

**ARAŞTIRMA YAZISI**

**ORIGINAL ARTICLE**

**DENEYSEL SEREBRAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA BOSENTANIN KORUYUCU ETKİSİ**

**Eser ATAŞ\*, Hasan Hüseyin ÖZDEMİR\*\*, Caner F. DEMİR\*\*\*, M. Said BERİLGİN\*\*\*, Oktay KAPAN\*\*\*, Bekir AKGÜN\*\*\*\*, Tuncay KULOĞLU\*\*\*\*\***

**\*Harput Devlet Hastanesi Nöroloji Kliniği, ELAZIĞ**

**\*\*Bismil Devlet Hastanesi Nöroloji Kliniği, DİYARBAKIR**

**\*\*\*Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji\*\*\*, Nöroşirurji\*\*\*\* ve Histoloji \*\*\*\*\* Anabilim Dalı, ELAZIĞ**

**ÖZET**

**AMAÇ:** Serebral iskemide hücre ölümüne uzanan olayları başlatan birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar; serbest radikal üretimi, eksitotoksisite, sodyum ve kalsiyum akışı bozulması, enzimatik değişiklikler, inflamatuvar sürecin uyarılması, trombosit ve lökositlerin aktivasyonu, gecikmiş koagülasyon, endotelial disfonksiyon ve endotelin (ET) salınımını içerir. Bosentan, endotelin reseptörleri olan, hem ETA hem de ETB'nin kompetitif antagonistidir. Bu çalışmanın amacı deneysel serebral iske mi reperfüzyon hasarında bosentanın koruyucu etkileri olup olmadığını belirlemektir.

**GEREÇ ve YÖNTEM:** Bu çalışmada iske mi-reperfüzyon oluşturulan ratlara işlem sonrasında 5 gün süre ile düzenli olarak bosentan molekülü uygulandı. Dekapite edilen ratların beyin dokularına histopatolojik incelemeler yapıldı. Beyin dokularında oksidan ve antioksidan düzeyleri belirlendi.

**BULGULAR:** Bu çalışmada ürik asit düzeyleri tüm inme hastalarında yüksek bulunmakla birlikte en fazla yükseklik posterior sirkülasyon infarkt grubunda saptandı. Ancak bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Bosentan uygulanan ratların antioksidan düzeylerinin ve histopatolojik incelemelerinin bosentan uygulanmayan gruba göre daha iyi olduğu gözlemlendi.

**SONUÇ:** Sonuç olarak bu çalışma bosentanın, iskemik inmenin nöron ölümü ile sonuçlanan olumsuz etkilerini azaltabilecek bir ajan olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** İske mi İnme, Bosentan, rat.

**PROTECTIVE EFFECT OF BOSENTAN IN EXPERIMENTAL CEREBRAL ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY**

**ABSTRACT**

**OBJECTIVE:** In cerebral ischemia, there are many factors that start the events leading to cell death. These factors contain free radical production, excitotoxicity, sodium and calcium flow disruption, enzymatic changes, stimulation of the inflamatuvar process, the activation of platelets and leukocytes, delayed coagulation, endothelial dysfunction and endothelin (ET) release. Bosentan is the competitive antagonist of endothelin receptors; ETA and ETB. The aim of this study is to determine whether the protective effects of bosentan in experimental cerebral ischemia reperfusion injury.

**MATERIAL and METHODS:** In this study, after ischemia-reperfusion procedure, bosentan molecule was regularly given to rats for 5 days. The brain tissues of decapitated rats were histopathologically examined. The levels of oxidant and antioxidant were determined in these brain tissues.

**RESULTS:** It was observed that antioxidant levels and histopathological examinations were in rats given bosentan better than control group rats.

**CONCLUSION:** In conclusion, this study has showed that bosentan may be an agent which could reduce negative effects resulting from neuronal death associated with ischemic stroke.

**Key Words:** Ischemic stroke, Bosentan, rat.

**Yazışma Adresi:** Uzm. Dr. Hasan Hüseyin Özdemir Bismil Devlet Hastanesi Nöroloji Kliniği, Diyarbakır.

**Tel:** 0412 4152310 **E-posta:** drhasanh@gmail.com

**Geliş Tarihi:** 30.10.2012 **Kabul Tarihi:** 07.01.2013

**Received:** 30.10.2012 **Accepted:** 07.01.2013

**Bu makale şu şekilde atıf edilmelidir:** Ataş E, Özdemir H.H, Demir C.F, Berilgen M.S, Kapan O, Akgün B, Kuloğlu T. Deneysel serebral işle mi-reperfüzyon hasarında bosentanın koruyucu etkisi. Türk Beyin Damar Hastalıkları Dergisi 2013; 19 (2): 46-50 doi: 10.5505/tbdhd.2013.54254.

