



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

DeneySEL akut miyokard infarktüsü modelinde Borik asit kullanımı ve Omega-3 yağ asidi tüketiminin miyokard dokusu üzerine olan etkilerinin araştırılması

**TEZ TİPİ
DOKTORA TEZİ**

HADI KARIMKHANI

**DANIŞMAN
PROF. DR. GÜNGÖR KANBAK**

Ocak-2016



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

DeneySEL akut miyokard infarktüsü modelinde Borik asit kullanımı ve Omega-3 yağ asidi tüketiminin miyokard dokusu üzerine olan etkilerinin araştırılması

**TEZ TİPİ
DOKTORA TEZİ**

HADI KARIMKHANI

**DANIŞMAN
PROF. DR. GÜNGÖR KANBAK**

**Proje No: 2014-620
(ESOGÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu)**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Hadi KARIMKHANI 'in Doktora Tezi olarak hazırladığı "**DeneySEL akut miyokard infarktüsü modelinde Borik asit kullanımı ve Omega-3 yağ asidi tüketiminin miyokard dokusu üzerine olan etkilerinin araştırılması**" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih
07 / 01 / 2016

Üye: Prof. Dr. Güngör KANBAK (Danışman)



Üye : Prof. Dr. İ. Özkan ALATAŞ



Üye : Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ



Üye : Doç. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ



Üye : Yrd. Doç. Dr. Fahrettin AKYÜZ



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~08/01/2016~~ tarih ve ~~1073/5035~~ sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veysi Güneş
Enstitü Müdürü



ÖZET

Dünyada mortalite ve morbidite nedenlerinin içerisinde ilk sırada yer alan iskemik kalp hastalığı, sıklıkla koroner arterlerin ateromatöz plakla daralması veya tıkanması sonucu meydana gelir ve bu nedenle koroner arter hastalığı olarak isimlendirilir. Kardiyovasküler hastalıklar gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde görülen ölümlerin başlıca sebeplerinden birisidir. Kardiyovasküler hastalıklar içinde en sık görüleni miyokard infarktüsü (MI)'dür. MI, yetersiz doku perfüzyonundan kaynaklanan uzamış iskemi sonucu meydana gelen geri dönüşümsüz miyokard hücre hasarı ve nekrozudur.

Çalışmamızda *Sprague-Dawley* cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Kontrol, MI, MI+Borik asit, MI+Omega-3 ve MI+Borik asit+Omega-3 grubu olmak üzere 10'ar adet sıçandan oluşan 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 2 ml serum fizyolojik; Borik asit gruplarına 100 mg/kg/gün Borik asit ve Omega-3 gruplarına ise 800 mg/kg/gün Omega-3 28 gün süre ile gavaj yoluyla verildi. MI modeli için Borik asit ve/veya Omega-3 kullanımı uygulamasının son iki gününde (26. ve 27. Günde) İsopterrenol-HCl (ISO) 24 saat aralıklarla iki kez 200 mg/kg dozda subkutan olarak uygulandı. İkinci ISO dozundan 12 saat sonra sıçanlara anestezi uygulandı. Anestezi ile uyutulan sıçanlarda, spontan solunum altında, Bilgisayarlı Biopar Marka MP100 Model Veri değerlendirme ve Kayıt sistemi kullanılarak EKG ölçümleri yapıldı ve D-II kayıtları kullanıldı.

MI grubunun kontrol grubuna kıyasla serumlarında CK-MB ($p<0,001$), BNP ($p<0,001$), TNF- α ($p<0,01$) düzeylerinin yükseldiği görülmüştür. Kalp dokusunda biyokimyasal metotlarla ölçülen kalpain aktivasyonu ($p<0,01$), MDA'nın ($p<0,001$) arttığı, PON1'nin ($p<0,05$) düştüğü görülmüştür. EKG incelemesi sonucunda ise ST dalgası ($p<0,001$) ve kalp atışının ($p<0,001$) yükseldiği görülmüştür. Bu testlerin, MI+Borik asit, MI+Omega-3 ve MI+Borik asit+Omega-3 grubu sonuçları MI grubu ile mukayase edildiğinde iyileşme saptanmıştır. Ayrıca ışık mikroskopu ve TEM görüntüleri ile yapılan histolojik inceleme sonucunda MI+Borik asit, MI+Omega-3 ve MI+Borik asit+Omega-3 grubunun, MI grubuna kıyasla çok daha belirgin iyileşme gösterdiği gözlenmiştir.

Omega-3, Borik asit ve bunların kombine uygulamasında MI'nın hücresel hasarını belirgin biçimde azalttığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Miyokard İnfarktüsü, Borik asit, Omega-3, Elektrokardiyogram

SUMMARY

Ischemic heart disease being the most common cause of the mortality and morbidity in worldwide commonly results from the occlusion or narrowing of the coronary arteries by atheromatous plaque and thus is named as coronary artery disease. Cardiovascular disease is the leading cause of death in developed and developing countries. Myocardial infarction (MI) is the most common form of the cardiovascular disease. MI is the irreversible myocardial cell damage and necrosis resulting from prolonged ischemia caused by inadequate tissue perfusion.

Male Sprague Dawley rats were used in the present study. Rats were divided into 5 groups with 10 rats in each: control, MI, MI+Boric acid, MI+Omega-3 and MI+Boric acid+Omega-3 groups. Control rats were treated with 2 ml/day saline, boric acid-treated rats received 100 mg/kg/day Boric acid and Omega-3-treated rats received 800 mg/kg/day for 28 days by oral gavage. For the experimental MI model, 200 mg/kg izoproterenol-HCl (ISO) was administered subcutaneously two times with a 24-h interval in the last two days of the Boric acid and/or Omega-3 treatments. Twelve hours after the second dose of ISO, general anesthesia was induced. Under general anesthesia and spontaneous respiration, ECG recordings were obtained by using a computerized data recording and analysis system (MP100, Biopar) and D-II recordings were used in the analysis.

Compared to the control group, serum CK-MB, BNP and TNF- α levels were higher in MI group ($p < 0.001$, $p < 0.001$ and $p < 0.01$ respectively). In the heart tissue homogenate, biochemically measured Calpain activation and MDA were increased ($p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively) and PON1 levels were decreased ($p < 0.05$). According to the ECG recordings, ST wave and heart rate were found to be decreased ($p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively). On the other hand, all above mentioned parameters were found to be improved in rats treated with boric acid and/or Omega-3 after induction of MI. Moreover, histological analysis including light microscopy and TEM revealed a significant histological improvement in rats treated with boric acid and/or Omega-3 after induction of MI.

Results of the present study suggest that omega-3 and/or boric acid treatment significantly decreases the cellular damage in MI.

Key words: Myocardial infarction, boric acid, omega-3, electrocardiography

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
TABLO DİZİNİ	ix
ŞEKİL DİZİNİ	x
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER	3
2.1 Kalp	3
2.1.1 Kalp anatomisi	3
2.1.2 Kalp histolojisi	4
2.1.3 Kalp fizyolojisi	4
2.1.4 Kardiyak elektrofizyoloji	7
2.1.4.1 Sıçan elektrokardiyogramı	9
2.2 Omega-3 Yağ Asidi	10
2.2.1 Omega-3 Yağ Asidinin Besinsel Kaynakları	11
2.2.2 Omega-3 yağ asidinin MI ile ilişkisi	12
2.3 Borik Asit	15
2.3.1 Bor özellikleri	15
2.3.2 Bor metabolizması ve absorpsiyonu	16
2.4 Miyokard Infarktüsü Modeli	17
2.4.1 İsoproterenol	19
2.4.2 İsoproterenolün yapısı ve etki mekanizması	19
2.4.3 Miyokard infarktüsü'nde oksidatif stresin rolü	20
2.4.4 Miyokard hasarının biyokimyasal belirteçleri	21
2.4.4.1 Kreatin kinaz - MB	22
2.4.4.2 Beyin natriüretik peptidler	22
2.4.4.3 İnflamatuar mediyatörler	23
2.4.4.3.1 Sitokinler	24
2.4.4.3.1.1 Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α)	24
2.4.4.3.1.2 İnterlökin-6	26
2.5 Serbest Radikaller ve Antioksidan Mekanizma	29
2.5.1 Serbest radikaller	29
2.5.1.1 Lipid peroksidasyonu	30

