

**T.C.**  
**NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**AKUT MİYOKARD İNFARKTÜSÜ PROGNOZUNU BELİRLEMEDE**  
**APOPTOZ BELİRTEÇLERİ İLE ANJİOGENEZİS BELİRTEÇLERİNİN**  
**ROLÜ**

**Zühre GÖKÇEN**  
**YÜKSEKLİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Mehmet GÜRBİLEK**

**KONYA 2013**

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi **Zühre Gökçen**'nin "**Akut Miyokard İnfarktüsü Prognozunu Belirlemede Apoptoz Belirteçleri ile Anjiyogenez Belirteçlerinin Rolü**" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Konya/31.12.2013

Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Mehmet Gürbilek  
N.E.Ü Meram Tıp Fak. Biyokimya A.D  
İmzası

Prof. Dr. Sadık Büyükbaş  
N.E.Ü Meram Tıp Fak.  
Biyokimya A.D

İmzası

Prof. Dr. Ali Muhtar Tiftik  
N.E.Ü Meram Tıp Fak.  
Biyokimya A.D

İmzası

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun Gün Ay Yıl tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Neyhan Ergene  
Enstitü Müdürü

İmzası

## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “**Prognosis of acute myocardial infarction angiogenesis markers of determining role of apoptosis**” by “*Zühre Gökçen*” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of *Master of Science* in the Department of “**Biochemistry**”, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan Konya/31.12.2013

Prof. Dr. Mehmet Gürbilek  
Department of Biochemistry  
Meram Medical Faculty,  
Necmettin Erbakan University

Signature

Prof. Dr. Sadık Büyükbaş  
Department of **Biochemistry**  
Meram Medical Faculty,  
Necmettin Erbakan University

Signature

Prof. Dr. Ali Muhtar Tiftik  
Department of **Biochemistry**  
Meram Medical Faculty,  
Necmettin Erbakan University

Signature

This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.

Prof. Dr. Neyhan Ergene  
Director of Institute of Health Sciences  
Date and Signature

## **BEYANAT**

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: 24.12.2013

Öğrencinin Adı Soyadı: Zühre GÖKÇEN

İmzası

## TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince tezin hazırlanması esnasındaki yardım ve desteklerinden dolayı başta Anabilim Başkanımız ve Tez Danışmanım Prof. Dr. Mehmet GÜRBİLEK'e Biyokimya anabilim dalımızda görevli tüm hocalarım ve çalışan arkadaşlarıma,

Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Özcan EREL'e ve Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr. Tahir DURMAZ ve Yard. Doç. Dr. Hüseyin AYHAN'a ve Kardiyoloji Yoğun Bakım çalışanlarına,

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Klinik Şefi Uzm. Dr. Vasfi ULUSOY ile Uzm. Dr. Hülya ÇİÇEKÇİOğLU'na ve Kardiyoloji Yoğun Bakım çalışanlarına,

Tapu ve Kadastro Genel Müdürlüğü poliklinik ve diğer çalışan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tezin hazırlanmasındaki katkılarından ve fedakarlıklarından dolayı eşim Ahmet Sadık GÖKÇEN ve moral kaynağım oğlum Hasan Selim GÖKÇEN'e teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<i>Tez onay sayfası</i> .....	<i>i</i>
<i>Approval</i> .....	<i>ii</i>
<i>Beyanat</i> .....	<i>iii</i>
<i>Teşekkür</i> .....	<i>iv</i>
<i>İçindekiler</i> .....	<i>v</i>
<i>Kısaltmalar</i> .....	<i>vii</i>
<i>Şekiller listesi</i> .....	<i>xi</i>
<i>Tablolar listesi</i> .....	<i>xii</i>
<i>Özet</i> .....	<i>xiii</i>
<i>Abstract</i> .....	<i>xiv</i>
<b>1 GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2 AKUT MİYOKARD İNFARKTÜSÜ</b> .....	<b>5</b>
2.1 <i>Tanımı ve Etiyolojisi</i> .....	5
2.2 <i>Epidemiyoloji</i> .....	5
2.3 <i>Risk Faktörleri</i> .....	6
2.4 <i>Fizyopatoloji:</i> .....	7
2.5 <i>Tanı:</i> .....	8
2.6 <i>Anamnez</i> .....	8
2.7 <i>Fizik Muayene</i> .....	9
2.8 <i>Elektrokardiyografi (EKG)</i> .....	10
2.9 <i>Kardiak Markırlar</i> .....	10
2.9.1 <i>Miyoglobin</i> .....	11
2.9.2 <i>Kreatin Kinaz</i> .....	11
2.9.3 <i>Troponin</i> .....	12
2.9.4 <i>Diğer Serum Kardiyak Belirteçleri</i> .....	13
2.10 <i>Tedavi</i> .....	14
<b>3 APOPİTOZİS</b> .....	<b>15</b>
3.1 <i>Apoptozisin Görüldüğü Olaylar</i> .....	15
3.2 <i>Apoptozis Mekanizması</i> .....	18
3.3 <i>Apoptoz Uyarıcıları</i> .....	21
3.4 <i>Apoptotik Hücre Ölümünün Aşamaları</i> .....	21

3.5	<i>Morfolojik Değişiklikler</i> .....	31
3.6	<i>Apoptozis ile Nekrozun Farkları</i> .....	33
3.7	<i>Kardiyovasküler Sistemde Apoptozis</i> .....	35
<b>4</b>	<b>ANJİYOGENEZ</b> .....	36
4.1	<i>Anjiyogenez Fizyopatolojisi</i> .....	38
4.1.1	<i>Bazal Membranın Proteolitik Enzimler Tarafından Yıkılması</i> .....	38
4.1.2	<i>Endotel Hücrelerde Göçme ve Çoğalma</i> .....	39
4.1.3	<i>Kapiller Oluşumu ve Damar Olgunlaşması</i> .....	39
<b>5</b>	<b>MATERYAL VE METOD</b> .....	47
5.1	<i>MATERYAL</i> .....	47
5.1.1	<i>Grupların Oluşturulması ve Uygulama ile ilgili Hususlar</i> .....	47
5.1.2	<i>Kullanılan Cihazlar</i> .....	48
5.2	<i>METOD</i> .....	49
5.2.1	<i>IL-8 ölçümü</i> .....	49
5.2.2	<i>IGF-1 ölçümü</i> .....	50
5.2.3	<i>TNF-<math>\alpha</math> ölçümü</i> .....	51
5.2.4	<i>KASPAZ-9 ölçümü</i> .....	52
<b>6</b>	<b>BULGULAR</b> .....	54
<b>7</b>	<b>TARTIŞMA</b> .....	67
7.1	<i>TNF-<math>\alpha</math> (Tümör Nekrozis Faktör-<math>\alpha</math>) Bulgularının Tartışması</i> .....	69
7.2	<i>KASPAZ-9 Bulgularının Tartışması</i> .....	72
7.3	<i>IGF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri) Bulgularının Tartışması</i> .....	73
7.4	<i>IL-8 (İnterlökin-8) Bulgularının Tartışması</i> .....	74
<b>8</b>	<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	77
<b>9</b>	<b>KAYNAKÇA</b> .....	79

## **KISALTMALAR**

ACE : Anjiotensin-Converting Enzim

AKS : Akut Koroner Sendrom

AMI : Akut Miyokard İnfarktüsü

ATP: Adenozin Tri Fosfat

AIDS : Acquired Immune Deficiency Syndrome

APO-1 : Apolipoprotein-1

AST : Aspartat aminotransferaz

APAF-1 : Apoptotic Protease Activating Factor-I

A20: Apoptozisi baskılayan genler

Bcl-2 : B-cell İymphoma 2

Bak: Apoptozisi indükleyen genler

Bad: Apoptozisi indükleyen genler

Bax: Apoptozisi indükleyen genler

CARD : Caspase Activation and Recruitment Domains

CAD : Kaspaz Aktiviteli Deaksiribonükleaz

Ca<sup>+</sup> : Kalsiyum

CASPASE : Cysteine Containing Aspartate Spesific Proteases

CK : Citoceratin (sitokeratin)

CK-MB : Creatin Kinaz Miyokard Band

CPK: Creatin Phosfokinaz

CK-BB : Creatinkinaz Brain



CK- MM : Creatinkinaz Muscle

CTnI: Cardiac Troponin I

CTnT: Cardiac Troponin T

CTnC: Cardiac Troponin C

CTL : Sitotoksik T Lenfosit

CD4+T : Cluster of Differentiation 4 + T Cell

CD95 : Cluster of Differentiation 95

CSF : Kolon Uyarıcı Faktörler

Cmyc:Regulator Gene Codes Transcription Factor

DED : Death Effector Domain

DIC : Dissemine İnvasküler Koagülasyon

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

ECM: Ekstraselüler Matriks

EGF : Epidermal büyüme faktör

EKG : Elektrokardiyografi

Fas/FasL : Fas Ligand

FABP : Fatty Acid Binding Protein

FADD : Fas Adapter Protein With a Death Domain

FGF : Fibroblast Büyüme Faktör

FGF-3 : Fibroblast Büyüme Faktör-3

FGF-4 : Fibroblast Büyüme Faktör-4

FGF : Fibroblast Büyüme Faktörü

GCSF : Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör

GH : Büyüme Faktörü

HDL : High Density Lipoprotein

HGF : Hepatosit büyüme faktör

HIV-1: Human İmmunodeficiency virüs-1

HT : Hipertansiyon

IGF-1 : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

IGF-1R : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1 Reseptörü

IL-8 : İnterlökin-8

IL-1 : İnterlökin-1

IL-6 : İnterlökin-6

ICE : İnterleukin Converting Enzim

IFN : İnterferon

IAP : Inhibitor of Apoptosis Proteins

ICAM-3 : Intercellular Adhesion Molecule 3

ICAD : Inhibitor of Caspase Activated DNase

LDL : Low Density Lipoprotein

LDH : Laktat Dehidrogenaz

LOH: Apoptozisi indükleyen genler

Mg : Magnezyum

Mcl-1: Induced Myoleid Leukemia Cell Differentiation Protein

MCP-1 : Monocyte Chemotactic Protein-1

MIP-1alfa : Macrophage İnflammatory Protein

NGF : Nerve Growth Factor

PH : Power of Hydrogen

PGF: Plasental Büyüme Faktör

P53 : Tümör Protein 53 (TP53)

PDGF : Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör

RANTES: Regulated on Activation Normal T cell Expressed and Secreted

Ras onkogeni: Apoptozisi baskılayan genler

rtPA : Recombinant Doku Plasminojen Aktivatörü

TNFR: Tümör Nekrozis Faktör Reseptör

TNF- $\alpha$  : Tümör Nekrozis Faktör-alpha

TNF $\beta$  : Tümör Nekrozis Faktör-beta

TGF- $\alpha$  : Transforme Edici Büyüme Faktör- $\alpha$

TGF- $\beta$  : Transforme Edici Büyüme Faktör- $\beta$

WHO: World Heart Organization

VEGF : Vasküler Endotel Büyüme Faktörü

z-VAD-fmk :Carbobenzoxymethyl-valyl-alanyl-aspartyl-[O-methyl]-fluoromethylketone

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1: P53 aracılı apoptoz .....	20
Şekil 3.2: Apoptoz basamakları .....	22
Şekil 3.3: Kaspaz alt birimlerinden aktif kompleks oluşması .....	28
Şekil 3.4: Apoptotik yolların birlikte gösterimi. ....	30
Şekil 6.1: Kontrol ve hasta gruplarının yaşa göre dağılımı.....	55
Şekil 6.2: Kontrol ve hasta gruplarımızın IL-8 değerlerine göre dağılımı.....	56
Şekil 6.3: Kontrol ve hasta gruplarımızın IGF-1 değerlerine göre dağılımı .....	57
Şekil 6.4: Kontrol ve hasta gruplarımızın TNF- $\alpha$ değerlerine göre dağılımı.....	58
Şekil 6.5: Kontrol ve hasta gruplarımızın Kaspaz-9 değerlerine göre dağılımı.....	59
Şekil 6.6: IL-8 değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırma .....	60
Şekil 6.7: IGF-1 değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırma.....	61
Şekil 6.8: TNF- $\alpha$ değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırma .....	62
Şekil 6.9: Kaspaz-9 değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırma ....	63
Şekil 6.10: IL-8 0.saat ve TNF- $\alpha$ 0.saat regresyon analizi grafiği .....	64
Şekil 6.11: IL-8 24.saat ve TNF- $\alpha$ 24.saat regresyon analizi grafiği .....	65
Şekil 6.12: IL-8 30.gün ve TNF- $\alpha$ 30.gün regresyon analizi grafiği .....	66

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1: Ateroskleroz gelişiminde etkili olan risk faktörleri .....	7
Tablo 2.2: Kreatin kinaz izoenzimleri ve buldukları dokular .....	12
Tablo 3.1: Apoptozis ve Genler .....	19
Tablo 3.2: Kaspazların Yapısal Özellikleri .....	27
Tablo 3.3: Apoptozis ile Nekroz Arasındaki Farklar .....	35
Tablo 4.1: Anjiyogenez Modülatörleri .....	41
Tablo 6.1: Grupların IL-8, IGF-1, TNF- $\alpha$ , Kaspaz-9 parametrelerine ait minimum, maximum ve (medyan) değerleri .....	54
Tablo 6.2: 0.saatte ölçülen değerlerin korelasyon tablosu .....	64
Tablo 6.3: 24.saatte ölçülen değerlerin korelasyon tablosu .....	65
Tablo 6.4: 30.günde ölçülen değerlerin korelasyon tablosu .....	66

## ÖZET

### AKUT MİYOKARD İNFAKTÜSÜ PROGNOZUNU BELİRLEMEDE APOPTOZ BELİRTEÇLERİ İLE ANJİOGENEZİS BELİRTEÇLERİNİN ROLÜ

**Amaç:** Bu çalışmamızda; akut miyokard infarktüsünde iskemik hasardan sonra hücrede apoptozis mi, anjiyogenezis mi geliyor, hücre hangi yolu tercih ediyor bunu öğrenmeyi amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamız; AMI tanısı alan 42 hasta (26 erkek, 16 bayan) ve sağlıklı 42 kontrol (23 erkek, 19 bayan) grubundan oluşturuldu. Gruplandırılarak biriktirdiğimiz kanlardan TNF- $\alpha$ , Kaspaz-9, IGF-1 ve IL-8 parametrelerini çalıştık. Çalışmamızda, hastaların ilk acile başvurusunda, 24. saatte ve bir ay sonraki (30.gün) kontrolleri sırasında kan örnekleri alındı.

**Bulgular:** IL-8 değeri için Kontrol-24.saat arası ve Kontrol-30.gün arası fark bulundu. Hasta grubunda da IL-8 değerleri karşılaştırmasında anlamlı farklılık bulundu. IGF-1 değerleri karşılaştırmasında anlamlı fark bulunmadı. TNF- $\alpha$  değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırmada Kontrol-0.saat ve Kontrol-24.saat arası anlamlı fark bulundu. Hasta grubunda zamana göre TNF- $\alpha$  değerleri karşılaştırmasında 24.saat-30.gün arasında ve 0.saat-30.gün arasında fark bulundu. Kaspaz-9 değeri karşılaştırmasında anlamlı farklılık bulunmadı. IL-8 ve TNF- $\alpha$  arasında anlamlı pozitif korelasyon bulundu.

**Sonuç:** Miyokard infarktüsü geçirildikten sonra TNF- $\alpha$  düzeyinde artış, Kaspaz-9, IGF-1 ve IL-8 düzeylerinde düşüş olmuştur. Bir ay sonraki ölçümler de TNF- $\alpha$  düşmeye başlamış diğer parametreler ise yükselme göstermiştir. Bu veriler miyokard infarktüsüne yeni anlamlar sunacaktır. İleri çalışmalar için miyokard infarktüsü geçiren hastalar daha uzun süre izlenmelidir.

**Anahtar kelimeler:** Akut Miyokard İnfarktüsü, Apoptozis, Anjiyogenezis, IL-8, IGF-1, Kaspaz-9, TNF- $\alpha$

## ABSTRACT

### PROGNOSIS OF ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION, ANGIOGENESIS MARKERS IN DETERMINING ROLE OF APOPTOSIS

**Introduction:** In this study, acute myocardial infarction apoptosis in cells after ischemic injury, is developing angiogenesis, cell prefers the way in which it aimed to learning.

**Materials and Methods:** Our study of 42 patients with a diagnosis of AMI (26men, 16 women) and 42 healthy controls (23men, 19women) from the group was created. We collected blood grouping of TNF- $\alpha$ , Caspase-9, IGF-1 and IL-8 parameters have tried. In our study, patients in the initial emergency contact, 24 per hour, and a month later (30th day of) blood samples were taken during the controls.

**Results:** IL-8 for the value of the control-24.hours and control-30.day differences were found between. IL-8 levels in patients according to the time found no significant differences in comparison. IGF-1 levels were not significantly different in comparison. TNF- $\alpha$  values for the intertemporal comparison with the control group and in the control-0.hours significant differences were found between the control-24.hours. TNF- $\alpha$  in patients according to the time value comparison between the 24.hours-30.day found no difference between 0.hours-30.day. Caspase-9 did not differ significantly in value comparison. IL-8 and TNF- $\alpha$  significant positive correlation was found.

**Conclusion:** After undergoing myocardial infarction, the TNF- $\alpha$  increased, Caspase-9, IGF-1 and IL-8 levels declined. One month later measurement of TNF- $\alpha$  also has started to decline while other parameters did not Show. These data will provide new meaning to myocardial infarction. For further studies of myocardial infarction patients should be monitored for a longer period.

**Key words:** Acute Myocardial Infarction, Apoptosis, Angiogenesis, IL-8, IGF-1, Caspase-9, TNF- $\alpha$

# 1 GİRİŞ VE AMAÇ

Miyokardın iskemi sonucunda nekroza uğramasına, miyokard infarktüsü (MI) denir. Akut miyokard infarktüsü halen en önemli ölüm nedenleri arasındadır. Herhangi bir tedavi uygulanmadığında mortalitenin %15 dolayında olduğu bilinmektedir (Allen ve ark. 1993). Gelişmiş batı ülkelerinde, tüm ölümlerin en az yarısı, kardiyovasküler hastalıklara ve bunların da çoğu aterosklerotik koroner arter hastalığına bağlıdır. Yapılan çalışmalar, tüm dünyada kardiyovasküler hastalıklardan ölüm oranının 1990 ve 2020 yılları arasında %28,9'dan %36,3'e yükseleceğini göstermektedir (Braunwald ve ark. 2002).

Hücrelerin genel olarak iki tip ölüm biçimi tanımlanmıştır. İlki nekroz, ikincisi apoptozis ile gerçekleşir. Apoptoziste fizyolojik şartlar altında, hücreler doğarlar, genetik olarak programlandıkları belirli bir süre kadar yaşarlar ve sonra ölürlür. Ayrıca bir şekilde DNA'sı hasarlanmış (virüs, çevresel vs) nedenler hücrelerde organizmanın zarar görmemesi için kendilerini öldürürler ('cell suicide') ve bunu organizmanın yararı için yaparlar. Yani apoptozis morfolojik olarak hücrenin ölme şeklinin ifade edilmesidir. Apoptoziste hücreyi parçalayan yani apoptotik morfolojinin oluşumunu sağlayan etkenler vardır (Demiray ve ark. 2006) (Ulukaya ve ark. 2007). İlk olarak hücre içi veya dışı gelen bir sinyalle genetik mekanizma harekete geçer ve hücre apoptozise gider (Thompson 1997). Bazı dış etkenler DNA hasarı oluşturacak apoptozis meydana getirirler (Gerschenson ve Rotello 1992). Memeli hücrelerinde dış yol ve mitokondriyal iç yol olmak üzere iki büyük apoptotik yol belirlenmiştir. Dış yol membranda bulunan ölüm reseptörlerine ligantlar bağlandığında aktive edilmektedir. Reseptör-Ligant etkileşimi sonucunda reseptör aktivasyonu ile hücresel ölüm gerçekleşebilmektedir. Bu reseptörler içerisinde en önemlisi Tümör Nekrozis Faktör (TNFR) ailesidir (Sanders ve ark. 1997).

Tümör Nekroz Faktör (TNF), tümörlerde hemorajik nekroz yaptığı için bu ad verilmiştir. Kaşektin olarakta bilinir. TNF, TNF $\alpha$  ve TNF $\beta$  olmak üzere ikiye ayrılır. TNF alfa ve TNF beta arasında yaklaşık % 30 oranında benzerlik vardır. 6. kromozom üzerinde yer alan 2 ayrı gen tarafından yapılır. TNF alfanın molekül ağırlığı 17 kDa'dır (Tokgöz 1997). Tümör Nekrozis Faktör alfa endotelden, düz kas



hücrelerinden ve makrofajlardan çeşitli biyolojik etkilere yanıt olarak dolaşıma salınmaktadır (Warner ve Libby 1989). Önceleri, tümör hücreleri üzerine hemorajik nekroz etkileri ile tanımlanan TNF $\alpha$ 'nın sonraki yıllarda Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri de tanımlanmıştır (Ridker ve ark.2000) (Frangogiannis ve ark 2002).

İçeriden ve dışarıdan gelen sinyaller sonucunda hücre içerisinde kaspaz adı verilen bir grup proteaz aktive olur. Kaspaz oluşumu ve apoptozisin düzenlenmesinde mitokondrinin önemli rolü vardır. Mitokondriyel yolakta apoptozom oluşumu ile apoptozis uyarılır. Apoptozom çok proteinli bir yapı olup sitokrom-c, Apaf-1 (apoptozis proteaz aktive edici faktör 1), prokaspaz-9 ve ATP içerir (Pınarbaşı 2007). Apoptozis olayında aktive oldukları sıraya göre başlatıcı ve uygulayıcı olmak üzere iki temel gruba ayrılırlar(Earnshaw, Martins ve Kaufmann 1999). Başlatıcı olanlardan kaspaz-9 ve kaspaz-8 önemlidir(Pop ve Salvaseen 2009). Başlatıcı kaspaz bir kez aktive olduktan sonra diğer kaspazların hızlı ve sıralı aktivasyonu ile ölüm programı başlar (Lankamfi ve ark. 2007).

Koroner kollateral dolaşım, normal kalpte bulunan ve kan akımını bozan ciddi bir darlık ve tam tıkanma geliştiğinde lezyonun distalinde kalan miyokart dokusunun perfüzyon ve canlılığını korumak üzere iskemik miyokard alanına kan akımını sağlamak amacıyla, aynı koroner arterin bölümleri arasında veya farklı koronerler arterler arasında kronik, uyum sağlayıcı bir yanıt olarak gelişen potansiyel damarsal yapılar olarak tanımlanmaktadır (Folkman ve Shing 1992). Embriyogenez boyunca vasküler sistemin gelişiminde iki temel oluşum vardır: vaskülogenez ve anjiyogenez. Kısaca anjiyogenezis yeni damar gelişimi olarak tanımlanmaktadır (Folkman ve Shing 1992). Anjiyogenezis oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir (Goodsell 2003)(Brooks 1996). Anjiyogenezis çok sayıda proanjiogenik ve antianjiogenik moleküllerin regüle ettikleri oldukça kompleks ve dinamik bir süreçtir. Erişkin insanlardaki vasküler endotelial hücreler tipik olarak düşük turnover hızında olmalarına rağmen, yaşamları boyunca yeni kan damarları oluşturacak çoğalma kapasitesine sahiptirler. Bu süreç, embriyonik gelişim, normal doku büyümesi ve yara iyileşmesi, miyokardiyal iskemi, oküler neovasküler hastalıklar, Von-Hippel-Lindau Hastalığı, Herediter Hemorajik Telenjektazi gibi

genetik hastalıklar, romatoid artrit gibi kronik inflamatuvar hastalıklar ve kadınlarda üreme döngüsü içinde olduğu gibi malign neoplazların büyüme ve metastatik yayılımlarında da yer almaktadır(Tamanini 2004). Anjiogenezi uyaran faktörler arasında İnsulin Benzeri Büyüme faktörü (IGF-1) ve İnterlökin-8 gösterilmiştir(Clemmons 1994).

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), fötal ve çocukluk evresi boyunca normal gelişmede esas rol oynar. IGF-1 mitojenik ve antiapoptotik etkiye sahip olan peptid yapıda bir hormondur(Fürstenberger ve Senn 2002). Molekül ağırlığı 7649 kDa'dur (Tamanini 2004). Hücre poliferasyonu ve farklılaşması üzerine güçlü bir etkisi vardır ve apoptozisin güçlü bir inhibitörüdür(Grimberg ve Cohen 2000)(Fürstenberger ve Senn 2002). IGF-1'in hüresel etkisi IGF-1 reseptör (IGF-1R) tarafından düzenlenir (Pete ve ark. 1999). IGF-1R trozin kinaz ativitesine sahip bir hücre membran reseptörüdür. Herhangi bir nedenle IGF-1R aktive edilince, hücre içi trozin fosforilasyon zinciri indüklenir ve bu da sonuçta hücre poliferasyonu ve transformasyonu için gerekli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açar. Ayrıca anjiyogenezis faktörlerini uyararak yeni damar oluşumunu düzenleyip tümörün büyümesini başlatırlar(Czech 1989).

İnterlökin 8 (IL-8), lökositler ve fibroblastlar için kemotaktik aktivitesi olan bir sitokin ailesi tanımlanmıştır. Bu kemotaktik sitokinler kemokinler olarak adlandırılmış olup molekül ağırlıkları 8000 ile 1600 arasında değişir %20-50 aminoasit dizisi ile birbirlerine benzerler. IL-8'in hedef hücreleri ise nötrofillerle T hücreleridir. Nötrofillerin mobilizasyonu, aktivasyonu ve degranulasyonunu sağlar, anjiyogenezde rolü vardır (Oppenheim ve Ruscetti 1997). Anjiyogenezde IL-8 kobayda korneal neovaskülarisasyon modelinde endotel hücrelerinin proliferasyonunu stimüle ederek yeni kan damarları oluşumunu uyarmaktadır. Bu da organogenez yara iyileşmesi, tümör büyümesi, metastazlarda etkilerinin olabileceği yönünde fikirler oluşturmaktadır (Rosenwasser ve Borish 2003) (Church ve ark. 2003) (Hiroto ve ark. 2003).

Proenflamatuvar bir sitokindir ve kardiyopulmoner bypas geçirenlerde iskemi sonrası miyokart depresyonunda veya miyokardiyal hibernasyon (sersemleme)

durumu ile ilişkili olabilir. IL-8 sitokininin iskemik miyokartta oluştuğu gösterilmiştir (Gessler ve ark. 2003).

Bu çalışmamız da; akut miyokard infarktüsün de iskemik hasardan sonra hücre de apoptozis mi, anjiyogenezis mi gelişiyor, hücre hangi yolu tercih ediyor bunu öğrenmeyi amaçladık.

## **2 AKUT MİYOKARD İNFARKTÜSÜ**

### **2.1 Tanımı ve Etiyolojisi**

Akut miyokard İnfarktüsü (AMI), aterosklerotik koroner arterin trombüs tarafından tıkanması ile meydana gelen ve genellikle ciddi ve sürekli göğüs ağrısı ile karakterize klinik tablonun tanımıdır (Franzosi ve ark. 1998) ( Dauerman ve ark. 2000). Olgularda nekrozun nedeni; aterosklerotik zemin üzerinde; rüptüre olmuş veya endotelde fonksiyon bozukluğuna yol açan aterom plağı veya plağın üzerine yerleşmiş ve koroner damarlarda total tıkanıklığa sebep olan bir trombozis olayının yol açtığı miyokardial iskemik hasardır (Heper 2002).

Hemen hemen tüm miyokard infarktüsleri koroner arterlerin aterosklozosisinden ve genellikle bunların üzerine eklenen akut koroner trombozisten meydana gelir. Trombozisin en sık nedeni aterosklerotik plağın çatlamasıdır. AMI'inde aterosklerotik proçenin nedeni ne olursa olsun sonuç, koroner arter ağacının luminal daralması ve ardından total oklüzyondur (Gillum ve ark. 1984).

### **2.2 Epidemiyoloji**

Akut Miyokard İnfarktüsü (AMI), gelişmiş ülkelerde hastanede yatmakta olan hastalara en sık konulan tanılardan birisidir (Antman ve ark. 1997). Tanı ve tedavisinde son 20 yılda kaydedilen önemli gelişmeler, morbidite ve mortalite yönünden önemli bir iyileşme sağlamış olmakla birlikte, AMI günümüzde halen önemini korumaktadır (Franzosi ve ark. 1998) (Dauderman ve ark. 2000).

ABD'de her yıl ortalama 1,5 milyon AMI vakası görülmektedir. Mortalite oranı yaklaşık % 30 olup, hastaların yarısından fazlası hastaneye ulaşmadan yaşamlarını kaybetmektedir(Antman ve Braunwald 1997). AMI 'ne eşlik eden ölümlerin % 60'tan fazlası infarktüsün ilk bir saati içinde meydana gelir ve en çok da aritmilere, bunlardan da en çok ventriküler fibrilasyona bağlı olmaktadır (İlçin ve ark. 2003).

Avrupa da koroner kalp hastalığı, 45 yaş üzeri erkeklerde ve 65 yaş üzeri kadınlarda ölüm nedeni olarak birinci sırada yer almaktadır. Ülkemiz de her yıl

yaklaşık 200 bin yeni akut koroner vakası tespit edilmektedir(Boersma, Doornbos ve Bloomberg 1999). Bunların % 30 'u unstabil angina, % 60'ı Q dalgalı miyokard infarktüsü ve % 10' u Q dalgasız miyokard infarktüsü olarak tanı almaktadır (Heper 2002).

### **2.3 Risk Faktörleri**

Miyokard İnfarktüs için ana neden aterosklerozdur. Ateroskleroza yol açan faktörler MI içinde risk faktörleri olarak sayılmaktadır (Ridker ve ark. 2000).

Risk faktörleri; aterosklerotik süreci uzatması (plak yaygınlığı), oluşmuş plakların kararsız hale gelmesi (hassasiyet, erozyon ve rüptür), lokal (plak trombojenitesi) yada sistemik faktörlerle trombozun uyarılması şeklinde etkili olabilir (Davies 1992).

Tablo 2.1: Ateroskleroz gelişiminde etkili olan risk faktörleri (H. Dörtlemez 1997)(Ö. Dörtlemez 1997)(Demircioğlu ve Yazıcıoğlu 1990).

Majör Risk Faktörleri		Minör Risk Faktörleri
a)Değiştirilebilir olanlar	b)Değiştirilemeyenler	*Stres
*Dislipidemi:LDL-kolesterol yüksekliği,HDL-kolesterol düşüklüğü	*Genetik yatkınlık-aile öyküsü	*Kişilik yapısı
*Hipertansiyon	*Cinsiyet	*Hiperürisemi
*Hipertansiyon (a)	*Yaş	*Hiperkoagülabilite
*Hipertansiyon		*Hiperkalsemi
*Obezite		*Homosistein
*Fiziksel inaktivite		*Alkol
		*Antioksidan düzeyinin düşüklüğü
		*Eser elementler
		*Vazektomi
		*Kalp transplantasyonu

#### 2.4 Fizyopatoloji:

Akut miyokard infarktüsünün en sık sebebi, anstabil ya da rüptüre olmuş bir aterosklerotik plak üstüne oturmuş bir trombüstür (Davies 1992). Koroner arterler içindeki otheregülatuar mekanizmalar, aterosklerotik plaklar bulunsa bile miyokarda yeterli oksijen sunumunu genellikle devam ettirirler. Ancak bu koruyucu mekanizmalar bozulduğunda uzamış iskemi veya miyokard infarktüsü gelişebilir (Gök 2002).