## GİRİŞ

İnme, ölüm sebepleri içerisinde üçüncü ve sakatlık yönünden de birinci sırada olan hastalık grubudur. Serebrovasküler hastalık (SVH)'ların % 80-85'ini oluşturan iskemik inme, nörolojik hastalıklar içerisinde en sık görülen ve en çok ölüme neden olan hastalıktır. İnmeyle bağlı oluşan sakatlıklar; kişi, aile ve toplum üzerinde psikososyal problemlere yol açar. Serebrovasküler Hastalıkların önlenmesi ve tedavisi, bu yönleriyle çok önemlidir (1).

İskemik inmede beyin hasarına neden olabilen birçok faktör olduğu bilinmektedir. Bunlar, serbest radikal üretimi, eksitotoksinite, sodyum ve kalsiyum akışı bozulması, enzimatik değişiklikler, inflamatuvar süreç uyarılması, trombosit ve lökositlerin aktivasyonu, gecikmiş koagülasyon, endotelial disfonksiyon ve endotelin (ET) salınımını içerir (2-4).

Günümüzde endotel çok sayıda fizyolojik ve patolojik olayda rol oynayan çok fonksiyonlu otkrin ve parakrin bir organ olarak kabul edilmektedir (5). Endotelinler vücutta doğal olarak oluşan peptidlerdir (6). Bilinen en güçlü vazokonstriktör moleküllerdir (7, 8). ETA reseptörleri kalp, beyin, damarlar ve damar düz kas hücrelerinde yoğun olarak bulunmaktadır. ETB reseptörleri ise böbrekler, uterus, santral sinir sistemi ve endotel hücrelerinde daha yoğun olmak üzere, çok geniş bir dağılım gösterirler (6, 9).

Endotelin antagonistlerinin güçlü vazodilatör etkisi olduğu gösterilmiştir (10). Bosentan endotelin reseptörlerinden olan ETA ve ETB'nin kompetitif antagonistidir. Günümüzde halen primer (idiyopatik ve ailesel) pulmoner arteriyel hipertansiyon (PAH) tedavisinde kullanılmaktadır (11, 12). Son zamanlarda bosentanın invitro çalışmalarda serebral vazospazm üzerine etkileri çalışılmaya başlanmıştır (13). Bizim bu çalışmadaki amacımız deneysel serebral iskemik-reperfüzyon hasarında bosentan etkinliğini değerlendirmektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Üniversitemiz Etik Kurulu tarafından onay alındıktan sonra, Üniversitemiz Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden ( FÜDAM) temin edilen herbirinde rastgele seçilmiş 7 rat olan üç deney grubu oluşturuldu;

Grup 1 (K): İskemi yapılmayan kontrol grubu (N=7)

Grup 2 (İK): İskemi-kontrol grubu (N=7)

Grup 3 (İB): 5 gün yaşatılan iskemik-bosentan grubu (N=7)

Kontrol grubu, sağlıklı beyindeki apoptozis ile iskemik +/- ilaç gruplarını karşılaştırabilmek için sakrifiye edildi. Diğer iki gruba iskemik oluşturmak ve sakrifiye etmek için aynı cerrahi prosedürler uygulandı. Daha önceki çalışmalar göz önünde tutularak ilaç gruplarına bosentan 30mg/kg/gün intraperitoneal yolla, oluşturulan travmanın 30. dakikasında ve takiben her gün aynı saatte, günde bir kez, 5 gün boyunca verildi (14).

## Geçici Fokal Serebral İskemi Modeli

200-220 gr ağırlığında 21 adet erkek, Wistar cinsi albino rat deney için kullanıldı. Standart su ve yem uygulandı.

Tüm hayvanlarda genel anestezi, intramusküler yolla 10mg/kg xylazine ve 50mg/kg ketamin hidroklorür ile sağlandı. Anestezi derinliği her 15 dakikada bir, kuyruktan ağrı verilerek değerlendirildi. Ratların vücut sıcaklığı rektal termometre ile ölçülerek 37°C civarında tutuldu. Tüm cerrahi uygulamalar mikroskop (Opmi 99, Carl Zeiss, Almanya) altında gerçekleştirildi.