2.5.1.2 Nitrik oksit	32
2.5.1.3 Katalaz	33
2.5.1.4 Paraoksonaz ve Aril esteraz	34
2.5.1.4.1 PON1'in fizyolojik fonksiyonu	36
2.5.1.4.2 PON1'in sentezi	37
2.5.1.4.3 PON1'in hücrelerden salınımı	37
2.5.2 Kalpainler	38
2.5.2.1 Tipik kalpainler	39
2.5.2.2 Atipik kalpainler	39
2.5.2.3 Kalpain aktivasyonunun düzenlenmesi	41
3 GEREÇ VE YÖNTEMLER	43
3.1 Deney Hayvanları	43
3.2 Borik Asit ve Omega-3 Uygulaması.....	43
3.3 Miyokard İnfarktüs Modelinin Oluşturulması.....	43
3.4 DENEY GRUPLARI.....	44
3.5 EKG Çekimi.....	44
3.6 Biyokimyasal Parametreler	45
3.6.1 Kreatin Kinaz- MB (CK-MB) düzeyi ölçümü	45
3.6.2 Beyin natriüretik peptid (BNP) düzeyi ölçümü	46
3.6.3 Tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) düzeylerinin ölçümü	47
3.6.4 İnterlökin-6 (IL-6) düzeyleri ölçümü	48
3.6.5 Doku malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçümü	49
3.6.6 Doku Nitrik oksit (NO) düzeylerinin ölçümü	51
3.6.7 Katalaz (CAT) düzeylerinin ölçümü	54
3.6.8 PON1 enzim aktivitesinin ölçümü	55
3.6.9 Arilesteraz (ARE) aktivitesinin ölçümü.....	57
3.6.10 Kalpain (CAPN) aktivasyonu ölçümü	58
3.7 Histolojik yöntemler	60
3.7.1 Işık mikroskobu.....	60
3.7.2 Transmisyon Elektron Mikroskop (TEM) yöntemi	61
3.8 İstatistiksel Analizler	61
4 BULGULAR	63
4.1 Rat Ağırlık Bulguları	63
4.2 Biyokimyasal Ölçümler	64
4.2.1 Kreatin Kinaz- MB (CK-MB) düzeyi bulguları	64
4.2.2 Beyin natriüretik peptid (BNP) düzeyi bulguları	65
4.2.3 Tümör nekroz faktör- α (TNF- α) düzeyi bulguları.....	66
4.2.4 İnterlökin-6 (IL-6) düzeyi bulguları	67

4.2.5 Malondialdehid (MDA) düzeyi bulguları.....	68
4.2.6 Nitrik oksit (NO) düzeyi bulguları	69
4.2.7 Katalaz (CAT) düzeyi bulguları.....	70
4.2.8 Paraoksonaz (PON1) aktivitesi bulguları	71
4.2.9 Arilesteraz (ARE) aktivitesi bulguları.....	72
4.2.10 Kalpain (CAPAN) aktivitesi bulguları.....	73
4.3 Elektrokardiyogram (EKG) İncelemesi	74
4.3.1 ST dalga ölçümü	74
4.3.2 Kalp atış ölçümü	75
4.4 Histolojik Bulgular.....	78
4.4.1 Hemotoksilen Eosin Bulgularına göre yapılan inceleme	78
4.4.2 Transmisyon Elektron Mikroskopik Bulgularına göre yapılan inceleme.....	81
4.4.3 Histolojik bulguların değerlendirilmesi.....	83
4.4.3.1 Hemotoksilen Eosin (HE) ile boyanan	83
4.4.3.2 Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) ile boyanan	84
5 TARTIŞMA.....	85
6 SONUÇ VE ÖNERİLER	99
KAYNAKLAR DİZİNİ	100
ÖZGEÇMİŞ	121

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1. Rat elektrokardiyogramındaki normal ölçüm değerleri	9
Tablo 3.1. MDA deney prosedürü	50
Tablo 3.2. Nitrik Oksit deney Protokolü	53
Tablo 3.3. Katalaz deney Protokolü	55
Tablo 3-4. PON1 deney prosedürü	56
Tablo 4.1. Gruplar arasında güne göre ağırlık artışının dağılımı	63
Tablo 4.2. Serum CK-MB düzeyleri	64
Tablo 4.3. Serum BNP düzeyleri	65
Tablo 4.4. Serum TNF- α düzeyleri	66
Tablo 4.5. Serum IL-6 düzeyleri	67
Tablo 4.6. Kalp dokusunda MDA düzeyleri	68
Tablo 4.7. Kalp dokusunda NO düzeyleri	69
Tablo 4.8. Kalp dokusunda CAT düzeyleri	70
Tablo 4.9. Kalp dokusunda PON1 aktivitesi	71
Tablo 4.10. Kalp dokusunda ARE aktivitesi	72
Tablo 4.11. Kalp dokusunda CAPAN düzeyleri	73
Tablo 4.12. ST dalga düzeyleri	74
Tablo 4.13. Kalp atış düzeyleri	76

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Kalp anatomisi	3
Şekil 2.2. Kalpte kan dolaşımı	3
Şekil 2.3. Kalbin kas duvarı.....	4
Şekil 2.4. Kasların fizyolojisi.....	5
Şekil 2.5. Kardiyak aksiyon potansiyeli	6
Şekil 2.6. Kalbin EKG çekimi seri dalgalar	7
Şekil 2.7. Kalbin elektriksel akımı	8
Şekil 2.8. Normal EKG (insan ve sıçan'da).....	10
Şekil 2.9. Omega-3 yağ asitlerinin kimyasal yapısı	10
Şekil 2.10. Omega-3 yağ asitleri türleri	11
Şekil 2.11. Omega-3 Mekanizması	14
Şekil 2.12. Kalpta arterin kapanması miyokard infarktüsü oluşumu	17
Şekil 2.13. A) İsopteranol yapısı. B) Adrenalin yapısı. Me: Metil	19
Şekil 2.14. TNF Reseptör -1 aracılı sinyal iletim	25
Şekil 2.15. IL-6 tipi sitokinlerin reseptör kompleksleri.....	26
Şekil 2.16. IL-6 tipi sitokinlerin reseptör kompleksleri.....	27
Şekil 2.17. Nitrik oksit endotel hücrelerinde etkisi.....	32
Şekil 2.18. NO Endotel hücrelerde ve düz kas hücrede.....	33
Şekil 2.19. Katalaz reaksiyonu.....	34
Şekil 2.20. Paraoksonazın Paraoksonu hidrolizi	35
Şekil 2.21. Paraoksonazın Fenil Asetatı hidrolizi	36
Şekil 2.22. Kalpainlerin sınıflandırılması	38
Şekil 2.23. Kalpainlerin bölgeleri.....	41
Şekil 2-24. Mitokondriyal kalpain aktivasyonu	42
Şekil 3.1. Ratlarda Anestezi 2. Ratlarda EKG çekimi	45
Şekil 3.2. CK-MB kalibrasyon eğrisi	46
Şekil 3.3. BNP'in kalibrasyon eğrisi	47
Şekil 3.4. TNF- α kalibrasyon eğrisi	48
Şekil 3.5. IL-6 kalibrasyon eğrisi.....	49
Şekil 3.6. MDA kalibrasyon eğrisi	51
Şekil 3.7. Nitrik Oksit kalibrasyon eğrisi	54
Şekil 3.8. CAPN kalibrasyon eğrisi.....	58
Şekil 3.9. Protein kalibrasyon eğrisi.....	60
Şekil 4-1. Serum CK-MB düzeyleri.	64
Şekil 4-2. Serum BNP düzeyleri	65
Şekil 4-3. Serum TNF- α düzeyleri	66

Şekil 4-4. Serum IL-6 düzeyleri	67
Şekil 4-5. Kalp dokusunda MDA düzeyleri	68
Şekil 4-6. Kalp dokusunda NO düzeyleri.....	69
Şekil 4-7. Kalp dokusunda CAT düzeyleri	70
Şekil 4-8. Kalp dokusunda PON1 aktivitesi düzeyleri.....	71
Şekil 4-9. Kalp dokusunda ARE aktivitesi düzeyleri	72
Şekil 4-10. Kalp dokusunda CAPAN düzeyleri.....	73
Şekil 4-11. EKG'in ST dalga düzeyleri	75
Şekil 4-12. Kalp atış düzeyleri	76
Şekil 4.13. Deney gruplarında EKG ölçümün.....	77
Şekil 4-14. Kalp kası hücrelerinin Kontrol grubunda ışık mikroskopik incelemeleri	78
Şekil 4-15. Kalp kası hücrelerinin MI grubunda ışık mikroskopik incelemeleri	79
Şekil 4.16. Kalp kası hücrelerinin MI+Omega-3 grubunda ışık mikroskopik incelemeleri	80
Şekil 4.17. Kalp kası hücrelerinin MI+Borik asit grubu ışık mikroskopik incelemeleri	80
Şekil 4.18. Kalp kası hücrelerinin MI+Omega-3+Borik asit grubunda ışık mikroskopik incelemeleri.....	81
Şekil 4.19. Kalp kası dokusu tüm gruplara ait transmisyon elektron mikroskopik (TEM) görüntüleri	82

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA: Alfa-linolenik asit
AAP: Anstabil angina pektoris
Ach: Asetilkolin
ALA: Alfa-linolenik asit
AMI: Akut miyokard infarktüsü
Apo A1: Apolipoprotein A1
ARE: Arilesteraz
A-SMaz: Asidik sfingomyelinaz
AV: Atrioventrikül
BH4: Tetrahidrobiopterin
BNP: Beyin natriüretik peptid
BSA: Bovine serum albumin
Ca²⁺: Kalsiyum
CAMP: Siklik adenzin monofosfat
CAPN: Kalpain aktivitesi
CAT: Katalaz
CBD: Sitokin bağlama bölgesi
CGMP: Siklik guanil monofosfat
Cl⁻: Klor
CLC: Kardiotrofin-benzeri sitokin
CK-MB: Kreatin Kinaz- MB
CNTF: Siliar nötrofik faktör
CT-1: Kardiotrofin-1
DHA: Dokosaheksaenoik asit
EDRF: Endotelyum kaynaklı gevşetici faktör
EKG: Elektrokardiyogram
EPA: Eikosapentaenoik asit
EYA: Esansiyel yağ asitl
ESOGUSTEM: Eskişehir osmangazi üniversitesi Elektron Mikroskop Görüntü Analiz Birimi
FN: Fibronektin
GP: Glikoprotein
HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
IL: İnterlökinler
IL-6: İnterlökin - 6
ISO: İsoproterenol-HCl
K⁺: Potasyum
LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LH: Çok doymamış yağ asidi
LIF: Lösemi inhibitör faktör
LP: Lipoprotein
MDA: Malondialdehid

