygulandı. Bu nedenle, mevcut çalışmada literatürde ilk kez klinik kullanıma daha uygun olan iskemi periyodundan sonra reperfüzyonda verilen KBD'nin reperfüzyon aritmilerine karşı kalbi koruyucu etkili olduğu gösterildi.

Walsh ve ark. anestezi altındaki sıçanlarda yaptıkları çalışmada reperfüzyondan önce iskemi periyodunda bolus olarak verilen KBD'nin (50 µg/kg) iskemi/reperfüzyon hasarını azalttığını gösterdiler (20). Ancak KBD'nin iskemi/reperfüzyon hasarını azalttığını göstermelerine rağmen, çalışmamızdan farklı olarak reperfüzyon aritmelerini azaltmada etkili olmadığını bildirdiler (20). Bizim çalışmamız ile Walsh ve ark. yaptıkları çalışmadan elde edilen bulgulardaki farklılık reperfüzyon periyodundan önce uygulanan iskemi periyodunun uzunluğunun farklı olması ile açıklanabilir. Walsh ve ark. çalışmasında uygulanan 30 dk'lık iskemi periyodu kontrol grubuna ait anestezi altındaki sıçanlarda reperfüzyon işlemini müteakiben yeterli sayıda ventriküler aritmi oluşumuna neden olmadı. Bu nedenle bu model KBD'nin reperfüzyon aritmilerine olan etkisini test etmek için uygun olmayabilir. Sıçanlarda etken maddelerin reperfüzyon ile uyarılan ventriküler aritmiler üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda reperfüzyondan önce iskemi periyodunun uzunluğu genellikle 5, 6 ve 7 dk olarak uygulanmıştır (7, 23, 24).

Çalışmamızda da KBD'nin özellikle reperfüzyon ile uyarılan aritmilere olan etkisi araştırıldı. Bu nedenle iskemi periyodunun uzunluğu önceki çalışmalarımızda kontrol gruplarında uzun süreli ve şiddetli ventriküler aritmilere neden olduğu gösterilen 6 dk olarak seçildi (5, 25). Çalışmamızda KBD'nin antiaritmik etkisinin mekanizması ile ilgili birçok olası açıklama yapılabilir. KBD adenosine A₁ reseptör aktivasyonu yoluyla kalbi önkoşullayarak koruyucu etki göstermiş olabilir (18). Nitekim Gonca ve Darıcı aynı deneysel modelde yaptıkları çalışmada KBD'nin reperfüzyon aritmilerine karşı etkisini adenosin A₁ reseptör aktivasyonu ile meydana geldiğini bildirdiler (19). Durst ve ark. anestezi altındaki sıçanlarda *in vivo* iskemi reperfüzyon modelinde yaptıkları çalışmalarında kronik KBD tedavisinin miyokardiyal hasarı azaltıcı etki gösterdiğini bildirdiler. Bu etkiyi KBD'nin miyokardiyumda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve serum interlökin-6 seviyelerini azaltmak suretiyle antiinflamatuvar etki göstermesine bağlı olabileceğini öne sürerek açıkladılar (26). Çalışma-

mızda da KBD'nin reperfüzyon aritmilerine karşı gösterdiği antiaritmik etki onun olası antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerine bağlı olabilir (27).