İkinci ve üçüncü gruptaki ratlar supin pozisyonda operasyon masasına sabitlendi. Sonra boyun orta hattı traş edildi. Operasyon bölgesi dezenfekte edildikten sonra orta hat insizyonu yapıldı. Yüzeysel mikrodisseksiyon yapıldıktan sonra derin mikrodisseksiyon ile sağ ortak karotis artere doğru ilerlendi. Trakea görülüp paratrakeal kaslar disseke edilerek ortak karotis artere ulaşıldı. Karotis bifurkasyonundan 1 cm ile 3 cm proksimalden, ortak karotis arteri üzerine, proksimal ve distal kontrolü sağlamak amacıyla iki adet Yaşargil anevrizma klibi yerleştirildi. On dakika boyunca klipler kapalı tutuldu (15). Birinci gruptaki ratlara ise sadece deri altı kesisi yapıldı. Tüm ratların açılan kesileri on dakika sonra sütürlendi. İkinci gruptaki ratlara klipler açıldıktan 30 dakika sonrasında ve takip eden 5 gün boyunca günde birkez 30 mg/kg dozunda %0.9'luk fizyolojik serum intraperitoneal olarak uygulandı. Üçüncü gruptaki ratlara ise klipler açıldıktan 30 dakika sonrasında ve takip eden 5 gün boyunca 30 mg/kg intraperitoneal bosentan uygulandı. Ratlarda exitus gözlenmedi ve 5 gün boyunca standart ortamlarında izlendi. Tüm ratlar 5. gün sonunda ketamin hidroklorür 100 mg/kg ve 10 mg/kg xylazine intraperitoneal uygulanan anestezi sonrasında dekapite edildi.

## Histolojik Çalışma

### TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alınarak beyin dokularında inceleme yapıldı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda "ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA)" kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde "Metil green" ile yeşile boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi.

TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. TUNEL boyamanın yaygınlığının şiddetine göre 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı. (0=yok, +1=az, +2=orta +3= şiddetli) (16).

### Biyokimyasal Çalışma

#### Total Antioksidan Status (TAS)

Total antioksidan kapasite Erel yöntemi ile ölçülmektedir (17). Bu ölçüm metodunun prensibi hidrojen peroksit varlığında 2,2' - azinobis - (3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid) radikalinin (ABTS radikali) ABTS+ molekülüne okside olmasına dayanmaktadır. Ölçümün sonuçları µmol Trolox equivalent/l olarak birimlendirilmiştir.

#### Total Oksidan Status (TOS)

Beyin dokusunda total oksidan status (TOS) ölçümü, Erel tarafından tanımlanan yöntemle yapıldı (18). Prensip olarak oksidanların ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon oksitlenmesine dayanmaktadır. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçümünün sonuçları mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> equivalent/l olarak birimlendirilmektedir.

#### Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total Oksidan Seviye (TOS) / Total Antioksidan Seviye (TAS) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı. Ölçümün sonuçları mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> equivalent/l olarak birimlendirilmiştir.

#### İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama ± standart hata olarak belirlendi. Verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri one way ANOVA ve sonrasında post-hoc

Tukey testi ile belirlendi. One way ANOVA testinde gruplar arası karşılaştırmada p<0.05 olduğu tespit edilen parametreler post-hoc Tukey testi ile değerlendirilmiş ve ikili karşılaştırmalara ait p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## BULGULAR

### TUNEL Bulguları

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucunda şu bulgular elde edildi: TUNEL pozitifliği kontrol grubunda +1 olarak değerlendirildi (Şekil 1). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi grubunda dikkate değer düzeyde artış izlendi ve +3 olarak değerlendirildi (Şekil 2). Bosentan verilen tedavi grubunda ise iskemi grubuna göre kısmen azaldığı görüldü ve +2 olarak değerlendirildi (Şekil 3).



Şekil 1. Kontrol Grubunda TUNEL + Hücreler.