MEOS: Mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi
MM-LDL: Minimal modifiye LDL
Na⁺: Sodyum
NADPH: Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NED: N-Naftiletildiamin
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentaz
N- SMaz: Nötral sfingomyelinaz
OSM: Onkostatin M
PDGF: Trombosit kökenli büyüme faktörü
PKG: Protein kinaz G
PLC: Fosfolipaz c
PON: Paraoksonaz
ROS: Serbest oksijen radikalleri
SA: Sinoatriyal
STAT: Sinyal aktarıcı ve transkripsiyon aktivatörü
TEM: Elektron mikroskobu
TF: Doku faktörü
TGF β : Transforming büyüme faktörü β
TNF- α : Tümör nekrozis faktör- α
TNFR: Tümör nekrozis faktör reseptörleri
VDAC: Voltaj bağımlı anyon kanallar
VLDL: Çok düşük dansiteli yağ protein

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklar dünyadaki ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar içinde en sık görülen miyokard infarktüsü (MI)'dür. Sinsi ve ani bir şekilde ortaya çıkan MI, genelde orta ve ileri yaş hastalığı olup, kişinin ani ölümüne yol açabilir. MI'ın birçok nedeni vardır ve birçok hastalıkta sekonder olarak gelişebilir. Bu nedenle, MI'ın gelişim fazının durdurulması veya risk gruplarındaki kişilerin korunması, bilimsel araştırmaların ilk hedefleri haline gelmiştir. MI geliştiğinde kaçınılmaz bir miyokard disfonksiyonu oluşmaktadır. MI kalbi besleyen koroner arterlerin total tıkanması sonucu ortaya çıkar. Tıkanan arterin distalinde bulunan ve bu arterle beslenen miyokard dokusu iskeminin şiddetine göre çeşitli derecede hasar oluşturur. MI sonrası oluşan iskemik hasarın temel patofizyolojisinde hücre membranının bütünlüğünün bozulması gelmektedir. İskemik alanlarda hasarın oluşmasında mitokondrilerden salınan serbest oksijen radikalleri çok önemli rol oynar. Serbest oksijen radikallerinin yoğunluğu, nekrotik alanların büyüklüğü ve olayın dönüşümlü veya dönüşümsüz olmasıyla doğru orantılıdır. MI sonrası gelişen hasar mekanizması sadece bu fenomenle sınırlı kalmamaktadır. Sonuçta serbest oksijen radikallerinin kontrolsüz bir şekilde lipid membranına saldırması ve bu arada önceden hasarlanmış hücrelerdeki antioksidan sistemlerin çalışamaz veya az çalışır hale gelmesi hasarın daha şiddetli olmasına neden olur. MI'ın hücresel hasarı, miyokardın kalıcı disfonksiyonlarına ve çeşitli derecelerde kalp yetmezliğine neden olmaktadır. Bu nedenle MI'ın tedavisi çok yönlü olup temel olarak riskli gruplara MI gelişiminden önce uygulanan koruyucu tedavidir. Kısaca belirtmemiz gerekirse MI'a yol olabilecek primer nedenin kontrol altına alınmasında ve primer bir neden olmaksızın risk grubunda bulunan kişilerde kullanılan ilaçlar bu kategoride sınıflandırılır. Örneğin hipertansiyon veya yüksek kolesterol düzeyi MI için önemli bir risk faktörü olup bunların kontrol altına alınması MI riskini de azaltmaktadır.

Omega-3 yağ asitleri ve Borik asit ile birlikte kullanımının antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-fibrotik etkileri yapılan çalışmalar ile kanıtlanmış olmasına rağmen MI ile ilgili literatürde çalışmaya rastlanmadı.

Bor insanda diyetle birlikte alınan eser bir elementtir. Diyetle alımın normal sonucu olarak insan dokuları ve sıvılarında bulunmaktadır. İnsan organizması üzerinde bor ve bileşiklerinin etkileri bugün hala tartışılmaktadır. Ancak borun etkilerinin bilinmesi Türkiye açısından ayrı bir önemi taşımaktadır. Çünkü dünya bor rezervinin üçte ikisine yakın bir kısmı Türkiye'de bulunmaktadır. Bu nedenle Türkiye gerek yöre halkının su ve topraktan Borlu bileşiklere maruziyeti gerekse Bor ve Borik endüstrisinde geniş kitlelerin çalışıyor olması, bu konunun bilimsel olarak incelenmesini

zorunlu kılmaktadır. Borun metabolizma üzerindeki olumlu etkilerini özetleyecek olursak ödemi azaltma ve anti-proliferatif etkisi nedeniyle bazı kanserlerde koruyucu etkisi sayılabilir.

Omega-3 yağ asitleri, anti-inflamatuar, analjezik, anti-trombotik, vazodilatatör, anti-mitojenik etki göstermelerinden dolayı kardiyovasküler hastalıklar, kanser, ülseratif kolit, romatoid artrit, lupus eritramatos, multipl skleroz, migren, kistik fibroz, psoriasis, görme bozuklukları, artrit ateroskleroz, dyabet, alzheimer, alerji, akne ve depresyonun önlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir.

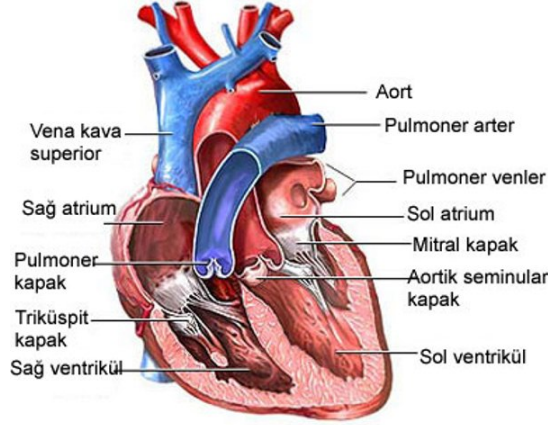
Bu nedenlerle, Omega-3 yağ asitleri ve Borik asidin tek tek ve birlikte kullanımının MI'ne bağlı hücresel hasarın önlenmesin de etkili olup olmadığını biyokimyasal ve histopatolojik düzeyde inceledik.

Çalışmamızın amacı: Sıçanlarda oluşturulan MI (ISO) modelinde gelişen oksidatif stresin ve oksidatif strese bağlı hasarın şiddetini belirlemek Omega-3 ve Borik asit kullanımının koruyucu etkilerini araştırmaktır.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Kalp

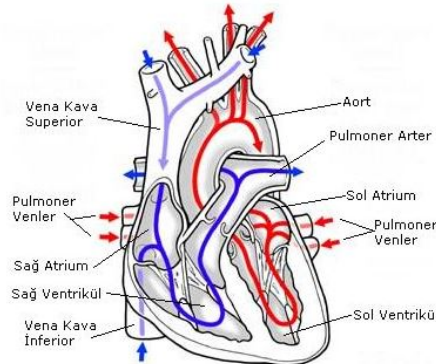
2.1.1 Kalp anatomisi



Şekil 2.1. Kalp anatomisi

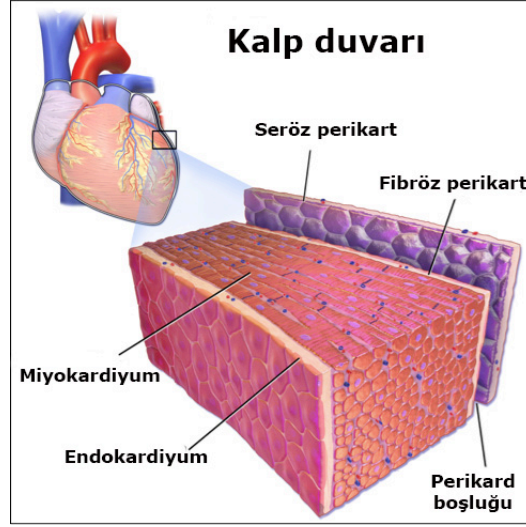
Kalbin “apex cordis” denilen bir tepesi, “basis cordis” denilen bir tabanı vardır. Kalbin tepesi öne ve sola doğru, tabanı ise arkaya, sağa ve biraz da yukarı doğru uzanır. Dört boşluk içerir ki üstekilere atrium ve iki tane alttakilere de ventrikül adı verilir (Şekil 2.1) (Aliev & Panfilov, 1996).

Vücuttaki kan dolaşımı ikiye ayrılarak ele alınır; 1. kan, kalbin sol ventrikülünden aorta ile vücudun bütün organlarına gider ve alt toplardamar (vena kava inferior) ve üst toplardamar (vena kava superior) ile kalbin sağ atriumuna döner (büyük dolaşım veya sistemik dolaşım) 2. kan akciğer atardamarı (pulmoner arter) ile sağ ventrikülden ayrılır. Akciğerlerden toplardamarları (pulmoner ven) ile dönen kan, sol atriyum ve sol ventrikülü dolaşarak aort damarları ile tüm vücuda pompalanır (Şekil 2.2) (Sancak, 2008). Kanın kalpten akciğerlere gitmesi sağ ventrikülden çıkan truncus pulmonalis ile olur. akciğerler oksijenden zenginleşen kan venae pulmonales ile kalbin sol atriumuna geri döner (küçük dolaşım veya Pulmonal dolaşım) (Sancak, 2008).