## 2.5 Tanı:

Miyokard infarktüsü tanısı için klasik olarak WHO kriterleri kullanılır. Aşağıdaki kriterlerin ikisi varsa büyük ihtimalle, üçü varsa kesin olarak miyokard iskemisi tanısı konur:

1.20 dakikadan uzun süren iskemik tipte göğüs ağrısı olması

2.Seri EKG çekimlerinde değişiklikler olması

3.Kreatin Kinaz, Troponin-I ve Laktat Dehidrogenaz gibi kalp için spesifik enzim ve markırlarda artış ve düşüşler olması (Gillum ve ark. 1984).

WHO kriterleri, kardiyak biyomarkırlara daha fazla önem vermek için 2000 yılında yeniden düzenlendi. Yeni tanımlara göre kardiyak troponindeki yükselişe eşlik eden tipik semptomlar, patolojik Q dalgası, ST elevasyonu veya depresyonu veya koroner girişimler MI için tanı koyucudur (Albert ve ark. 2000)

## 2.6 Anamnez

AMI öncesi prodromal semptomlar siktir ve hastalıkların en az % 60 'ında mevcuttur. AMI vakalarının en az %8-10'u ağrısız olmakta ve birçok iskemik epizod sessiz geçirilmektedir (Fuster ve ark. 2002). AMI öncesi hastaların bir kısmında hiçbir semptom gözlenmezken bir kısmında angina mevcuttur. Koroner arter hastalığı olduğu bilinen kişilerde genellikle klasik anginaya benzeyen ancak ya istirahatte ya da eskiye oranla daha küçük efor da ortaya çıkan ve daha uzun sürede geçen ağrıların başlaması akut miyokard infarktüsüne öncülük eder. Miyokard infarktüsünde ağrı değişken olabilmekle birlikte çoğu zaman şiddetlidir ve en az 30 dakika devam eder, saatlerce de sürebilir. Genellikle baskı tarzında ezici-boğucu nitelikte bir ağrıdır. Nadiren bıçak saplaması veya oyucu tarzda ağrı olabilir. Genellikle retrosternal lokalizasyonludur ve sol taraf başta olmak üzere göğüsün her iki tarafını da içine alır. Sol kolun unlar yüzüne yayılarak kol, bilek, el ve parmaklarda uyuşmaya yol açar. Küçümsenmeyecek sayıda hasta grubunda ise ağrı

epigastrik bölgede başlar ve bu nedenle hazımsızlık bulgusu olarak düşünülüp tanının atlanmasına yol açabilir. AMI geçiren hastaların % 50 'sinden çoğunda bulantı-kusma ağrıya eşlik eder. İleri derecede halsizlik soğuk terleme çarpıntı ve ölüm korkusu ağrıya eşlik eden diğer semptomlardır. Tüm nonfetal miyokard infarktüslerinin % 20-60'ının hasta tarafından fark edilmeden geçirildiği, daha sonraki dönemlerde çekilen EKG ile tasadüfen tanı konulduğu gözlenmiştir. Hastaların yeniden sorgulaması yapıldığında bu infarktüslerin %50'sinin (tüm vakaların %25'i) hiçbir bulgu vermeksizin geliştiği kalan kısmının ise atipik prezentasyon nedeniyle hasta tarafından fark edilmediği ortaya çıkmıştır(Ömürlü ve Oral 1998).

## **2.7 Fizik Muayene**

Hastalar endişeli ve streslidir, buna bağlı olarak kaderli bir yüz ifadeleri vardır. Soluk cilt ve soğuk terleme sıktır. Kalp hızı derin bradikardiden taşikardiye kadar değişen aralıkta olabilir. İnfarktüsün erken dönemlerinde ağrı ve anksiyeteye bağlı olarak artış gösteren solunum sayısı giderek normale döner. Geniş miyokard infarktüsünde doku nekrozuna nonspesifik yanıt nedeniyle ilk 24-48 saat içinde vücut ısısı yükselir, 38 dereceye ulaşır 5-6 gün içinde rezorbe olur (Ömürlü ve Oral 1998). AMI'nın ilk saatlerinde kalp hızı ve ritmi kalp fonksiyonlarının önemli belirteçleridir. Normal bir hız genellikle hastanın ciddi hemodinamik sorun yaşamadığını gösterir. Sekonder hipotansiyon ilişkili olabilen bradikardi, miyokarddaki reseptörlerin vagal afferentlerle uyarılması sonucu oluşur. İlk 24-12 saatten sonra devam eden sinüs taşikardisi yüksek mortalite ile beraberdir. Kan basıncı genellikle normaldir ama anksiyeteye sekonder yükselmiş ya da kalp yetersizliği sebebi ile düşmüş olabilir. Hipertansiyon hastalarında kan basıncı normal seyredebilir (Fuster ve ark. 2002)

Genellikle nörolojik muayene normal olmasına rağmen azalan debiye bağlı hipoperfüzyonun yol açtığı mental durum değişiklikleri görülebilir. AMI'lü hastalarda sıklıkla anksiyete, depresyon ve bulunduğu durumu inkar gibi emosyonel değişiklikler gözlenebilir (Antman 2001) (Sonel 2003).



## **2.8 Elektrokardiyografi (EKG)**

Elektrokardiyografi (EKG), AMI'nün tanılmasında basit, kullanışlı ve en önemli yöntemlerden biridir. İnfarktüstten sonra enzimlerin yükselmesi saatler hatta günler gerektiğinden erken tedavi ve acil tedavideki yeri kısıtlı kalmaktadır. Halbuki EKG değişiklikleri çok daha erken olmakta ve böylece erken tanıdaki önemini yıllardır korumaktadır. AMI'nın tanılmasında erken dönemde seri çekilen 12 derivasyonlu EKG'nin tanısal değeri yüksektir. Bundan dolayı MI sınıflandırması EKG bulgularına göre yapılmaktadır. (ST elevasyonlu MI, ST elevasyonsuz MI) ST segment değişiklikleri, miyokard iskemisinin ilk göstergeleridir. ST segmentinde izoelektrik çizgisinin 1mm'nin üzerinde çökme veya yükselme yönünde artması anlamlı olarak kabul edilmektedir. Elektrokardiyografinin duyarlılığı %60'ı, özgüllüğü %90'ı geçmemektedir. MI geçiren olguların yaklaşık %10'unda normal EKG bulguları saptanabilmektedir (Antman ve Braunwald 2001)(Gök 2002)(Antman, Hand ve Armstrong 2008).

## **2.9 Kardiak Markırlar**

Biyokimyasal markerler hem miyokardiyal nekrozun tanısında, hemde prognozun belirlenmesinde yararlıdır. İskemi sırasında miyokard hücreleri membran bütünlüğünün bozulması sonucunda intraselüler makromoleküller önce interstisyuma, oradanda lenfatik dolaşıma geçer ve sonuç olarak periferik dolaşımda saptanabilirler (Zimmerman ve ark. 1999). Kardiak belirteçlerin hepsi miyokardiyal proteinler olmalarına karşın, miyosit içindeki yerleşimleri, hasar sonrası salınımları ve klirensleri açısından farklılık gösterirler (Burtis ve Ashwood 2005). İdeal bir kardiak belirteç şu özellikleri taşımalıdır: (Kültürsay 2004)

1. Sadece miyokard hasarında yükselmeli.
2. Hafif miyokard hasarında dahi düzeyi yükselmeli.
3. Hasardan hemen sonra salınabilmeli.

4.Hasar derecesi ile orantılı miktarda salınmalı

5.Kanda uzun dönem yüksek kalmalı.

6.Tekrarlayan hasarı göstermeli.

7.Kolay ve ucuz ölçülebilmeli

8.Test istek-sonuç alma süresi kısa olmalı.

Miyokardın hasarlandığını belirleyen proteinler şunlardır; myoglobin, kreatin kinaz izoenzimleri, kardiyak troponinler, yağ asidi bağlayıcı proteinler (FABP). Aspartat amino transferaz ve laktat dehidrogenaz gibi serum enzimlerinin miyokard infarktüsü tanısında hala yeri olmakla beraber artık sık kullanılmamaktadır(Ellis 1991).

### **2.9.1 Miyoglobin**

Miyoglobin, kalp ve iskelet kasında bulunan düşük molekül ağırlıklı bir proteindir.(17.8kDa) Yapılan çalışmalarda düşük molekül ağırlığa sahip olduğundan miyokardiyal hasar meydana geldiğinde serumda çok kısa sürede arttığı gösterilmiştir. Miyoglobin, miyokard enfarktüsünün duyarlı bir markeridir ancak özgüllüğü yoktur. Miyokardan hızla salınır ve böbrekten hızla atılır. Hızlı kinetiği nedeniyle, akut bir olayın başlangıcından sonra erken yükselir ve bu nedenle, kardiyak hasarın erken saptanması ve/veya ekarte edilmesi açısından güvenilirdir. Ancak özgüllüğü olmadığı için, güvenilir olan potitif prediktif değerinden ziyade, negatif prediktif değeridir.4-6 saatlik süre içinde miyoglobinde artış olmaması veya 6 saat geçtikten sonra artış olmaması, kardiyak hasarı ekarte etmek için doğru bir kriterdir (Martin 1998) (Rajappa ve Sharma 2005).

### **2.9.2 Kreatin Kinaz**

Kreatin fosfokinaz (CPK) stoplazmik ve mitokondrial bir enzimdir. Kalp kası, iskelet kası, beyin, prostat ve uterusunda bulunur. Kontraktilite için gerekli olan ATP oluşum reaksiyonunu katalizler. Aynı zamanda dönüşümlü olarak, fosfat vericisi ATP'yi kullanarak kreatini fosfatlar. M ve B subünitelerinden oluşmuş dimerik bir

yapıdadır. Bu iki subünitenin aralarındaki kombinasyonla üç izoenzim meydana gelir.

Tablo 2.2: Kreatin kinaz izoenzimleri ve buldukları dokular(Erener ve Aköz 2011)

Kreatin Kinaz İzoenzimleri	Buldukları Dokular
CK 1 (CK-BB)	Beyin dokusunda bulunur.
CK 2 (CK-MB)	Miyokard dokusunda bulunur ve total enzimin %3'ünü oluşturur.
CK 3 (CK-MM)	İskelet kasında bulunur ve total enzim düzeyinin % 97 'sini oluşturur.

Kreatin kinaz (CK)'nin ölçümü, uzun yıllar akut miyokard enfarktüsü tanısı için altın standart olmuştur. Artış, enfarktüsten 6 saat sonra başlar. Pik değerler, kabaca 24 saatte oluşur ve CK-MB 36-72 saatte normale döner.Bu nedenle 8-12 saatte bir kan alınması önerilir.Uygun klinik ortamla birlikte, yükselen ve düşen değerler oldukça diagnostiktir (Zimmerman ve ark. 1999).

Herhangi bir nedene bağlı miyokardial hücre ölümü, CK-MB de artışa neden olacaktır. Bu artışlar, kardiyak kontüzyon, elektriksel hasar, miyokard tutulumu ile birlikte ciddi perikardit ve miyokardit olan hastalarda açık bir şekilde gözlenmiştir. CK-MB'de artışın iskelet kası hasarına bağlı olabileceği olasılığı düşünülmelidir. Bu durumda oran kriterinin kullanılabileceği öne sürülmüştür. Bu yaklaşımın temeli, kalp, çok yüksek CK-MB oranı olan tek organ olduğu için, kandaki total CK miktarına göre daha yüksek CK-MB oranının, iskelet kasından ziyade kalp kasından salınımının olmasıdır. Yine CK-MB değerinin kronik böbrek yetmezliği tanısı olan hastalarda yüksek tespit edilmesi tartışma yaratmıştır. Bu artışlar kalsiyum, fosfor ve paratiroid hormonunun, protein kas turnover'i üzerindeki etkilerine bağlı olabilir (Jaffe ve ark. 1984).

### 2.9.3 Troponin

Kardiyak troponinlerin geliştirilmesi, kardiyak hasar tanısında devrim yaratmıştır. Saptanan troponin izoformları, kardiyak hasar açısından tamamen spesifiktir ve bunların artan duyarlılığı ve uzun süren diagnostik penceresi, daha önce bilinmeyen pek çok bozukluğu saptamaya başlamıştır.

Üç kardiyak troponin vardır: Troponin I (cTnI), T (cTnT) ve C (cTnC). Bu proteinler, aktin ve miyozinin kalsiyuma bağlı etkileşimini regüle ederler. cTnC, düz kasta bulunan troponin izoformu ile aynı olduğu için, kardiyak spesifitesi yoktur. Ancak, cTnI ve cTnT'nin kardiyak formları, özel genlerden gelmektedir ve bu nedenle, kardiyak özgüllükleri yüksektir.

Kardiyak özgüllük konusu, cTnI için barizdir. Günümüz de, cTnI kalp dışında hiçbir dokuda bulunamamıştır. (Sadece neonatal gelişim esnasında bulunan dokular). Bu son gözlem önemlidir, çünkü CK'nın B zincirinde olduğu gibi, neonatal gelişim esnasında taşınan proteinler çoğunlukla doku hasarına yanıt olarak yeniden taşınırlar.

Troponinlerin en önemli kullanım alanı AMİ erken tanısıdır. Yapılan çalışmalarda troponinlerin AMİ'indeki duyarlılık ve özgüllüğünün diğer kardiyak enzimlerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Kardiyak hasarı tespit etmede cTnT ve cTnI eşit duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (Martin ve ark. 1998)

Kalbe spesifik olan kardiyak troponin I (cTnI)'dır. İnsan cTnI'sı iskelet kası ile karşılaştırıldığında 30 aminoasit uzundur ve bu kardiyak özgüllüğünü sağlar. cTnI'nın insan ve hayvan iskelet kasında eksprese olmadığı gösterilmiştir (Bodor ve ark. 1995).

Kardiyak troponin T (cTnT)'nin kendine has 11 aminoasitlik dizisi kardiyak özgüllüğü verir. Fakat iskelet kasında az miktarda da olsa yapılmaktadır. Bu da cTnT insan fetal gelişimi esnasında rejenere olan kas dokularının hastalık hallerinde yapılmaktadır. Örneğin polimyozit, muskuler distrofi ve kronik böbrek yetmezliği olan hastaların iskelet kası örneklerinde cTnT bulunmaktadır (Ricchiuti ve ark. 1998).

#### **2.9.4 Diğer Serum Kardiyak Belirteçleri**

Laktat Dehidrogenaz: Laktat dehidrogenaz (LDH), tıpkı CK gibi pek çok dokuda bulunur. Kalp dışında özellikle böbrek, eritrosit, iskelet kası, beyin, mide ve karaciğerde bulunur. LDH'nin 5 izoenzimi vardır. Bu izoenzimlerden LDH-1 ve LDH-2 miyokard nekrozunun tanısında kullanılır.

Serum total LDH aktivitesi, göğüs ağrısı başladıktan sonra 8-12 saatte yükselir, 24-48 saat sonra pik değerine ulaşır, 7 gün veya daha uzun sürede normal değerine iner. LDH-1/LDH-2 oranının  $>1$  olması miyokard nekrozunu gösterir. Hospitalizasyondan günler öncesi geçirilen enfarktüs tanısı için yararlı olabilir. Ancak günümüzde kardiyovasküler hastaların değerlendirme ve tedavisinde kullanılmamaktadır.

Aspartat Aminotransferaz: Aspartat aminotransferaz (AST), 8-12 saat içinde değerleri yükselmeye başlar, 24-72 saatte pik yapar ve 2-5 gün yüksek kalır. Serum seviyeleri pek çok hastalıkta yükselmektedir. Bu nedenle tanı koymada artık kullanılmamaktadır.

## **2.10 Tedavi**

Teşhis sonrası doğru tedaviyle sağkalım oranının arttığı bilinmektedir. Bizim hastalarımızda doğru teşhis ve tedavilerinin sonucu olarak 30.günde kardiyoloji polikliniğine kontrollerine gelmiş ve kan örnekleri de bu sırada elde edilmiştir. Çeşitli kliniklerin tedavi protokolleri kliniğin ve hastaların özelliklerine göre bazı değişiklikler gösterse de genel olarak MI geçiren hastaya uygulanan tedavi başlıklar halinde aşağıda verilmiştir(Sonel 2003)(Enar 2006). AMI'de tedavide genel ilkeler:

A.Göğüs ağrısının tedavisi

B. Trombolitik ilaçlarla reperfüzyonun başlatılması

C. Hastanın koroner bakım ünitesine alınıp monitor edilmesine başlanması

D. Basit ve hafif diyet, ilk birkaç gün için sodyum kısıtlaması

E. Oksijen verilmesi

F. Kısa süreli  $\beta$ -blokör verilmesi

G. Hasta tam aktif hale gelinceye kadar, venöz tromboz ve pulmoner embolizmi önlemek için heparin veya düşük molekül ağırlıklı heparin, hirudin vb. verilmesi

H. Antitrombotik tedavi

J. Statin tedavisi

K.Cerrahi tedavi

### **3 APOPTOZİS**

Sıklıkla programlı hücre ölümüne eşdeğer olarak kabul edilen apoptozis, çok hücreli organizmaların genetik şifrelerinde bulunan ‘‘hücre intiharı’’ programlarının gelişimsel ve/veya çevresel uyarımlarla etkinleşmesi sonucu ortaya çıkan, gelişim ve farklılaşma sırasında organ yapısı ve işlevlerinin aktif değişimini sağlayan fizyolojik hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır ( Alles ve ark. 1991).

Apoptoz Yunanca bir sözcük olup (apo:den/dan ve ptosis: düşmek) ilk kez Kerr ve ark. (Kerr ve ark. 1972) tarafından 1972 yılında bir çeşit hücre ölüm şeklini tanımlamak için kullanılmıştır. Enerjiye bağımlı olarak gerçekleşen apoptoz, morfolojik değişimlerle kendini gösterir. İlk olarak hücre büzülür, nükleusta kromatin yoğunlaşır ve DNA parçalanır. Bu DNA parçaları ve çeşitli hücreyel organeller hücre zarı ile paketlenir (apoptotik cisimcikler) ve ortamdaki komşu hücre veya makrofajlar tarafından fagositozla uzaklaştırılırlar (Mills ve ark. 1999). Duke ve arkadaşları 1983 endonükleazların neden olduğu DNA kırıklarını jel elektroforezinde göstermişler ve apoptotik hücre ölümü ilk defa biyokimyasal anlamda ifade edilmiştir. Bu tarihten sonra apoptozis ile ilgili çalışmalar hızlı bir şekilde artmıştır (Wyllie ve Duvall 1992) (Thompson 1997). Takiben 1990’lı yılların ikinci yarısında apoptozis ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmış ve apoptozisin oluşmasında rol oynayan kaspaz (caspase) aktivasyonu, apoptotik hücrelerin fagositozu ve mitokondriyal membran geçirgenliğindeki değişiklikler tarif edilmiştir (Majno ve Joris 1995).

#### **3.1 Apoptozisin Görüldüğü Olaylar**

Apoptotik hücreler organizmanın bazı dokularında ve hücrelerinde sürekli olarak oluşmaktadır ve bu oluşum ömür boyu devam etmektedir. Böylece ölüm (apoptozis) ve yeniden yapım (mitozis) bu dokularda doku homeostazisini oluşturmak üzere dinamik bir denge halinde süregelir (Wright ve ark. 1996). Apoptotik hücrelerin uzaklaştırılması ve yerine yenilerinin konması günlük  $1 \times 10^{11}$  hücre olarak tahmin edilmektedir ki yetişkin bir bireyin total vücut ağırlığının her 18-24 ayda bir değişimine eşittir (Ulukaya 2007).

Apoptozis çok hücreli canlıların gelişimi esnasında da görülür. Çok hücreli canlıların normal ve doğru gelişimleri seçilmiş bazı hücrelerin apoptozisle ölmesine bağlıdır. Örnek olarak 1mm uzunluğunda transparant bir kurtçuk olan *Caenorhabditis elegans*'ın başlangıçta 1090 olan hücre sayısı tam olarak apoptozisle 131 hücre azalır ve böylece hermafroditik formdan yetişkin forma dönüşür(Hermann ve Kalden 2003).

Hücrelerin yaşam süreleri hücre tipine göre değişmektedir. Bağırsak hücreleri 3-5 gün, epidermal hücreler 20-25 gün, eritrositler ise 120 gün kadar yaşayabilirken, miyositler veya nöronlar ömür boyu yaşarlar (Tomatır 2003). Miyositlerin veya nöronların yaklaşık % 10-15'i ömrün sonuna doğru kaybedilmektedir. Zamanı gelince ölen bu hücreler, daha önceden programlanmış şekilde ölürler ("programmed cell death"). Ölümler fizyolojik şartlarda meydana geldiği için fizyolojik hücre ölümü ("physiological cell death") olarak da adlandırılır. Ayrıca, bir şekilde DNA'sı hasar görmüş (virüs etkisi veya çevresel nedenlerle) hücreler organizmanın zarar görmemesi ve organizmanın yararı için kendilerini öldürürler ("hücre intiharı veya cell suicide"). Doku homeostazisi için (örneğin yara iyileşmesi veya bağırsak hücrelerinin kendilerini yenilemelerinde (turnover) olduğu gibi ) hücreler ortamdan ölümler kaybolurlar ("cell deletion"). İşte tüm bu kavramlar apoptozis (effercytosis) ile eş anlamlı olarak kullanılabilen ve literatür de yer alan ifadelerdir (Tomatır 2003)(Altunkaynak ve Özbek 2008).

Programlanmış hücre ölümü, embriyogenezis, organ involüsyonu (örn:timus), immünolojik reaksiyonlar ve diferansiye hücrelerin yaşam sürelerinin sonlanması gibi bir çok fizyolojik olayda yer almaktadır (Alles ve ark. 1991). Apoptozis fetusta normal doku gelişiminin temel özelliğidir (Alles ve ark. 1991). Normal erişkin

dokularında ise hücre büyümesi ve apoptozis bir denge içindedir. Bu dengenin biri lehine bozulması çeşitli patolojilere yol açmaktadır. Genetik hücre ölüm programının hatalı ekspresyonu veya apoptotik hücre ölüm programının eksik uygulanması çeşitli karsinom, otoimmün hastalıkların ve viral infeksiyonların patogeneğinde rol oynamaktadır (Searle ve ark. 1982) (Saikumar ve ark. 1999). Kurbağaların metamorfozisi esnasında kuyruklarının kaybolarak erişkin forma geçmeleri apoptozisle gerçekleşir. Böylece yetişkin forma geçerler. Kuyruktaki hücreler apoptozisle ölecek kaybolur. İnsan embriyosunun el parmakları arasında bulunan perdelerin buradaki hücrelerin apoptozisle ölmesi sonucu kaybolduğu düşünülmektedir (Mcphie ve ark. 2003) (Piret ve ark. 2004).

Apoptozisin görüldüğü fizyolojik olaylara verilebilecek örnekler aşağıda sıralanmıştır:

\*Embriyogenez ve metamorfoz sürecinde programlı hücre yıkımı (fetus implantasyonu, organogenezis ve gelişim sürecinde yaşanan involüsyon)(Levison ve Hopvwood 1976).

\*Erişkinde hormona bağımlı involüsyon (menstrüel siklusta endometriyum hücrelerinin yıkımı, menopozda folikül atrezisi, laktasyonun kesilmesinden sonra meme bezlerinin rejenerasyonu) (Cohen 1993).

\*Sürekli çoğalan hücre gruplarında hücre sayısının dengelenmesi amacı ile hücre azaltılması (barsak kripta epitelleri) (Majno ve Joris 1995).

\*İmmün hücrelerin seçimi (hem B hem de T hücrelerinin sitokin deplasyonundan sonra ve timusun gelişimi sırasında otoreaktif T hücrelerinin ortadan kaldırılması )(Cohen 1993)

Apoptozisin görüldüğü patolojik olaylara verilebilecek örnekler aşağıda sıralanmıştır:

\*Tümörlerde hücre ölümü (hem büyüme hem regresyon aşamasında) (Cohen 1993).



\*Hormonlara bağlı dokularda patolojik atrofi (kastrasyon sonrası prostat atrofisi, glukokortikoid kullanımı sonrası timusta lenfosit kaybı) (Bellamy ve ark. 1995).

\*Parankimden zengin dokularda duktus tıkanmasından sonra patolojik atrofi (pankreas ve böbrek tübüllerinde olduğu gibi).

\*Sitotoksik T hücreleri ile oluşturulan hücre ölümü (otoimmün hastalıklar) (Cohen 1993).

\*Çeşitli etkenlerle oluşan hücre ölümü (radyasyon, antikanser ilaçları, hipertermi, hipoksi, travma)(Schwartzman ve Cidloski 1993).

### **3.2 Apoptozis Mekanizması**

Hücresinin kendi otomatik saati olan genlerin aktivasyonu veya çevreden gelen sinyallerle apoptozis başlamaktadır(Erdoğan 2003).

Apoptozis önceden hazır olan hücrelerde primer başlatılabilir ya da bir uyarıcı sonucu sekonder olarak gelişir. Hücre dışı uyarıcılar arasında; tümör nekroz faktörü (TNF), koloni uyarıcı faktörler (CSF), nöron büyüme faktörü (NGF) (Gürbilek ve ark 2004), IL-2 gibi maddelerin ortamda azalması, glukokortikoidler, radyasyon, ilaçlar, çeşitli antijenler önemli yere sahiptir. Otoimmün hastalık gelişiminde rolü olduğu belirtilen Fas/FasL (Bender ve ark. 2005), s Fas proteinleri, virüsler de (HIV gp 120 proteini, influenza virüsü TNF reseptörü üzerinden; adenovirüs hücre genetik yapısını bozarak) hücreyi apoptozise götürmektedir(Erdoğan 2003). Organizmada apoptozisi uyarıcı ve engelleyen çok sayıda gen bulunmaktadır (Öktem ve ark. 2001).

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki; transmembranik sinyal iletimi, büyüme faktörleri ve hormonlar gibi hücre ölüm mekanizmalarını baskılayan faktörlerin ortamdaki çekilmesi sonucunda apoptozis gerçekleşmektedir. Ayrıca tümör nekroz faktör reseptörü (TNFR) gibi plazma membran reseptörlerinin aktivasyonu ya da düşük dozda çeşitli zedeleyici ajanların ve glukokortikoidlerin intraselüler sinyal iletimi ile apoptoziste görevli proteinlerin sentezinin artırılması da apoptozis oluşumuna katkı sağlar. Apoptozisten sorumlu mekanizmaların başında kaspaz

enzim ailesinin aktivasyonu gelmektedir. “İnterleukin converting enzim (ICE)” olarak da adlandırılan kaspazlar, endonükleazları aktive ederek DNA sarmalına ve proteaz etkisiyle doğrudan stoplazmadaki proteinlere etki ederek morfolojik değişikliklerin ortaya çıkmasına yol açarlar. Ayrıca apoptoziste Bcl-2 gen ailesi, p53 geni ve Fas (CD95) geni gibi çeşitli genlerin rolleri de vardır (Kargı ve ark. 2007).

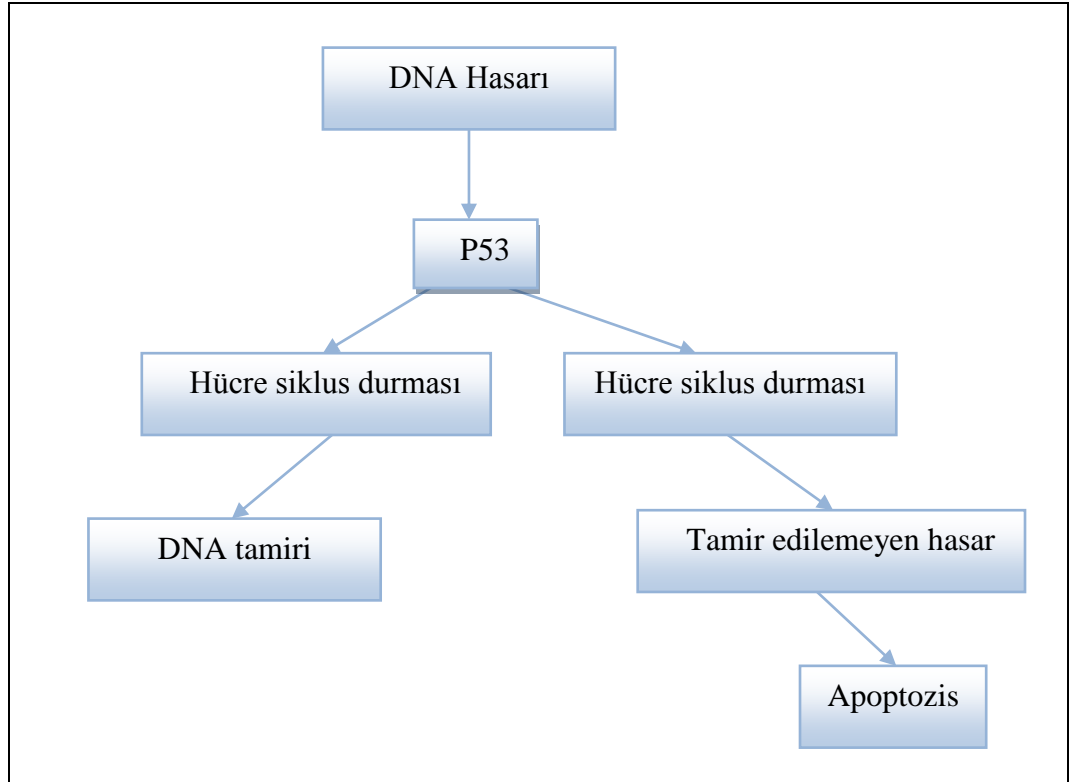
Tablo 3.1: Apoptozis ve Genler (Öktem ve ark. 2001)

Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi indükleyen genler
*Bcl-2 grubundan; BHRL-1, bcl-x1, bcl-w, bfl-1, brag-1, mcl-1, A1	* Bcl-2 grubundan; Bad, Bax, Bak, Bcl-Xs, bid, bik, Hrk1
*c-abl geni	*c-myc
*ras onkogeni	*p53, p21
*çözünebilir fas	*fas (CD95/APO1), FADD/MORT, RIP, FAST
*p35	*interlökin dönüştürücü enzim benzeri proteinler (İCE)
*A20	*LOH (MTS1/CDK41)

Apoptozisi etkileyen hücre içi uyarılar arasında sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarında artış, tümör nekroz faktör, DNA hasarı nedeniyle bir tümör süpressör gen olan p53’ün aktive olması, viral-bakteriyel enfeksiyonlar, glukokortikoidler ve onkojenlerin (cmyc gibi) yer aldığı bilinmektedir. Ayrıca hipertermi, radyasyon, sitotoksik antikanser ilaçları ve hipoksi gibi nekroz oluşturabilen etkenler hafif dozlarda apoptoz meydana getirirler. Apoptozda hücre ölümü çevreye rahatsızlık vermeksizin gelişse de bazen apoptozis dolaylı olarak çevre dokuda nekrozu başlatabilir ya da tam tersi nekroz apoptozis gelişmesine yol açabilir (Öktem ve ark. 2001).

Apoptoz sürecinde belli başlı üç anahtar bileşen vardır. Bunlar; Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve Apaf-1 (Apoptotik protease activating factor-1) proteindir.

Bu bileşenlerin biyokimyasal aktivasyonu, apoptozda gözlenen mitokondriyal hasar, çekirdek zarı kırılması, DNA fragmentasyonu, kromatin yoğunlaşması ve apoptotik cisimlerin şekillenmesi gibi morfolojik değişikliklerden sorumludur (Staley ve ark. 1997). Günümüzde apoptoz sürecinde rolü olan biyokimyasal ve genetik komponentlerin aydınlatılmasıyla birlikte apoptozun aktivasyonuna ya da inhibisyonuna yönelik çalışmalar; kanser, AIDS ve otoimmün bozukluklar gibi birçok hastalıkta yeni tedavi olanaklarını gündeme getirmektedir (Estaguiet ve ark. 1994).