### TAS, TOS ve OSI değerleri

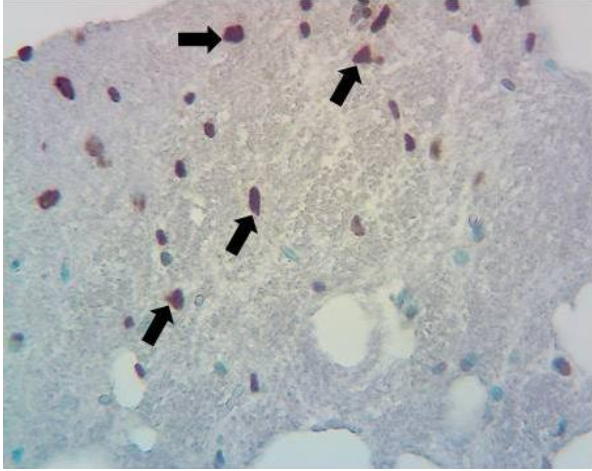
Beyin dokularında TAS ve TOS miktarları ve OSI nin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; gruplar arasında TAS için anlamlılık yoktu. TOS miktarında Grup II'de, Grup I ile kıyaslandığında anlamlı bir artış vardı (p<0.05). Grup III'de ise Grup II ile kıyaslandığında anlamlı bir azalma vardı (p<0.05). OSI değerlerinde benzer şekilde Grup II'de, Grup I ile kıyaslandığında anlamlı bir artış gözlemlendi (p<0.05). Grup III'de ise Grup II ile kıyaslandığında anlamlı bir azalma vardı (p<0.05) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Beyin dokularındaki TAS, TOS ve OSI değerleri.

	Grup I (n=7)	Grup II (n=7)	Grup III (n=7)
TAS ( $\mu$ mol Trolox equivalent/l)	0,33 $\pm$ 0,05	0,39 $\pm$ 0,03	0,37 $\pm$ 0,02
TOS (mmol H2O2 equivalent/l)	1,86 $\pm$ 0,06	4,72 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	3,17 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>
OSI (Arbitrary Unit)	5,74 $\pm$ 0,31	12,10 $\pm$ 0,42 <sup>a</sup>	8,56 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Kontrol grubuna (Grup I) göre karşılaştırıldığında, ( $p < 0.05$  Anova ve Tukey Testi  $F=74,284$ ).

<sup>b</sup> İskemi grubuna (Grup II) göre karşılaştırıldığında, ( $p < 0.05$  Anova ve Tukey Testi  $F=52,681$ ).

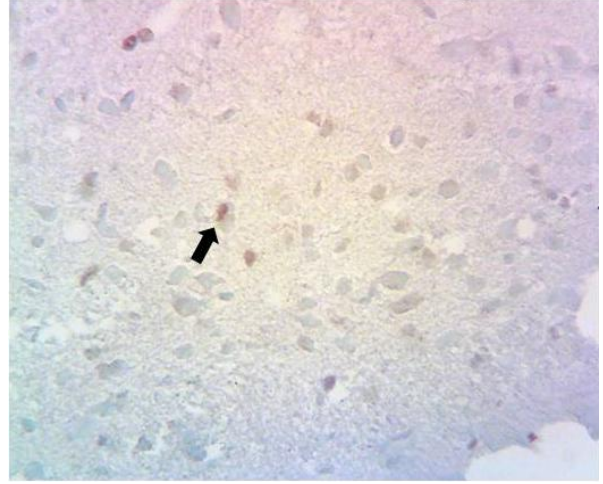


**Şekil 2.** İskemi grubunda artmış TUNEL + hücreler.

## TARTIŞMA

Serebrovasküler hastalıkların önlenmesi ve tedavisi, tüm güncel gelişmelere rağmen önemli bir sağlık sorunudur (1). İskemik inme tedavisinde amaç, nörolojik hasarlanmayı en aza indirmek, iskemiye ikincil oluşabilecek ek hasarları engellemek ve hastanın fonksiyonel iyileşmesini kolaylaştırabilecek önlemleri almak olmalıdır (19). Bu amaçla deneysel iskemi-reperfüzyon modelleri oluşturulmuş ve çeşitli ajanlarla koruyucu ve tedavi edici çalışmalar yapılmıştır (20).

Yapılan bazı çalışmalarda endotelin 1 (ET1) seviyelerindeki artışın inflamatuvar süreçler, ateroskleroz ve hipertansiyonda aşırı NO ve ONOO-peroxynitrite üretimine sebep olduğu ve antioksidan düzeylerinde azalmalar meydana getirdiği gösterilmiştir (21-23). Rauh ve ark. tarafından ET1 modülasyonu ve ET1 kaynaklı çeşitli sinyalizasyon yollarının aktivasyonu sonucu



**Şekil 3.** Bosentan grubunda TUNEL + hücreler.

serbest oksijen radikalleri oluştuğu gösterilmiştir (24).