Şekil 2.2. Kalpte kan dolaşımı

2.1.2 Kalp histolojisi

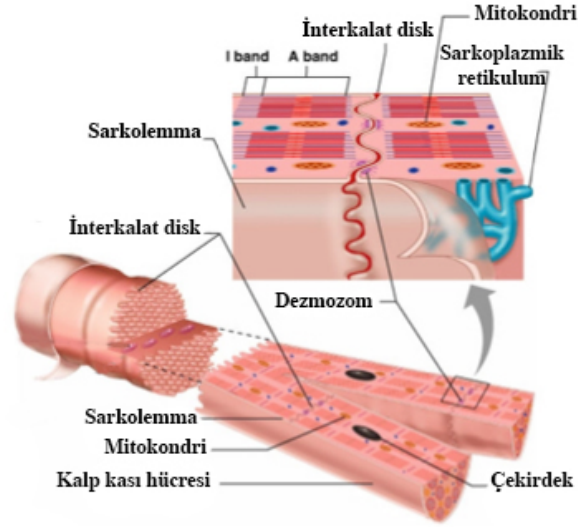


Şekil 2.3. Kalbin kas duvarı

Kalp dıştan içe perikardiyum, miyokardiyum ve endokardiyum olmak üzere üç tabakadan oluşur. Perikart kalbin dış yüzünü örten ve onu torba gibi içine alan bir zardır. Perikart, fibröz perikart (pericardium serosum) ve seröz perikart (pericardium fibrosum) olmak üzere iki tabakadan oluşur. Kalp duvarının ikinci tabakası olan miyokart, kalbin kas tabakasıdır. Miyokard tabakasını besleyen arterler arteria coronaria olarak adlandırılır. Çizgili kas yapısında olan bu tabaka istem dışı çalışır ve sempatik sinir lifleri tarafından uyarılır. Kalp kasını oluşturan liflerin seyri spiral ve sirküler şekilde olup, çok karmaşık bir yapıya sahiptir. En içte bulunan endokart ise kalbin boşluklarını içten örten ince epitel dokusudur (Şekil 2.3) (Sancak, 2008).

2.1.3 Kalp fizyolojisi

Kalp kası, her biri özel işlevler yapan farklı tür hücrelerden oluşur. Miyosit adı verilen kalp kası hücreleri genellikle 80-100 µm uzunluğu ve 10-20 µm çapındadır. Her bir fiber veya kalp kası hücresi birçok fibrilden meydana gelir. Fibriller ise temel kasılabilir birimler olan, Sarkomer zincirlerinin bir araya gelmesi ile oluşmaktadır. Sarkomer yapısında kalın miyozin filamentleri ile ince aktin filamentlerini barındırmaktadır (Şekil 2.4). Aktin ve Miyozin filamentler arasında oluşan biyokimyasal ve biyofiziksel etkileşimler bir araya gelerek, kalp kası hücrelerinde kasılmayı meydana getirirler. Sarkomerler birbirleri ile bağlanmış bir yapıya sahip olduklarından elektriksel iletişim sağlanır ve uyarılar hızla yayılır (Klocke & Ellis, 1990).



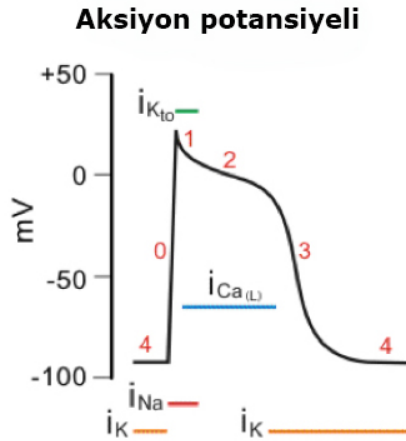
Şekil 2.4. Kasların fizyolojisi

Miyokard devamlı olarak çalışan bir kastır. Yaşam olgusu olduğu sürece dokulara gerekli kanı pompalama görevini üstlenmiştir. Durmadan çalışmaya programlanmış olan miyokard, kendine özgü bir damarlanmaya sahiptir. Koroner arter dediğimiz miyokardı besleme görevi olan arter yumağı miyokard dokusunu çevrelemiştir (Guyton & Hall, 2001) (Marks, Smith, Chansky, & Lieberman, 2007).

Kalp, dinlenme durumunda enerji gereksiniminin %60 - 80'ini karbonhidratlar yerine yağ asitlerinden, %20 - 40 arasında ise laktat ve glukozdan karşılamaktadır. Glukoz kardiyositlere hem GLUT 1 hem de GLUT 4 ile çoğunlukla ise %90 oranında GLUT 4 ile taşınır (Marks, Smith, Chansky, & Lieberman, 2007). Anaerobik yada iskemik koşullarda diğer dokularda olduğu gibi kalp metabolizmasında da aerobik glikoliz enerji gereksinimini karşılamak üzere devreye girer (Guyton & Hall, 2001). Bu yol kalbin enerji gereksiniminin yalnızca küçük bir bölümünü karşılayabilir. Glikoliz yüksek miktarda kan glukozunu kullanır ve aynı zamanda kalp dokusunda çok miktarda laktik asit oluşumuna yol açar (Marks, Smith, Chansky, & Lieberman, 2007). Laktik asit muhtemelen MI sırasında ortaya çıkan ağrıdan da sorumludur. Diğer dokularda olduğu gibi kalpte de metabolik enerjinin %95'i mitokondrilerde ATP oluşumu için kullanılan besinlerden sağlanır. ATP hücresel işlevler için gereken enerjiyi taşıyıcı olarak işlev yapar. Kalbe dört tane oksijen taşımakla yükümlü molekül hemoglobindir. MI'da hemoglobin ile oksijen taşınmaması durumunda miyogloblin kalbin ihtiyacı olan oksijeni kısa süre için temin eder. Kısa süreli iskemilerde bu miyoglobindeki depo oksijen kullanılarak kardiyak hücrenin dönüşümsüz ölümü önlenmiş olur (Guyton & Hall, 2001) (Bakan, 2001).

Kalp kası hücrelerindeki aksiyon potansiyelleri, iskelet kası hücrelerinden farklı olduğu gibi, kendi içerisinde de farklılık gösterir. Kuskusuz bu farklar, iyon kanalları farklılıklarından kaynaklanmaktadır ve kalp hücre zarlarında iyon kanalları çok daha karmaşık davranış gösterirler. Miyositler, kalp hücre zarının içinde ve dışında potasyum (K^+), sodyum (Na^+), klor (Cl^-) ve kalsiyum (Ca^{2+}) iyonları başta olmak üzere, farklı iyon konsantrasyonlarına sahiptir. Ayrıca hücre içerisinde zarı geçemeyen negatif yüklü proteinler de bulunur. Bir kalp hücresinde K^+ konsantrasyonu hücre içerisinde yüksek (104 -180 mM), hücre dışında düşüktür (5.4 mM). Bu nedenle K^+ iyonlarının hücre dışına difüze olabilmesi için kimyasal gradyenti mevcuttur. Bu durumun tam tersi Na^+ ve Cl^- iyonları için geçerlidir. Na^+ iyonları hücre içerisinde 5-34 mM, hücre dışında 140 mM, Cl^- iyonları ise hücre içerisinde 8-79 mM, hücre dışında 100 mM konsantrasyona sahiptir. Böylelikle Na^+ ve Cl^- iyonlarının hücre içine difüzyonu için bir kimyasal gradiyent meydana gelmektedir (Cunedioğlu, 2007) (Pehlivan, 2004).

Gradyent farkı oluşan iyon akımları kararlı bir dinlenme potansiyeline sahip olamayan zar potansiyelini kısa sürede kritik değere ulaştırmakta ve kendiliğinden yaygın bir uyarı oluşturmaktadır. Kardiyak aksiyon potansiyeli tek bir kalp hücresinin elektriksel aktivitesinin şekil üzerinde yansımasıdır (Fogoros, 1999).

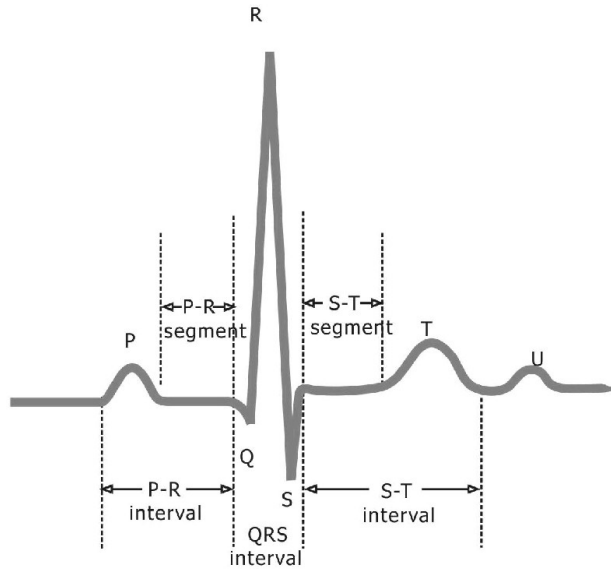


Şekil 2.5. Kardiyak aksiyon potansiyeli

Kardiyak aksiyon potansiyeli 5 evreye ayrılır (Şekil 2.5). Kalp hücreleri aksiyon potansiyelinin hızlı depolarizasyon evresi hücre içine Na^+ iyonlarının akışı ile gerçekleşmekte, evre 0 olarak adlandırılmaktadır. Aksiyon potansiyelinin erken repolarizasyon evresi veya evre 1 olarak adlandırılan bir sonraki aşamada, sodyum geçirgenliğindeki azalma ile birlikte, hücre dışına doğru K^+ akımlarının ve yine dışarı doğru olan Cl^- akımlarının (Cl^- iyonlarının içeri girişi dışarı yönelik bir akım demektir) katkıda bulunduğu bilinmektedir. Evre 2 veya düzlük (plato) evresinin temel sorumlusu; plazma zarındaki