Şekil 3.1: P53 aracılı apoptoz (Yuan ve ark. 1993)

Apoptozis, öncelikle kaspazları aktive eden birbirinden farklı ancak sonuçta birbiriyle birleşen ‘Ekstrenik= ölüm reseptörleri ile başlatılan ‘ yol ve ‘ İntrenik=mitokondriyal’ yoldan oluşan ‘Başlangıç Fazı’ adı verilen bir dönem ile başlar. Daha sonra enzimlerin hücre ölümüne neden olduğu ‘Uygulama Fazı’ denilen aşama ile sonlandırılır (Hökelek ve ark. 2009). p53 ilk olarak 1979 yılında tümör gelişimi lehine işlev gösteren bir protein olarak tanımlanmıştır (Lane ve Crawford 1979). p53’ün hücre işlevlerine bakıldığında, hücrenin yaşaması ya da

ölmesi ile ilişkili yollarda merkezi konumda bulunduğu görülmektedir (Velculescu ve El-Deiry 1996)(Harris 1996).

### **3.3 Apoptoz Uyarıcıları**

a) Genetik kontrol (Embriyolojik evreden doğum sonrası yaşam boyu etkilidir.)

b) İyonize radyasyon

c) İlaç ve çevresel faktörler (steroid tedavisi, kemoterapi, insektisitler, tarımda kullanılan ilaçlar, kozmik ışınlar)

d) İskemi reperfüzyon, mekanik travmalar, viremi, bakteriyemi, sonrası gelişen sepsis ve septik şoklar.

### **3.4 Apoptotik Hücre Ölümünün Aşamaları**

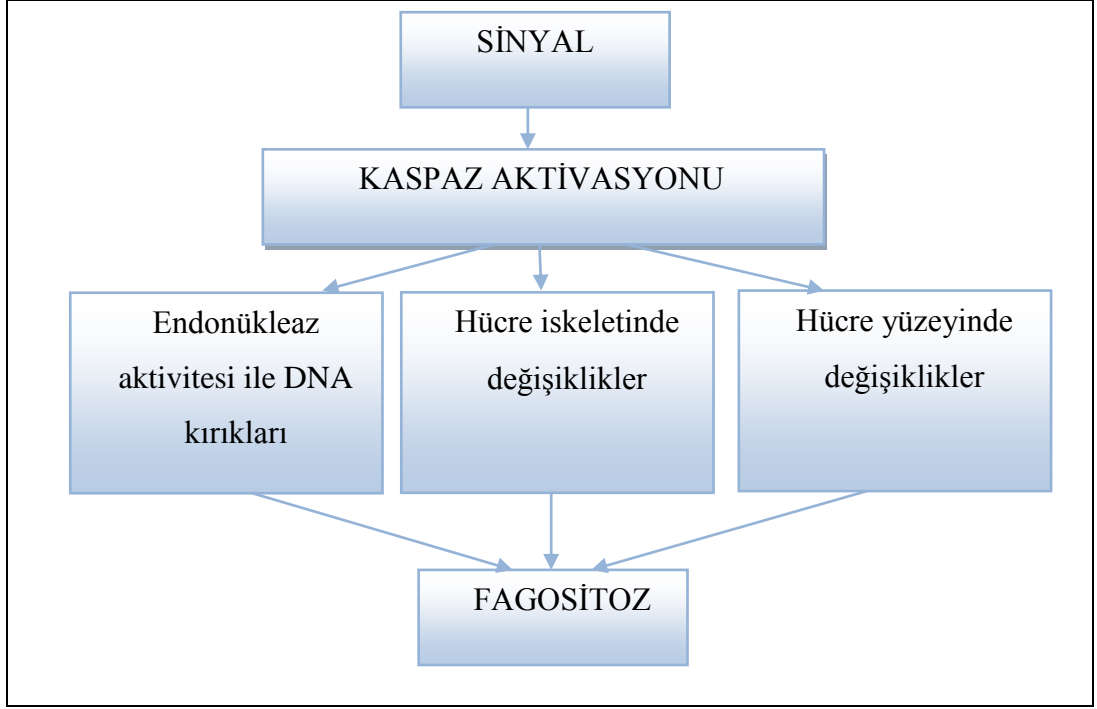
Apoptoz hücre içinden veya dışından gelen sinyallerle başlatılan ve birbirini takip eden bir olaylar zinciri olarak seyreder. Bu aşamalar;

I) Apoptozun başlatılması

II) Hücre içi proteazların (kaspazların) aktivasyonu

III) Hücrede çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerin oluşması,

IV) Fagositoz, olarak özetlenebilir (Afford ve Ranthawa 2000).



Şekil 3.2: Apoptoz basamakları(Öztürk 2002)

Hücre içinden veya dışından gelen sinyaller, kaspazları aktive eder. Aktive olan kaspazlar hedef proteinlerini yıkararak, hücre içi değişikliklere neden olur. Sonuçta hücre parçalanarak apoptotik cisimlere ayrılır. Apoptotik cisimler fagositoz yoluyla yok edilirler.

#### D)Apoptozun Başlatılması (Sinyal Üretici Yollar)

Hücresinin apoptoza gidebilmesi için ilk önce, ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirecek bir sinyalle karşılaşması gerekir. Bu sinyal hücre içinden veya dışından gelebilir (Thompson 1999)(Mountz ve Zhou 2001)(Afford ve Ranthawa 2000).

#### Hücre Dışından Kaynaklanan Sinyaller

Hücrelerin maruz kaldığı dış etkenler; Hipoksi, ısı, antikanser ilaçlar, radyasyon, gamma ve ultraviyole ışınlar gibi etkenler DNA hasarı oluşturarak apoptoz meydana getirirler (Renehan ve ark. 2001) (Cotran ve ark. 1999).

Çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği: Hücreler çevre hücrelerden ve ekstrasellüler matriksden gelen yaşam sinyallerine, büyüme faktörlerine ihtiyaç duyarlar. Bu sinyaller düzenli bir şekilde ve yeterli miktarda

olmazsa hücreler apoptoza giderler (Thompson 1999). Örn: nöronlar ‘‘nerve growth factor (NGF)’’ yetersizliğinde apoptoz gösterebilirler (Cotran ve ark. 1999). Çevreden gelen sinyallerin kesilmesi ile hücre ölümünün nasıl başladığı tam olarak bilinmemektedir. Büyüme faktörüne bağımlı hücrelerin kültürlerinde, büyüme faktörleri çekildiği zaman, hücrelerin metabolizmalarında ani bozulmalar ve hücre siklusunda duraklama olduğu izlenmiştir (Thompson 1999).

## II) Ölüm reseptörlerinin aktivasyonu ( Reseptör-Ligand etkileşmesi)

Bazı sitokinler hücre membranında bulunan reseptörlere bağlanarak ölüm programını harekete geçiren sinyaller üretebilirler(Thompson 1999) (Cotran ve ark. 1999) (Carlson 1999). Apoptozda rol alan membran reseptörleri içinde en önemli grup ‘‘tumor necrosis factor receptor (TNFR)’’ ailesidir. Bu reseptör grubunun en az 19 üyesi vardır. Bu reseptörlerin biyolojik etkileri çeşitlidir ve apoptoz ile sınırlı değildir (Afford ve Ranthawa 2000). Bir kısmı apoptoz oluştururken, bir kısmı proliferasyona neden olur. Bir kısmı ise her ikisini de oluşturur. TNRF içinde apoptoz oluşturan reseptörlerden en önemlileri Fas ve TNRF1’dir. Bu reseptörler uyarıldıklarında, hücrenin stoplazmasında bulunan parçaları, ‘‘adaptör proteinlere’’ bağlanır. Adaptör proteinlerin ölüm efektör parçaları vardır. Bunlar da apoptoz için başlatıcı olan kaspazlara (örn:prokaspaz 8) bağlanırlar (Jones ve Gores 1997) (Cotran ve ark. 1999).

**Fas-Fas ligand aracılı apoptoz:** Bu tip apoptoz hücre yüzey reseptörü Fas (CD95, APO-1) aracılığı ile oluşur. Fas ligandın Fas reseptörüne bağlanması ile Fas reseptörünün hücre içinde bulunan parçası, Fas adaptör proteinle (FADD-Fas adapter protein with a death domain) birleşerek ölüm başlatan sinyal kompleksini (death inducing signalcomplex-DISC) oluşturur. Bu da prokaspaz-8 in aktifleşmesini sağlar (Budd 2002).

Fas ligand membrana bağlı veya solubl olabilir. Solubl fas ligand (FasL, CD95L) immun sistem hücreleri tarafından oluşturulur. Bu ligandın T hücreleri membranında bulunan Fas reseptörüne bağlanmasıyla, immün reaksiyonla aktive olmuş ve görevlerini tamamlamış olan lenfositlerin apoptoz ile yok edilmeleri sağlanmış olur (Thompson 1999)(Cotran ve ark. 1999)(Gastman 2001).

**Tumor Necrosis Factor (TNF) aracılı apoptozis:** Bir sitokin olan TNF'nin TNF reseptörleri ile birleşmesi (örn TNFR1) sonucunda reseptörün hücre içinde bulunan parçası, TNFR adaptör protein (TRADD- TNFR adapter protein with a death domain) ile etkileşir. TRADD daha sonra FADD ile birleşerek prokaspaz 8'i aktive ederek apoptozu neden olur (Cotran ve ark. 1999).

Fas reseptörünün aksine, TNFR1'in TRADD'la etkileşmesi her zaman apoptoz ile sonuçlanmaz. TRADD, FADD yerine başka adaptör proteinlere bağlanabilir. Bunun sonucunda önemli bir transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör- $\kappa$ B(NF $\kappa$ B) harekete geçebilir. Bu durumda hücre canlı kalır. Hücrede hangi yolun, nasıl seçildiği açık değildir. Ancak, hücrede aktif NF $\kappa$ B (bazı tümörlerde bulunur) bulunduğu zaman, hücrenin canlı kaldığı düşünülmektedir (Cotran ve ark. 1999)

### **Tümör Nekroz Faktör(TNF)**

Tümörlerde hemorajik nekroz yaptığı için bu ad verilmiştir. Kaşektin olarak da bilinir. TNF, TNF- $\alpha$  ve TNF- $\beta$  olarak ikiye ayrılır. TNF- $\alpha$  ve TNF- $\beta$  arasında yaklaşık %30 oranında benzerlik vardır. 6. Kromozom üzerinde yer alan iki ayrı gen tarafından yapılır. Aynı hücre yüzey reseptörüne bağlanmak için yarışır. TNF- $\alpha$ 'nın molekül ağırlığı 17kDa'dır. TNF- $\alpha$  başlıca aktif makrofajlar tarafından yapılır. TNF'nin iki ayrı gen tarafından kodlanan 2 ayrı reseptörü vardır. Tip II reseptör başlıca miyeloid hücrelerde bulunurken Tip I pek çok hücrede mevcuttur (Tokgöz 1997).

TNF- $\alpha$ 'nın biyolojik fonksiyonları konsantrasyonuna bağlıdır. Düşük konsantrasyonlar da etkisi lokaldir. Lökositler ve endotel hücreleri üzerine otokrin ve parakrin etki yapar. TNF- $\alpha$ , damar endotelinde bazı adezyon moleküllerinin ortaya çıkmasına yol açar. Adezyon molekülleri endotelin önce nötrofiller daha sonrada mononükleer lökositler için yapışkan olmasını sağlar. Böylece inflamatuvar reaksiyondan sorumlu hücreler infeksiyon sahasına toplanır. TNF- $\alpha$ , nötrofil, eozinofil ve mononükleer fagositlerin mikroorganizmaları öldürmesini aktive eder, mononükleer fagositler ve diğer bazı hücrelerin inflamatuvar yanıtta önemli rolleri olan IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  ve kemokin gibi sitokinlerin üretimini uyarır (Tokgöz 1997).

## **TNF- $\alpha$ 'nın Genel Sistemik Etkileri:**

**1-TNF- $\alpha$** , endojen pirojendir. Hipotalamik etkiyle ateş oluşturur. Bu ateşin nedeni, hipotalamik hücrelerin aşırı prostoglandin sentezlemesidir.

**2-TNF- $\alpha$** , mononükleer fagosit ve vasküler endotelin IL-1 ve IL-6, hepatositlerin ise akut faz proteinlerini sentezlemesini uyarır. Akut faz proteinleri, organizmada bir doku hasarı ve inflamasyon olduğu zaman plazma düzeyleri değişiklik gösteren proteinlerdir. Bunlardan bazılarının konsantrasyonu artarken (C-reaktif protein, serum amiloid-A, alfa-2 makroglobulin, fibrinojen, seruloplazmin, ferritin, kompleman komponent-3 gibi) bazılarınınki düşer (albümin, transferin gibi).

**3-TNF- $\alpha$** , damar endotelinin prokoagulan ve antikoagulan fonksiyonlarında değişiklikler yaparak pıhtılaşma sistemini aktive eder.

**4-TNF- $\alpha$** , uzun süre verildiğinde kemik iliğinde kök hücre bölünmesini baskılayarak lenfopeni, immün yetmezlik ve kaşeksi gelişmesine yol açabilir.

TNF- $\alpha$  osteoblastik alkalen fosfataz aktivitesini, osteoklastların kemik rezorpsiyonunu, kondrositlerin kartilaj turnover'ını, fibroblast ve sinoviyal hücrelerin proliferasyonunu uyarır. Aşırı miktarda TNF- $\alpha$  salınımı dolaşım yetmezliği ve dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) ile ölüme sebep olabilir (Tokgöz 1997).

Tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), endotelden, düz kashücrelerinden ve makrofajlardan, çeşitli biyolojik etkilere yanıt olarak dolaşıma salınmaktadır (Warner ve Libby 1989). Önceleri, tümör hücreleri, üzerine hemorajik nekroz etkileri ile tanımlanan TNF- $\alpha$ 'nın sonraki yıllarda kardiyovasküler sistem üzerine etkileri de tanımlanmıştır. Özellikle hayvanlarla yapılan çalışmalarda, TNF- $\alpha$ 'nın progresif sol ventrikül disfonksiyonuna, pulmoner ödeme, sol ventrikül yeniden biçimlenmesine, fetal gen ekspresyonuna ve kardiyomiyopatiye neden olduğu gösterilmiştir (Ridker ve ark 2001) (Frangogiannis ve ark. 2002).

**Sitotoksik T lenfosit aracılı apoptoz:** Sitotoksik T lenfosit (CTL) infekte olmuş olan konakçı hücrelerin yüzeyinde bulunan yabancı antijenleri tanırlar. CTL'lerin



ana görevi malign ve/veya virus ile infekte olmuş olan hücrelerin öldürülmesidir (Cotran ve ark. 1999) (Rodenburg ve ark. 2000).

Yabancı antijenleri tanıdıklarında yüzeylerinde Fas ligand oluşur. Hedef hücrelerin Fas reseptörlerine tutunurlar. CTL'ler sitoplazmaların da granzyme B (serin proteaz) ve perforin adı verilen ve apoptoz oluşmasını sağlayan proteinler içeren stoplazmik granüllere sahiptirler (Redenburg ve ark. 2000). Perforin, transmembran por oluşturucu bir proteindir. CTL'ler hedef hücrelerin membranlarında perforin ile porlar oluşturarak, sitoplazmalarına granzyme B salgırlar. Granzyme B hedef hücrelere girerek kaspazları aktive eder (Cotran ve ark. 1999).

### **Hücre İçinden Kaynaklanan Sinyaller:**

DNA hasarı, hücre içi  $Ca^{++}$  seviyesinde artış, hücre içi PH'da düşme, metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları hücreyi apoptoza götüren merkezi hücre ölüm sinyallerini başlatabilmektedir (Thompson 1999).

## **II) Hücre İçi Proteazların Aktivasyonu**

### **Kaspazlar**

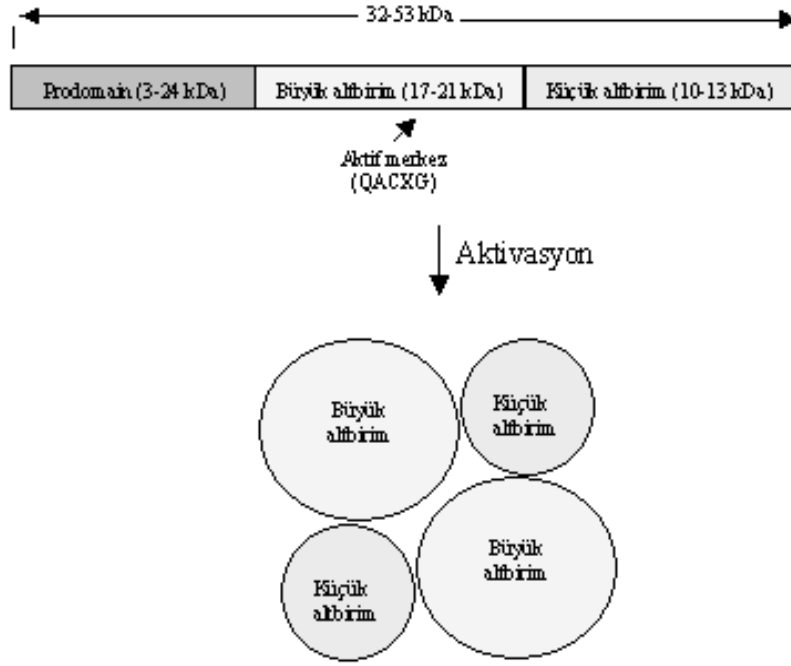
İ ve dış sinyallerle hücre içinde bulunan bir grup proteaz aktive olur. Bu proteazlara "Kaspaz (caspase= cysteine-containing aspartate spesifik proteases) adı verilmektedir. İnsan hücrelerinde 10'dan fazla kaspaz tespit edilmiştir (Cotran ve ark. 1999).Kaspazlar hasarlı veya fazla olan hücrelerin çevrelerine zarar vermeden ortadan kaldırılmasını sağlayan programlanmış hücre ölümü (apoptozis) uyaran proteazlardır. Apoptotik hücrede meydana gelen morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler sistin proteazlar olan kaspazlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Tüm kaspazlar amino asit sekansları, yapıları ve substratları yönünden benzerlik göstermektedir. Hepsi proenzim olarak sentezlenmektedir. (30-50 kDa). Üç önemli domain içermektedirler; amino ucu domain (prodomain), büyük alt birim ve küçük alt birim. Aktif merkez, büyük alt birimde yer almaktadır. Aktivasyon bu domainler arasında peptit bağlarının kırılması ve daha sonra büyük ve küçük alt birimler birleşerek iki aktif merkez içeren tetramerik aktif enzimi oluştururlar. Kaspazlar proteazlar arasında en çok spesifisite gösteren enzimlerdir. Kesinlikle aspartik asitten

sonra substratlarını kırmaktadırlar. Aspartik asitin önündeki 4 amino asit (tetrapeptit) kompozisyonu ve bunların üç boyutlu yapısı spesifisitede önemli etkiye sahiptir. Apoptoziste görev alan kaspazlar tablo 3.2 da görülmektedir (Cohen 1993)(Reed 2000)

Efektör kaspazlar katepsin veya kalpein ( $Ca^{+2}$  tarafından aktive edilen hücre hareketinde ve adhezyonda rol alan proteaz) gibi diğer proteazlar tarafından da aktive edilebilmektedir. Kaspaz enzimlerinin aktivasyonuna ve dolayısıyla apoptozis uyarılmasına neden olan dış etkenlerden bazıları UV ışını, gama ışını, radyasyon, ilaçlar ve toksinler sayılabilir (Philchenkov 2004).

Tablo 3.2: Kaspazların Yapısal Özellikleri(Philchenkov 2004)

Enzim Başlatıcı Kaspazlar	Moleküler Ağırlık (kDa)	Alt Birimler
Kaspaz-2	51	19/22
Kaspaz-8	55	18/11
Kaspaz-9	45	17/10
Kaspaz-10	55	17/12
Kaspaz-12	50	20/10
Efektör Kaspazlar		
Kaspaz-3	32	17/12
Kaspaz-6	34	18/11
Kaspaz-7	35	20/12



Şekil 3.3:Kaspaz alt birimlerinden aktif kompleks oluşması (Nicholson 1999)

Sağlıklı hücrelerde kaspazlar, enzimatik olarak inaktif ve aktif forma göre daha uzun bir polipeptid zincir olarak bulunurlar. Buna zimogen form denir. Kaspazlar başlatıcı ve sonlandırıcı kaspazlar olarak ikiye ayrılırlar. Ölüm reseptörleri adaptör proteinler aracılığı ile, iç sinyaller mitokondri aracılığı ile başlatıcı kaspazları aktive ederler. Aktive olan başlatıcı kaspazlar da, zincirleme olarak diğer kaspazları aktive ederler (Cotran ve ark. 1999)

Gerek ölüm reseptörleri yolu gerekse mitokondriyal apoptozda rol alırlar. Kaspazların günümüze dek 14 izoformu keşfedilmiştir. İlk keşfedilen kaspaz C. elegans'ın ced-3'ü olup memelilerde interleukin-1 beta dönüştürücü enzim (ICE) ile denktir. Daha sonraları kaspaz-1 olarak adlandırılmıştır.

Kaspazlar üç kategoride incelenir:

Başlatıcı kaspazlar (kaspaz-8,9)

Etkileyici kaspazlar (kaspaz-3,7)

İnflamatuvar kaspazlar (diğerleri)

Kaspaz aktivitesi proteolitik kaskad yoluyla olmaktadır. Kaspaz inaktif iki prokaspazın hidrolizi, yani uzun ve kısa bacakların kendi aralarında yan yana gelmesiyle aktive olurlar. DED ve CARD inhibitör prodomenini içeren uzun kollar yarılarak ortamdan uzaklaşır. Asıl aktif kısım yan yana bir arada bulunan iki kısa koldur. Başlatıcı kaspazlar otoaktivasyonla, etkileyici kaspazlar ise transaktivasyon yoluyla otokatalitik olarak aktive olmaktadır (Strasser ve ark. 2000).

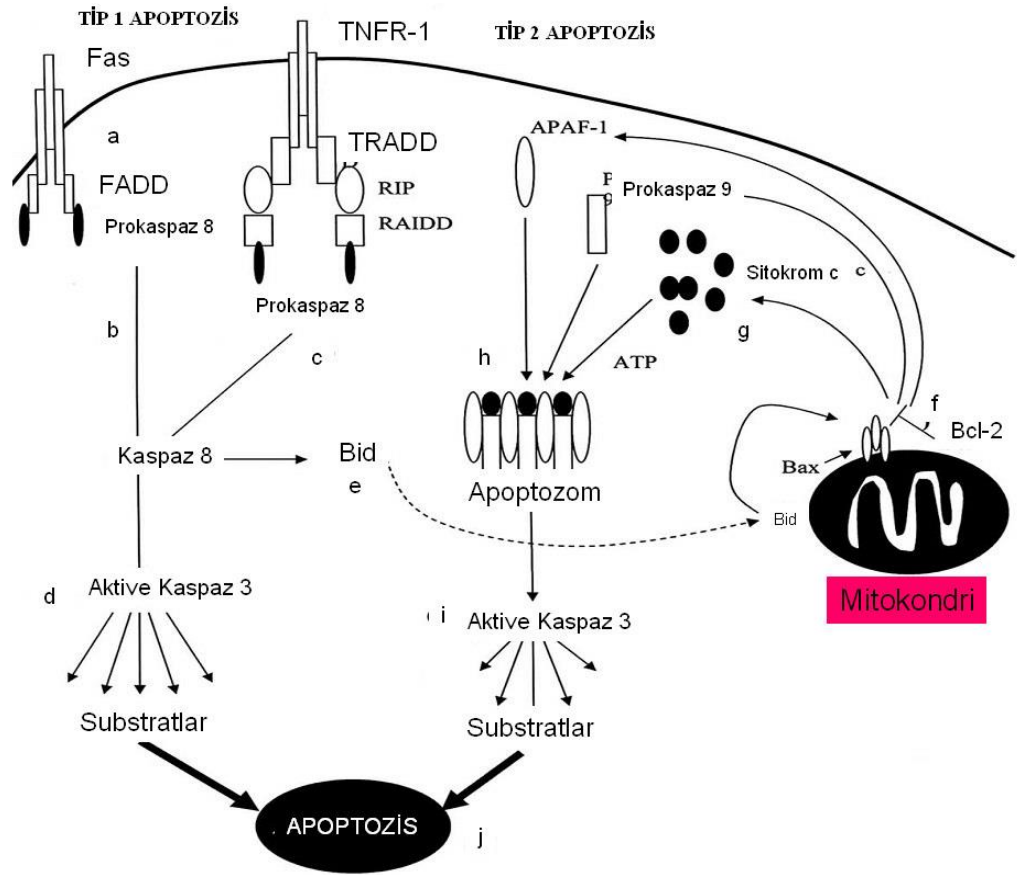
Apoptoz süresince oluşan birçok morfolojik ve biyokimyasal değişimler kaspazların aktivasyonu ile gerçekleşir. Sistein proteazlar olarak bilinen kaspazlar, aspartik asitten sonraki peptid bağımlıdır. Apoptozda kaspazların iki farklı yolla gerçekleşebilir. Hücre yüzeyindeki ölüm reseptörlerini kullanan dış (ekstrinsik) yol, özgül ölüm sinyallerinden sorumludur. İç (intrinsik) yol ise endoplazmik retikulum ve mitokondri aracılığıyla sinyalleri içerir (Danial ve Korsmeyer 2004).

Dış yolda, Fasl tümör nekroze edici (TNF) gibi ölüm ligantları reseptörleri ile birleştiğinde kendilerinde doğal olarak bulunan ve ölüm bölgeleri olarak adlandırılan FADD ( Fas associated death domain) ve TRADD (TNFR associated death domain) ile etkileşime geçerler (Shi ve Wei 2007). FADD ve TRADD prokaspaz-8'i keserek aktif kaspaz-8 de, prokaspaz-3'ü keserek aktif kaspaz-3'ü oluşturur. Böylece kaspazların kaskat şeklinde aktivasyonları başlamış olur.

İç yolda mitokondri, ölüm sinyallerini iletmede ve yükseltgemedede önemli role sahiptir. Radyasyon ve sitotoksik maddeler gibi uyarımlar proapoptotik etkili Bax ve Bak'ın mitokondri membranına transloke olup sitokrom-c'nin mitokondriden salıverilmesine neden olurlar. Sitokrom-c mitokondriden salıverildikten sonra APAF-1'e ( 'apoptotic protease activating factor-I') bağlanır ve onu etkinleştirir. ATP'nin de bu yapıya katılmasıyla apoptozom adı verilen kompleks bir yapı oluşur. Sitokrom-c sitoplazmada APAF-1, kaspaz-9 ve ATP ile birleşir. Oluşan bu yapıya apoptozom denir(Ferri ve Kromer 2001)(Hatton 2001). Bu yapı inaktif olan prokaspaz-9 aktif kaspaz-9'a dönüştürür. Kaspaz-9 da kaspaz-3'ü etkinleştirir. Aktif kaspaz-3, kompleks halinde bulunan kaspaz ile aktifleşen deoksiribonükleaz ve inhibitörünü keserek birbirinden ayırır. Böylece serbest haldeki kaspaz ile aktifleşen deoksiribonükleaz, apoptozun göstergesi olan kromatin yoğunlaşmasına ve DNA parçalanmasına neden olur.

Apoptozom oluşumu, kaspaz inhibitörü (IAP-Inhibitor of apoptosis proteins) ile engellenebilir. Mitokondriyal proteinler olan Smac/DIABLO ve Omi/HtrA2 ile de IAP'ın etkisi antagonize edilir.

Ayrıca ekstrinsik uyarı ile mitokondriyal yol da etkinleşir. Aktif haldeki kaspaz-8, proapoptotik etkili Bid'i etkin ederek sitokrom-c salıverilmesine neden olur (Takai ve ark. 2001).



Şekil3.4: Apoptotik yolların birlikte gösterimi. (Deniz ve Akar 2008)

**a.** Fas'ın ligandına bağlanması.**b./c.** Prokaspaz-8'in kaspaz-8'e dönüşerek aktifleşmesi. **d./i.** Aktif kaspaz-3'ünsubstratlarına yönelmesi. **e.** Bid'in mitokondriye transportu. **f.** Bcl-2'ninapoptozom oluşumu için prokaspaz-9 ve Apaf-1'i uyarması. **g.**Mitokondridensitokrom c salınımı **h.** Apoptozom oluşumu. **j.** Hücrenin apoptozise girmesi

### III)Hücrede Oluşan Biyokimyasal Ve Morfolojik Değişiklikler

Biyokimyasal Değişiklikler: Sonlandırıcı kaspazlar aktive olduktan sonra stoplazmada ve çekirdek içinde hedef proteinleri yıkarlar.

**1-DNA kırıklarının oluşması:** Hedef proteinlerden bir tanesi DNA endonükleaz ile bağ yapan bir proteindir. Kaspazlar bu proteini yıkararak endonükleazı serbestleştirirler. Çekirdek içine giren  $Ca^{++}$ - $Mg^{++}$  bağımlı endonükleaz, DNA kırıkları oluşturur. Kırıklar nükleozomların arasından mono veya oligonükleozomal olarak meydana gelir. 180 baz çifti ve katları şeklinde kırılma oluşur (Cotran ve ark. 1999) (Griffiths ve ark. 1999).

**2-Hücre iskeletinin yıkılması:** Kaspazların aktifleştirdiği bir başka protein ise hücre iskeletinin ana bileşenlerinden olan aktini yıkan bir proteindir. Aktin filamanlarının yıkılması ile hücre normal şeklini kaybeder (Griffiths ve ark. 1999)

**3-Hücre membran değişiklikleri:** Kaspazların etkisiyle hücre membranının asimetrisi bozular. Plazmalemmmanın iç yüzünde bulunan fosfatidilserin yer değiştirerek membranın dış yüzeyine yerleşir. Ayrıca bazı apoptotik hücreler hücre membranlarında thrombospondin denilen adheziv bir glikoprotein ve bazı hücre adhezyon molekülleri (örn: ICAM 3) içerirler. Bütün bu membran değişiklikleri apoptotik hücrelerin çevre fagositler tarafından fark edilmelerini ve fagositozlarını sağlamaktadır (Cotran ve ark. 1999) (Afford ve Ranthawa 2000).

Transglutaminaz aktivasyonu ile membran proteinlerde oluşan çapraz bağlanmalar, membranların parçalanmasını ve apoptotik cisimlerin oluşmasını sağlar (Cotran ve ark. 1999).

### 3.5 Morfolojik Değişiklikler

Hücreler özelleşmiş yüzeysel yapılarını ve diğer hücrelerle olan temas yüzeylerini kaybederler. Su kaybederek küçülürler, büzüşürler. Sitoplazmanın yoğunlaştığı, organellerin birbirlerine yaklaştığı izlenir. Membranlar bütünlüklerini korurlar. Organeller genel olarak sağlamdır. Bazen ribozomlarda çökme izlenebilir. Sitoplazma da yüzeye paralel yerleşmiş mikrofilaman kümeleşmeleri ve

endoplazmik retikulumda geçici genişlemeler görülür. Bu genişlemelerin sitoplazmadaki suyun endoplazmik retikuluma geçmesi ile oluştuğu sanılmaktadır. Dilatasyona uğrayan sisternalar hücrenin yüzeyi ile birleşerek yüzeyde krater manzarası oluşturur. Mitokondriler genellikle normal yapılarını korurlar.