Karotis arter oklüzyonu modeli ile geçici ön beyin iskemisi oluşturulmuş bir çalışmada ET-1 düzeyleri yüksek bulunmuş ve bunun da iskemi-reperfüzyon hasarı patogeneğinde ET-1 reseptörünün katılımıyla olduğu ileri sürülmüştür (25). Özdemir ve ark. myokard iskemi-reperfüzyon hasarında ETA reseptör antagonisti (BQ 123)'nin ET1 ile ilişkili katalaz enzimi, redükte glutatyon ve süperoksit dismutaz düzeyleri üzerine etkisini değerlendirmişlerdir (26). Endotelin A reseptör antagonistinin lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermişler, bu etkisini muhtemelen vazokonstrüksiyonu kısmen de olsa engelleyerek sağladığını vurgulamışlardır.

Patel ve arkadaşları geçici global iskemi modelinde bosentanın etkinliğini değerlendirmişlerdir. Bosentanın postiskemik hipoperfüzyonda minimal de olsa etkisini tespit etmişlerdir (27).

Dokudaki iskemik hasar sonucunda serbest radikallerin oluşumu ve inflamatuvar olaylar gerçekleşmektedir. Bunlar; apoptoza neden olabilirler. Bosentanında BQ 123 gibi endotelin reseptörlerini antagonize edip, vazokonstrüksiyonu azaltarak kortikal dolaşıma katkı sağlayabileceği kanısındayız. Bu etki mekanizması ile bosentan, serbest radikal oluşumunu, iskemiden etkilenen doku miktarını ve apoptoza giden hücre sayısının azalmasını sağlayabilir.

Laboratuar ve klinik araştırmalar, ET'lerin subaraknoid kanama ve iskemik inmede gelişebilen vazospazmın patogeneğinde de rol

oyunabileceğini düşündürmektedir. Bu hastaların serebrospinal sıvılarında, ET konsantrasyonlarının yükseldiği gösterilmiştir. Endotelin reseptör inhibitörlerinin, serebral vazokonstriksiyonu önlemesi ve nöral ölümü geciktirmesi, bu ajanların subaraknoid kanamanın tedavisinde de kullanılabileceğini düşündürmektedir (6).

Endotelin antagonistlerinin antioksidan özelliği olduğu da gösterilmiştir (10). Endotelin antagonistlerinin iskemi modellerinde tespit edilen koruyucu özellikleri, sadece vazodilatör etkileriyle değil antioksidan etkileriyle de ilişkili olabilir.

Çalışmamızda apoptotik hücrelerin tespit edilmesinde kullanılan TUNEL boyamasının sonucunda; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iskemi grubunda TUNEL pozitif hücrelerde artış gözlenirken, bosentan verilen tedavi grubunda ise apoptotik hücrelerin iskemi grubuna göre azaldığı izlendi. Ayrıca bosentan verdiğimiz grupta tespit edilen azalmış TOS değerleri de bosentanın direk veya dolaylı olarak antioksidan etkisini desteklemektedir.

Sonuç olarak; güçlü bir ET reseptör antagonisti olan bosentanın beyin dokusunda oksidatif stres ve apoptozisi azalttığı tespit edilmiştir. Bosentanın; iskemi-reperfüzyon hasarının ortaya çıkmasını engellediğini, oluşmuş olan hasarı geri döndürmediğini düşünmekteyiz. İskeminin oluşturduğu hücre hasarına karşı bosentanın koruyucu etkilerinin gösterilmesinin, iskeminin tedavi ve komplikasyonları açısından ele alındığında, önemli bir bakış açısı kazandırabileceği düşünülmüştür. Benzer çalışmalar ile desteklenirse bosentan, serebral iskeminin eşlik edebileceği bazı hastalıklarda hem nöroloji hem de nöroşirürji kliniklerinde iskemik komplikasyonları azaltabilmek amacı ile kullanılabilir.

## KAYNAKLAR

- 1-Weinberger J. Stroke. 2nd, Pennsylvania: Handbooks in Health Care Co 2002; 1-80.
- 2-Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia; mechanisms of damage and treatment. J Neurosurg 1992 Sep;77(3):337-54.
- 3-Scott JF, Gray CS. Cerebral and systemic pathophysiological responses to acute stroke. Age Ageing 2000; 29: 197-202.
- 4-Cheung RT. The utility of melatonin in reducing cerebral damage resulting from ischemia and reperfusion. J Pineal Res 2003; 34: 153-160
- 6-Tamirisa P, Frishman WH, Kumar A. Endothelin and endothelin antagonism: Roles in cardiovascular health and disease. Am Heart J 1995; 130: 601-610.
- 7-Hirata Y. Endothelin peptides. Curr Opin Nephrol Hypertens 1996; 5: 12-15.
- 8-Stevenson LW, Fonarow GC. Endothelin and the vascular choir in heart failure. J Am Coll Cardiol 1992; 20: 854-7.