Literatürde antiinflamatuvar, antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkili birçok molekülün reperfüzyon ile uyarılan aritmilere karşı koruyucu etkili olduğu bildirilmiştir (28-30). Diez ve ark. antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri iyi bilinen melatonin'in çalışmamız ile benzer şekilde izole sıçan kalbinde reperfüzyonda verildiğinde ventriküler aritmilerin oluşumunu baskıladığını gösterdiler (30). Serbest oksijen radikal (SOR) oluşumu reperfüzyon aritmilerinin meydana gelmesinde başlıca rolü oynamaktadır (31). Reperfüzyon sonucu iskemik dokuda oksijen konsantrasyonundaki artış ve yoğun polimorf çekirdekli nötrofil infiltrasyonuna bağlı olarak serbest oksijen radikal üretimi gerçekleşir (31). Dokudan salınan sitokinler inflamatuvar reaksiyonları ve SOR aşırı üretimini tetikleyerek aritmi artışında rol oynayan sitotoksik mekanizmaları aktive eden oksidatif strese neden olur (32, 33). Çalışmamızda iskemi boyunca infüzyonla (9 µg/kg/dk) verilen KBD, VPK süresini azalttı. Ancak toplam aritmi süresi ve VT süresini değiştirmede. Çalışmamızda KBD reperfüzyonda verildiğinde güçlü antiaritmik etki göstermesine rağmen iskemi boyunca verildiğinde bu etkiyi göstermedi. Bu sonuç iskemi ve reperfüzyon ile uyarılan aritmilerin oluşum mekanizmalarındaki farklılık ile açıklanabilir. Serbest oksijen radikal oluşumu ve inflamasyona bağlı oksidatif stres reperfüzyon aritmilerinin oluşumunda başlıca rol oynarken iskemi aritmilerinin oluşumunda daha az etkilidir (33). Çalışmamızda KBD'nin olası antiaritmik mekanizması sahip olduğu antioksidan ve anti-inflamatuvar etkilerine bağlı olabilir. Bu nedenle çalışmamızda KBD aritmi oluşumunda oksidatif stresin daha fazla rol oynadığı reperfüzyon periyodunda daha güçlü bir antiaritmik etki göstermiş olabilir.

Çalışmamızda KBD (54 µg/kg) uygulaması sıçanlarda iskemi ve reperfüzyonda kayıt edilen kalp atımı ve OAKB değerlerini değiştirmede. Walsh ve ark. ise yaptıkları çalışmada KBD'nin (50 µg/kg, iv) hem ligasyon hem de reperfüzyon öncesi verildiğinde, sıçanlarda OAKB'de anlamlı ancak geçici bir azalmaya neden olduğunu bildirdiler (20). Sonuçlardaki farklılığın olası nedenleri kullanılan anestezi maddelerin farklı oluşu (çalışmamızda sıçanlar 1,5 g/kg ürettan ile Walsh ve ark. ise 60 mg/kg pentobarbital ile anestezi edilmiştir) ve KBD'nin veriliş şeklindeki farklılık ile açıklanabilir (20). Çalışmamızda KBD önceki çalışmaya benzer bir dozda (54 µg/kg, iv.) uygulanmasına rağmen bu toplam doz uzun süre infüzyon ile verildiğinden (9 µg/kg/dk) OAKB üzerine önemli bir etki göstermemiş olabilir. Oysaki Walsh ve ark. KBD'yi (50 µg/kg, iv.) bolus olarak verdiler.

Kalp krizi geçirerek hastaneye kaldırılan hastalarda anjiyo ve antitrombolitik tedavi sonrasında iskemik dokuda gerçekleştirilen reperfüzyon ölümcül ventriküler aritmilere neden

olarak hasta ölümlerine yol açmaktadır. Bu nedenle reperfüzyon aritmilerinin etkili tedavisi hasta ölümlerini azaltmak için büyük önem arz etmektedir (1, 3). Ancak klinik uygulamada etkili sonuç alabilmek için aday moleküller miyokardiyal iskemiden sonra verildiğinde de ventriküler aritmilere karşı koruyucu etkili olmalıdır. Çalışmamızda sıçanlarda reperfüzyon boyunca infüzyon ile verilen KBD'nin antiaritmik etkili bulunması klinik uygulamada reperfüzyon işlemi sonrası meydana gelen ventriküler aritmilerin oluşumunun önlenmesi için kullanılabileceğini göstermektedir.

KBD'nin insanda kullanımında yan etkileri sınırlı olup halen klinikte farklı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (10-13). Bu nedenle reperfüzyon aritmilerinin tedavisinde kullanılabilen potansiyel bir antiaritmik ilaç olabilir. Ancak bu sonuçların klinik uygulamaya aktarılabilmesi için farklı deney hayvanlarında tekrarlanarak klinik ön çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada iskemiden sonra reperfüzyon periyodunda verilen KBD'nin ventriküler aritmiler üzerine kalbi koruyucu etkili olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızın kapsamı KBD'nin farklı verilmiş zamanlarında ventriküler aritmiler üzerine potansiyel koruyucu etkilerini araştırmak olup bu etkinin mekanizması çalışmamızın kapsamı dışındadır. KBD'nin bu etkisinin mekanizmasının araştırıldığı daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Teşekkür

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

Yazar Katkı Beyanı

Deneyel prosedür uygulaması ve verilerin toplanması: **Salih Erdem, Günselin Başoğlu, Elifnur Aydemir**, Deneyel prosedürlerin uygulanması, verilerin analizi, makale yazımı: **Ersöz Gonca**.