En önemli değişiklikler çekirdekte izlenir. Kromatin çekirdek membranına yakın kısımlarda yoğunlaşarak, değişik şekil ve büyüklüklerde çöker. Elektron mikroskop ile bakıldığında kromatinin yoğun granüller yarım ay, hilal veya yüzük şeklinde çekirdek membranının iç yüzünde yerleştiği izlenir. Çekirdek de hücre gibi büzüşür. Bazen membranla sarılı olarak birkaç parçaya ayrılabilir. Nükleer porlar kromatinin membrana komşu olmadığı bölgelerde yoğunlaşırlar.

Apoptoz hemotoksilen eozinle (H-E) boyanmış kesitlerde ışık mikroskopik seviyede de izlenebilir. Hücreler koyu eozinofilik sitoplazmalı, bir veya birkaç parçalı piknotik çekirdekli olarak görülür. Çekirdek, kromatinin çekirdek membranının iç yüzüne yerleşmesi nedeniyle hilal veya yarım ay şeklinde izlenebilir (Wyllie ve ark. 1992) (Cotran ve ark. 1999).

#### **IV) Fagositoz**

Apoptotik cisimler çevredeki parenkim hücreleri ve fagositler tarafından fagosit edilerek dokudan temizlenirler (Wyllie ve Duvall 1992) (Cotran ve ark. 1999).

#### **Apoptoziste Kaspazların Rollerini**

Apoptozis yaklaşık olarak 30-60 dakika sürmektedir. Apoptozis, DNA fragmentasyonu, kromatin kondensasyonu, membranla çevrili veziküllerin görüldüğü bir seri olaylar dizisini içermektedir. Apoptozis esnasında kaspazlar tarafından yıkılan yaklaşık 40 substrat tespit edilmiş olup bu substratların yıkımı apoptoziste görülen bu olayları tetiklemektedir. Görevlerinden bir tanesi, hücreyi apoptozisten koruyan proteinleri ortadan kaldırmak ve inaktive etmektedir. Bu proteinlerden bir tanesi ICAD'dır. Bu protein normalde CAD (kaspaz aktiviteli deoksiribonükleaz) proteinine bağlanarak hücre içinde bu enzimi inaktif durumda tutmaktadır. Apoptotik bir uyarı geldiğinde kaspazlar aktive edilir edilmez bu inhibitörü (ICAD) yıkarak

CAD enzimini serbest bırakmaktadır. Serbest kalan CAD enzimi nükleozomlar arasındaki DNA'yı kırarak 200 bp uzunluğunda DNA fragmentleri oluşturmaktadır. Bu oluşan DNA fragmentleri agaroz jel elektroforezde DNA merdiveni şeklinde görülmektedir (Enari, et al. 1998). Kaspazlar ayrıca apoptozisi inhibe eden negatif regülatörleri yıkarak hücre ölümünü tetiklemektedir. En önemli negatif apoptozis inhibitörü Bcl-2'dir. Bcl-2 gibi işlev gören ve benzerlik gösteren diğer bazı apoptozis inhibitörleri Bcl-XL, Bcl-w ve Mcl-1 proteinleridir (antiapoptotik proteinlerdir). Aynı şekilde Bcl-2 proteinine benzerlik gösteren fakat apoptozisi tetikleyen diğer bazı proteinler ise Bax, Bak, Bad, ve Bcl-xs proteinleridir (proapoptotik proteinlerdir)(Reed 2000).

### **3.6 Apoptozis ile Nekrozun Farkları**

Hücre ölümü ile ilgili ilk bilgiler 1920 yılında ışık mikroskopunun ve yeni boyama yöntemlerinin keşfiyle başlamış ve ilk olarak nekroz tanımlanmıştır. (Kumar, Abbas ve Fausto 2005). Hücre ölümü canlı sistemlerdeki dinamik dengenin kontrolü için gerekli bir stratejidir ve hücre ölümünün iki genel farklı formu olan apoptozis ve nekrozis tanımlanmıştır. Nekrozis hücre membranının daha erken bir zamanda bozulması ile sonuçlanan ve hipoksi/iskemi, aşırı sıcaklık ve mekanik travma gibi şiddetli çevresel ajanlar ile ilgili durumlara cevap olarak ve kaza eseri oluşan pasif bir süreçtir (Kerr ve ark. 1972) (Frber ve Mofty 1975) (Wyllie ve ark. 1980). Buna zıt olarak, apoptozis ya da programlanmış hücre ölüm mekanizması, sıkı bir şekilde düzenlenen enerji bağımlı hücre içi mekanizmanın aktivasyonunu içerir (Yuan, Evolutionary conservation of a genetic pathway of programmed cell death 1996). Apoptozis tipik olarak inflamatuvar değişiklikler olmadığında tek hücre ölümüdür (Wyllie ve ark. 1980). Erişkin organların ve dokuların homeostazisine ilave olarak embriyonik dokuların morfogenezinde de rol alır. Örneğin, fetal ve postnatal gelişim süresince akciğerin normal yapısal olgunlaşmasına eşlik eder (Schittny ve ark. 1998). Apoptozis aynı zamanda organizmada tehlikeye maruz kalan (örn: viral enfeksiyona maruz kalmış) hücreleride elimine etmektedir. Apoptotik hücreler tipik morfolojik değişiklikler ile tanımlanır (Kerr ve ark. 1972). Başlangıç olarak fosfatidil serine maruz kalma gibi ufak değişiklikler olmasına rağmen, hücre membran bütünlüğü devam ettirilir. Apoptotik hücrelerin diğer karakteristik



özellikleri hücre büzüşmesi, membranda kabarcık oluşması, nükleer kromatin kondensasyonu ve fragmantasyonunu içerir. Sonuç olarak, hücre bu iş için özelleşmiş olan fagositler (makrofajlar ve dendritik hücreler) tarafından yutulacak olan membranı çevreleyen apoptotik yapılara parçalanır. Hücre kültüründe, apoptozisin daha sonraki aşamalarında apoptotik yapılar plazma membran bütünlüğünü kaybederler, bunu tüm hücre bütünlüğünün kaybı takip eder ve aynı zamanda bu ikincil ‘’nekrozis’’ olarak adlandırılır (Wyllie ve ark. 1980).

Apoptotik hücre ölümünün alternatifi olan nekrozis, hücrelerin enerji bağımsız bir pasif ölüm modudur. Fakat nekrozis, ‘’onkosis’’ adı verilen, karyoliz ve hücre şişmesi ile hücre ölümüne, apoptozis hücre büzülmesi ise piknoz ve karyoreksis ile hücre ölümüne yol açar. Bunun için onkotik hücre ölümü terimi ve onkotik nekroz, hücre şişmesine eşlik eden hücre ölümünü tanımlamak için alternatifler olarak önerilir, fakat yaygın olarak kullanılmazlar (Majno ve Joris 1995).

Nekrotik hücre yaralanması, hücre membranlarının direkt zarar görmesi ve hücre enerji kaynaklarının engellenmesi olarak ifade edilen iki temel mekanizma aracılığıyla gerçekleşmektedir. Nekrozis ile oluşan bazı majör morfolojik değişiklikler; hücre şişmesi, sitoplazmik vakuollerin oluşumu, endoplazmik retikulumun şişmesi, sitoplazmik kabarcıkların oluşumu, kondanse olmuş, şişmiş ya da rüptüre uğramış mitokondri, ribozomların ayrılması ve dağılması, bozulmuş organel membranları, şişmiş ve rüptüre olmuş lizozomlar ve sonuç olarak da hücre membranının bütünlüğünün kaybedilmesi sitoplazmik içeriklerin, çevre dokuya salınımına yol açar. Bunun aksine apoptotik hücreler, hücre içeriklerini çevre dokuya bırakmaz ve inflamatuvar reaksiyonu uyarmadan, makrofajlar ya da bitişindeki normal hücreler tarafından hızlı bir şekilde fagosit edilirler (Savil ve Fadok 2000)(Kurosaka, et al. 2003).

Geleneksel histolojinin kullanımı ile apoptozisi nekrozisten ayırmak bazen kolay değildir. Çünkü uyarıların şiddeti, süresi, ATP tüketim miktarı ve kaspazların kullanırlığı gibi faktörlere bağlı olarak iç içe geçmiş olabilirler (Fiers, et al. 1999)(Zeis 2003).

Tablo 3.3: Apoptozis ile Nekroz Arasındaki Farklar(Searle, Kerr ve Bishop 1982)

Özellik	Nekroz	Apoptozis
Dağılım	Komşu hücre grupları	Dokuda tek tek hücreler
Nedenler	Her zaman patolojik	Fizyolojik/patolojik
Eksüdatif yangı	Genellikle var	Yok, ± hücresel immünitede
Işık mikroskopi	Bazofili, piknoz, karyoneksis, karyoliz	Kresentik görünüm, eozinofilik partikül
Elektron mikroskopi	Hücrede şişme, membranda yırtılma, kromatinde erime, kayıp	Volüm kaybı, apoptotik cisimcikler
Fagositoz	Mononükleer hücreler	Fagositik hücreler ve komşu
Mekanizma	Kimyasal ya da yapısal parçalanma	Makromolakül sentezini gerektiren aktif hücresel yıkım

### 3.7 Kardiyovasküler Sistemde Apoptozis

Apoptosis sıklıkla hücre siklusunda progresyon gösteren hücrelerde olur. Bu nedenle terminal differansiye olmuş kardiyak hücrelerde oluşmayacağı düşünülmüştür (Bennet ve Boyle 1998). Ancak hayvan ve insanlarda postmortem çalışmalar ve endomiyokardiyal biyopsi sonuçları miyokarda da apoptozisin görülebileceğini ortaya koymuştur. Normalde kardiyovasküler sistemin normal embriyonik gelişimi sırasında apoptozis yoğun olarak meydana gelirken erişkinlerde apoptozis mekanizmaları, kalpte inaktif halde bulunur (James 1999). Çeşitli kardiyak ve vasküler hastalıklar da apoptozis mekanizmalarında değişiklikler gösterilmiştir.

Kısmi koroner tıkanıklık angina pectorise, tam tıkanma ise akut miyokard infarktüsüne (AMİ) neden olur. Eğer kan akımı AMİ'nin başlangıcında çabuk düzeltilmezse fazla miktarda kardiyomiyosit ölümü meydana gelir. Kan akımının sağlanmasının da bazı sakıncaları vardır; bu durum da reperfüzyon hasarına neden olur. Yakın zamanlara kadar reperfüzyon hasarının nedeni bilinmiyordu ve kardiyomiyositlerin nekrozu sonucu olduğu düşünülüyordu. Şimdi reperfüzyon hasarında apoptozun rol oynadığı anlaşılmıştır. Tedavi apoptozu azaltmaya yönelmiş ve bu alanda bazı başarılarla elde edilmiştir. Akut miyokard infarktüsü sırasında iskemik miyokard dokusunda aşırı Bax ekspresyonu saptanmıştır. Antisens

teknolojisiyle Bax inhibisyonu, apoptozu inhibe ederek kardiyomiyosit ölümünü azaltabilir.

Diğer bir strateji ise kaspaz aktivitesini inhibe ederek apoptozu azaltmaktır. Bir kaspaz inhibitörü olan z-VAD-fmk'nin hayvan modellerinde meydana getirilen miyokard infarktüsünde miyokardiyal reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir. Apoptozu uğrayan hücrelerden çıkan phosphatidylserine annexin-V bağlamak suretiyle, apoptozu uğrayan hücrelere floresans mikroskopunda izlenebilmiştir. Ne yazık ki z-VAD-fmk reaktif oksijen türevlerini artırır ve yaygın toksisitelere neden olur. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) infüzyonunun miyokard iskemili hayvan modellerinde apoptozu azalttığı gösterilmiştir. IGF-1 PKB/Akt sinyalini uyararak hücre sağkalım süresini arttırır (Gill ve ark. 2002).

#### **4 ANJİYOGENEZ**

İnsanların hayatlarını sürdürebilmeleri; besin ve oksijenin organ ve dokulara taşınmasını bunun yanında dokulardan artık maddelerin uzaklaştırılmasını sağlayan kompleks yapıdaki damar ağına bağlıdır. Damarsal yapının olduğu ilk evreye vaskulojenesis denmektedir. Anjiyogenesis ise damarların oluşmasından önceki evrede endotel hücrelerinin kümelenmesi ile oluşan kapillerlerin dallanması, genişlemesi ve küçük damarların büyüüp filizlenmesidir. Kısaca anjiyogenesis, yeni damar gelişimi olarak tanımlanmaktadır (Folkman ve Shing 1992). Vücudumuzdaki kan damarları vaskülogenez ve anjiyogenez yolları ile oluşmaktadır. Vaskülogenez, primitif damar oluşumdur ve endotel hücre prekürsörleri olan anjiyoblastlardan farklılaşmaktadır. Anjiyoblastlar, ekstraembriyonik mezodermden gelişen mezenşimal hücre topluluğundan meydana gelmektedirler. Anjiyoblastlar çoğalıp birleşerek öncül damar yapıları olan primer kapiller pleksustan yeni damar yapıları filizlenir ve dallanırlar (Carmeliet 2003).

Anjiyogenez, mevcut kan damarlarından yeni kan damarlarının gelişmesidir. Vücutta doğal olarak ortaya çıkan bir süreç olup, bazı patolojik durumlarda da olabilir.

Fizyolojik anjiyogenez, embriyogenez, yara iyileşmesi ve kadın üreme sisteminde gözlenir. İnflamatuvar hastalıklarda (artrit, kronik inflamasyon, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, psöriazis ), çeşitli kanserlerde (meme, mesane, kolon, akciğer, nöroblastom, melanom, böbrek, pankreas, uterus, serviks, glioblastom) ve göz hastalıklarında (yaşla ilişkili makülerdegenerasyon, proliferatif retinopati) anjiyogenez patolojik olarak ortaya çıkmaktadır. Periferik arter hastalıklarında ve gecikmiş yara iyileşmesinde ise anjiyogenezin yetersizliği söz konusu olmaktadır (Felmeden ve ark. 2003)(Konukoğlu ve Turhan 2005).

Gelişimin ilk haftalarında çevre dokudan difüzyon ile beslenen embriyo, büyüdükçe artan besin ve oksijen talebini karşılayamamaktadır. Bu nedenle erken dönemde (üçüncü haftanın başında) anjiyogenezis (kan damarı oluşumu) başlar. Anjiyogenez çoğu zaman doku ve organların oluşumu için embriyonik fazda meydana gelmektedir. Yetişkinde ovaryon siklus ve yara iyileşmelerinde de anjiyogenez izlenmektedir (Daly ve ark. 2003).

Anjiyogenez, büyüme ve gelişme ile yara iyileşmesi gibi süreçlerde olması beklenen bir olaydır. Bununla beraber bazı durumlarda patolojikte olabilmektedir. Anjiyogenez tetikleyen ve önleyen faktörler arasındaki denge bozulduğu takdirde dengenin bozulduğu yön lehine anjiyogenezde eksiklik veya fazlalık görülebilir (Carmeliet 2003)

Kanserlerde, romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi inflamatuvar hastalıklarda, maküler degenerasyon gibi değişik göz hastalıklarında patolojik olarak anjiyogenez meydana gelmektedir. Periferik arter hastalıkları, kalp yetmezliği, infertilite ve gecikmiş yara iyileşmesi gibi durumlarda ise anjiyogenezde yetersizlikler saptanmıştır (Li ve ark. 2008).

Fizyolojik anjiyogenez ve patolojik anjiyogenez sonucu oluşan damar yapılarında farklılıklar mevcuttur. Patolojik anjiyogenez ile oluşan kan damarlarında lümen başına düşen endotel sayısı artmaktadır.

Endotel tabakası içerisinde tümör hücreleri izlenebilir. Tümör mikro damarlanmasında sırası ile arter, arteriyol, kapiller, post kapiller venül, venül ve ven

dizilimi bozulmakta ve tümör içerisindeki damarsal yapılanmalar heterojenite gösterebilmektedir (Heath ve Bicknell 2009).

Anjiyogenezin düzenlenme evreleri pek çok büyüme faktörünün ve düzenleyici proteinin kontrolü altındadır. Anjiyogenez oldukça karmaşık bir mekanizma ile gerçekleşir. Ekstraselüler matriks ve matriksi çevreleyen hücrelerden salınan pek çok büyüme faktörü, sitokinler ve bunların reseptörleri anjiyogenezde temel rol oynar (Felmeden ve ark. 2003)(Konukoğlu ve Turhan 2005). Damar endotelini oluşturan endotel hücreleri, anjiyogenez süreci içinde yer alan temel hücrelerdir. Perisitler ile birlikte kapiller ağı oluşturucu genetik bilgileri içerirler. Anjiyogenezin sıkı denetlendiği kadın üreme sistemi ve yara iyileşmesi gibi fizyolojik durumlar dışında anjiyogenez organizmada oldukça sınırlıdır(Konukoğlu ve Turhan 2005). Erişkin insanlardaki vasküler endotel hücreler tipik olarak düşük turnover hızında olmalarına rağmen, yaşamları boyunca yeni kan damarları oluşturacak çoğalma kapasitesine sahiptirler. 70 kg'lık bir insanda bir trilyondan fazla endotel hücre, kan damarlarının içini döşer ve bu da yaklaşık 1000 metrekaarelik bir alana eşittir. Endotel hücrelerin yaşam siklusu (yenilenme süresi) 1000 günü geçer (Allure 2003). Henüz tüm anjiyogenetik etkileşimlerin niteliği açıklığa kavuşmamıştır. En büyük olasılık anjiyogenik uyarıcılar ve anjiyogenez inhibitörleri arasındaki dengenin, normalde damarsal bileşenlerin sessiz halde kalmalarını sağlıyor olmasıdır. Anjiyogenik uyarıların artışı ve anjiyogenez inhibitörlerinin azalması anjiyogenez başlatmaktadır.

#### **4.1 Anjiyogenez Fizyopatolojisi**

Yeni damar oluşumu; bazal membranın proteolitik enzimler tarafından yıkılması, endotel hücrelerin aktivasyonu, proliferasyonu, göçü, tübül oluşumu, olgunlaşması, damar stabilizasyonu ve ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesini kapsayan çok basamaklı bir süreçtir.

##### **4.1.1 Bazal Membranın Proteolitik Enzimler Tarafından Yıkılması**

Anjiyogenez süreci damar endotelini döşeyen kollajen, laminin gibi glikoproteinlerden ve heparan sülfat gibi proteoglikanlardan oluşan bazal membranın proteolitik yıkımı ile başlar (Mignatti ve Rıfkın 1996). Endotel hücreleri göç etmek ve çoğalmak üzere uyarıldığında membran ve hücreler arasında bir bölünme meydana gelir. Normal de, endotel hücreleri yayılma etkisi göstermeyen tek bir tabaka oluştururlar. Ancak anjiyogenez sırasında çoğalıp yayılma gösterirler. Normal, hastalıklı yada hasarlı dokularda üretilip salgılanan anjiogenik büyüme faktörleri komşu dokulara difüzyon yolu ile geçer. Anjiogenik büyüme faktörleri komşu dokulara difüzyon yolu ile geçer. Anjiyogenik büyüme faktörleri yakınındaki önceden var olan kan damarlarının endotel hücrelerinde bulunan özgün reseptörlere bağlanırlar. Büyüme faktörleri tarafından aktive edilen proteolitik enzimler bazal membranın ve endotel hücrelerini döşeyen ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin yıkımına neden olur. ECM'nin enzimatik yıkılımını, endotel hücrelerinin uyarılması ve kapiller filizlenme izler (Ausprunk ve Folkman 1997).

#### **4.1.2 Endotel Hücrelerde Göçme ve Çoğalma**

Anjiogenik uyarı, proteolitik yıkım ile kısa bir süre sonra endotel hücreleri aktive eder. Endotel hücreleri ekstraselüler matrikse göç eder ve çoğalır. Bu süreçte en etkili anjiogenik faktör vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF)'dir (Ferrara ve ark. 2003)

#### **4.1.3 Kapiller Oluşumu ve Damar Olgunlaşması**

Endotel hücre çoğalmasından sonra ECM bileşenlerinin depolanması ve bir araya getirilmesi için ekstraselüler proteoliz mutlaka lokal olarak inhibe edilmelidir. Kapiller filizlenme oluşuktan sonra yine bu filizlenmenin ucunda yeni oluşmuş ECM'de yıkılma ortaya çıkar ve bu sayede daha ileri yayılımı mümkün olur. Bazal membranın yıkılması endotel hücre göçüne ve filiz oluşumuna izin verir. Endotelin yol alması ve uzaması sırasında hücre içi ve hücreler arası boşlukta, sonunda kendilerinden damarların oluştuğu lümenler gelişir. Böylece, ekstraselüler matriks proteolizinin birbirini sırayla izleyen aktivasyon ve inhibisyonları sonucunda kapiller oluşur. Proteolitik yıkılma ve endotel hücresi göçünden sonra yeni oluşan kapillerler,

yeni bazal membranı oluştururlar. Bu nedenle, endotel hücresinin yeni kapiller yapılar oluşturabilmeleri için birbirlerine ve ECM'e tutunma gereksinimi vardır. Damar olgunlaştıktan ve uygun anjiyogenez ortaya çıktıktan sonra anjiyogenik faktörlerde azalma görülürken, anjiyogenez inhibitörlerinde artış gözlenir. Böylece endotel hücreleri sessiz bir hale bürünür ve damarlar kan akımını başlatmaya hazır hale gelmiş olur (Pepper ve ark. 1996) (Haroon ve ark. 1999).

Bu olayları özetleyecek olursak, fibroblast büyüme faktörü (basic-FGF) ve VEGF gibi büyüme faktörlerinin aktivasyonu, hücrelerin çoğalmasını ve ekstraselüler matriks içine göç etmesini uyarır. Aynı zamanda, büyüme faktörleri tarafından aktive edilen proteolitik enzimler bazal membranın ve endotel hücrelerini döşeyen ECM bileşenlerinin yıkılmasına neden olur. Mitojenik endotel hücreleri kapiller filizleri oluşturur. İntegrinler gibi membran proteinleri de bu süreç içinde yer alır ve endotel hücrelerinin birbirine ve ECM'ye tutunmalarına yardımcı olurlar, böylece yeni kapillerler oluşur. Büyüme faktörlerinin inhibisyonu veya büyüme faktör inhibitörlerinin varlığı anjiyogenezi azaltır. ECM'nin proteolitik yıkımı da inhibe olur yeni oluşmuş kapillerle etrafında matriks bileşenleri sentez edilir.

Tablo4.1: Anjiyogenez Modulatorleri(Mignatti ve Rıfkın 1996)

Anjiyogenik Faktörler	Anjiyogenezi Önleyen Faktörler
VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktör)	Trombospondin-1
PGF (Plasental büyüme faktör)	Anjiostatin
FGF (Fibroblast büyüme faktör)	Endostatin
FGF-3 (Fibroblast büyüme faktör-3)	Vazostatin
FGF-4 (Fibroblast büyüme faktör-4)	Vasküler endotelial büyüme faktörü inhibitörü
TGF- $\alpha$ (Transforme edici büyüme faktör- $\alpha$ )	Trombosit faktör-4 fragmanı
TGF- $\beta$ (Transforme edici büyüme faktör- $\beta$ )	Prolaktin derivesi
EGF (Epidermal büyüme faktör)	Restin
HGF (Hepatosit büyüme faktör)	Proliferinle ilgili protein
TNF- $\alpha$ (Tümör nekroz faktör)	İnterferon-a-p
PDGF (Trombosit kaynaklı büyüme faktör)	Anjiopoetin-2
GCSF (Granülosit koloni uyaran faktör)	Antitrombin-3 fragmanı
IL-8 (İnterlökin-8)	İnterferon ile indüklenebilen protein-10
Anjiogenin	İnterlökin-12
IGF-1 (İnsülin benzeri büyüme faktörü-1)	
Proliferin	

### IGF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1)

İzole edilmiş büyüme hormonuna (GH) bağımlı büyüme faktörü, kırkırdakta sülfat bileşimini artırmasından dolayı ilk kez 1957'de Salmon ve Daughaday tarafından sülfasyon faktörü olarak tanımlanmıştır (Whitler ve ark. 1996). Daha sonra yapılan araştırmalarda, insülin benzeri bir biyolojik aktivitenin serum immunoreaktif insülininden bağımsız şekilde var olduğu görülmüş ve buna Non-suppressible Insulin Like Activity (NSIL) adı verilmiştir. 1978'de insülin benzeri yapısal özellikleri nedeniyle bu peptidler Insulin-Like Growth Factors (IGF)-İnsülin benzeri büyüme faktörleri olarak adlandırılmıştır (Gluckman ve ark. 1987) (Whitler ve ark. 1996).

İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF) yapısal olarak proinsülin formuna sahip olduklarından, metabolik olarak da hipoglisemiye neden olmalarından dolayı insüline benzemektedirler. IGF'ler mitojenik etkilerini lokal dokularda otokrin ve parakrin mekanizmalar üzerinden gerçekleştirirler (Wang 1999). IGF'nin iki temel formu vardır. Bunlar tek zincirli polipeptit yapısında olan ve insülin ligandlarından



oluşan IGF-I ve IGF-II formlarıdır (Clemmons 1994). IGF-I ve IGF-II'nin molekül ağırlıkları sırasıyla 7649-7471 kdaltondur (kDa) (Clemmons 1994). Büyüme hormonuna bağımlı IGF-I aynı zamanda somatomedin C olarak da adlandırılır ve 70 aminoasit içeren bazik bir peptittir (pH=8.1-8.5). IGF-II ise 67 aminoasit içeren nötral bir peptiddir. IGF-I ve IGF-II arasında %62 oranında benzerlik vardır. IGF-I ve IGF-II üç disülfid köprüsü olan tek zincirli moleküllerdir. IGF-I ile proinsülin arasında aminoasit dizisi açısından %43 oranında benzerlik varken IGF-II ile proinsülin arasında %41 oranında benzerlik görülür (Clemmons 1994).

Plazma IGF-1 seviyesi vücut boyutu ile ilişkilidir. Uzun boylu çocukların yüksek plazma IGF-I seviyesine sahip oldukları belirtilmiştir (Beaune ve ark. 1997).

IGF'ler büyüme hormonun stimülasyonu ile karaciğerden salgılanır. Bunun yanında GH birçok dokudan IGF sentezi ve salınımını düzenleyerek hormonun otokrin ve parakrin etkilerini değiştirir (Khan ve ark. 2002). Kan IGF konsantrasyonu 300-600 ng/ml'dir. Bu mekanizma GH tarafından uyarılır, GH reseptörlerinin aktive olması IGF-I sentezini ve salınımını artırır. Hipofizektomi yapılan hayvanlarda dolaşımdaki GH elimine edilerek IGF-I'in dolaşımdaki seviyesinin anlamlı bir şekilde azaldığı gözlenmiştir (DeVol ve ark. 1990) (Fan ve ark. 1994). IGF-I seviyesi büyüme hormonuna bağlı olduğu için yaş ile değişir. IGF-1 seviyesi bebeklik ve çocukluk döneminde düşük, pubertede yüksektir (Cheo ve ark. 1992) ve yaşla birlikte azalır (Allen ve ark. 1995).

IGF'lerin insülin benzeri metabolik etkileri vardır. İskelet ve kas dokusunda proteolizi inhibe ederek, protein sentezinde ve büyüme hormonunun metabolik etkilerinde mediatör olarak rol alırlar (Siddle ve ark. 1994) (Beaune ve ark. 1997). Lipoliz inhibisyonu, yağ dokusunda glikoz oksidasyonunu, diyafram ve kalp kasına glikoz ve aminoasit transpotunu, kollajen ve protooglikan sentezini artırırlar. Kalsiyum, magnezyum ve potasyum homeostazında pozitif etkiye sahiptirler (Whitler ve ark. 1996).

İskelet kas formasyonunun da büyüme faktörlerinin olduğu kesindir. Çeşitli büyüme faktörleri içinde IGF kasa özel proteinleri içerir. IGF-I'in hücrel etkisi IGF-I reseptör (IGF-IR) tarafından düzenlenir. IRS-I sinyali IGF'lerin myojenik

aktivasyonunda önemlidir. IRS-I ve IGF-I geninin çıkarılması sonrasında farelerde normal organ (kalp ve böbrek) gelişimi sürdürülürken, gastrokinemius kasının normal gelişiminin yetersiz olduğu gösterilmiştir (Peta ve ark. 1999). IGF-IR kas üzerinde iki farklı etki mekanizması yaratır; bunlardan ilki mitojen aktiviteli protein kinaz (MAPK) diğeri ise fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3K) aktivasyonudur. MAPK aktivasyonu özellikle mitojenez için çok önemlidir. MAPK aktivasyonunun bloke edildiği çalışmalarda IGF-1 ve IGF-II cevabı olan myoblast proliferasyonunun önlendiği görülmüştür (Coolican ve ark. 1997). PI3K aktivasyonu IGF-1'in iskelet kaslarında 3 önemli etkisine aracılık eder;

1-Programlanmış hücre ölümü ve apoptozise direnç

2-Miyotüblere miyoblastların füzyonu

3-Protein ve glikoz alımına anabolik etki (Adi ve ark. 2000)(Singleton ve Feldman 2001)

## **İNERLÖKİN-8**

Son yıllarda lökositler ve fibroblastlar için kemotaktik aktivitesi olan yeni bir sitokin ailesi tanımlanmıştır. Bu kemotaktik sitokinler kemokinler olarak adlandırılmış olup moleküler ağırlıkları 8000 ile 16000 arasında değişir. % 20-50 aminoasit dizisi ile birbirlerine benzerler. 7-transmembran reseptörlerine bağlanarak,  $10^{-8}$  -  $10^{-11}$ M konsantrasyon da aktive olurlar. IL-8'de bu kemokin ailesinin bir üyesidir (Oppenheim ve Ruscetti 1997)

Kemokinler çeşitli hücreler tarafından üretilirler. Bu hücreler aktive monosit-makrofaj ve endotel hücreleridirler ve çeşitli hücre tipi kombinasyonları için kemotaktiktirler. Miktar olarak oldukça fazla üretilirler. Bu proteinler için henüz tek tip bir isimlendirme sistemi oluşturulmamıştır, yaptıkları işe yönelik isim alırlar (Parham 2000). IL-8'in kaynağı monositler, makrofajlar, fibroblastlar, keratinositler ve endotel hücreleridir. Kemokinler hedef hücrelerin dominant olarak büyümelerinden ziyade fonksiyonlarını etkiler. Doku yaralanması ve inflamasyonu

olan yerlere spesifik tipte hücrelerin göçünde önemli rol oynar (Oppenheim ve Ruscetti 1997). IL-8'in hedef hücreleri ise nötrofillerle T hücreleridir. Nötrofillerin mobilizasyonunu, aktivasyonunu ve degranulasyonunu sağlar, angiogenezde rolü vardır (Parham 2000).