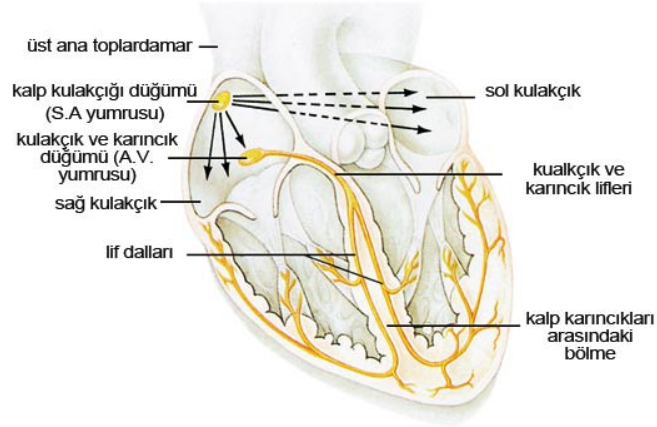
yavaş aktive, inaktive olan Ca^{2+} kanalları ve bu kanallardan içeri doğru gelişen Ca^{2+} akımlarıdır. Zar potansiyelinin 100 ms kadar sıfır dolaylarında kararlı kalması, içeri Ca^{2+} akımları ile birlikte, dışarı K^+ akımlarının var olmasıdır. 3. evre olan repolarizasyon evresinde depolarizasyon, sayıları ağır artan gecikmiş doğrultucu tipteki K^+ kanalları ile sağlanır. Ayrıca bu evreye içeri (anormal) doğrultucu K^+ kanallarının, Na-K pompasının (iki Na^+ içeri, üç K^+ dışarı) ve Ca-Na değiş tokuş mekanizmasının (bir Ca^{2+} içeri, üç Na^+ dışarı) da etkili olduğu sanılmaktadır. Dinlenme evresi olarak da adlandırılan 4. ve son evrede ise, özellikle depolarizasyonla kapanıp hiperpolarizasyonla açılan içeri (anormal) doğrultucu K^+ kanallarının rol aldığı saptanmıştır (Şekil 2.5) (Pehlivan, 2004).

2.1.4 Kardiyak elektrofizyoloji



Şekil 2.6. Kalbin EKG çekimi seri dalgalar

Kalbin elektrik sisteminin incelenmesini 1880'lerin ortalarında Ludwig ve Waller, kardiyak elektrofizyoloji olarak adlandırdılar. Kalp atımı ritmi titreşimin her siklusunda seri dalgalar alfabetik olarak P, QRS ve T olarak adlandırıldı. Önemli bir tanı aracı olan elektrokardiyografi, 1901'lerde geliştirilmiştir. Kalbin elektrikselsel fonksiyonu ile ilgili değerli bilgiler veren elektrokardiyografi (EKG) düz veya rulo bir kağıt üzerine elektrikselsel aktivitenin kalıcı bir kaydını sağlar (Şekil 2.6) (Dubin & Okan, 2009).



Şekil 2.7. Kalbin elektriksel akımı

Elektrofizyolojinin temel sahası, kardiyak aritmilerin mekanizmalarının ortaya konulması ve tedavisidir. Kalp kendiliğinden ve sürekli tekrarlayan bir şekilde, elektriksel uyarılar oluşturmaktadır. Bu elektriksel uyarılar, tüm kalp fonksiyonları için hayatidir. Kalpte oluşan elektriksel uyarılar, kalp atım hacminin en uygun düzeylerde tutulması için her bir kalp vuruşu sırasında kalp kasının ardarda kasılmasını organize ederler. Sonuç olarak, bu uyarıların biçimi ve zamanlaması kalp ritmini belirler. Bu ritimdeki bir bozulma ise, sıklıkla kalbi vücudun ihtiyaçlarını karşılamaya yetecek kanı pompalamada yetersiz hale düşürür. Elektrofizyolojistler tarafından bir veya birden fazla elektrot özelliği taşıyan kateterin damara sokulması ve iletilerek floroskopi yardımıyla kalbin içinde bazı stratejik bölümlere yerleştirilmesiyle kalbin elektriksel aktivitelerine ilişkin ölçümler alınmaktadır. (Fogoros, 1999).

EKG, kalp ritim ve miyokart bozukluklarında uyarım merkezleri ile uyarı iletiminin aksaklıklarında, koroner damar rahatsızlıklarında ve kalp hipertirofilerinin tanısında önemli katkılar sağlar (Costant, 2003).

Kalbin elektriksel uyarı merkezi sinoatriyal (SA) düğümdür. SA düğüm sağ atriyumun üstünde ve üst toplardamarın (superior vena cava-SVC) atriyuma girdiği yerdedir. Atriyumların kasılmasını sağlayan depolarizasyon dalgası EKG de P dalgası olarak adlandırılır. P dalgası atriyumların depolarizasyon ve kontraksiyonunu gösterir. Oluşan uyarı, SA düğümü terk ederek her iki atriyum boyunca radyal olarak yayılır. Depolarizasyon dalgası atrioventriküler (AV) düğüme ulaşır AV düğümde yavaşlamış depolarizasyon dalgası daha sonra hızla AV demetinden, sağ ve sol dallar yolu ile purkinje lifleri yardımıyla ventrikül miyokardına kadar ulaşır ve kanı atrioventriküller kapaklardan geçerek ventriküllere doldurur. Elektriksel uyarı ventriküllerde depolarizasyon gerçekleşir. Bu da EKG de QRS kompleksini oluşturur. Q dalgası QRS kompleksinin ilk ve negatif dalgasıdır. Q'nun ardından gelen ve yukarı doğru çıkan pozitif dalga da R dalgasıdır. R dalgasından önce Q dalgası

olabilir veya olmayabilir. QRS kompleksinin aşağı inen negatif dalgası S olarak adlandırılır. QRS kompleksinden sonra bir dinlenme dönemi vardır (Badır & Türkmen, 2002). Böylece elektriksel uyarı, her iki ventrikül boyunca hızla yayılır. Kalbin elektrtiksel sistemi, her bir kalp vurusu ile miyokardın ardarda kasılmasının devamlılığını sağlamak üzere düzenlenmiştir (Fogoros, 1999) (Dubin & Okan, 2009) (Costant, 2003). T dalgası, ventrikülleri yeniden uyarılabilir duruma getiren repolarizasyon dalgasıdır. T dalgası negatif veya pozitif olabilir (Yılmaz, 2000). QRS kompleksinin bitiminden T dalgasının başlangıcına kadar olan bölüme ST bölümü denir ve izoelektrik çizgi üzerindedir. Bazı patolojik durumlarda ST açıklığı ile anormallar kabul edilir (Şekil 2.6) (Şekil 2.7) (Costant, 2003).

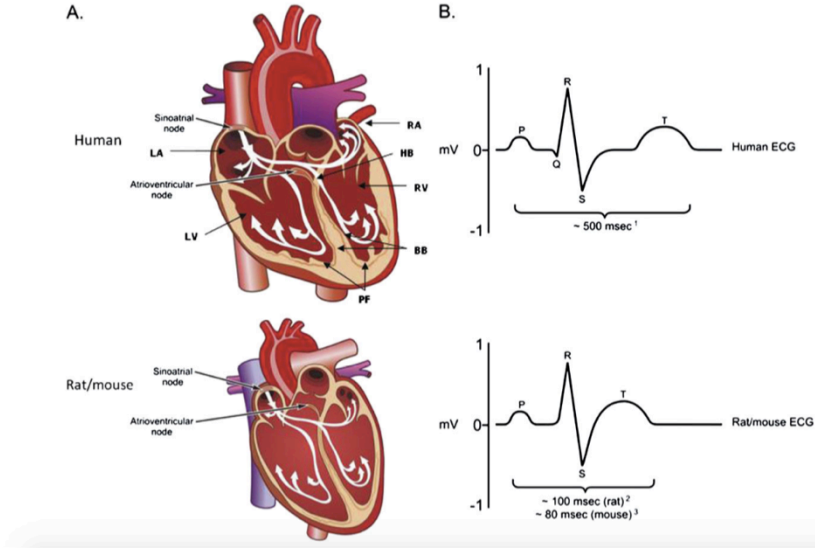
Kalpde oluşan ritim bozukluklarına aritmi adı verilir. Genellikle kardiyak iletim sistemindeki bir sorun veya beklenmeyen bir noktadan (ektopik) kalp atımı oluşumu aritmiye neden olmaktadır. Aritmiler başlıca iki kriterine göre sınıflandırılır. Bunlardan birincisi ritim bozukluğunun olduğu yere göre; atriyum, atriyoventriküler düğüm (ventrikül üstü) veya ventrikül kaynaklı olarak adlandırılır. İkincisi ise kalp atım hızındaki etkisine bakılarak; bradikardi (atım hızı artıyorsa) veya taşikardi (atım hızı azalıyorsa) olarak adlandırılır (Brown & Kozlowski, 1998).