9-Plumpton C, Champeney R, Ashby MS, et al. Characterization of endothelin isoforms in human heart: Endothelin-2 demonstrated. J Cardiovasc Pharmacol 1993; 22: 26-28.

10-Andrasi TB, Kekesi V, Blazovics A, et al. ET(A) receptor blockade protects the small intestine against ischaemia/reperfusion injury in dogs via an enhancement of antioxidant defences. Clinical Sci 2002; 148; 59-63.

11-The task force on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension of the European Society of Cardiology. Guidelines on diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension. Eur Heart J 2004; 25: 2243-2278.

12-Rubin LJ. Introduction: Diagnosis and management of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. Chest 2004; 126: 7S-10S

13- Shigeno T, Clozel M, Sakai S, et al. The effect of bosentan, a new potent endothelin receptor antagonist, on the pathogenesis of cerebral vasospasm. Neurosurgery 1995; 37(1):87-90

14-Ihara M, Fukuroda T, Saeki T, et al. An endothelin receptor (ETA) antagonist isolated from Streptomyces misakiensis. Biochem Biophys Res Commun 1991; 178: 132-137.

15-Huang SS, Tsai SK, Chih CL, et al. Neuroprotective effect of hexaethylbutylated C60 on rats subjected to focal cerebral ischemia. Free Radic Biol Med 2001; 15; 30(6):643-9.

16-Koz ST, Etem EO, Baydas G, et al. Effects of resveratrol on blood homocysteine level, on homocysteine induced oxidative stress, apoptosis and cognitive dysfunctions in rats. Brain Res. 2012

17-Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clin Biochem 2004; 37: 112-119.

18- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem 2005; 38: 1103-1111.

19-Sarıbaş O, Topçuoğlu MA, Arsava EM. Akut İskemik İnmelerde Tedavi Yaklaşımları. Balkan S (edt). Serebrovasküler Hastalıklar. Antalya: Güneş Kitapevi, 2005; 289-311.

20-Rabuffetti M, Scioratti C, Tarozzo G. Inhibition of Caspase-1-Like activity by Ac-Tyr-Ala-Asp-Cholromethyl Ketone Induces Long-Lasting Neuroprotection in cerebral Ischemia through Apoptosis Reduction and Decrease of Proinflammatory Cytokines. J Neurosci 2000; 20: 4398-4404

21-Li L, Watts SW, Baner AK, et al. NADPH oxidase-derived superoxide augments endothelin-1-induced vasoconstriction in mineralocorticoid hypertension. Hypertension 2003; 42: 316-321.

22-Skalska AB, Pietrzycka A, Stępniewski M. Correlation of endothelin 1 plasma levels with plasma antioxidant capacity in elderly patients treated for hypertension. Clin Biochem 2008; 42: 358-364.

23-Teplyakov A. Endothelin-1 involved in systemic cytokine network inflammatory response at atherosclerosis. J Cardiovasc Pharmacol 2004; 44: 274-275.

24-Rauh A, Windischhofer W, Kovacevic A, et al. Endothelin (ET)-1 and ET-3 promote expression of c-fos and c-jun in human choriocarcinoma via ET(B) receptor-mediated G(i)- and G(q)-pathways and MAP kinase activation. Br J Pharmacol 2008; 154: 13-24

25- Willette RN, Ohlstein EH, Pullen M, et al. Transient forebrain ischemia alters acutely endothelin receptor density and immunoreactivity in gerbil brain. Life Sci 1993; 52: 35-40

26-Ozdemir R, Parlakpınar H, Polat A, ve ark. Selective endothelin a (ETA) receptor antagonist (BQ 123) reduces both myocardial infarct size and oxidant injury. Toxicology 2006; 219:142-149.

27-Patel TR, McCulloch J. Postischemic hypoperfusion in transient global ischemia: a role for endothelins J Cardiovasc Pharmacol 1995; 26: 425-428.

Türk Beyin Damar Hastalıkları Dergisi 2013; 19 (2): 46-50