### **Kemokin reseptörleri ve IL-8 etki mekanizması:**

Tüm kemokinler iki çift sistein rezidüsünden oluşan, iki intramoleküler disülfid bağı taşırlar ve amino terminaline en yakın sistein çiftinin dizilişine göre iki alt gruba ayrılırlar. C-X-C (veya alfa) kemokinlerde bu sisteinler bir aminoasit tarafından ayrılmıştır ve 4. kromozomdaki genlerle kodlanmıştır. C-C (veya beta) kemokinlerin genleri ise 17. kromozomda kodlanmış olup, iki sistein bileşiktir. Çoğu alfa kemokinler nötrofilleri çekerken, tüm beta kemokinler monosit ve T lenfositleri çekerler, aynı zamanda bazıları eozinofiller, bazofiller ve doğal katil hücreler için de kemotaktiktirler (Oppenheim ve Ruscetti 1997). IL-8, C-X-C kemokin ailesinin bir üyesi olup 7-transmembran helikal G protein-çifti reseptörü olan CXCR1 ve CXCR2'ye bağlanarak etkisini gösterir (David, Machova ve Beck-Sickinger 2003). Dokuz kemokin reseptörü şu ana kadar tanımlanmıştır. Tümü rodopsine benzer reseptör ailesine ait olup tek zincirli polipeptidler ve 7-transmembran bölgesi içerirler. Alfa kemokinlere 4 reseptör bağlanabilir; CXCR1'e IL-8, GCP-2, CXCR2'ye IL-8 ve en az diğer dört alfa üyeleri, CXCR3'e IP10 ve Mig, CXCR4'e SDF bağlanır. Benzer olarak beta kemokinler için bilinen beş reseptöre (CCR1-5) de multiple ligandlar bağlanabilir. Bu reseptör seviyesindeki çokluk içinde IL-8'in de bulunduğu kemokin aktivitelerinde birbiri ile etkileşmeyi ve örtüşmesi doğurur. En azından iki kemokin reseptörü CXCR4 ve CCR5 aynı zamanda yüksek etkili koreseptörler olarak fonksiyon görürler ve HIV-1'in CD4+T hücrelerine ve makrofajlara girerek enfekte etmesine izin verirler, ancak CCR5'e bağlanan kemokinler in vitro HIV-1 replikasyonu ile yarışır ve defalarca HIV-1 ile karşılaşmış ancak enfekte olmamış kişilerin kanında bu kemokinlerde artış veya CCR5'te genetik bir defekt saptanmıştır (Oppenheim ve Ruscetti 1997).

Lökositlerin kemokin gradyanına hassasiyeti yüzeylerindeki kemokin reseptörleri sayesinde. IL-8 lökositlerin vasküler endotele stabil olarak bağlanması için adezyonunda rol oynar. İkincil olarak infeksiyon alanında kontrasyon artışı

sayesinde nötrofillerin migrasyonunda gradyan sağlar. Bu gradyan enfekte bölgedeki ekstrasellüler matriksin proteoglikan molekülleriyle ve endotel hücre yüzeyine kemokinlerin bağlanması ile oluşur. Kemokinler katı bir yüzey üzerinde immobilize olurlar ve lökositler buraya göç edebilir (Parham 2000).

Kemokinlerin ekspresyonunu indükleyen ajanlar; lipopolisakkarid gibi makrofaj aktivatörleri, poliklonal mitojenler ve T hücre aktive eden antijenler ile platelet aktivasyonu indükleyicileridir. Ek olarak IL-1, IL-2, IFN gama, TNF ve PDGF gibi proinflamatuvar sitokinler de potent olarak çeşitli kemokinleri etkilerler. Kemokinlerin birbirlerini indükleyici etkisi sınırlıdır ancak bazı durumlarda diğer mediatörleri indükleyebilirler. Grup olarak kemokinler inflamasyon bölgesine her tip lökositini selektif olarak çekebilir. Bunu bağlanma aktivitesini indükleyerek ve lökosit integrinlerinin yüzeyde ekspresyonuyla yaparak endotele bağlanmayı ve dokuya invazyonu sağlarlar. Bu yolla örneğin IL-8 nötrofillerin endotele bağlanmasını sağlar. Endotel hücreleri tarafından kemokin sekresyonu lökosit migrasyonunu damar duvarı boyunca artırır ve kemokin gradyanı ve dokuya migrasyonu yönetir. IL-8 ve tüm bilinen kemokinler glikozaminoglikanlara sıkıca bağlanırlar ki bu glikozaminoglikanlar ekstrasellüler matrikste ve endotel yüzeyinde bulunarak sekrete edilen kemokinlerin bölgesel olarak depolandığını gösteren bir mekanizma gibidir. Yüksek konsantrasyonlar da kemokinler aynı zamanda hücrel efektör fonksiyonlarında aktive ederler, örneğin degranulasyon ve metabolik parçalanma nötrofillerde IL-8 tarafından, monositlerde MCP-1, eozinofillerde ise RANTES veya MIP-1alfa tarafından tetiklenir (Oppenheim ve Ruscetti 1997). Antijen ile aktive edilmiş T hücreleri, endotel hücrelerinden IL-8 ve MCP-1 salgılanmasına yol açar. Bu sekrete edilen kemokinler endotel hücre yüzeyinde heparan sülfat glikozaminoglikanlara bağlanırlar, endotel hücre adezyon molekülüne bağlanmış lökositlerle temas ederler ve kemokinler lökositlerin ekstraselülüne yol açarlar (Abbas ve ark. 1997).

### **Anjiyogenezdeki rolü:**

IL-8 kobayda korneal neovaskülarizasyon modelinde endotel hücrelerinin proliferasyonunu stimüle ederek yeni kan damarları oluşumunu uyarmaktadır. Bu da organogenez yara iyileşmesi, tümör büyümesi, metastazlarda etkilerinin olabileceği

yönünde fikirler oluşturmaktadır (Rosenwasser ve Borish 2003) (Church ve ark. 2003) (Hirota ve ark. 2003).

## **5 MATERYAL VE METOD**

### **5.1 MATERYAL**

#### **5.1.1 Grupların Oluşturulması ve Uygulama ile ilgili Hususlar**

Çalışma projesi ile ilgili etik kurul izni alınması çok merkezli bir araştırma olduğu için Necmettin Erbakan Üniversitesi etik kurul kararı tarih ve sayısı:2012/139, Yıldırım Beyazıt Üniversitesi etik kurul kararı tarih ve sayısı:24.09.2012/57, Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi etik kurul kararı tarih ve sayısı:12.09.2012/2012-441 ve BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri, Proje No:131318004) maddi desteğin Necmettin Erbakan Üniversitesi tarafından sağlanmasını takiben hasta grubunu oluşturmak üzere kan serum örneklerinin toplanmasına geçildi.

Kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus gibi kronik bir hastalığa sahip olmayan, daha öncesinde iskemik kalp hastalığı hikayesi olmayan, hormon replesman tedavisi almayan, sigara içmeyen, hastaneye başvuruda tetkik için alınan kanlarında troponin değerı yüksek ve ilk defa Miyokard İnfarktüsü geçiren 45-65 yaş arası erkek ve kadınlardan alınan kanlardan gruplar oluşturuldu. Çalışmaya dahil edilen hastaların ilk acile başvuruda tetkik için alınan kanları, 24. saatte takip için alınan kanları ve 30. günde kontrol için alınan kanları gruplandırılarak çalışmaya dahil edildi.

Çalışmamızda, hastaların ilk acile başvurusunda, 24. saatte ve bir ay sonraki kontrollerinde rutin tetkikleri için merkez biyokimya laboratuvarına gönderilen kan örneklerinden kalanlar kullanıldı. Göğüs ağrısı ile ilk 6 saat içinde acile başvuruda ileri tetkik için alınan kan örnekleri giriş kanları olarak kabul edildi. Hastaların Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakóltesi ve Ankara Numune Eğitim ve Araştırma hastanesi kardiyoloji yoğun bakım ünitesinde yatışları esnasında 24. saat kanları alınmıştır. Hastaların kardiyoloji polikliniğine kontrol amaçlı çağırıldıklarında alınan takip kanlarından 30.gün kanları oluşturulmuştur.

TNF- $\alpha$ , Kaspaz-9, IGF-1 ve IL-8 parametrelerinin ölçümü için alınan kan örnekleri santrifüje edilerek ayrılan serumlar biyokimyasal analizler yapılincaya kadar -80°C de saklandı. Ölçümleri ELISA yöntemi ile yapıldı. Hasta grubumuzla benzer yaş ve cinsiyet dağılımı gösteren 42 sağlıklı ve gönüllü erkek ve kadın bireyden de (bireyler bilgilendirildikten ve onayları alındıktan sonra) kan örnekleri alındı ve bunlarda sağlıklı kontrol grubunu oluşturdu.

Gruplandırılarak biriktirdiğimiz kanlardan TNF- $\alpha$ , Kaspaz-9, IGF-1 ve IL-8 parametrelerini çalıştık. Göğüs ağrısı ile gelen hastaların miyokard infarktüsü tanısının konabilmesi için rutin olarak CK-MB ve Troponin değerlerine klinisyenler ihtiyaç duymaktadır. Bu markırların kan düzeyleri hastanelerin merkez biyokimya laboratuvarında kemilüminesans esaslara göre ölçülmektedir. Biz çalışmamızda bu parametlerin düzeylerini tekrar ölçmedik.

AMI geçiren bütün hastalar, tedavileri için gerekli olan terapotikleri (aspirin alımı, ayrılmamış ‘‘unfractioned’’ heparin, intravenöz yoldan nitrogliserin, beta blokör ve/veya ACE ‘‘anjiotensin-converting enzim’’ inhibitörleri, rtPA ‘‘recombinant doku plasminojen aktivatörü’’) içeren standart ilaç bakımı almışlardır.

### **5.1.2 Kullanılan Cihazlar**

Otomatik ELİSA okuyucusu (ELx 800 marka)

Otomatik ELİSA okuyucusu (ELx 50 marka)

Ayarlanabilir otomatik pipetler

Vortex (NÜVE)

Shaker (BIOSAN orbital shaker)

Beckman Coulter Unicel Dxi 800

Santrifüj (EPPENDORF)

## 5.2 METOD

### 5.2.1 IL-8 Ölçümü

Baster IL-8 ELİSA kiti standart sandviç enzime bağlı immunesorbent teknolojisine dayanır. IL-8'e özgü antibadiler 96 kuyucuklu playtlerin üzerine kaplanmıştır. İnsana özgü monoklonal antibadilerle biyotinlenmiştir. Örnekler ve biotinle algılanan antibadiler kuyulara eklenmiştir. Bağlı olmayan konjugatlar PBS (Fosfat Buffer Saline) veya TBS solüsyonu ile yıkanır. HRP (Horseradish Peroxidase) enzimatik reaksiyonunu gözlemlemek için TMB (Tetrametilbenzidin) substratı kullanılmıştır ve bağlı analit miktarı ile doğru orantılı oluşan renk şiddeti ölçülür.

-Dilue ABC (enzim) ile substratı kullanmadan 30 dakika önce 37°C de bekletin.

-IL-8, ELİSA ölçümü oda sıcaklığında (20±4°C) gerçekleştirildi. Ölçümden önce tüm reaktiflerin ve serumların oda sıcaklığına ulaşması beklendi. Reaktifler ve serumlar vortexlendi.

-10 ng/ml stok standarttan 1000 pg/ml'lik bir standart solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyonla seri dilüsyonla 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml standart solüsyonları hazırlandı.

-Her bir standart ve hasta numuneleri 96 kuyucuklu playte 100'er µl olarak pipetlendi ve 37°C de 90 dakika inkübasyona bırakıldı.

-İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı tamamen aspire edildi.

-96 kuyucuğun her birine 100µl biyotinlenmiş antihuman IL-8 antikor çalışma solüsyonu eklendi ve 37°C de 60 dakika inkübe edildi.

-İnkübasyon sonunda 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı ve bu işlem toplam üç defa tekrar edildi.



-Daha sonra 100 µl enzim (ABC) kondu, 37°C de 30 dakika inkübe edildi.

-İnkübasyon sonunda 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı ve bu işlem toplam beş defa tekrar edildi.

-Kuyucuklara 90 µl substrat eklendi ve karanlıkta 37°C de 20-25 dakika inkübe edildi.

- Reaksiyon, her kuyucuğa 100µl "Stop" solusyonu eklenerek durduruldu. Substrat ile "Stop" solusyonunun tamamen karıştığından emin olmak için plak 5-10 saniye çalkalandı.

-ELİSA okuyucusunda 450 nm okuma yapıldı ve sonuçlar hesaplandı.

IL-8 absorbanslarının ortalaması Y eksen, konsantrasyonları X eksen olacak şekilde oluşturulan standart grafik yardımı ile numunelerin IL-8 değerleri hesaplandı.

### **5.2.2 IGF-1 ÖLÇÜMÜ**

- IGF-1 mediagnost ELİSA ölçümü oda sıcaklığında (20±4°C) gerçekleştirildi. Ölçümden önce tüm reaktiflerin ve serumların oda sıcaklığına ulaşması beklendi. Reaktifler ve serumlar vortexlendi.

- Beş adet standart ve iki adet kontrol 500µl'lik sample bufter ile sulandırıldı.

- Numune örnekleri 1/21 oranında sample buffer ile dilue edildi.

- Playte 80 µl antibody konjugate eklendi ve üzerlerine 20 µl standart, 20 µl dilue kontrol, 20 µl dilue sample eklendi.

- Playtın üzeri kapatılıp oda ısısında shaker üzerinde bir saat inkübe edildi.

- İnkübasyondan sonra her kuyucuk 300 µl'lik wash buffer ile yıkandı ve bu işlem beş kez tekrarlandı.

- Yıkama sonrasında tüm kuyucuklara 100 µl enzim (enzyme conjugate) kondu ve oda ısısında shakerde 30 dakika inkübe edildi.

- İnkübasyon sonunda her kuyucuk 300 µl'lik wash buffer ile yıkandı ve bu işlem beş kez tekrarlandı.

- Yıkama sonrasında her kuyucuğa 100 µl substrat eklendikten sonra karanlıkta 15 dakika inkübe edildi.

- İnkübasyon sonunda her kuyucuğa 100 µl stop solüsyon (asid solüsyon) eklenerek reaksiyon durduruldu ve reaksiyonun durmasıyla mavi renkli substrat sarı renge döndü.

- Playtın kuyucuklarının 450 nanometredeki optik dansiteleri (absorbları) ölçüldü ve standartların konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi. Numunelerin absorbansı bilindiğinden numunelerin konsantrasyonu hesaplandı.

### 5.2.3 TNF- $\alpha$ ÖLÇÜMÜ

Baster TNF- $\alpha$  ELİSA kiti standart sandviç enzime bağlı immunesorbent teknolojisine dayanır. TNF- $\alpha$ 'ya özgü antibadiler 96 kuyucuklu playtlerin üzerine kaplanmıştır. İnsana özgü monoklonal antibadilerle biyotinlenmiştir. Örnekler ve biyotinle algılanan antibadiler kuyulara eklenmiştir. Bağlı olmayan konjugatlar PBS (Fosfat Buffer Saline) veya TBS solüsyonu ile yıkanır. HRP (Horseradish Peroxidase) enzimatik reaksiyonunu gözlemlmek için TMB (Tetrametilbenzidin) substratı kullanılmıştır ve bağlı analit miktarı ile doğru orantılı oluşan renk şiddeti ölçülür.

-Dilue ABC (enzim) ile substratı kullanmadan 30 dakika önce 37°C de bekletin.

-TNF- $\alpha$ , ELİSA ölçümü oda sıcaklığında (20±4°C) gerçekleştirildi. Ölçümden önce tüm reaktiflerin ve serumların oda sıcaklığına ulaşması beklendi. Reaktifler ve serumlar vortexlendi.

-10 ng/ml stok standarttan 1000 pg/ml'lik bir standart solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyonla seri dilüsyonla 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml standart solüsyonları hazırlandı.

-Her bir standart ve hasta numuneleri 96 kuyucuklu playte 100'er µl olarak pipetlendi ve 37°C de 90 dakika inkübasyona bırakıldı.

-İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı tamamen aspire edildi.

-96 kuyucuğun her birine 100µl biotinlenmiş antihuman TNF-α antikor çalışma solusyonu eklendi ve 37°C de 60 dakika inkübe edildi.

-İnkübasyon sonunda 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı ve bu işlem toplam üç defa tekrar edildi.

-Daha sonra 100 µl enzim (ABC) kondu, 37°C de 30 dakika inkübe edildi.

-İnkübasyon sonunda 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı ve bu işlem toplam beş defa tekrar edildi.

-Kuyucuklara 90 µl substrat eklendi ve karanlıkta 37°C de 20-25 dakika inkübe edildi.

- Reaksiyon, her kuyucuğa 100µl "Stop" solusyonu eklenerek durduruldu. Substrat ile "Stop" solusyonunun tamamen karıştığından emin olmak için plak 5-10 saniye çalkalandı.

-ELİSA okuyucusunda 450 nm okuma yapıldı ve sonuçlar hesaplandı.

TNF-α absorbanslarının ortalaması Y eksenine, konsantrasyonları X eksenine olacak şekilde oluşturulan standart grafik yardımı ile numunelerin TNF-α değerleri hesaplandı.

#### **5.2.4 KASPAZ-9 ÖLÇÜMÜ**

Eastbiopharm Kiti; Kaspaz-9 seviyesini ölçmek amacıyla insan serumu, kan plazması ve diğer ilgili doku sıvı örnekleri için kullanılır. Kaspaz-9'a özgü antibodyler 96 kuyucuklu playtlerin üzerine kaplanmıştır. İnsana özgü monoklonal antibodylerle biyotinlenmiştir. Bağlı olmayan konjugatlar yıkama solusyonu ile yıkandı. HRP enzimatik reaksiyonu gözlemlemek için substrat kullanılmıştır.

-Serumlar ve kit kullanmadan 30 dakika önce oda ısısında bekletildi. Reaktifler ve serumlar vortexlendi.

-Standart solusyon 24 ng/ml, 12 ng/ml, 6 ng/ml, 3 ng/ml ve 1,5 ng/ml olarak dilüe edildi.

-Herbir standart ve hasta numuneleri 96 kuyucuklu ELİSA playt içine pipetlendi. Ardından 40µl standart ve hasta serumu kuyucuklara pipetlendi ve üzerine 10µl Caspase-9 ABC eklendi. Daha sonra 50 µl HRP konjugat solüsyonu eklendi ve playtin üzeri film membran ile kapatılıp 37°C de shaker üzerinde 60 dakika inkübasyona bırakıldı.

-İnkübasyon sonrası dilüe ettiğimiz yıkama solüsyonu ile yıkama yapıldı ve kağıt üzerine playte dikkatlice emdirildi.

-Arkasından 50µl substrat A ve 50 µl substrat B solusyonu sırasıyla bütün kuyucuklara pipetlenir. Karanlık bir ortamda 37°C de on dakika inkübe edildi.

-Son olarak reaksiyonu durdurmak üzere 50µl stop solusyonu pipetlenip reaksiyon durduruldu. Substrat ve stop solusyonunun iyice karışmasını sağlamak için plak 5-10 saniye hafifçe çalkalandı. Mavi renkli kuyucular sarıya döndü.

-ELİSA okuyucusunda 450 nm okuma yapıldı ve sonuçlar hesaplandı.

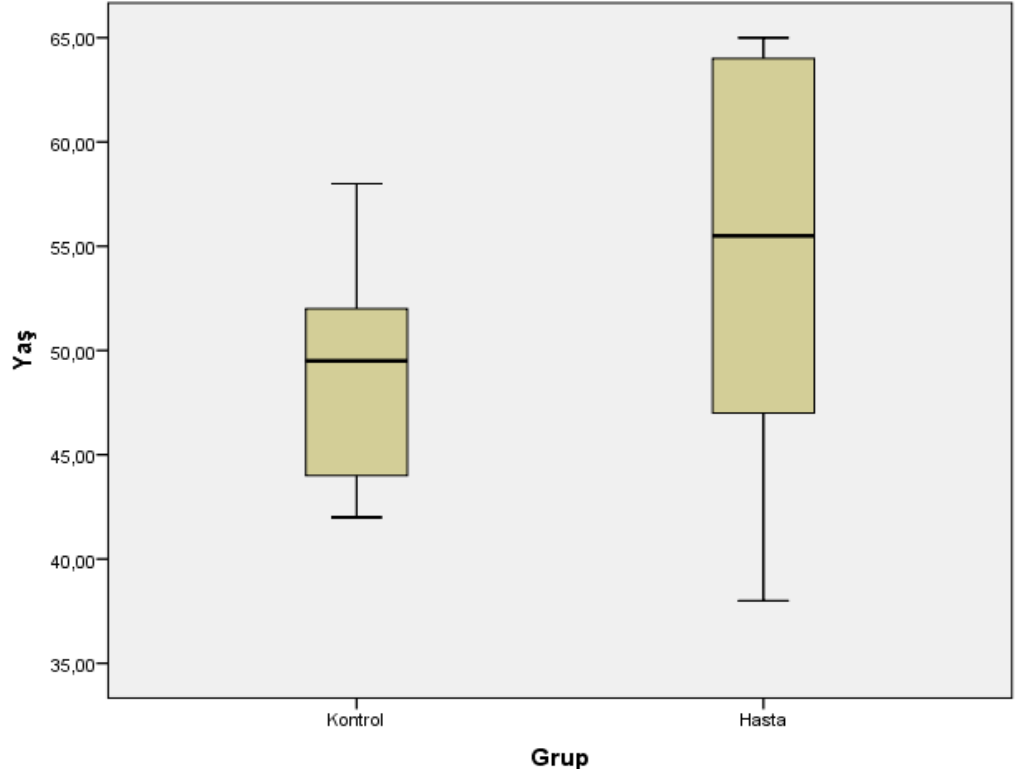
## 6 BULGULAR

Çalışmamızda IL-8, IGF-1, TNF- $\alpha$ , Kaspaz-9 parametrelerine ait bulguların minimum, maximum ve medyan değerleri Tablo 6.1 de verilmiştir. Bu parametrelere ait gruplar şu şekildedir; 0. saat (Girişteki kan değerleri), 24.saat (24.saat sonra kan değerleri), 30.gün (30.gün sonra kan değerleri) ve kontrol (sağlıklı grup kan değerleri).

Tablo 6.1: Grupların IL-8, IGF-1, TNF- $\alpha$ , Kaspaz-9 parametrelerine ait minimum, maximum ve (medyan) değerleri

Parametreler	0.saat (medyan)	24.saat (medyan)	30.gün (medyan)	Kontrol (medyan)
N	42	42	42	42
IL-8	0-3790 (36,42)	0-481 (33,34)	0-5153 (6,68)	0-6717 (157,86)
IGF-1	31,68-307,72 (172,98)	43,19-342,89 (165,14)	63,99-373,97 (180,81)	74,17- 595,86 (179,35)
TNF- $\alpha$	0-202,30 (22,04)	0-162,83 (19,67)	0-128,3 (2,06)	0-139,32 (2,98)
Kaspaz-9	1,84-39,85 (4,27)	0-41,63 (5,40)	1,72-43,74 (5,14)	0,87- 47,83 (5,02)

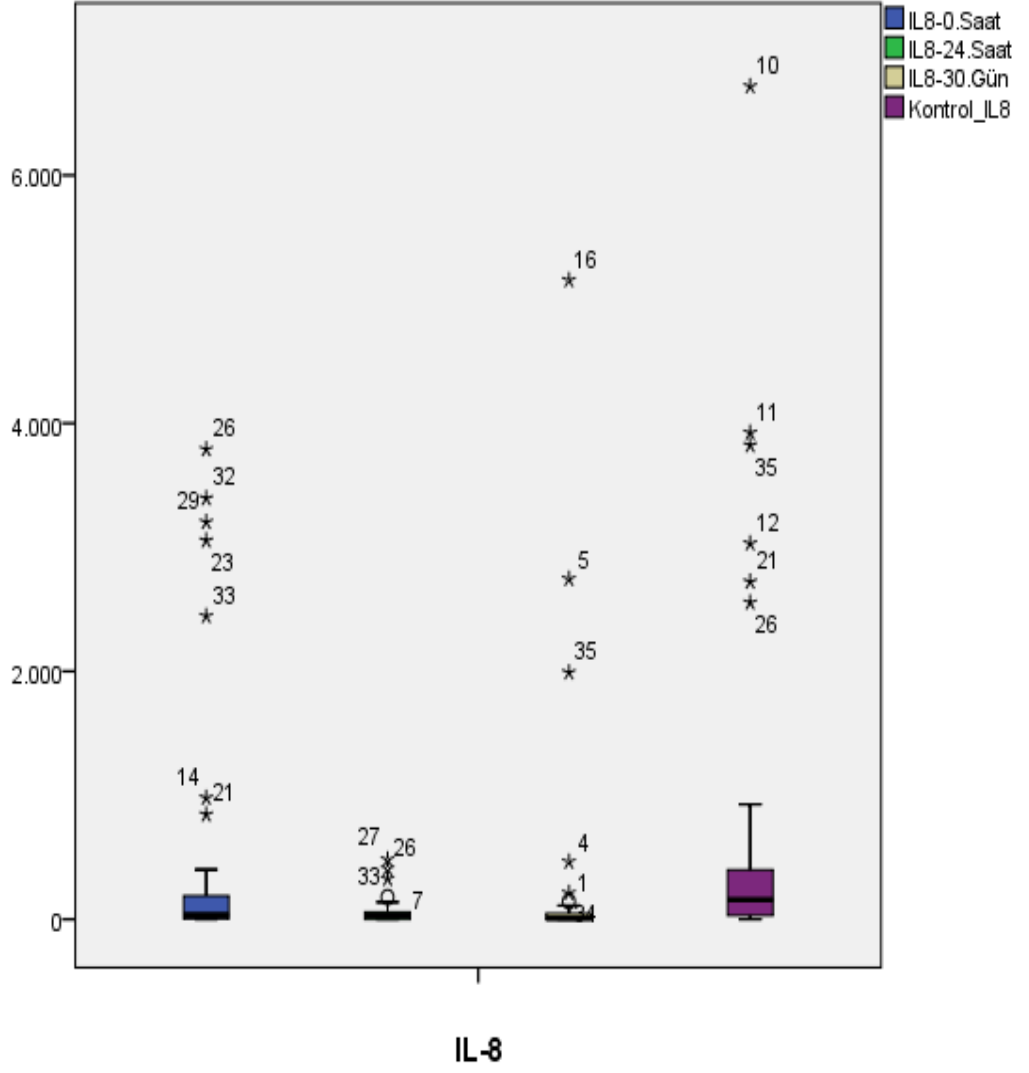
Ölçülen parametrelerde dağılımlar normal olmadığı için minimum ve maximum medyan yazmak daha doğru olur, ortalama ve standart sapmayı yazmak yanıltıcı olur. Parametrelere ait tanımlayıcı istatistiksel bilgiler Tablo 6.1 incelendiğinde görülmektedir ki; IL-8'a ait 0.saat değeri yükselme göstermiş ve kontrol grubunun değerine yaklaşmış, 24.saat değerinde düşüş gözlenirken, 30.gün değerlerinde tekrar yükselme olmuş ve sağlıklı bireyin değerine yaklaşmıştır. IGF-1 değerleri incelendiğinde görülmektedir ki, 0.saat, 24.saat ve 30.gün değerleri kontrol değerinden daha düşük seyretmiştir. TNF- $\alpha$ 'ya baktığımızda Akut Miyokard İnfarktüsü geçirildiği anda kontrol grubundan daha yüksek ölçülmüş ve zamanla düşmüş, 30.gün değeri kontrol grubunun değerinin de altında ölçülmüştür. Kaspaz-9 değerlerinde ise ölçülen değerler AMI geçirildiği ve diğer ölçülen zamanlarda da bir miktar yükselme gözlenmiş ve kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır.



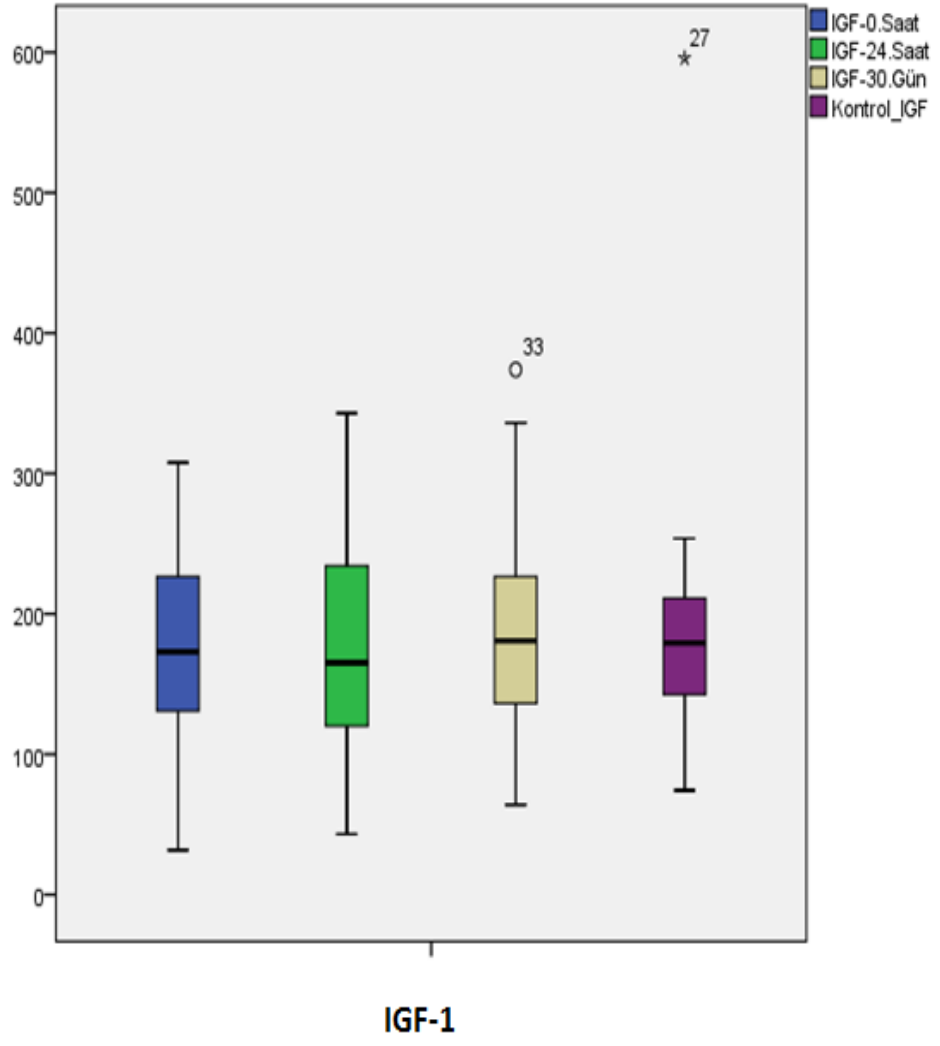
Şekil 6.1: Kontrol ve hasta gruplarının yaşa göre dağılımı

Cinsiyet dağılımı olarak hasta kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı.  $p=.507$  (Pearson Ki Kare) Yaş olarak kontrol ve hasta grubu arasında anlamlı farklılık var.  $p=.004$  (Mann whitney U Testi). Hasta grubundaki yaş ortalaması kontrol grubundan daha yüksektir.

Kontrol ve hasta gruplarının IL-8, IGF-1, TNF- $\alpha$ , Kaspaz-9 parametrelerinin dağılımını sırasıyla verilmektedir.