2.1.4.1 Sıçan elektrokardiyogramı

Anatomik açıdan sıçanın kalbi insan kalbine benzemektedir. Fakat bazı yönleri ile rat EKG'si, insan EKG'sinden farklıdır. İnsan EKG'sinde de her P dalgasından sonra QRS kompleksi gelmekte ve bunun ardından gelen dalga T dalgasıdır. Ratlarda da durum böyledir fakat QRS kompleksi T dalgasıyla kaynaşmış şekildedir (Şekil 2.8) (Tablo 2.1) (Bahattin, 2013).

Tablo 2.1. Rat elektrokardiyogramındaki normal ölçüm değerleri

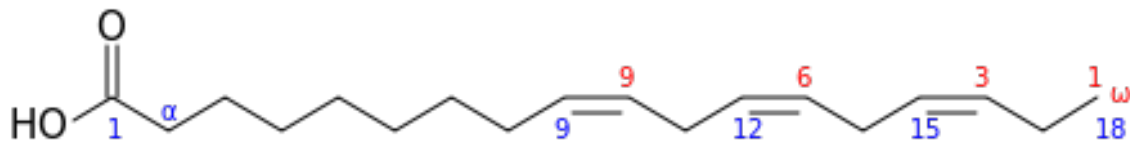
P dalgası uzunluğu (sn)	0,019–0,030
PR aralığı (sn)	0,050–0,064
QRS uzunluğu (sn)	0,0151–0,0172
QT aralığı (sn)	0,026–0,052
Düzeltilmiş QT (sn)	0,064–0,119
RR aralığı (sn)	0,152–0,195
R dalga yüksekliği (mV)	0,138–0,163
Elektriksel axis	52,2



Şekil 2.8. Normal EKG (insan ve sıçan'da)

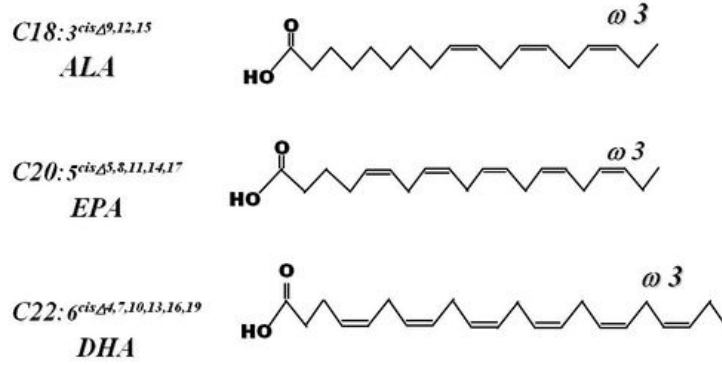
2.2 Omega-3 Yağ Asidi

Omega-3 yağ asidi çoklu doymamış yağ asitleri (Poli Unsature Yağ Asitleri – PUFA) ailesinde yer alır. Esansiyel yağ asitleri insan vücudunda üretilmeyen dışarıdan alınan önemli bileşenlerdir. Molekülün karbon zincirinin (Omega yada ω) metil grubundan itibaren sayılınca ilk karbon-karbon çift bağı 3. sırada ise Omega-3 olarak adlandırılır (Şekil 2.9) (Mozaffarian & Jason , 2011).



Şekil 2.9. Omega-3 yağ asitlerinin kimyasal yapısı

İnsan beslenmesinde önemi olan Omega-3 yağ asitleri şunlardır: alfa-linolenik asit (18:3, ALA), eikozapentaenoik asit (20:5, EPA) ve dokozaheksaenoik asit (22:6, DHA). Bu üç doymamış yağda, sırasıyla 18, 20 veya 22 karbonlu bir zincirde 3, 5, veya 6 çift bağ vardır. Çift bağların hepsi cis-biçimindedir, yani hidrojen atomları çift bağın aynı tarafındadır (Şekil 2.10) (Christie, 2010).



Şekil 2.10. Omega-3 yağ asitleri türleri

Omega-3 daha çok deniz ürünleri ve balık yağında bulunur. Yüksek oranda dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asit (EPA) içerir. DHA daha çok beyin ve retina hücreleri, sperm hücresi gibi hücrelerin membran fosfolipidleri içerisinde bulunurken EPA, araşidonik aside benzer bir yolla siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzim sistemine katılır. Esansiyel yağ asitlerin hücre membranın akışkanlığı ve fleksibilitesi ile doğrudan ilişkili olması yanında Omega-3, oksidatif stresi azaltır ve anti-inflamatuardır (Navaei, 2007).

Omega-3 yağ asitlerinin bazı etkileri özetle aşağıda sıralanmıştır (Ertek & Karatan, 2004):

- Omega-6 yağ asitleri ile etkileşimi sonucu inaktif lökotrien ve tromboksan oluşumu.
- İnterlökin-1, interlökin-2, tümör nekrozis faktör (TNF) gibi bazı medyatörlerin salınımında azalma.
- Plazma trigliserid ve çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) düzeylerinde azalma.
- Eikosanoidlerdeki değişiklikler, kan viskozitesindeki değişiklikler, hormonal-hücre sel cevapta değişiklikler, renin salınımı üzerine etkiler, vazopressör hormonlara cevapta azalma sonucu hipotansiyon oluşturma.
- Fibrinojen konsantrasyonunu azaltarak plazma vizkozitesinde azalma.
- Faktör 7, von Willebrand düzeylerini azaltır ve fibrinolizisi arttırarak kanama zamanını uzatır.
- Nitrik oksit düzeyini arttırarak arter kompliyansını arttırır.
- Hücre sel adezyon molekülleri (selektinler) üzerinde azaltıcı etkisi mevcuttur.

2.2.1 Omega-3 Yağ Asidinin Besinsel Kaynakları

Hayvansal kaynak olarak balık (ringa, uskumru, sardalye, alabalık ve

somon) ve az miktarda yumurtada bulunur. Bitkisel olarak; keten tohumu yağı, kanola (Kolza) yağı, soya fasulyesi yağı, ceviz, balkabağı çekirdeğı, kenevir tohumu yağı ve semizotu gibi yeşil yapraklı sebzeler, kuru baklagiller ve kolza tohumu ALA'dan zengindir. insan sütünde Omega-3 yağ asitleri önemli miktarda bulunur. EPA ve DHA'nın ana kaynağı deniz balıklarıdır (Meyer, Mann & Lewis , 2003).

2.2.2 Omega-3 yağ asidinin MI ile ilişkisi

Omega-3 yağ asidin plazma lipidleri üzerindeki olumlu etkilerinin mekanizması tam olarak belirlenememiştir. Karaciğerde trigliserid ve VLDL sentezini azalttığı düşünülmektedir. Diyetteki DHA ve EPA'nın membranda ALA'nın yerini alması, meydana gelen ürünlerin daha az protrombotik ve vazokonstrüktif olması antiaterosklerotik etkilerinde önem taşır (Nakamura, Hamazaki, Ohta, & Okuda, 1999). Omega-3 yağ asitlerinin endotel aktivasyonu üzerindeki etkileri; sitokin üretiminin azaltılması, doku faktör ekspresyonunun azaltılması, nitrik oksidin (NO) biyoyararlanımının artırılması, monosit kemoatraktan protein-1 gen ekspresyonunun ve endotelial adezyon moleküllerinin ekspresyonunun azaltılması yer almaktadır (Bezard, Blond, Bernard & Clouet , 1994) Collins ve arkadaşları (Collins vd., 1995) DHA'nın, enflamasyonda yer alan nükleer faktör-kB (NF-kB) aktivasyonunu inhibe ederek endotel aktivasyonunu engellediğini gösterdiler.

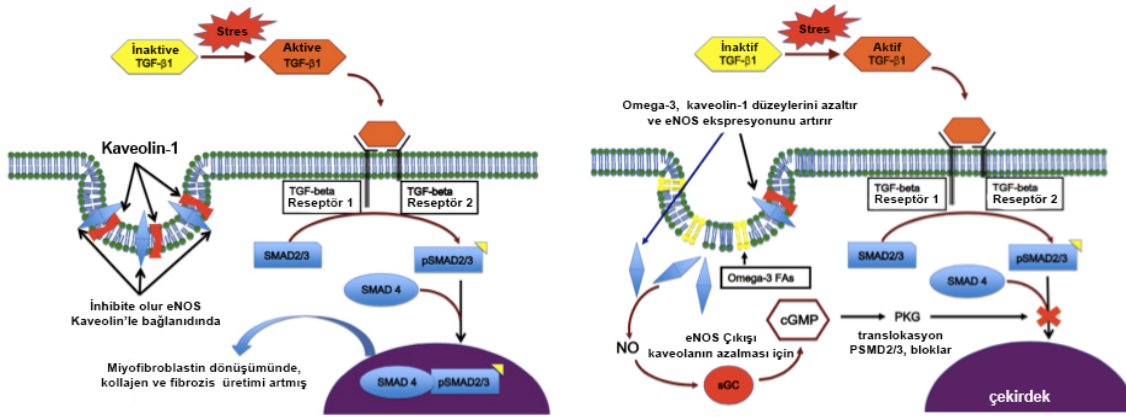
Omega-3 yağ asitleri membranın akışkanlık özelliklerini düzenler. Esansiyel yağ asitlerin (EYA) eksikliğine bağlı gelişen membran sertliği transport fonksiyonlarını, reseptör etkileşimini ve sayısını olumsuz yönde etkiler (Bonaa, Bjerve & Nordoy, 1992). Örneğin membran akışkanlığındaki artış insülin reseptörlerini artırırken, membranın katılaşması reseptör sayısında azalmaya yol açarak insülin direncine neden olabilir (Risérus, 2008) Diğer yandan Omega-3 yağ asitleri kolesterol sentezinin düzenlenme enzimi olan 3-hidroksi 3-metilglutaril koenzim A aktivitesini baskılar (Nakamura, Hamazaki, Jokaji, Minami, & Kobayashi, 1998) Kolesterol sentezinde oluşan aktif izopren bileşiklerinin bir grubu lipidlerin, ras onkogeninin ve küçük molekül ağırlıklı GTP azların modifikasyonunda rol oynar. Böylece EYA, antiproliferatif etki ile tümör hücrelerinde apoptozu uyaramaktadır (Narayanan, Narayanan, Simi & Reddy, 2003).