Çıkar Çatışması

Tüm yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Finansal Destek

Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje kod no: 2016-84906727-04).

Etik Kurul Onayı

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden 2015-11-04/03 numaralı onay alınarak araştırma gerçekleştirilmiştir.

Hakemlik Süreci

Kör hakemlik süreci sonrası yayınlamaya uygun bulunmuş ve kabul edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Bonnemeier H, Wiegand UK, Giannitsis E, Schulenburg S, Hartmann F, Kurowski V, Bode F, Tölg R, Katus HA, Richardt G. Temporal repolarization inhomogeneity and reperfusion arrhythmias in patients undergoing successful primary percutaneous coronary intervention for acute ST-segment elevation myocardial infarction: Impact of admission troponin T. *Am Heart J* 2003;145(3):484-492.
- Tatli E, Alicik G, Buturak A, Yilmaztepe M, Aktoz M. Arrhythmias following Revascularization Procedures in the Course of Acute Myocardial Infarction: Are they indicators of reperfusion or ongoing ischemia? *Scientific Word Journal* 2013;1-7.
- Majidi M, Kosinski AS, Al-Khatib SM, Smolders L, Cristea E, Lansky AJ, Stone GW, Mehran R, Gibbons RJ, Crijns HJ, Wellens HJ, Gorgels AP, Krucoff MW. Implications of ventricular arrhythmia "bursts" with normal epicardial flow, myocardial blush, and ST-segment recovery in anterior ST-elevation myocardial infarction reperfusion: A biosignature of direct myocellular injury "downstream of downstream". *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2015;4(1):51-59.
- Gonca E, Rapposelli S, Darıcı F, Digiacoimo M, Yılmaz Z. Antiarrhythmic activity of a new spiro-cyclic benzopyran activator of the cardiac mitochondrial ATP dependent potassium channels. *Arch Pharm Res* 2016;39(9):1212-1222.
- Gonca E. The effects of zileuton and montelukast in reperfusion-induced Arrhythmias in anesthetized rats. *Curr Ther Res Clin Exp* 2013;75:27-32.
- Perdicaro DJ, Rodriguez Lanzi C, Fontana AR. Grape pomace reduced reperfusion arrhythmias in rats with a high-fat-fructose diet. *Food Funct* 2017;8(10):3501-3509.
- Vajda S, Baczkó I, Leprán I. Selective cardiac plasma membrane K(ATP) channel inhibition is defibrillatory and improves survival during acute myocardial ischemia and reperfusion. *Eur J Pharmacol* 2007;577(1-3):115-123.
- Abdel-Kawy HS. Chronic pantoprazole administration and ischemia--reperfusion arrhythmias in vivo in rats--antiarrhythmic or arrhythmogenic? *Cardiovasc Ther* 2015;33(2):27-34.
- Mechoulam R, Peters M, Murillo-Rodriguez E, Honus LO. Cannabidiol-recent advances. *Chem Biodivers* 2007;4(8):1678-1692.
- Lorente Fernández L, Monte Boquet E, Pérez-Miralles F, Gil Gómez I, Escutia Roig M, Boscá Blasco I, Poveda Andrés JL, Casanova-Estruch B. Clinical experiences with cannabinoids in spasticity management in multiple sclerosis. *Neurologia* 2014;29(5):257-260.
- Valdeolivas S, Satta V, Pertwee RG, Fernández-Ruiz J, Sagredo O. Sativex-like combination of phytocannabinoids is neuroprotective in malonate-lesioned rats, an inflammatory model of Huntington's disease: Role of CB1 and CB2 receptors. *ACS Chem Neurosci* 2012;3(5):400-406.
- Peat S. Using cannabinoids in pain and palliative care. *Int J Palliat Nurs* 2010;16(10):481-485.
- Naftali T, Bar-Lev SL, Dotan I, Ephraim PL, Fabiana SB, Fred MK. Cannabis induces a clinical response in patients with Crohn's disease: A prospective placebo-controlled study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11(10):1276-1280.
- Stanley CP, Hind WH, O'Sullivan SE. Is the cardiovascular system a therapeutic target for cannabidiol? *Br J Clin Pharmacol* 2013;75(2):313-322.