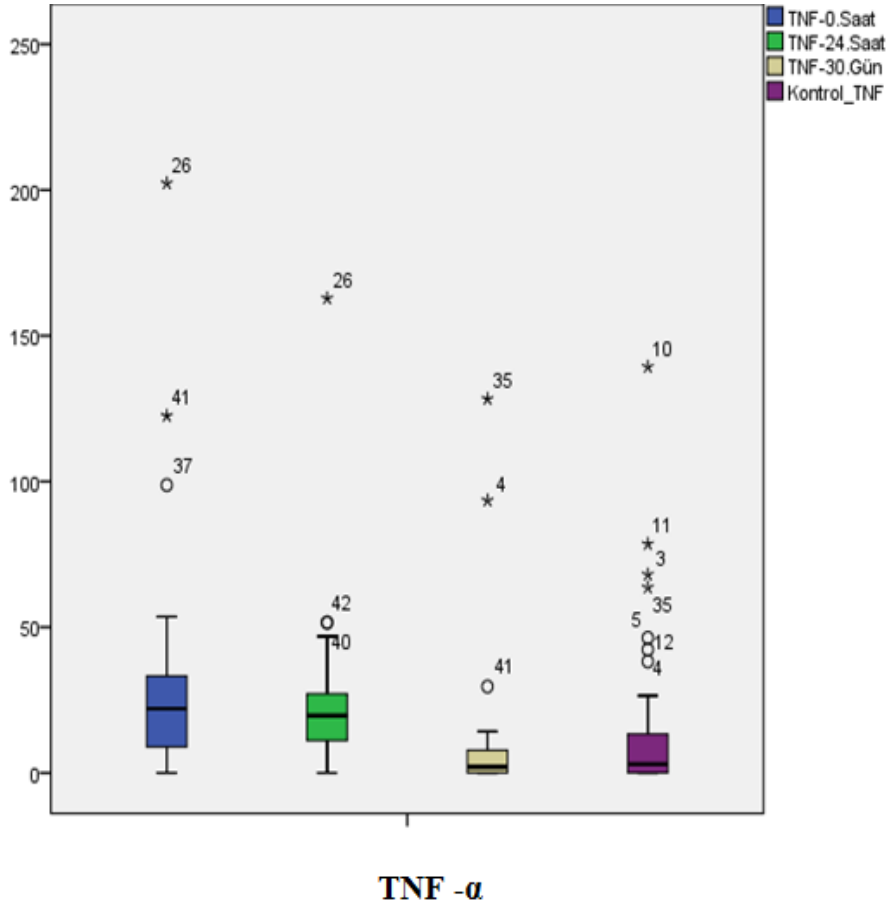


Şekil 4.2: Kontrol ve hasta gruplarımızın IL-8 değerlerine göre dağılımını

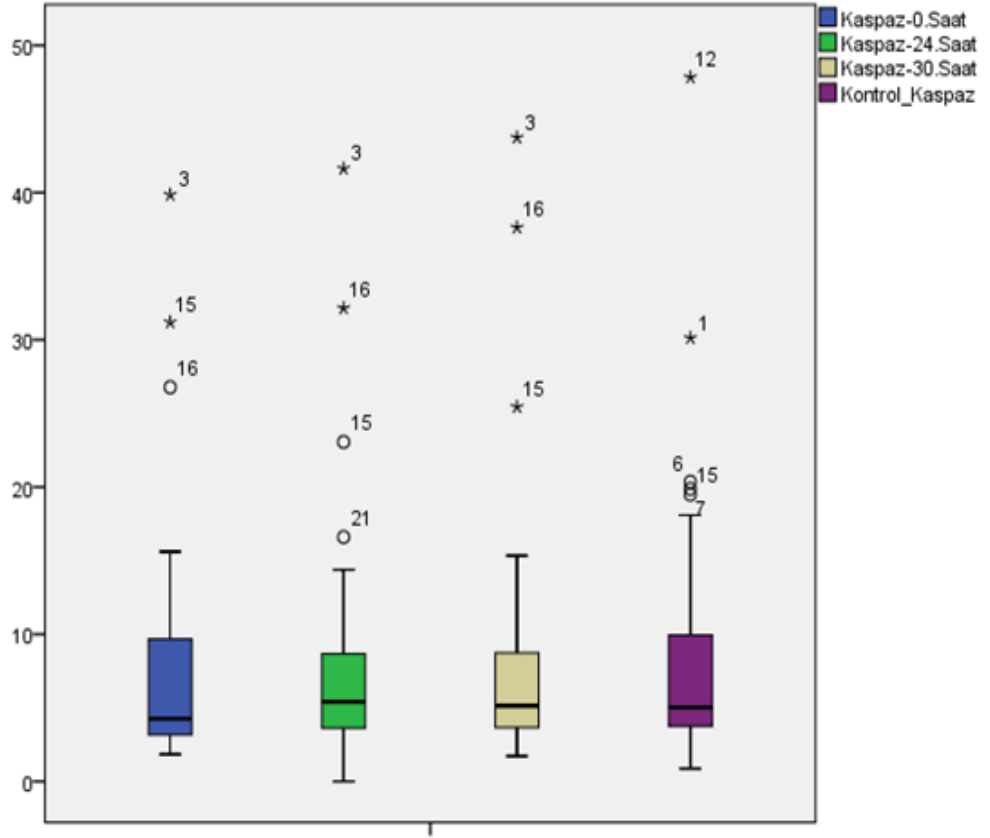


Şekil 6.3: Kontrol ve hasta gruplarımızın IGF-1 değerlerine göre dağılımı





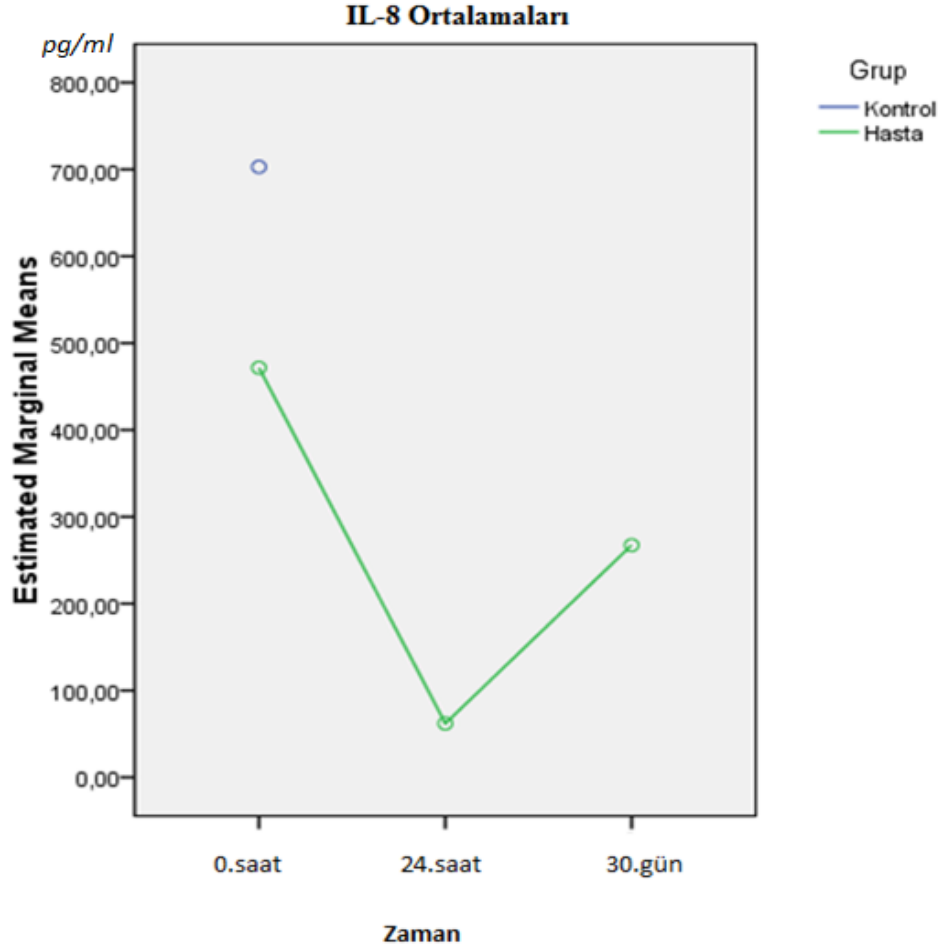
Şekil 6.4: Kontrol ve hasta gruplarımızın TNF- $\alpha$  değerlerine göre dağılımı



### Kaspaz - 9

Şekil 6.6: Kontrol ve hasta gruplarımızın Kaspaz-9 değerlerine göre dağılımı

Aşağıda 0.saat, 24.saat, 30.gün olarak gösterilen tanımlar farklı zamanlarda yapılan ölçümleri göstermektedir. Yani 0.saat (girişteki kan değerleri), 24.saat (24 saat sonra alınan kan değerleri), 30.gün (30 gün sonra alınan kan değerleri) Zamana göre yapılan testler sadece hasta grubu verilerini içerir. Zaten sağlıklı kontrol grubunda 0.gün, 24.saat ve 30.gün olarak numune toplamak mümkün değildir. Ancak grafiklerde kontrol grubuna ait ilk zaman verisi de gösterilmiştir.

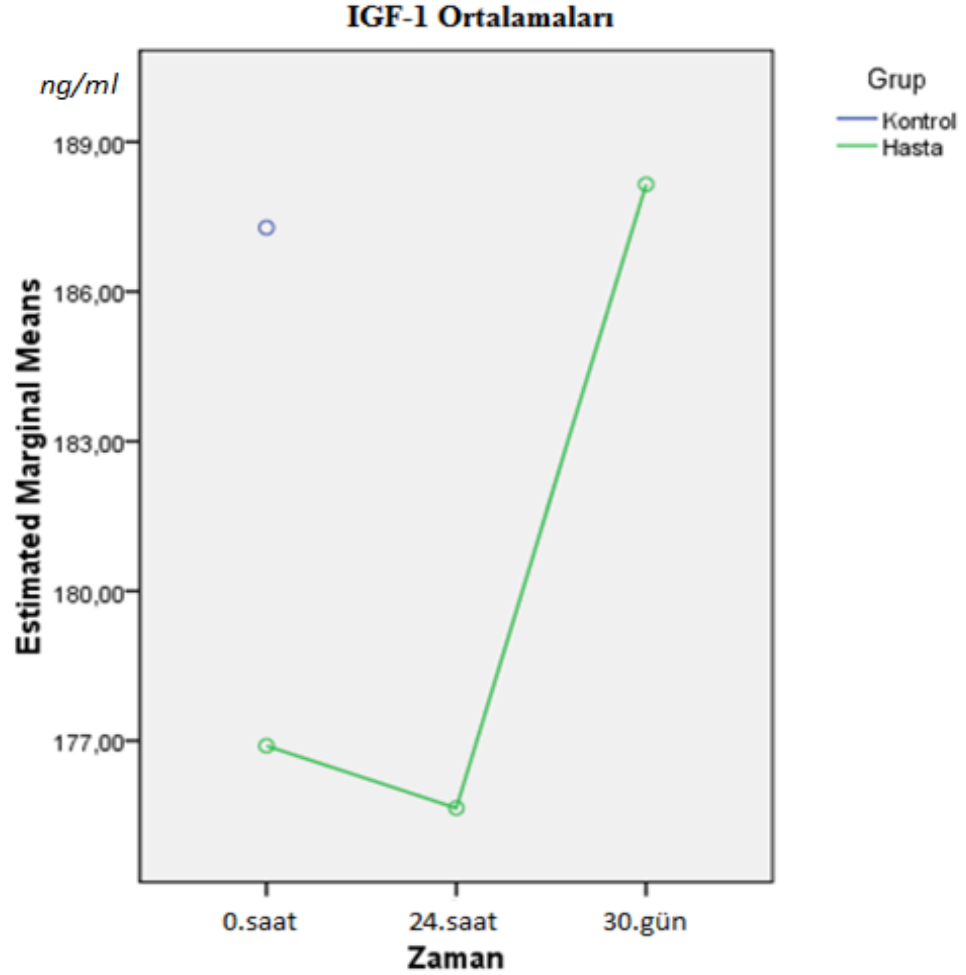


Şekil 6.7: IL-8 değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırma

IL-8 değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırmada Kontrol-0.saat arası fark bulunmadı  $p=.071$ , Kontrol-24.saat arası ve Kontrol-30.gün arası fark bulundu sırasıyla  $p=.001$  ve  $p<.001$  (Mann Whitney U testi).

Hasta grubunda zamana göre IL-8 değerleri karşılaştırmasında anlamlı farklılık bulundu  $p=.01$ . Zamanların çoklu karşılaştırmasında 0.saat ve 24.saat

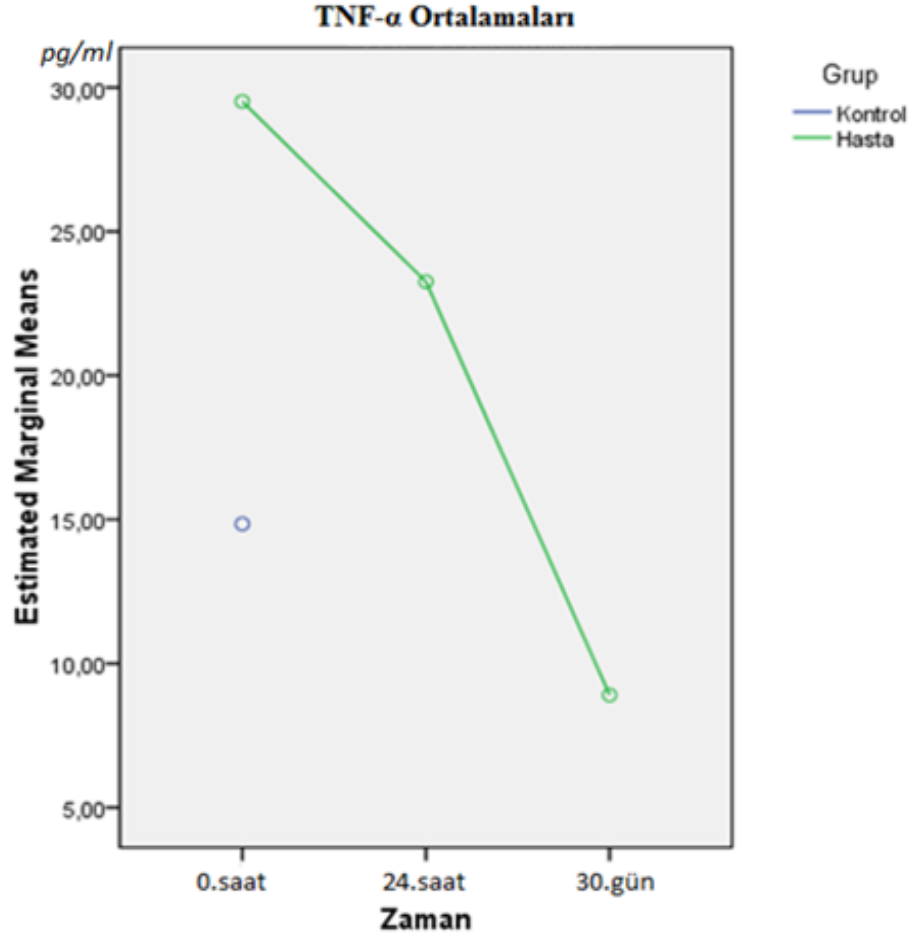
arasında anlamlı farklılık var ( $p=.034$ ). (Friedman Testi) 24.saate-30.gün ( $p=.504$ ) ve 0.saate-30.gün ( $p=1.0$ ) arasında fark bulunmadı (Mann Whitney U testi).



Şekil 6.7: IGF-1 değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırma

IGF-1 değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırmada Kontrol-0.saate, Kontrol-24.saate ve Kontrol-30.gün fark bulunmadı sırasıyla  $p=.734$  ve  $p=.458$  ve  $p=.883$  (Mann Whitney U testi).

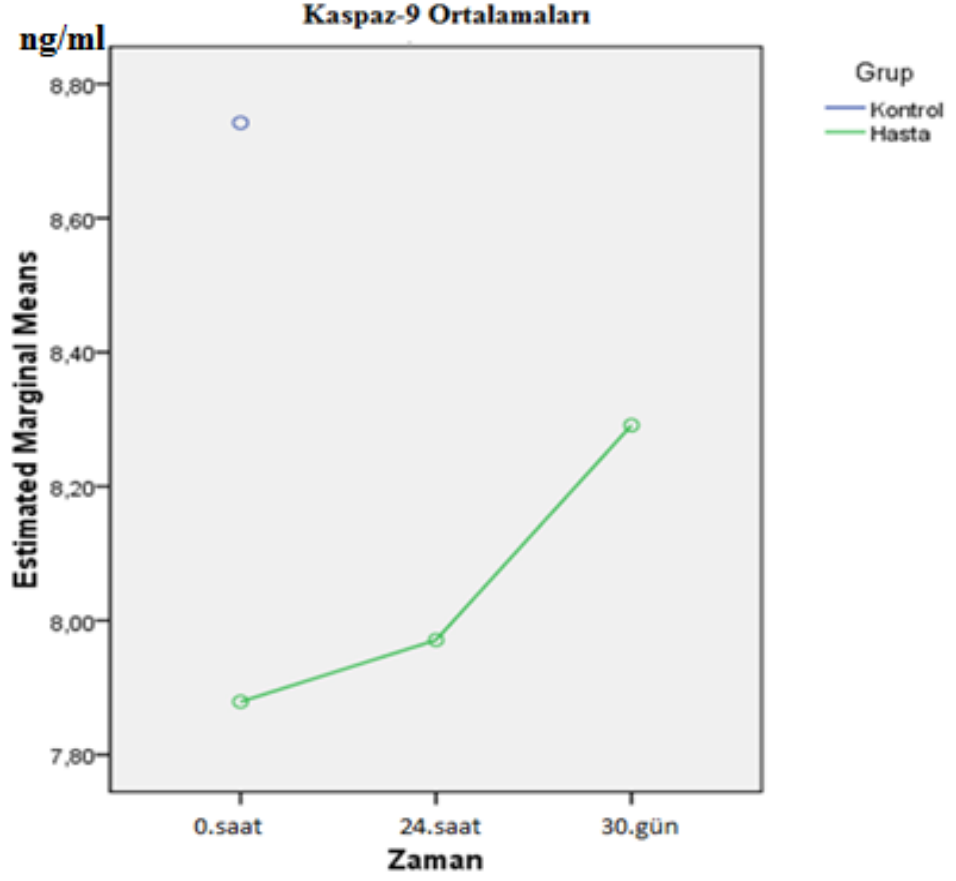
Hasta grubunda zamana göre IGF-1 değerleri karşılaştırmasında 0.saate-24.saate ve 24.saate-30.gün ve 0.saate-30.gün arasında anlamlı farklılık bulunmadı  $p=.44$ . (Friedman testi). Veriler tekrarlı ölçümler olduğu için (nonparametrik).



Şekil 6.8: TNF- $\alpha$  değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırma

TNF- $\alpha$  değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırmada Kontrol-0.saat ve Kontrol-24.saat arası anlamlı fark bulundu sırasıyla  $p=.001$  ve  $p=.001$ , Kontrol-30.gün arası fark bulunmadı  $p=.434$  (Mann Whitney u testi).

Hasta grubunda zamana göre TNF- $\alpha$  değerleri karşılaştırmasında anlamlı farklılık bulundu  $p=.001$ . (Friedman testi) Zamanların çoklu karşılaştırmasında 0.saat-24.saat arasında anlamlı farklılık bulunmadı ( $p=.782$ ). 24.saat-30.gün arasında fark bulundu. ( $p=.034$ ) 0.saat-30.gün arasında fark bulundu  $p=.001$  (Mann Whitney u testi)

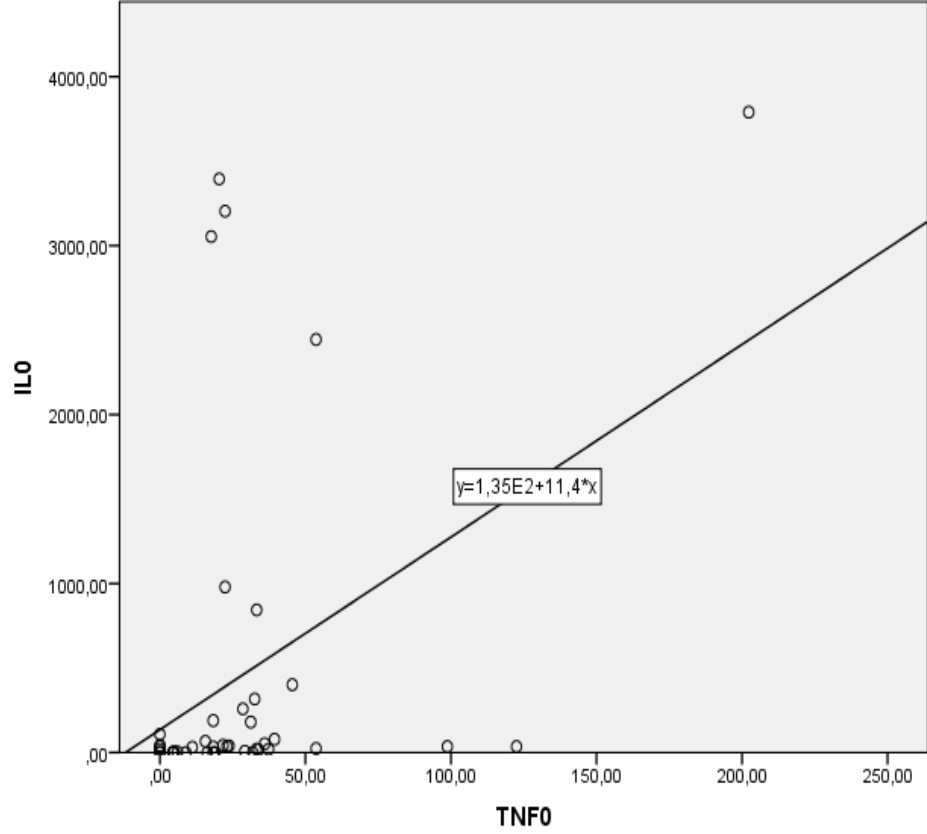


Şekil 6.9: Kaspaz-9 değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırma

Kaspaz-9 değerleri için kontrol grubu ile zamanlar arası karşılaştırmada Kontrol-0.saat, Kontrol-24.saat arası ve Kontrol-30.gün arası fark bulunmadı sırasıyla  $p=.265$  ve  $p=.792$  ve  $p=.694$  (Mann Whitney U testi).

Hasta grubunda zamana göre Kaspaz-9 değerleri karşılaştırmasında anlamlı farklılık bulunmadı  $p=.474$  (Friedman testi).

Ayrıca hasta grupları arasındaki karşılaştırmada IL-8 ve TNF- $\alpha$  arasında pozitif korelasyon bulundu. Hasta Grubu IL-8 ve TNF- $\alpha$  İçin Saçılım Grafikleri Aşağıdadır:

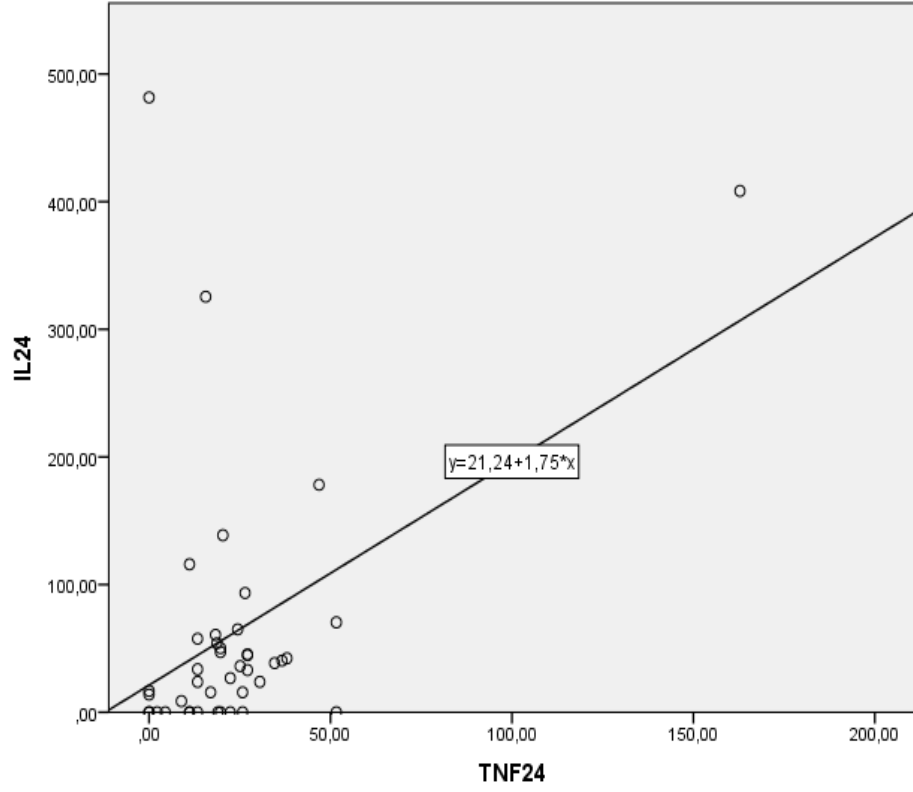


Şekil 6.10: IL-8 0.saat ve TNF- $\alpha$  0.saat regresyon analizi grafiği

IL-8 ve TNF- $\alpha$  0.saat de arasında anlamlı pozitif korelasyon var.  $p=.373$ . Diğerlerinin 0.saatte anlamlı farklılık yok.

Tablo 6.2: 0.saatte ölçülen değerlerin korelasyon tablosu

Değişken 1	Değişken 2	Spearman rho	P değeri
IL-8 0.saat	TNF- $\alpha$ 0.saat	,373	,015



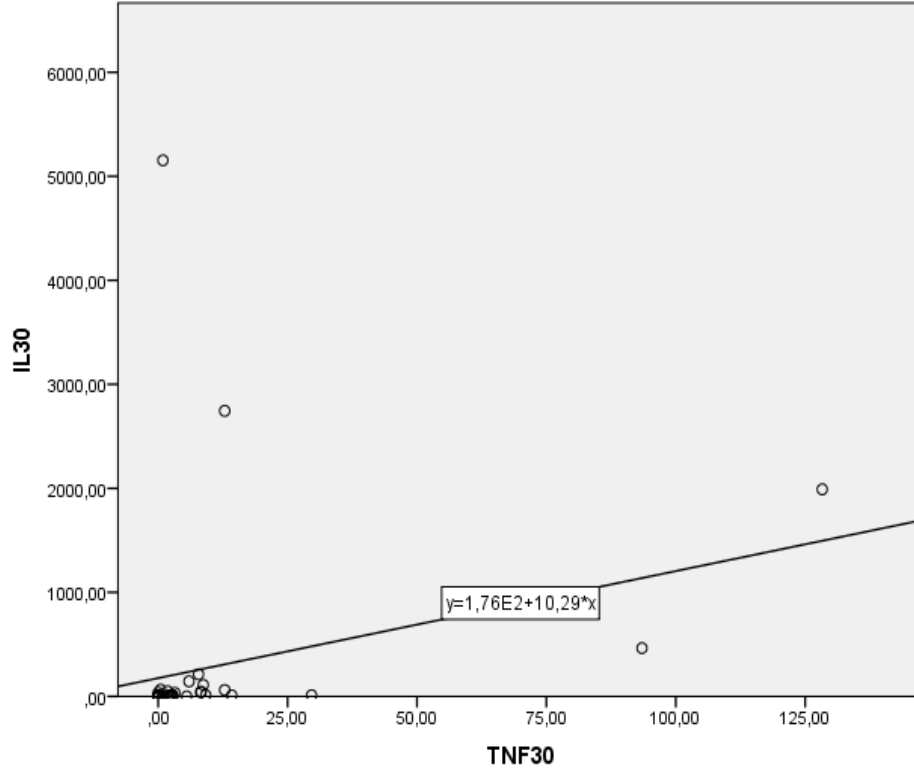
Şekil 6.11: IL-8 24.saat ve TNF- $\alpha$  24.saat regresyon analizi grafiği

24.saat de IL-8 24.saat sonra alınan kan değerleri ile TNF- $\alpha$  24.saat sonra alınan kan değerleri arasında anlamlı korelasyon var. Diğerlerinde anlamlı korelasyon yok.

Tablo 6.3: 24.saatte ölçülen değerlerin korelasyon tablosu

Değişken 1	Değişken 2	Spearman rho	P değeri
IL-8 24.saat	TNF- $\alpha$ 24.saat	,333	,031





Şekil 6.12: IL-8 30.gün ve TNF- $\alpha$  30.gün regresyon analizi grafiği

30.günde IL-8 ile TNF- $\alpha$  arasında pozitif korelasyon var  $p=.653$  ( $p<.001$ ). Diğerlerinde anlamlı korelasyon bulunmadı.

Tablo 6.4: 30.günde ölçülen değerlerin korelasyon tablosu

Değişken 1	Değişken 2	Spearman rho	P değeri
IL-8 30.gün	TNF- $\alpha$ 30.gün	,653	,015

## 7 TARTIŞMA

Akut koroner sendrom (AKS), akut miyokard iskemisine (AMI) bağlı olarak ortaya çıkan semptom ve klinik bulgularla karakterize bir durumdur (Falk, Shah ve Fuster 1995). Koroner kalp hastalıkları günümüzde mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir (Werf, et al. 2003). Böylesine lmcl sonuçlar doğuran ve erken dönemde müdahale edilmesi durumunda hayat kurtarıcı sonuçlar alınabilen Akut Koroner Sendrom zerine çalışmaların yoğunluğu dikkat çekicidir. AMI, kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde büyük gelişmelere rağmen, birçok ülkede kadın ve erkeklerde ölüm nedeni olarak başta gelmekte ve aynı derecede önemli olarak yaşamını kısıtlamaktadır (Kristensen 1992)(Endler, et al. 2002). Bu yüzden biyokimyasal markırlar bu yönde oldukça önemli olup, bu konudaki çalışmalarda günümüzde yoğun bir şekilde sürdürülmektedir.

AKS şüphesi bulunanlarda hipertansiyon (HT), Hiperlipidemi, sigara gibi klasik risk faktörlerine ek olarak, DM ve kalp dışı vasküler hastalıklar prognostik öneme sahip majör risk faktörleridir. Bu alışma için hasta grubumuzu oluştururken özgeçmişinde hiçbir hastalık hikayesi olmamasına ve klasik risk faktörleri taşımamasına dikkat edilmiştir. Bundaki amaç, çalışılan parametrelerin kardiyak dışı nedenlerle değerlerinin etkilenmemesini sağlamaktır.

Kardiyak hasarın ve iskeminin şiddetini belirlemede bilinen en iyi biyokimyasal belirteç cTnI'dır. Yüksek değerleri miyokard dokusunda nekrotik alanları işaret eder. Bu gelişen iskemik hasar sonucunda apoptozis yolakları aktive olur (Kiess ve Gallaher 1998). Çalışmada, apoptoz belirteçlerinin daha değerlendirileceği düşünüldüğünden acile başvuru esnasında TroponinI değerleri yüksek olan hastalar gruba dahil edilmiştir.

Çalışmamız; AMI tanısı alan 42 hasta (26 erkek, 16 bayan) ve sağlıklı 42 kontrol (23 erkek, 19 bayan) grubundan oluşturuldu.

Apoptozis, aktif enerji gerektiren bir süreçtir. Apoptozis sırasında çeşitli genlerin kodlandığı bazı proteinler hücre içinde aktif veya inaktif hale gelirler. (Saikumar ve ark. 1999).

İlerleyen bilimsel süreç içerisinde hastalıkların patogenezlerinin tanımlanmasında moleküler mekanizmalar ve ultrasüruktürel araştırmalar önem kazanmaktadır. AMI'nın bilinen nedenlerinin dışında moleküler mekanizmalarının da tanımlanması aşamasına gelinmiştir. Bu alışmada, AMI ile apoptozis arasındaki ilişki irdelenmiştir. Genel olarak, apoptozisle ilgili çalışmalar hızla artmasına karşın apoptozisi saptamak ve değerlendirmek pek kolay olmamaktadır (Saikumar ve ark. 1999). Özellikle tek bir hücrede apoptozis olayı saatler içerisinde geliştiğinden apoptotik süreçteki hücreyi morfolojik olarak tanımak ve kantifiye etmek zordur(McCarthy ve Evan 1998). Genellikle çalışmaların güvenilirliğini artırmak amacıyla farklı yöntemlerin birkaçının birlikte kullanılması önerilmektedir (Alles, Alley ve Barrett 1991).