Transgenik farelerde anjiotensinojen gen ekspresyonunun artışının hipertansiyona neden olduğu ve ALA'dan epoksi-eikozotrienoik asitlerin ve hidroksi-eikazotetraenoik asit oluşumunun azaldığı bildirilmiştir (Kaergel vd., 2002) Bu yağ asitleri IL-6 ve TNF α indüklü NF-kB aktivasyonunu önleyerek vasküler enflamasyonu inhibe ederler. (Danao-Camara & Shintani, 1999) Omega-3 yağ asitlerinin antiinflamatuvar etkileri arasında ayrıca IL-1, IL-2

ve makrofaj göçünü inhibe edici faktör gibi proenflamatuvar sitokinlerin salınımını baskıladığı, "Lipid-activated transcription factor" olarak bilinen PPAR- γ mRNA ve protein aktivitesindeki artış da bulunur. (Li vd., 2005) Diğer taraftan Omega-3 yağ asitleri, anti-inflamatuvar ve anti-aterosklerotik özellikleri bulunan nitrik oksit'in (NO) oluşumunda yer alan enzimlerin sentezini uyararak endotelial NO üretimini arttırmırlar (Marcheselli, Hong, & Lukiw, 2003). Omega-3 yağ asitlerinden nitrik oksitle oluşan nitrolipidler (örneğin nitrolinoleat) ise düz kaslarda gevşeme, trombosit aktivasyonu, nötrofil fonksiyonlarının ve inflamasyonun baskılanması gibi olaylara neden olur (Das, 2006).

Hücrel inflamasyonda primer mediyatörler olan eikosanoidler (prostaglandinler, lökotrienler, tromboksanlar) araşidonik asitten (AA) üretilir. Omega-3 yağ asidi olan EPA, AA üretimini sağlayan delta-5 desaturaz enzimini inhibe ederek anti-inflamatuvar etki gösterir. EPA, AA'ları membran fosfolipitlerinden serbestleştiren fosfolipaz A₂ enzimi için AA ile yarışır. Hücrede EPA oranı arttıkça serbest araşidonik asit miktarı azalır ve hücrel inflamasyon azalmış olur. DHA'lar ise AA oluşumunda görev alan gama linoleik asit sentezini azaltarak AA miktarını azaltır. Yine araşidonik asit miktarı azalması hücrede inflamatuvar mediyatörlerin oluşumunu ve bu yolla hücrel inflamasyonu azaltır (Chen, Liu, Ouellet, Calon & Bazinet, 2009).

Hücre zarında TGF β reseptör 1 ve reseptör 2 isimli 2 adet reseptör bulunmaktadır. Oksidatif stres anında aktif hale geçen TGF- β 1 bu reseptörlere bağlanır. Bu bağlantı sonrası bir hücre içi protein olan SMAD 2 ve 3 proteinleri fosforillenir ve pSMAD 2 ve 3 oluşur. pSMAD 2/3 SMAD 4 ile birleşerek nükleer transkripsiyon faktörlerini tetikler ve fibroblastlar miyofibroblastlara dönüşür, kollajen üretimi artar ve fibrozis oluşur. TGF- β 1 tarafından indüklenen kollajen sentezi ve fibroblast transformasyonu, hücre içi ikinci haberci olan siklik guanil monofosfat (cGMP) ve protein kinaz G (PKG) ile bloke olur. Hücre membranı yapısında yer alan kaveolin-1 nitrik oksit sentazı (NOS), bloke ederek nitrik oksit (NO) üretimini azaltır. Omega-3 yağ asitlerin hücre membranı yapısına katılmasıyla NOS ekspresyonu artar ve NO üretimi artar. Artan NO cGMP ve PKG sinyal yolunu aktive eder, hücre içi haberciler olan pSMAD proteinlerinin nükleusa geçişleri bloke olur, kollajen üretimi azalır, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümü azalır böylece fibrozis azaltılmış olur (Şekil 2.11) (Wang & O'Horo, 2011).



Şekil 2.11. Omega-3 Mekanizması

Diyetle Omega-3 yağ asitlerinin alınmasının kalbi korumada etkili olduğu, günde 0.5-2.0 g ω -3 yağ asidi alınmasının kardiyovasküler hastalık (KVH) ölümlerini azalttığı, daha yüksek dozun ek yarar sağlamadığı ileri sürülmektedir (Sacks vb., 1995) Sekonder korumada statin tedavisine eklenen 1800 mg/gün EPA'nın, serum kolesterol düzeyindeki değişikliklerden bağımsız olarak stabil olmayan anjina ve revaskülarizasyonda azalmaya yol açtığı bildirilmektedir (Yokoyama vd., 2007). Hiperlipidemik kişilerde doza bağımlı olarak, Omega-3 yağ asitleri serum trigliserid ve çok düşük dansiteli lipoprotein düzeylerinde (VLDL) azalmaya yol açmış, düşük dansiteli lipoprotein düzeylerinde değişiklik yapmamıştır (Richter, Jacob, Ritter & Schwandt, 1992). Dehmer ve arkadaşları koroner arter bypass grefti yapılan hastalarda balık yağı takviyesinin greft tıkanıklığını önlediğini göstermişlerdir (Dehmer, Popma & vanden, 1988). Akdeniz Diyeti Kalp Çalışmasında, (De Lorgeril vd., 1999) diyetle eklenen yüksek ALA'nın, GISSI Prevenzione Çalışmasında (Marchioli, Schweiger, Tavazzi & Valagussa, 2001) ise, miyokard enfarktüsü geçiren hastalara 850 mg/gün Omega-3 yağ asidi eklenmesinin kardiyovasküler mortaliteyi azalttığı bulunmuştur. Bucher ve arkadaşları (Bucher, Hengstler, Schindler & Meier, 2002) 1966-99 yılları arasında yapılan çalışmalarını gözden geçirmişler ve koroner kalp hastalarının günde 40-60 g balık yemelerinin mortaliteyi ve miyokard enfarktüsünü önlediği sonucuna varmışlardır. Nilsen ve arkadaşları (Nilsen, Albreksten & Landmark, 2001) Norveçli hastaların Omega 3 yağ asidi takviyesi almalarının kardiyak olaylar için sekonder korumada etkisiz olduğunu ileri sürmüşlerdir. Schacky (Von Schacky, 2007) EPA ve DHA'ların supraventriküler ve ventriküler düzeyde antiaritmik ve antiaterosklerotik olduklarını geniş ölçekli bir klinik çalışmada gözlemlemiştir.

Omega-3 yağ asitlerinin zincir uzunluğunun ve çift bağ sayısının etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda; çift bağ sayısının artışının bu yağ asitlerinin kalp hastalıklarını önleyici özelliklerini arttırdığı ancak zincir

uzunluğu artışıının ek etki yapmadığı gözlenmiştir (De Caterina & Zampolli, 2007).

Omega-3 endeksi, eritrosit yağ asitlerinin EPA/DHA oranı olarak ifade edilir. Epidemiyolojik verilere göre, ani kardiyak ölümler, Omega-3 endeksi % 4'den az olanlarda, endeksi %7-8 olanlardan 10 kat daha yüksektir. Bu endeksin, EPA ve DHA tedavisinin izlenmesinde kullanılması önerilmektedir (Harris & von Schack, 2004) (Von Schackya & Haris, 2007). Ancak metil-civa içeren balık kaynaklı Omega-3 yağ asitlerinin kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir.

2.3 Borik Asit

Bor elementi 1808 yılında İngiliz kimyacı Sir Humpry Davy ve Fransız kimyacı Gay-Lussac tarafından bulunmuştur (Woods, 1994). İlk kez çeşitli bor bileşikleri İran ve Çin tarafından Avrupa'ya tanıtılmıştır. (Moseman, 1994) (Woods, 1994). Dünyada bor madeninin kullanım alanlarının artmasıyla günümüzde özellikle Türkiye, Rusya, Amerika, Arjantin ve Çin bor üretiminde etkin rol oynamaktadır.

2.3.1 Bor özellikleri

Periyodik çizelgede (B) harfi ile simgelenen bor, bir iz elementtir. Bor, atom numarası 5, atom ağırlığı 10.81 ve erime noktası 2190 ± 20 °C olup ve Bor kristal yapıda iken siyah renkli ve katı haldedir (Naghii & Samman, 1993). Ekonomik açıdan değerli olan bor mineralleri şunlardır; tinkal (Boraks), kolemanit, üleksit, Borik asit, pandermit, szyabolit, hidroborasit ve karnittir.

Bor vücudumuza diyetle alınan eser bir elementtir. İnsan için fizyolojik açıdan öneme sahip olan bor hücre membran fonksiyonu, mineral ve hormonal metabolizma ve enzim reaksiyonlarında rol oynayan önemli bir iz elementtir (Şaylı, Tüccar & Kavas, 1996).