15. Bisogno T, Hanus L, De Petrocellis L. Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: Effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *Br J Pharmacol* 2001;134(4):845-852.
16. Ryberg E, Larsson N, Sjögren S. The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol* 2007;152(7):1092-1101.
17. Zhong B, Wang DH. Protease-activated receptor 2-mediated protection of myocardial ischemia–reperfusion injury: Role of transient receptor potential vanilloid receptors. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;297(6):1681-1690.
18. Erdem S, Gonca E. Kannabinoid reseptör antagonistleri AM251 ve AM630'un anestezi altındaki sıçanlarda iskemi/reperfüzyon ile uyarılan aritmiler üzerine etkileri. *Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi* 2018;2(1):35-42.
19. Gonca E, Darıcı F. The effect of cannabidiol on ischaemia/reperfusion-induced ventricular arrhythmias: The role of adenosine A₁ receptors. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2015;20(1):76-83.
20. Walsh SK, Hepburn CY, Kane KA, Wainwright CL. Acute administration of cannabidiol in vivo suppresses ischaemia-induced cardiac arrhythmias and reduces infarct size when given at reperfusion. *Br J Pharmacol* 2010;160(5):1234-1242.
21. Lepran I, Koltai M, Siegmund W, Szekeres L. Coronary artery ligation, early arrhythmias, and determination of the ischemic area in conscious rats. *J Pharmacol Methods* 1983;9(3):219-230.
22. Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ. The Lambeth Conventions: Guidelines for the study of arrhythmias in ischemia infarction and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1988;22(7):447-455.
23. Otani N, Matsuda R, Oda K, Nishino S, Inoue T, Kaneko N. Protective effect of K201 on isoproterenol-induced and ischemic–reperfusion-induced ventricular arrhythmias in the rat: Comparison with diltiazem. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2013;18(2):184-190.
24. Ek RO, Yıldız Y, Cecen S, Yenisey C, Kavak T. Effects of tamoxifen on myocardial ischemia–reperfusion injury model in ovariectomized rats. *Mol Cell Biochem* 2008;308(1-2):227-235.
25. Gonca E, Bozdoğan O. Both mitochondrial KATP channel opening and sarcolemmal KATP channel blockage confer protection against ischemia/reperfusion induced arrhythmia in anesthetized male rats. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2010;15(4):403-411.
26. Durst R, Danenberg H, Gallily R. Cannabidiol, a nonpsychoactive Cannabis constituent, protects against myocardial ischemic reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293(6):3602-3607.
27. Rajan TS, Giacoppo S, Iori S. Anti-inflammatory and antioxidant effect of a combination of cannabidiol and moringin in LPS-stimulated macrophages. *Fitoterapia* 2016;112:104-115.
28. Gonca E, Kurt Ç. Cardioprotective effect of Thymoquinone: A constituent of *Nigella sativa* L. against myocardial ischemia/reperfusion injury and ventricular arrhythmias in anaesthetized rats. *Pak J Pharm Sci* 2015;28(4):1267-1273.
29. Tada H, Kutsumi Y, Misawa T. Effects of pretreatment with 2-O-octadecylascorbic acid, a novel free radical scavenger, on reperfusion-induced arrhythmias in isolated perfused rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;16(6):984-991.
30. Diez ER, Renna NF, Prado NJ. Melatonin, given at the time of reperfusion, prevents ventricular arrhythmias in isolated hearts from fructose-fed rats and spontaneously hypertensive rats. *J Pineal Res.* 2013;55(2):166-173.
31. Sedlis SP. Mechanisms of ventricular arrhythmias in acute ischemia and reperfusion. *Cardiovasc Clin* 1992;(1):3-18.
32. Brown DI, Griendling KK. Regulation of signal transduction by reactive oxygen species in the cardiovascular system. *Circ Res* 2015;116(3):531-549.
33. Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: A therapeutic target. *J Clin Invest* 2013;123(1):92-100.