Hücre fizyolojisi ve patolojisindeki temel rolü son yıllarda ortaya çıkan apoptozisin moleküler düzeyde anlaşılması tedavi yaklaşımlarına yeni boyutlar getirecektir. Apoptozisin uyarımı ve inhibisyonu, belirli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde ideal bir yöntem gibi görölmektedir. Ancak klinikte apoptozisten yararlanabilmek için selektif dokularda bu sürecin nasıl başlatılabileceği ve nasıl sonlandırılabilceğine yönelik yoğun çalışmalara gereksinim vardır.

Kalp yetersizliğinde apoptozis en yoğun araştırılan konulardan biridir. Miyokard infarktüsü, iskemi, ventriküler hipertrofi, ventriküler dilatasyon (akut/kronik volüm yükü), akromegaliye sekonder, yine hayvanlarda hızlı ventriküler pacing sonucu ve otoimmünite (miyokardit) sonucu gelişen kalp yetersizlikli olgularda gerek post-mortem gerekse biyopsi çalışmalarında apoptotik hücrelerin varlığı gösterilmiştir (James 1999). Elimizdeki bulgular şimdilik apoptozisin kalp yetersizliğinde etiyolojik bir neden mi yoksa sonuç mu olduğunu tam aydınlatmamaktadır. Ancak etiyolojisi ne olursa olsun tüm kalp yetersizliklerinde apoptozis süreci tetiklenmiştir (Sabbah 2000). Apoptozis esnasında CK-18, kaspazlarla aspartat 238 ve aspartat 296 noktasından kırılır. M30 monoklonal antikor, özellikle CK-18'in aspartat 396 da kırılan fragmanını (M30 antijen) tanır. Yani sitokeratin 18 apoptozise giden hücrelerde yeni bir epitop oluşumuna neden olacak şekilde apoptozise özel bir pozisyonda kırılır. Oluşan yeni antijen kaspazla-

kırılmış sitokeratin 18 ya da M30 antijen olarak isimlendirilir. M30 antijen apoptotik hücrelerden salınarak seruma çıkabilir ve ELISA yöntemi ile düzeyleri kolayca ölçülebilir. Böylece CK'ler apoptotik markır olarak kullanılabilir (Ueno, et al. 2003). (Ulukaya, Yılmaztepe, et al. 2007). İskemik kalp hastalığı olan hastalarda ve kardiyak mikrodolaşımda endotel hücrelerinde CK-18 molekülüne karşı yüksek serum antikor titreleri gösterilmiştir (McDouall ve ark. 1996) (Mattey ve ark. 2004).

Anjiyogenez uyarısı, doku hipoksi veya iskemisine fizyolojik bir yanıttır ve bunun sonucunda dokulara olan kan akımı artar (Adair ve ark. 1990). Anjiyogenik uyarı sonrası lokal olarak salınan büyüme faktörleri ve enflamatuvar mediyatörler vazodilatasyona, vasküler geçirgenlikte artışa ve monosit-makrofaj birikimine neden olur. Bu enflamatuvar hücreler, yeni gelişen damar yüzey matriks ve bazal membranını yıkan matriks metalloproteinazların salınımına neden olur. Hücre dışı matriksin proteazlarca yıkılması, oraya göç edecek hücrelere yer açılmasını sağlar. Hücre dışı matriksin yıkımını takiben artık endotel hücreleri göç edebilmek ve çoğalabilmek için serbesttir (Seiler 2003). Endotel hücreleri hücre dışı matrikse göç ettikten sonra burada çoğalır ve katı şeritler oluşturacak şekilde dizilerek birbirleri ile birleşirler. Oluşturdukları hücre içi vakuollerle devamlılık kurarlar ve yeni bir lümeni olan kılcal damarları meydana getirirler. Oluşan bu yeni damarlar, organ ve dokuların ihtiyacına göre anjiyogenik uyarı doğrultusunda özelleşmeye ve tomurcuklanmaya devam ederek damarsal yapıyı genişletirler (Schaper 1967).

### **7.1 TNF- $\alpha$ (Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$ ) Bulgularının Tartışması**

Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), endotelden, düz kas hücrelerinden ve makrofajlardan, çeşitli biyolojik etkilere yanıt olarak dolaşıma salınmaktadır (Warner ve Libby 1989). TNF- $\alpha$  polipeptid yapıda geniş biyolojik etki spektrumlu bir hormondur. Başlıca monosit ve makrofaj tarafından üretilmektedir. TNF- $\alpha$  reseptör kompleksi, hedef hücrede birçok biyolojik aktivitenin başlamasına neden olur (Başaran ve ark. 1993). TNF- $\alpha$ 'nın doğal yada kazanılmış immünite, kaşeksi, endotoksik şok, inflamasyon, dokunun yeniden şekillenmesi, enfeksiyon ve immünite, sitotoksisite, apoptozis olaylarında önemli biyolojik ve fizyopatolojik etkileri vardır (Camussi ve ark. 1991).

Önceleri, tümör hücreleri üzerine hemorajik nekroz etkileri ile tanımlanan TNF- $\alpha$ 'nın sonraki yıllarda kardivasküler sistem üzerine etkileri de tanımlanmıştır. Özellikle hayvanlarla yapılan çalışmalarda, TNF- $\alpha$ 'nın progresif sol ventrikül disfonksiyonuna, pulmoner ödeme, sol ventrikül yeniden biçimlenmesine, fetal gen ekspresyonuna ve kardiyomiyopatiye neden olduğu gösterilmiştir (Ridker ve ark. 2000) (Frangogiannis ve ark. 2002).

Kaya ve arkadaşlarının (Kaya ve ark. 2009) Akut Miyokard İnfarktüsü Sonrası Ventriküler Yeniden Biçimlenme Erken Belirleyicileri: Tümör nekrozis faktör-alfa'nın rolü adlı çalışmada, ilk kez ST segment elevasyonlu miyokard infarktüsü geçiren, 38-87 yaşları arasında toplam 72 hasta ve koroner anjiyografide koronerleri normal olarak değerlendirilen, sistemik hastalığı bulunmayan 30 olguda kontrol grubu olarak alınmıştır. Plazma TNF- $\alpha$  seviyeleri yatış sırasında ölçülmüştür. Sol ventriküler sistolik ve diyastolik fonksiyonların değerlendirildiği ekokardiyografik ölçümler hem başlangıçta, hem de 6. ayda yapılmıştır ve tüm hastalara koroner anjiyografi de yapılmıştır. Altıncı aydaki ekokardiyografi sonuçlarına göre diyastol sonu volüm indeksinde bazal değerlere göre >%20 artış saptananlar yeniden biçimlenme grubuna dahil edilmiştir. Yeniden biçimlenme grubu 19 hastadan oluşmuştur. Bazal plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri yeniden biçimlenme olan hastalarda yeniden biçimlenme olmayan ve kontrol grubu hastalara göre belirgin olarak daha yüksek ölçülmüştür. Yapılan lojistik regresyon analizinde, sadece TNF- $\alpha$  düzeylerinin yeniden biçimlenmeyi öngördüğü saptanmıştır. İlk kez MI geçiren hastalarda plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri akut dönemde yüksek ölçülmüş ve bu artış sol ventrikül yeniden biçimlenmesi ile yakından ilişkilidir. Bizim çalışmamızda da; TNF- $\alpha$  değeri MI'dan hemen sonra kontrol grubu değerlerinin neredeyse iki katı kadar artmış ve giderek düşmeye başlamıştır. Bu da MI'nın geçirildiği anda TNF- $\alpha$ 'nın apoptoziste ekstrensek yolağı kullanarak apoptozis sürecinde rol aldığını biliyoruz. 30. gün ölçümünde de kontrol grubunun değerlerinin de altına düşmüştür. Bu da bize MI geçirildiği anda apoptozisin yoğun olduğu ve giderek azalmaya başladığı fikrini vermektedir. Çalışmamızda; kontrol grubu ile giriş kanı karşılaştırmasında anlamlı fark bulunmuştur, kontrol grubu ile 24. saatten sonra alınan kanlarda da TNF- $\alpha$  değerleri arasında anlamlı farklılık bulunmuştur, kontrol grubu ile 30. gün değerleri arasında farklılık bulunmamıştır.

Franke ve arkadaşlarının (Franke ve ark. 2005) ‘‘Farklı türde kardiyotarasik cerrahi işlemler sonrası proinflamatuvar stokinler: Gördüklerimiz bildiklerimiz midir’’ çalışmasında 108 hastada yaptıkları araştırmada TNF- $\alpha$  hücre kaybı ve hasarın artmasında en büyük role sahiptir ve sağ ventrikül fonksiyonunun bozulması ve kompartmanlar arası sıvı yer değiştirmesini arttırır şeklinde ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamız da miyokard infarktüsünün hemen ardından TNF- $\alpha$  düzeyinin artmasını hücre kaybı ve hasarında rol oynadığı ve hücreyi apoptozise götürdüğünü bu nedenle bir artış olduğunu düşünmekteyiz.

Yine Doğancı ve arkadaşlarının (Doğancı ve ark. 2013) ‘‘TNF- $\alpha$  kalp cerrahisi sonrası görülen atriyal fibrilasyon için bir prediktör olabilir mi?’’ adlı çalışmasında üç damar ve daha fazla hedef damara revaskularizasyon uygulanan 50 hastadan intraoperatif olarak koroner sinüsten bazal, iskemi ve reperfüzyon dönemlerinde alınan kan örneklerinde TNF- $\alpha$  düzeyleri incelenmiş ve postoperatif ilk ay içerisinde atriyal fibrilasyon ritmi gelişen hastalar ile diğer hastalar demografik ve operasyona ait verileri ve TNF- $\alpha$  düzeyleri açısından karşılaştırılmıştır. TNF- $\alpha$  düzeyleri, tüm hastalarda kardiyopulmoner bypass boyunca hareketlilik göstermiş ve iskemi ile birlikte hızla pik yapan TNF- $\alpha$  düzeyleri, reperfüzyon fazında inflamasyonun kısmen kontrol altına alınması ile bazal düzeye kadar olmasa da azalma bildirmiş. Normalde aortik klos klemp konulmasının ardından oluşacak iskemi ile birlikte, başta kompleman sistemi ve proinflamatuvar sistemler olmak üzere birçok sistemin aktive olarak inflamasyonu arttırması beklenir. Bu sistemlerin önemli bir üyesi ve çoğu zaman başlatıcısı olan TNF- $\alpha$ , inflamasyon bölgesinde yerleşik olan makrofajlardan üretilen bir erken yanıt sitokininidir. Tümör hücreleri için toksik olmasının yanı sıra, nötrofil ve monositler için kemotaktik etki oluşturur, inflamatuvar mekanizmaları hızlı bir şekilde aktifler. Böylece sistemik vazodilatasyona ve miyokardiyal baskılamaya neden olur. Açık kalp cerrahisinde, TNF- $\alpha$  sekresyonu kardiyopulmoner bypassın başlaması ile başlar, 2-18 saat içerisinde seviyeleri pik yapar ve 24 saat içerisinde normale döner (Mansuroğlu ve ark. 2004) Bu çalışmada kardiyopulmoner bypassın her aşamasında koroner sinüsten alınan kan örneklerinde TNF- $\alpha$  düzeylerinin seyri, istatistiksel olarak anlamlı bir değişime işaret etmektedir. Buna göre ekstrakorporal dolaşımın başlaması ile birlikte miktarı artmaya başlayan TNF- $\alpha$ , doku hasarının ve dolayısıyla inflamasyonun en yüksek olduğu ‘‘iskemi’’

döneminde pik seviyesine ulaşmakta; sonrasında reperfüzyon ile bir miktar azalma göstermekte ancak bazal düzeyine ulaşmamaktadır. Bizim çalışmamızda da iskemi sırasında yükselme olmuş ve giderek TNF- $\alpha$  düzeyinde düşme gözlenmiştir.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, TNF- $\alpha$  ekspresyonunun geniş miyokard infarktüs modellerinde arttığı bildirilmiştir (Irwin ve ark. 1999).

## 7.2 KASP AZ-9 Bulgularının Tartışması

İntrinsik (mitokondri bağımlı) yolda, mitokondri merkezli rol oynarlar. Mitokondri, apoptozis için gerekli olan enerjiyi üretir ve sitokrom-c, endonükleaz G ve AIF (Apoptozis Inducing Factor) gibi proapoptotik proteinlerin salınmasını sağlar. Sitokrom-c'nin mitokondriden salınımı Apaf-1 (Apoptotik protease activating factor-1) aracılığıyla Kaspaz-9'un aktifleşmesine neden olur (Zou, Li ve Wang 1999). Çözülebilir proteinler permeabilize mitokondri membranından diffüze olduğunda, kaspaz aktivasyonu teşvik edilir. Bu proteinlerin en iyi çalışılanı olan sitokrom-c, Apaf-1'e bağlanır ve apoptozom denilen heptamerik protein halkasını oluştururlar. Apoptozom, prokaspaz-9'a bağlanarak konformasyonel değişim aracılığı ile aktifleşmesini yani kaspaz-9 oluşumunu indükler (Y. Shi 2006).

Apoptozis çok çeşitli sinyallerle başlatılabilir. Ancak apoptotik ölümün son basamaklarında görülen ve apoptozisin mediyatörleri olan yüksek oranda korunmuş bir dizi kaspaz sayesinde, çoğu hücrede sonuç aynıdır. Kaspazları hedefleyen çeşitli regülatör mekanizmalar mevcuttur. Bunlar arasında, birçok hücrede bulunan ve ayrıca kalpte önemli rolleri olabilen cFLIP ve IAP ailesi vardır. Özellikle iskelet kası ve kalpte eksprese olan bir apoptozis inhibitörü karakterize edilmiştir (Koseki ve ark. 1998)

İskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulmuş fare kalplerinde yapılan bir çalışmada, kardiyomyozit DNA fragmentasyonu ve kaspaz aktivasyonu, infarkt alanında azalmaya neden olmaksızın kaspaz-1 ve kaspaz-3 inhibitörleri tarafından engellenmiştir (Okamura ve ark. 2000) Bu çalışma, reperfüzyon hasarı sonucunda zVAD-fmk'ya ek olarak kaspaz-8, -9 ve -3 inhibitörlerinin infarkt alanında azalmaya neden olduğunu gösteren çalışmayla çelişmektedir (Mocanu ve ark. 2000) Bu

çalışmalardaki farklı sonuçların sebebi inhibitörlerin verildiği zamanların farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. İlk çalışmada, inhibitörler iskemiden önce verilmiş, ikincisinde ise reperfüzyonun başlangıcı sırasında verilmiştir.

Yukarıda bahsedilen çalışmada kaspaz-9 değeri kanlarımızda ölçülen değerlerimizle uyumludur ve kaspaz-9 düzeyi iskemiden hemen sonra düşmüş ve giderek artmaya başlamıştır. Bu da bize mitokondriyel yolağı kullanarak apoptozomun yapısında yer alan kaspaz-9'un iskemiden hemen sonra apoptozun azaldığı, 24.saat ve 30.gün ölçümünde artmaya başlamasıyla apoptozisin arttığını ve fizyolojik apoptozisin seviyesine ulaşmaya çalıştığını görüyoruz. Kaspaz-9 değerleri karşılaştırılmasında fark bulunmamıştır.

Literatür incelendiğinde kaspaz-9 düzeyi ile iskemi üzerine yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Bildiğimiz kadarıyla bizim çalışmamız bu konuda ilk çalışmadır. Bugüne kadar saptanmış en az 30 protein ve bir o kadar da apoptoziste olası rolü düşünülen protein vardır. Apoptozis, Bcl-2 ailesi dimerize proteinleri tarafından kontrol edilir. Bcl-2 geni, bir proto-onkogendir. Bazı antiapoptotik (bcl-2, bcl-xl....) ve proapoptotik (bax, bad, bak...) proteinler bu grupta yer almaktadır. Çalışmalarda "Bcl-2/Bax" oranı "death switch" (ölüm anahtarı) olarak değerlendirilmektedir. Bir başka ifadeyle hücrenin ölümle yaşam arasındaki geleceği bu iki protein arasındaki geleceği bu iki protein arasındaki denge sayesinde belirlenmektedir. İntrinsik yolak, Bcl-2 protein ailesi üyeleri arasından kontrol edilir. Bu bağlamda, apoptozis tanımlaması yapmak amacıyla intrinsik yolakta apoptozom halkasında yer alan Kaspaz-9 protein ifadesi araştırılmıştır.

### **7.3 IGF-1 (İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri) Bulgularının Tartışması**

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), fötal ve çocukluk evresi boyunca normal gelişmede esas rol oynar. Erişkin dönemde ise bu sistem hücre metabolizmasında rol oynadığı gibi, hücre proliferasyonu ve apoptozisin önlenmesi gibi fonksiyonların regülasyonunun da rol oynar (Jerome ve ark. 2003). IGF-1, mitojenik ve antiapoptotik etkiye sahip olan peptid yapıda bir hormondur (Fürstenberger ve Senn 1999). Serum IGF-1 konsantrasyonu değişik fizyolojik



faktörler tarafından etkilenir. Puberte sürecinde artar, 16 yaşında en yüksek seviyesine ulaşır ve yaşlanma sürecinde %80'nin üzerinde geriler. IGF-1 konsantrasyonları kadınlarda erkeklerden daha fazladır (Melmed 2001). İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF-1) vücuttaki hemen hemen her organ ve dokuda büyüme fonksiyonda rol oynamaktadır (Quin ve ark. 1990).

Gill C. ve arkadaşlarının (Gill, Mestril ve Samali 2002) yaptıkları çalışmada insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) infüzyonu verilen miyokard iskemili hayvan modellerinde apoptozu azalttığı gösterilmiştir. IGF-1'in nekroz ve iskemik miyokardın reperfüzyon sonrası meydana gelen enflamatuar durumları apoptozisi hafifletmesinde potansiyel olarak yararlı olan büyüme faktörlerinin önemli bir rolü olduğunu vurgulamışlardır.

Yenigün M.ve arkadaşlarının(Yenigün 2001)yaptıkları çalışmada arteriyel hasar; düz kas hücresinde, hızla gelişen uzun süreli bir IGF-1 mRNA ekspresyonuna neden olur. Trombositler de hem IGF-1 hem IGF-2 eksprese ederler. Aynı zamanda trombositlerde, IGF-1 salınımı olur. Makrofaj prekürsörlerinde de IGF-1 reseptörü vardır. IGF-1 bu hücrelerin stimülasyonu ve proliferasyonunda uyarıcı rol oynar. IGF-1, endotel hücresinin proliferasyonunu da stimüle eder. Endotel disfonksiyonu, daha fazla IGF-1 salınmasına yol açarak damar düz kas hücrelerinin proliferasyonuna yol açtığını belirtmişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmada miyokard infarktüsü geçirildikten hemen sonra IGF-1 düzeyleri düşmüş bir ay sonraki ölçümlerde de sağlıklı kişinin düzeyine tekrar ulaşmıştır. Miyokard infarktüsü geçirildiği anda anjiyogenejin azaldığını bir ay sonra gibi bir sürede fizyolojik anjiyogeneze ulaştığını görüyoruz. IGF-1 değerleri için sağlıklı bireyler ile miyokard infarktüsü geçiren kişiler arasındaki ölçülen değerlerin karşılaştırmasında MI'den hemen sonraki ilk ölçümde, bir gün sonraki ölçümde ve bir ay sonraki ölçümünde fark bulunmamıştır.

#### **7.4 IL-8 (İnterlökin-8) Bulgularının Tartışması**

IL-8 inflamasyonla ilişkili sitokinler arasında yer almakta ve akut inflamasyon bölgesine lökositleri çekebilme yeteneğine sahip olan bir kemokin

olarak bilinmektedir(Rot 1992)(Kumar, Basic pathology 1995). IL-8 ya da nötrofil aktive edici peptit, nötrofilleri çeken ve aktive eden major bir kemokindir (Zouboulis, Katsantonis ve Keteler 2000)(Kaburaki, Fujino ve Kawashima 2003). Proenflamatuar bir sitokin olan interlökin-8 (IL-8) düzeylerinin, iskemi sonrası miyokart depresyonu veya miyokardiyal sersemleme (stunning) olarak ifade edilen ve reperfüzyon sonrası geri dönüşsüz hasar olmaması ve perfüzyonun normal veya normale yakın olmasına rağmen devam eden mekanik disfonksiyonun olduğu durumlarda yükseldiği bildirilmiştir (Finn ve ark. 1993) (Hövels ve ark. 2002). IL-8 düzeylerinin miyokard disfonksiyonu olan çocuklarda kalp cerrahisi sonrasında yükseldiği gösterilmiş ve bu durumun kardiyopulmoner bypass süresi ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Seghaye ve ark. 1996) (Hövels ve ark. 2002). IL-8 proenflamatuar bir sitokindir ve kardiyopulmoner bypass geçirenlerde iskemi sonrası miyokart depresyonunda veya miyokardiyal sersemleme durumu ile ilişkili olabilir. IL-8 sitokininin iskemik miyokartta oluştuğu gösterilmiştir (Kanda ve ark. 1996) (Gessler ve ark. 2003).

Zhou RH. ve arkadaşlarının ( Zhou ve ark. 2001) IL-8 düzeylerinin kararsız angina ve akut miyokard infarktüsü geçiren hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu ölçmüşler ve IL-8'in iskemik kalp hastalığı sürecine dahil olduğunu düşünmüşlerdir.

Abe Y. ve arkadaşlarının (Abe ve ark. 1993) akut miyokard infarktüsünün çok erken aşamalarında IL-8'in geçici bir artış gösterdiğini ve miyokart hasarının gelişiminde güçlü bir nötrofil aktivatörü olan IL-8'in doku yaralanmalarında rol aldığını bildirmişlerdir. Riesenber K. ve arkadaşlarının (Riesenber ve ark 1997) miyokard infarktüsü geçiren 30 hastayla yaptıkları çalışmada IL-8 düzeyi yoğun bakıma kabul sırasında yüksek ve daha sonra azalmıştır. Bu, IL-8'in nötrofil aracılı doku hasarında bulunduğunu bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda bu üç çalışmanın aksine IL-8 değerleri miyokard infarktüsü geçirildiği anda ve ikinci gününde düşmüş ve bir ay sonraki değerlerinde yükselme göstermiştir fakat fizyolojik düzeye kadar yükselme olmamıştır. IL-8 değerleri arasında kontrol grubu ile MI'den hemen sonra ölçülen değerlerde fark

bulunmamıştır, MI'den bir gün sonraki ölçülen değerde ve bir ay sonraki ölçülen değerde fark bulunmuştur.

Apostolakis S. ve arkadaşlarının (Apostolakis ve ark. 2009) ‘‘IL-8 ve Kardiyovasküler Hastalıklar’’ adlı çalışmasında IL-8 kardiyovasküler hastalıklarda yeteneğini kanıtlanması gerektiğini ve IL-8 tabanlı tedavi seçeneklerinin yapılan araştırmaların az olması nedeniyle kendi yolunu bulmak için uzun süreye ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.

## 8 SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışma, AMI tanısı alan 42 hasta (26 erkek, 16 bayan) ve sağlıklı 42 kontrol (23 erkek, 19 bayan) grubundan oluşturuldu.
2. Hasta grubu ilk defa AMI tanısı alan ve kardiyak belirteçleri yüksek seyreden hastalardan seçilmiştir.
3. TNF- $\alpha$ 'nın progresif sol ventrikül disfoksiyonuna, pulmoner ödeme, sol ventrikül yeniden biçimlenmesine, fetal gen ekspresyonuna ve kardiyomiyopatiye neden olduğu gösterilmiştir.
4. Etiyolojisi ne olursa olsun tüm kalp yetersizliklerinde apoptozis süreci tetiklenmiştir.
5. İlk kez MI geçiren hastalarda plazma TNF- $\alpha$  düzeyleri akut dönemde yüksek ölçülmüş ve bu artış sol ventrikül yeniden biçimlenmesi ile yakından ilişkilidir.
6. Miyokard infarktüsünün hemen ardından TNF- $\alpha$  düzeyinin artmasını hücre kaybı ve hasarında rol oynadığı ve hücreyi apoptozise götürdüğünü bu nedenle bir artış olduğunu düşünmekteyiz.
7. Bizim çalışmamızda da iskemi sırasında yükselme olmuş ve giderek TNF- $\alpha$  düzeyinde düşme gözlenmiştir.
8. Apoptozom, prokaspaz-9'a bağlanarak konformasyonel değişim aracılığı ile aktifleşmesini yani kaspaz-9 oluşumunu indükler.
9. Kaspaz-9 düzeyi iskemiden hemen sonra düşmüş ve giderek artmaya başlamıştır.
10. Literatür incelendiğinde kaspaz-9 düzeyi ile iskemi üzerine yapılan bir çalışma bulunmamaktadır. Bildiğimiz kadarıyla bizim çalışmamız bu konuda ilk çalışmadır.
11. Apoptozis tanımlaması yapmak amacıyla intrinsik yolda apoptozom halkasında yer alan Kaspaz-9 protein ifadesi araştırılmıştır.
12. IGF-1'in nekroz ve iskemik miyokardın reperfüzyon sonrası meydana gelen enflamatuar durumları apoptozisi hafifletmesinde potansiyel olarak yararlı olan büyüme faktörlerinin önemli bir rolü olduğunu vurgulamışlardır.
13. Endotel disfonksiyonu, daha fazla IGF-1 salınmasına yol açarak damar düz kas hücrelerinin proliferasyonuna yol açtığını belirtmişlerdir.
14. IGF-1'in miyokard infarktüsü geçirildiği anda anjiyogenezin azaldığını bir ay sonra gibi bir sürede fizyolojik anjiyogeneze ulaştığını görüyoruz.
15. IL-8 sitokininin iskemik miyokartta oluştuğu gösterilmiştir.
16. IL-8 düzeylerinin kararsız angina ve akut miyokard infarktüsü geçiren hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu ölçmüşler ve IL-8'in iskemik kalp hastalığı sürecine dahil olduğunu düşünmüşlerdir.
17. IL-8 düzeyi yoğun bakıma kabul sırasında yüksek ve daha sonra azalmıştır. Bu, IL-8'in nötrofil aracılı doku hasarında bulunduğunu göstermiştir.

18. IL-8 kardiyovasküler hastalıklarda yeteneğini kanıtlanması gerektiğini ve IL-8 tabanlı tedavi seçeneklerinin yapılan araştırmaların az olması nedeniyle kendi yolunu bulmak için uzun süreye ihtiyaç olduğunu vurgulamışlardır.
19. IL-8 değerleri miyokard infarktüsü geçirildiği anda ve ikinci gününde düşmüş ve bir ay sonraki değerlerinde yükselme göstermiştir fakat fizyolojik düzeye kadar yükselme olmamıştır.
20. Bugünkü bilgiler ve veriler sınırlı olduğundan, apoptotik yolların modülasyonunun terapötik stratejiler için kullanışlı olup olmayacağını belirleyebilmek için çok geniş çaplı araştırmalar gereklidir.
21. Apoptozisten yararlanabilmek için selektif dokularda bu sürecin nasıl başlatılabileceği ve nasıl sonlandırılabilceğine yönelik yoğun çalışmalara gereksinim vardır.
22. Şu ana kadar apoptozis sürecindeki birçok anahtar apoptotik proteinlerin aktive veya inaktive edilmeleri ya da işlevlerinin moleküler mekanizması tamamiyle anlaşılamamıştır ve yapılacak olan araştırmalar ile bu mekanizmalar daha iyi anlaşılacaktır.
23. Çoğu zaman göz ardı edilmesine karşın, anjiyogenezin gelişimi miyokart canlılığının devam ettirilmesinde oldukça büyük öneme sahiptir. Yeteri kadar zengin bir kolateral dolaşım ağı miyokart iskemisini ve enfarktüs alanını sınırlandırmakta, miyokart canlılığının uzun süre devam etmesini sağlayarak prognoz üzerine olumlu etki göstermektedir.
24. İleri derecede koroner darlığa bir yanıt olarak meydana gelen anjiyogenezin gelişimi açısından aynı derecede koroner kalp hastalığı varlığında bireyler arasında büyük farklılıklar vardır. Birçok fizyopatolojik ve biyokimyasal belirteç anjiyogenezin gelişimini etkileyebilmektedir.
25. Anjiyogenezin gelişim mekanizmasını ve hangi faktörlerin kolateral gelişimi üzerine etki ettiğini tam olarak anlayabilmek, özellikle revaskülarizasyona uygun olmadığı düşünülen hastalarda biyolojik "baypas" olarak adlandırılan bu kolateral dolaşım ağının gelişimine katkıda bulunabilir.
26. Endotel progenitör hücrelerin anjiyogenez sürecinde fonksiyonlarını devam ettirdiğinin bilgisine ulaşılması hem birçok patolojik süreci daha iyi algılamamıza neden olacak hem de günümüzde mortalitenin en sık sebepleri sıralamasında ilk sıralarda olan kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yeni seçenekler ortaya koyacaktır.

## 9 KAYNAKÇA

Abbas AK, AH Lichtman, JS Pober. Effectör mekanisms of T cell mediated immun reactions. USA: WB Saunders Company: In Cellular and molecular Immunology 3th ed., 1997. 13:286.

Abe Y, M Kawakami, M Kuroki, T Yamamoto, M Fuji, ve H Kobayashi. Transient rise in serum interleukin-8 concentration during acute myocardial infarction. Br Heart J, 1993: 70:132-134.

Adair TH, WJ Gay, ve JP Montani. Growth regulation of the vascular system: evidence for a metabolic hypothesis. Am J Physiol, 1990: 259:R393-R404.

Adi S, ZQ Cheng, PL Shang, NY Wu, SH Mellon, ve SM Rosental. Opposing early inhibitory and late stimulatory effects of insulin-like growth factor-I on myogenin gene transcription. J Cell Biochem, 2000: 78:617-26.

Adlbrecht C, K Hoetzenecker, M Posch, S Steiner, C Kopp, S Hacker. Elevated levels of interleukin-1 beta-converting enzyme and caspase-cleaved cytokeratin-18 in acute myocardial infarction. Eur J Clin Invest, 2007: 37:372-380.

Afford S, S Ranthawa. Demystified: Apoptosis. Mol Pathol, 2000: 53(2):55-63.

Albert JS, K Thygesen, E Antman, JP Bassand. Myocardial infarction redefined-a consensusdocument of The Joint European Society of Cardiology/American Collage of Cardiology Committee for the redefinition of miyocardial infarction. J Am Coll Cardiol, 2000: 36:959-69.

Allen BS, GD Buckberg, FM Fontan, MM Kirsh, G Popoff, F Beyersdorf. Superiority of controlled surgical reperfusion versus percutaneous transluminal coronary angioplasty in acute coronary occlusion. J Thorac Cardiovasc Surg, 1993: 105:864-84.

Allen, DL, SR Monke, RJ Talmadge, RR Roy, ve VR Edgerton. Plasticity of myonuclear number in hypertrophied mammalian skeletal muscle fibers. *J Appl Physiol*, 1995: 78:1969-76.

Alles, A, K Alley, ve JC Barrett. Apoptosis: a general comment. *FASEB J*, 1991: 5:2127-28.

Allure, R. Basement membranes: Structure, assembly and role in tumor angiogenesis. *Nat Rev Cancer*, 2003: 3:422-433.

Altunkaynak, BZ, ve E Özbek. Programlanmış Hücre Ölümü: Apoptoz Nedir? *Tıp Araş. Derg.*, 2008: 6(2):93-104.

Antman, E, ve E Braunwald. Acute Myocardial Infarction, in: Braunwald E (ed). *Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 6th ed, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001: 1114-1231.

Antman, EM, M Hand, ve PW Armstrong. 2007 Focused Update of the ACC/AHA 2004 Guidelines for the Management of Patients with ST-Elevation Myocardial Infarction. A report of American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Journal of American College of Cardiology*, 2008: 51:210-247.

Antman, EM, ve E Braunwald. Acute Myocardial Infarction. *Harrison's Principles of Internal Medicine* 14th Edition, 1997: 1352-1365.

Apostolakis, S, V Konstantina, A Virginia, A Demetrios, ve A Spandidos. Interleukin-8 and cardiovascular disease. *Cardiovascular Research*, 2009: 84:353-60.

Ausprunk, DH, ve J Folkman. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res.*, 1997: 14:53-65.

Başaran, Y, MM Başaran, ve KF Babacan. Serum tumor necrosis factor levels in acute myocardial infarction and unstable angina pectoris. *Angiology*, 1993: 44:332-37.

Beaune, B, S Blone, N Fellmann, M Bedu, ve J Coudert. Serum insulin like growth factor-I and physical performance in prepubertal Bolivian girls of a high and low socio-economic status. *Eur J Appl Physiol* , 1997: 76:98-102.

Bellamy, CO, RD Malcomson, DJ Harrison, ve AH Wyllie. Cell death in heart and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Cancer Biology*, 1995: 6:3-16.

Bender, LM, MJ Morgan, LR Thomas, ZG Liu, ve A Thoburn. The adaptor protein TRADD activates distinct mechanisms of apoptosis from the nucleus and the cytoplasm. *Cell Death and Differentiation*, 2005: 12:473-481.

Bennet, MR, ve JJ Boyle. Apoptosis in cardiovascular disease: Heart. *Heart*, 1998: 79:313.

Bodor, GS, D Porterfield, ve E Voss. Cardiac troponin I is not expressed in fetal and adult human skeletal muscle tissue. *Clinical Chem*, 1995: 41:1710-15.

Boersma, H, G Doornbos, ve BPM Bloomberg. Cardiovascular diseases in Europe. European registries of cardiovascular diseases and patient management. *Eur Soc of Cardiol*, 1999: Sophia Antipolis, France, 15-22.

Braunwald, E ve ark. American Heart Association. Committee on the Management of Patients With Unstable Angina. *J Am Coll Cardiol*, 2002: 40:1366-74.

Brooks, PC. Role of integrins in angiogenesis. *Eur J Cancer*, 1996: 32A:3223-29.

Budd, RC. Death receptors couple to both cell proliferation and apoptosis. *J Clin Invest*, 2002: 109:437-42.



Burtis, CA, ve ER Ashwood. Klinik kimyada temel ilkeler. Tietz 5. baskı Palme yayıncılık, 2005: 688-694.

Camussi, G, E Albano, C Tetta, ve F Bussolini. The molecular action of tumor necrosis factor-alpha. Eur J Biochem, 1991: 202:3-14.

Carlson, BM. Human-Development Biology. 2.ed.St Louis: Mosby Inc, 1999: 148,190,222.

Carmeliet, P. Angiogenesis in health and disease. Nat Med, 2003: 9:653-60.

Cheo, P, I Ocran, PJ Fielder, EK Neely, SE Gargosky, ve CI Deal. Insulin like growth factors (IGF): Implications of aging. Psycho neuroendocrinology, 1992: 17:335-42.

Church, MK, JK Shute, ve AP Sampson. Mast cell-derived mediators. 6th ed. USA: Mosby, 2003: 205.

Clemmons, DR. Peptide growth factors in "Joslin's Diabetes Mellitus" Ed by Kahn CR, Gordon, CW. A Waverly. Philadelphia, 1994. 177-92.

Cohen, JJ. Apoptosis: The physiological pathway of cell death. Hosp Pract, 1993: 15:35-43.

Coolican, SA, DS Samuel, DZ Ewton, FJ Mcwade, ve JR Florini. The mitogenic and myogenic actions of insulin-like growth factors utilize distinct signaling pathways. J Biol Chem, 1997: 272:6653-62.

Cotran, RS, V Kumar, ve T Collins. Cell Injury and Cell Death. In: Robbins Pathologic Basis of Disease. Philadelphia, 1999. 18-25.

Czech, MP. Signal transmission by the IGF;s. CELL, 1989: 59:235-238.

Daly, ME, A Makris, M Reed, ve CE Levis. Hemostatic regulators of tumor angiogenesis: a source of antiangiogenic agents for cancer treatment? J Natl Cancer Inst, 2003: 95:1660-73.

Danial, NN, ve SJ Korsmeyer. Cell death: critical controlp points. Cell, 2004: 116:205-219.

Dauerman, HL, D Lessard, ve J Yarzebski. Ten-year trends in the incidence, treatment and outcome of Q-wave myocardial infarction. Am J Cardiol, 2000: 86:730-35.

David, R, Z Machova, ve AG Beck-Sickinger. Semisynthesis and application of carboxyfluorocin-labelled biologically active human interleukin 8. Biol Chem, 2003: 384:1619-30.

Davies, MJ. Pathology of Coronary heart disease. Overall findings and differences by age for 316099 white man. Multipl risk factor invertention trial research group. Arch Intern Med., 1992: 152:56-64.

Demiray, M, E Ulukaya, ve M Arslan. Reponse to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer be Predictable by Measuring a Novel Serum Apoptosis Product Caspase-Cleaved Cytokeratine 18: A Prospective Pilot Study.» Cancer Invest, 2006: 24(7):669-76.

Demircioğlu, C, ve N Yazıcıoğlu. Koroner kalp hastalıkları. İç Hastalıkları, 1990: 3:282-288.

Deniz, G Çubukoğlu, ve AR Akar. Kalıcı atriyal fibrilasyon ve normal sinüs ritimli olgularda atriyal hücrelerde apoptozis ve apoptozisi regüle edici proteinlerin karşılaştırılması. Ankara: Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, 2008.

DeVol, DL, P Rotwein, JL Sadow, J Novakofski, ve BJ Bechtel. Activation of insülin like growth factor gene expression during work-induced skeletal muscle growth. Am J Physiol, 1990: 259:89-95.

Doğancı, S, M Kadan, E Kaya, G Erol, C Günay, ve U Demirkılıç. Can TNF-alpha be a Preictor for Atrial Fibrillation After Cardiac Surgery? Turkiye Klinikleri J Med Sci, 2013: 33(4):987-94.

Dörtlemez, H. Koroner arter hastalıkları etyoloji ve klinik. Kardiyoloji günleri. 4. Eğitim toplantısı, Der., 1997: 5-10.

Dörtlemez, Ö. Akut miyokart infarktüsü risk faktörleri, etyopatogenez, epidemiyoloji. Kardiyoloji günleri. 5. Eğitim toplantısı, Der., 1997: 4-18.

Earnshaw, WC, LM Martins, ve SH Kaufmann. Mammalian caspases: structure, activation, substrates and functions during apoptosis. Annu Rev Biochem, 1999: 68:383-424.

Ellis, AK. Serum protein measurements and the diagnosis of acute myocardial infarction. Circulation, 1991: 83:1107-1109.

Enar, R. Akut Miyokard İnfarktüsü Teşhis ve Tedavi Klavuzu. Nobel Tıp Kitabevleri, 2006.

Enari, M, H Shakira, H Yokoyama, K Okowa, A Iwamatsu, ve SA Nagata. A caspase-actived DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. Nature, 1998: 391:43-50.

Endler, G, et al. Mean platelet volume is an independent risk factor for myocardial infarction but not for coronary artery disease. Br. J Haematol, 2002: 117:399-404.

Erdoğan, BB. Apoptozis mekanizmaları: tümör gelişiminde fas-fasl bağımlı apoptozis. Akçiğer Arşivi, 2003: 4:165-174.

Erener, GA, ve M Aköz. Akut miyokard infarktüsü teşhisi ve prognozunu belirlemede apoptoz belirteçleri ve okside düşük dansiteli lipoprotein önemi. Konya, 2011.

Estaguiet, J, T Idzierek, FD Bels, FB Sinoussi, B Hurtel, ve AM Aubertin. Programmed cell death and AIDS; significance of T-cell apoptosis in pathogenic and nonpathogenic primate lentiviral infections. Immunology, 1994: 91:9431-35.

Falk, E, PK Shah, ve V Fuster. Coronary plaque disruption. *Circulation*, 1995: 92:657-71.

Fan, JP, PE Molina, MC Gelato, ve CH Lang. Differential tissue regulation of insulinlike growth factor-I content and binding proteins after endotoxin. *Endocrinology*, 1994: 134:1685-92.

Felmeden, DC, AD Blon, ve GY Lip. Angiogenesis:basic pathphysiology and implications for disease. *Eur Heart*, 2003: 24:586-603.

Ferrara, N. Role of vascularendothelial growth factors in the regulation of angiogenesis. *Kidney Int*, 1999: 56:794-814.

Ferrara, N, HP Gerber, ve J Le Couter. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.*, 2003: 9:669-676.

Ferri, KF, ve G Kromer. Mitochondria-the suicide organelles. *Bio Essay*, 2001: 23:111-115.

Fiers, W, R Beyaert, W Declercq, ve P Vandenabeele. More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive oxygen damage. *Oncogene*, 1999: 18:7719-30.

Finn, A, S Naik, N Klein, RJ Levinsky, S Strobel, ve M Elliott. Interleukin-8 release and neutrophil degranulation after pediatric cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1993: 105:234-41.

Folkman, J, ve Y Shing. Angiogenesis. *J Biol Chem*, 1992: 267:10931-10934.

Frangiannis, NG, CW Smith, ve ML Entman. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, 2002: 53:31-47.

Frangiannis, NG, CW Smith, ve ML Entman. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, 2002: 53:31-41.

Franke, A, W Lante, V Fackeldey, HP Becker, E Kurig, ve LG Zöller. Pro-inflammatory cytokines after different kinds of cardio-thoracic surgical prodecures: is what we see what we know? Eur J Cardiothorac Surg, 2005: 28:569-75.

Franzosi, MG, E Santoro, ve C De Vita. Ten-year follow-up of the first megatrial testing thrombolytic therapy in patients with acute myocardial infarction. results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto-1 study. The GISSI Inverstigators. Circulation, 1998. 98:2659-2665.

Frber, JL, ve SK El Mofty. The biochemical pathology of liver cell necrosis. Am J Pathol, 1975: 81:237-250.

Fuster, V, RW Alexander, ve RA O'Rourke. Akut miyokard infarktüsli hastaların tanı ve tedavisi. Hurst's The Heart , 2002: 10. baskı 3. cilt 1275-59.

Fürstenberger, G, ve HJ Senn. Insulin-like growth and cancer. Hormone Research, 1999: 51:34-41.

Fürstenberger, G, ve HJ Senn. Insulin-like growth factors and cancer. Lancet Oncol, 2002: 3:298-302.

Gastman, BR. Apoptosis and its clinical impact. Head Neck, 2001: 23:409-25.

Gerschenson, LE, ve RJ Rotello. Apoptosis: A different type of cell death. Faseb J, 1992: 6:2450-55.

Gessler, P, J Pfeninger, JT Pfammater, T Carrel, O Baeziger, ve C Dahinden. Plazma levels of interleukin-8 and expression of interleukin-8 receptors on circulating neutrophils and monocytes after cardiopulmonary bypass in children. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003: 126:718-25.

Gill, C, R Mestril, ve A Samali. Losing heart: the role of apoptosis in heart disease-a novel therapeutic target? FASEB J, 2002: 16:135-46.

Gillum, RF, SP Fortmann, RJ Prineas, ve TE Kottke. International diagnostic criteria for acute myocardial infarction and acute stroke. *Am Heart J*, 1984: 108:150-58.

Gluckman, PD, BH Breier, ve SR Davis. Physiology of somatotropic axis with particular reference to the ruminant. *J Dairy Sci*, 1987: 70:442-66.

Goodsell, DS. The molecular perspective: VEGF and angiogenesis. *Stem Cells*, 2003: 21:118-119.

Gök, H. Akut Miyokart İnfarktüsü. *Klinik Kardiyoloji İkinci Baskı*, 2002: 273-321.

Griffiths, AJF, WM Gelbart, JH Miler, ve RC Lewontin. Regulation of cell number: Normal and cancer cells. In: *Modern Genetic Analysis*. WH Freeman and Co, 1999.

Grimberg, A, ve P Cohen. Role of insulin-like growth factors and their binding and proteins growth control and carcinogenesis. *J Cell Physiol*, 2000: 183:1-9.

Gürbilek, M, C Dağlar, M Aköz, ve C Topçu. Diabetes mellituslu hastalarda hastalık süresinin eritrosit membranı Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz enzim aktivitesi, lipid peroksidasyonu ve DHEA(S), glukz, lipid düzeyleri üzerine etkisi. *Turkish Journal of Biochemistry*, 2004: 29(3):237-242.

Haroon, ZA, KG Peters, CS Greenberg, ve MW Dewhirst. Angiogenesis and Oxygen Transport in Solid Tumors. Teicher BA (eds). *Antiangiogenic Agents in Cancer Therapy*. Totowa-New Jersey: Humana Press, 1999. 3-21.

Harris, CC. Structure and function of the p53 tumor supressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. *J Nat Can Inst*, 1996: 88(20):1442-55.

Hatton, JP. Pharmacological treatment of traumatic brain injury: A review of agents in Development . *CNS Drugs*, 2001: 15(7):553-81.

Heath, VL, ve R Bicknell. Anticancer strategies involving the vasculature. Nat Rev Clin Oncol, 2009: 6:395-404.

Heper, C. Heper Kardiyoloji. Nobel-Güneş Tıp Kitapevi, 2002: 225-254.

Hermann, M, ve JR Kalden. Apoptosis and autoimmunity. Universty of Erlangen-Nuremberg, Institute for Clinical Immunology. Weinheim, Germany: Wilwy-Vch Verlag GmbH-Co, 2003.

Hirota, K, CR Adolphson, ve GC Gleich. Biology of eosinophils. 6th ed. USA: Mosby, 2003: 314.

Hökelek, M, MA Özcel, M Tanyüksel, ve H Eren. Patogenez ve apoptozis (hücresel hasar mekanizmaları, programlanmış hücre ölümü)- Moleküler Parazitoloji. Meta Basım, Bornova, İzmir, 2009: 31-47.

Hövels, HH, ve ark. Production of proinflammatory bypass. J Thorac Cardiovasc Surg, 2002: 124:811-20.

İlçin, G, K Biberoglu, G Süleymanlar, ve S Ünal. Akut Miyokart İnfarktüsü. İç Hastalıkları, İkinci Baskı, Güneş Kitabevi Ankara: Cilt:1, 2003: 474-95.

Irwin, MW, S Mak, DL Mann, R Qu, JM Penninger, ve A Yan. Tissue expression and immunolocalization of tumor necrosis factor-alpha in postinfarction myocardium. Circulation, 1999: 99:1492-98.

Jaffe, AS, C Ritter, V Meltzer, H Harter, ve R Roberts. Unmasking artifactual increases in creatine kinase isoenzymes in patients with renal failure. J Lab Clin Med, 1984: 104:193-202.

James, TN. Apoptosis in cardiac disease. Am J Med, 1999: 107:606-620.

Jerome, L, L Shiry, ve BL Jones. Deregulation of the IGF axis in cancer: epidemiological evidence and potential therapeutic interventions. Endocr Relat Cancer, 2003: 10:561-578.

Jones, BA, ve GJ Gores. Physiology and pathophysiology of apoptosis in epithelial cells of the liver, pancreas and intestine. *Am J Physiol*, 1997: 273(Gastrointest Liver Physiol 36):G1174-88.

Kaburaki, T, Y Fujino, ve H Kawashima. Plasma and whole-blood chemokine levels in patients with Behcet's disease. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2003: 241-353.

Kanda, T, Y Hirao, S Oshima, K Yuasa, K Taniguchi, ve R Nagai. Interleukin-8 as a sensitive marker of unstable coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 1996: 77:304-307.

Kargı, A, E Özer, GM Kuzey, ŞO Özdamar, ve S Zengeroğlu. Hücre sel patoloji-Temel Patoloji. Güneş Kitapevi-Ankara, 2007: 9-27.

Kaya, EB, ve ark. The early predictors of ventricular remodeling after myocardial infarction: the role of tumor necrosis factor-alpha. *Anadolu Kardiyol Derg*, 2009: 9:84-90.

Kerr, JF, AH Wyllie, ve AR Currie. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 1972: 26:239-57.

Khan, AS, DC Sane, T Wannenburg, ve WE Sonntag. Growth hormone, insulin-like growth factor-I and aging cardiovascular system. *Cardiovascular Res*, 2002: 54:25-35.

Kiess, W, ve B Gallaher. Hormonal control of programmed cell death apoptosis. *Eur J Endocrin*, 1998: 18:482-491.

Konukoğlu, D, ve SM Turhan. Moleküler basis of angiogenesis mechanisms and tumor angiogenesis. *Cerrahpaşa J Med*, 2005: 36:42-48.

Konukoğlu, K, ve SM Turhan. Molecular basis of angiogenesis mechanisms and tumor angiogenesis. *Cerrahpaşa J Med*, 2005: 36:42-48.



Koseki, T, N Inohara, S Chen, ve G Nunez. ARC, an inhibitor of apoptosis expressed in skeletal muscle and heart that interacts selectively with caspases. Proc Natl Acad Sci USA , 1998: 95:5156-60.

Kristensen, SD. The platelet-vessel wall interaction in experimental atherosclerosis and ischaemic heart disease with special reference to trombopoiesis. Dan Med Bull, 1992: 39(2):110-27.

Kumar, V. Basic pathology. Philadelphia: 5 th edition:WB Saunders, 1995. 25-40.

Kumar, V, AK Abbas, ve N Fausto. Cellular adaptations, cell injury, and cell death. Pathologic basis of disease. Philadelphia-Pennsylvania, 2005. 3-46.

Kurosaka, K, M Takahashi, N Watanabe, ve Y Kobayashi. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. J Immunol, 2003: 171:4672-79.

Kültürsay, H. Kardiyoloji ve Laboratuvar Etkileşimi. Ulusal Biyokimya Kongresi. Marmaris, 2004. 19.

Lane, DP, ve LV Crawford. T antigen is bound to a host protein in SV40 transformed cells. Nature, 1979: 278(2):261-263.

Lankamfi, M, N Festjens, W Declercq, BT Vanden, ve P Vandenabeele. Caspases in cell survival, proliferation and differentiation. Cell Death Differ, 2007: 14 (1):44-55.

Levison, DA, ve D Hopwood. Atrophy and apoptosis in the cyclical human endometrium. J Pathol, 1976: 119:159-166.

Li, WW, M Hutnik, ve G Gehr. Antiangiogenesis in hematological malignancies. Br J Haematol, 2008: 143:622-31.

M, Shaker, N Kipshidze, J Fareed, JW Moses, ve PW Serruys. Angiogenesis and myogenesis. USA: Informa Healthcare, 2007. 393-407.

Majno, G, ve I Joris. Apoptosis, oncosis, necrosis: An overview of cell death. *Am J Pathol*, 1995: 146:3-15.

Mansuroğlu, D, K Kırallı, ve C Yakut. The inflammatory response, Other mediators of inflammation, Controlling of acute inflammation. *Türkiye Klinikleri J Cardiovascular Surgery*, 2004: 5(3):183-196.

Martin, GS, BN Becker, ve G Schulman. Cardiac troponin-I accurately predicts Myocardial injury in renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 1998: 13:1709.

Mattey, DL, PT Dawes, NB Nixon, L Goh, MJ Banks, ve GD Kitas. Increased levels of antibodies to cytokeratin 18 in patients with rheumatoid arthritis and ischaemic heart disease. *Ann Rheum Dis*, 2004: 63:420-425.

McCarthy, NJ, ve GI Evan. Methods for detecting and quantifying apoptosis. *Curr Top Dev Biol*, 1998: 36:259-278.

McDouall, RM, M Yacoub, ve ML Rose. Isolation, culture and characterisation of MHC class II-positive microvascular endothelial cells from the human heart. *Microvasc Res*, 1996: 51:137-152.

McPhie, DL, et al. DNA synthesis and neuronal apoptosis caused by familial Alzheimer disease mutants of the amyloid precursor protein are mediated by the p21 activated kinase PAK3. *The Journal of Neuroscience*, 2003: 23(17):6914-6927.

Melmed, S. Disorders of the anterior pituitary and hypothalamus. 15th edition. New York: E Braunwald; AS Fauci; DL Kasper; SL Hauser; DL Longo; JL Jameson, 2001. 2029-2052.

Mignatti, P, ve DB Rifkin. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis. *Enzyme Protein*, 1996: 49:117-137.

Mills, JC, NL Stone, ve RN Pittman. Extranuclear Apoptosis: The Role of the Cytoplasm in the Execution Phase. *J Cell Biol*, 1999: 146:703-7.

Mocanu MM, GF Baxter, ve DM Yellon. Caspase inhibition and limitation of myocardial infarct size: protection against lethal reperfusion injury. *Br J Pharmacol*, 2000; 130:197-200.

Mountz JD, T Zhou. Apoptosis and Autoimmunity. IN: Koopman WJ. *A Textbook of Rheumatology: Arthritis and Allied Conditions*. Lippincott Williams-Wilkins, 2001.

Nicholson DW. Caspase structure, proteolytic substrates and function during apoptotic cell death. *Cell Death Differ*, 1999; 6:1028-42.

Okamura T. Effect of caspase inhibitors on myocardial infarct size and myocyte DNA fragmentation in the Ischemia-reperfused rat heart. *Cardiovasc Res*, 2000; 45:642-650.

Oppenheim JJ, FW Ruscetti. Cytokines. *Medical Immunology*, 1997; 10:162-164.

Öktem S, MH Özhan, D Özol. Apoptozisin. *Toraks Dergisi*, 2001; 2(1):91-95.

Ömürlü K, D Oral. Akut miyokard enfarktüsünün klinik ve laboratuvar bulguları. *Galenos Tıp Der.*, 1998; 21:10-15.

Öztürk F. Apoptoz. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2002; 9(2):143-48.

P Saikumar, Z Dong, M Denton V Mikhoilov, JM Weinberg, MA Venkatachalam. Apoptosis: definition, mechanisms and relevance to disease. *A J Med*, 1999; 107:489-506.

Parham P. *The Immun System*. Garland Publishing-Londra, 2000: 216.

Pepper MS, R Montesano, SJ Mandriota, L Orci, JD Vassalli. A paradigm for balanced extrasellüler proteolysis during cell migration and morphogenesis. *Enzyme Protein*, 1996; 49:138-162.

Pete G, CR Fuler, JM Oldham, DR Smith, AJ E'Ercole, CR Kahn. Postnatal growth responses to insulin receptor substrate-1-deficient mice. *Endocrinology*, 1999; 140:5478-87.

Philchenkov A. Caspases: potential targets for regulating cell death. *J Cell Mol Med*, 2004; 8:432-44.

Pınarbaşı E. Apoptozis, Moleküler Biyoloji. Ankara: Nobel yayınevi, 2007: 423-468.

Piret JP, T Arnould, B Fuks, P Chatelain, J Remacle, C Michiels. Caspase activation precedes PTP opening in TNF- $\alpha$ -induced apoptosis in L929 cells. *Mitochondrion*, 2004; 3:261-278.

Pop C, GS Salvasen. Human caspases: activation, specificity and regulation. *J Biol Chem*, 2009; 284(33):21777-21781.

Quin JD, BM Fisher, KR Peterson, A Inoue, GH Beastall, ve AC MacCuish. Acute response to recombinant insulin-like growth factor I in a patient with Mendenhall's syndrome. *N Engl J Med*, 1990; 323:1425-1426.

Rajappa M, A Sharma. Biomarkers of cardiac injury: An update. *Angiology*, 2005; 56:677-691.

Reed JC. Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol*, 2000; 157:1415-30.

Rehman AG, C Booth, CS Potten. What is apoptosis, and why is it important? *BMJ*, 2001; 322:1536-36.

Ricchiuti V, EM Voss, A Ney, M Odland, PA Anderson, FS Apple. Cardiac troponin T isoforms expressed in renal diseased skeletal muscle will not cause false-positive results by the second generation cardiac troponin T assay by Boehringer Mannheim. *Clin Chem*, 1998; 44:1919-1924.

Ridker PM, J Genest, P Libby. Risk factors for atherosclerotic disease, In: Braunwald E (ed). Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine. 6th ed, Philadelphia:WB. Saunders Company, 2001: 1010-1039.

Ridker PM, N Rifai, M Pfeffer, F Sacks, S Lepage, E Braunwald. For the Cholesterol And Recurrent Events (CARE) Investigators. Elevation of tumor necrosis factor- $\alpha$  and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation*, 2000: 101:2149-53.

Riesenberg K, R Levy, A Katz, S Galkop, ve F Schlaeffer. Neutrophil superoxide release and uncomplicated states. *Eur J Clin Invest*, 1997: 27:398-404.

Rodenburg RJT, JMH Raats, GJM Pruijn, ve WJ van Venrooij. Cell death: a trigger of autoimmunity? *Bioessays*, 2000: 22:627-36.

Rosenwasser LJ, L Borish. Cytokines in allergic inflammation. 6th ed. USA: Mobsy, 2003: 138-139.

Rot A. Endothelial cell binding of NAPI/IL-8: Role in neutrophil migration. *Immunol Today*, 1992: 51:236-265.

Sabbah HN. Apoptotic cell death in heart failure. *Cardiovasc Res*, 2000: 45:704-712.

Saikumar P, Z Dong, V Mikhailov, M Denton, JM Weinberg, MA Venkatachalam. Apoptosis: definition, mechanisms and relevance to disease: *Am J Med*, 1999: 107:489-506.

Sanders EJ, PH Torkkeli, AS French. Patterns of cell death during gastrulation in chick and mouse embryos. *Anat Embryol*, 1997: 195:147-54.

Savil J, V Fadok. Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature*, 2000: 407:784-88.

Schaper W. Tangential wall stress as a molding force in the development of collateral vessels in the canine heart. *Experientia*, 1967: 23:595-96.

Schittny JC, V Djonov, A Fine, PH Burri. Programmed cell death contributes to postnatal lung development. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998: 18:786-793.

Schwartzman RA, JA Cidloski. Apoptosis; the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Revies*, 1993: 14:133-144.

Searle J, JFR Kerr, CJ Bishop. Necrosis and apoptozis: distinct modes of cell death with fundamentally different significance. *Pathol Ann*, 1982: 17:229-59.

Seghaye MC, RG Grabitz, J Duchateau, S Busse, S Dabritz, D Koch. Inflammatory reaction and capillary leak syndrome related to cardiopulmonary bypass in neonates undergoing cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1996: 112:687-697.

Seiler C. The human coronary collateral circulation. *Heart*, 2003: 89:1252-57.

Shi J, L Wei. Rho kinase in the regulation of cell death and survival. *Arch Immunol Ther Exp*, 2007: 55:61-75.

Shi Y. Mechanical aspects of apoptosome assembly. *Curr Opin Cell Biol*, 2006.

Siddle K, MA SOOS, CE Field, BT Nave. Hybrid and atypical insulin/insulin-like growth factor I receptors. *Hor Res*, 1994: 41:56-65.

Singleton JR, EL Feldman. Insulin-like growth factor-I in muscle metabolism and myotherapies. *Neurobiol Disease*, 2001: 8:541-54.

Sonel A. Sonel Kardiyoloji. Semih ofset Ltd. Şti. 4.baskı, 2003: 558-601.

Staley K, AJ Blaschke, ve J Chun. Apoptotic DNA fragmentation is detected by a semiquantitive ligation-mediated PCR of blunt DNA ends. *Cell Death and Differentiation*, 1997: 4:66-75.

Strasser A, L O'Connor, VM Dixit. Apoptosis signal-ing. *Annu Rev Biochem*, 2000: 69:217-45.

Takai Y, T Sasaki, T Matozaki. Small GTP-binding proteins. *Physiol Rev*, 2001: 81:153-208.

Tamanini C. De Ambrogi M. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reprod Domest Anim*, 2004: 39:206-216.

Thompson CB. Apoptosis. In: Paul WE, ed. *Fundamental Immunology*. Lippincott-Raven Publishers, 1999.

Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*, 1997.

Tokgöz G. Stokinler. *Klinik İmmünoloji*, 1997: 11:85-100.

Tomatır AG. Apoptoz:Programlı hücre ölümü. *T Klin Bilim*, 2003: 23:499-508.

Ueno T, M Toi, K Biven, H Bando, T Ogawa, S Linder. Measurement of an apoptotic product in the sera of breast cancer patient. *Eur J Cancer*, 2003: 39:769-774.

Ulukaya E. Apoptozis Ders Notları. <http://biyokimya.uludag.edu.tr/apoptozisdersnotu.pdf>. 04 05 2007. <http://biyokimya.uludag.edu.tr/apoptozisdersnotu.pdf> (05 04, 2007 tarihinde erişilmiştir).

Ulukaya E, A Yılmaztepe, S Akgöz, S Linder, M Karadağ. The Levels of caspase-cleaved cytokeratin 18 are elevated in serum from patients with lung cancer and help ful to predict the survival. *Lung Cancer*, 2007: 56:399-404.

Velculescu VE, WS El-Deiry. Biological and clinical importance of the p53 tumor suppressor gene. *Clin Chem*, 1996: 42(6):858-68.

Wang HS. TIGFs ve IGF-binding proteins in the regulation of human ovarian and endometrial function. *J Endoc*, 1999: 161:1-13.

Warner SJC, P Libby. Human vascular smooth muscles: target for and source of tumor necrosis factor. *J Immunol*, 1989: 142:9-100.

Werf F, Van de, D Ardissino, A Betriu, DV Cokkinos, E Falk, KAA Fox. Management of Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 2003: 24:28-66.

Whitler RJ, RJ, AW Meikle, ve NB Watts. Pituitary function, In "Tietz Fundamentals of clinical chemistry" 4th ed. WB Saunders Company, Philadelphia, 1996: 626-39.

Wood MA De, WF Stifter, ve CS Simpson. Coronary arteriographic findings soon after non-Q-wave myocard infarction. *N. Engl. J. Med.*, 1986: 315:417-423.

Wright SC, QS Wei, DH Kinder, ve JW Larrick. Biochemical pathways of apoptosis. *J Exp. Med.*, 1996: 183:463-471.

Wyllie AH, JF Kerr, ve AR Currie. Cell death: the significance of apoptosis. *In Rev Cytol*, 1980: 68:251-306.

Wyllie AH, E Duvall. Cell death. In. *Oxford Textbook of Patology* vol1. USA: : McGee JO'D, Issacson PGR, Wright N (eds)., 1992. 142-47.

Yenigün M. Kardiovasküler diabet. M Yenigün; Y Altuntaş; Her yönüyle diabetes mellitus. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri 2. baskı, 2001. 637-696.

Yuan J. Evolutionary conservation of a genetic pathway of programmed cell death. *J Cell Biochem*, 1996: 60:4-11.

Yuan J, S Shaham, S Ledoux, HM Ellis, ve HR Horvitz. The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. *Cell*, 1993: 376:37-43.

Zeis CJ. The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice. *Vet Pathol*, 2003: 40:481-95.



Zhou RH, Q Shi, HQ Gao, BJ Shen. Changes in serum interleukin-8 and interleukin-12 levels in patients with ischemic heart disease in a Chinese population. *J Atheroscler Thromb*, 2001; 8:30-32.

Zimmerman J, R Fromm, ve D Mayer. Diagnostic marker cooperative study for the diagnosis of myocardial infarction. *Circulation*, 1999; 1671-77.

Zou H, Y Li, ve X Wang. An APAF-1. Cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activates procaspase-9. *Biol Chem*, 1999; 274:11549-11556.

Zouboulis C, J Katsantonis, ve R Keteler. Adamantiades-Behçet's disease: interleukin is increased in serum of patients with active oral and neurological manifestations and is secreted by small vessel endothelial cells. *Arch Dermatol Res*, 2000; 292:279-84.