Pek çok canlıda olduğu gibi insan için de bor minerallerine maruziyet beslenme yoluyla olmaktadır. Günlük tükettiğimiz sebze ve meyve sayesinde vücudumuza 1-2 mg arasında bor minerali alınmaktadır. İnsanın beslenme alışkanlığına bağlı olarak bor alımı değişkenlik göstermektedir (Naghii & Samman, 1997).

Sebze ve meyveler bor bakımından oldukça zengin iken et ve süt ürünleri bor bakımından oldukça fakirdir (Meacham & Hunt, 1998).

İnsan diyetinin bir sonucu olarak bor insan dokularında ve vücut sıvılarında bulunmaktadır. Bor vücut sıvılarında dağılmaya meyilli olup yaklaşık %95'i böbrekler tarafından süzülmemektedir. Özellikle bor mineralleri kemiklerde birikim yapıp, kas, kalp, akciğer ve barsak dokularında da az miktarlarda bulunmaktadır (Naghii & Samman, 1996).

2.3.2 Bor metabolizması ve absorpsiyonu

Borun metabolize edilmesi için bor-oksijen bileşiği arasındaki bağın kırılması gerekmektedir. Bu işlem yüksek miktarlarda enerji gerektirdiği için (523kj/mol) borlu bileşikler biyolojik sistemlerde metabolize edilemezler (Emsley, 1989). Yapılan çalışmalar sonucunda organizmaya alınan boratların %90'dan fazlasının Borik asit olarak tamamına yakınının organizmadan uzaklaştırıldığı ortaya konulmuştur (WHO, 1998) (FDA, 2004).

Bitkiler, hayvanlar ve insanlar üzerine yapılan deneylerden elde edilen bulgular borun dinamik bir iz element olduğunu ve ilk bakışta bağlantısız birçok biyolojik fonksiyonu değiştirebildiğini açıkça göstermektedir (Bolaños, Lukaszewski, Bonilla & Blevins, 2004)

Bor minerallerinin biyokimyasal işlevinin yapılan birçok çalışma sonucunda tam olarak bilinmemesi borun insanda esansiyel olabileceğini göstermektedir (Devirian & Volpe, 2003). Bununla birlikte insan vücudunda yapılan çalışmalarda borun azot, kalsiyum, bakır, magnezyum, glukoz ve trigiliseritler gibi önemli yapılarla bir araya gelmeleri sonucu çeşitli bileşikler oluşturması metabolizma üzerinde etkili olduklarını göstermektedir (WHO, 1998).

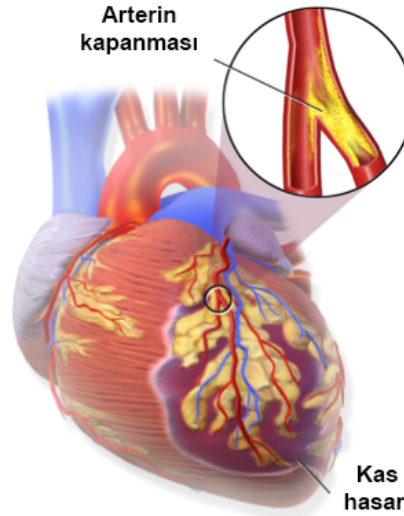
Bunlardan birincisi borun hücre zarı fonksiyonu, stabilitesi ve yapısında önemli görevleri olduğunu savunmaktadır. Düzenleyici anyon ve katyonların transmembranal taşınması, membranlar arası haberleşmede yer alan sinyallerle etkileşmesi ve hormonal aktivitelere duyarlı olması sonucu bu görevleri gerçekleştirebilmektedir (Nielsen, 2008).

Diğer araştırmacılara göre, borun muhtemel etki mekanizması polisakkaritler, AMP, piridoksin, riboflavin, piridin ve diğer benzer cis-hidroksil grupları içeren biyomoleküllerle reaksiyona girmesiyle meydana gelmektedir. Bu şekilde bor, vücuttaki görevleri ne olursa olsun cis-grupları içeren bileşikleri stabilize edip fonksiyonlarını değiştirmektedir (Bolaños, Lukaszewski, Bonilla & Blevins, 2004).

Diğer hipotez ise borun metabolik yollarda bazı anahtar enzim reaksiyonlarını yarışmalı inhibisyon yoluyla etkileyen negatif bir regülatör olduğunu savunmaktadır (Hunt , Herbel & Idso, 1994).

Araştırmaların sonucunda borun enerji ve reaktif oksijen metabolizmalarında görevli olduğu, bazı hormon (kalsitonin), bazı enzim (glutasyon peroksidaz, ksantin oksidaz, aldehit dehidrogenaz, katalaz, laktaz dehidrogenaz) yapılarına katıldığı ve eritrosit ve trombosit yapımında etkili oldukları anlaşılmıştır (Nielsen, Hunt, Mullen & Hunt , 1987) (Hunt, 1993).

2.4 Miyokard Infarktüsü Modeli



Şekil 2.12. Kalpta arterin kapanması miyokard infarktüsü oluşumu

MI uzun süreli iskeminin yarattığı miyokardyal nekroz ile oluşur. Koroner arterde tam tıkanma gereklidir. Sıklıkla koroner arter hastalığı zemininde gelişmektedir. Bunun yanısıra koroner arter hastalığı olmadan uzun süreli ve ciddi koroner arter spazmı da nadiren MI'ye yol açabilir. Genelde koroner ateroskleroza bağlı olarak ve daha seyrek olarak da koroner arter inflamasyon, tromboz veya koroner vazospazma bağlı olarak miyokard iskemisi meydana gelir. İskemik kalp hastalıklarını şöyle sıralayabiliriz: Akut miyokard infarktüsü (AMI), stabil veya anstabil angina pektoris (AAP), kronik iskemik kalp hastalığı (Bakan, 2001).

Kalbi besleyen koroner damarlarda akut tıkanmadan hemen sonra tıkanmanın uç kısmında kalan bölgede kan akımı çevre dokuda küçük miktardaki kolleteral dolaşım dışında durur. Hiç kan almayan yada aldığı kan kalp kasının işlevlerini yerine getirmesine yetmeyen bölgeye infarktüs bölgesi olayın tümüne ise MI bölgesi denir. Aynı dönemde kas lifleri kandaki son oksijen kırintılarını da kullanır ve hemoglobin tamamen indirgenerek koyu

mavi bir renk alır. Kalp hücreleri kısıtlanan metabolizma nedeniyle şişmeye başlarlar. Kanlanmanın sağlanamaması durumunda birkaç saat içerisinde hücreler ölür. Bu evrede infarktüsün histolojik evolüsyonu ve miyokard kontraktilesi üzerine oksijen eksikliğinin fonksiyonel etkisi ile oluşur. Bu değişiklikler damar tıkanıldıktan sonra hemen (2 dakika içinde) başlar ve 2-4 gün içinde miyokard koagülasyon nekrozunun gelişmesi ile son bulur (Şekil 2.12) (Robbins, 2001).

Akut iskemi durumunda, anaerobik metabolizma yetersizleşince hücre içi ATP sunumu azalır. Sonuçta intrasellüler asidoz gelişir ve ATP'ye bağımlı prosesler bozulur (hücre içi Ca^{2+} toplanır, ödem ve hücre ölümü oluşur) (Marks, Smith, Chansky & Lieberman, 2007). İnfarktüsün erken döneminde miyokard kontraktilesi azalınca kalp debisi düşer ve miyositlerin senkron kontraksiyonu kaybolur; hipokinezi, akinezi, diskinezi ve anevrizma gelişebilir. Küçük bir alanda iskemi var ise çok küçük bir kas bölgesi ölür yada kas ölümü gözükmez. İskemik alan genişse birçok kas lifinin ölmesi kaçınılmazdır. Bunu izleyen günler içerisinde ölü bölge büyür. Çünkü uzayan iskemi sınırındaki birçok lifin ölümüne yol açar. Nekroz öncelikle akımın en fazla azaldığı yerde, endokard'da meydana gelir ve daha sonra bunu endokard'dan epikarda doğru uzanan, etrafa doğru sınırlı bir genişleme gösteren, hücre ölümü dalgası izler (Robbins, 2001). Nekrozun genişliği koroner damardaki tıkanıklığın yeri, kollateral kan akımı, koroner damar tıkanıklığının süresi ve bölgesel miyokardiyal oksijen gereksinimi ile yakından ilişkilidir (Reimer, 1977). Aynı süre için de ölü bölgede fibröz doku gelişmeye başlar (Swynghedauw, 1999). Çünkü iskemi fibroblastların gelişimini uyarır. Ve fibröz dokunun normalden daha fazla gelişmesine yol açar. Böylece ölü doku aşamalı olarak fibrotik dokuya dönüşmüş olur (Robbins, 2001). Aynı dönemde kollaterallerin sürekli infarkte bölgenin dış tarafına doğru gelişmesi nedeniyle kasın işlevsiz bölümü giderek küçülür birkaç gün ile üç hafta arasında işlevsiz kas alanı ya normale döner yada ölür (Guyton & Hall, 2001).

Aterosklerotik lezyonun gelişimi, plak yırtılması ve sonuçta aterosklerozun progresyonu kronik inflamatuvar bir olaydır. Devam eden inflamatuvar olayın yarattığı kompleks aterosklerotik plaklar MI için substrat olmaktadır. Bunlar büyük lipid havuzlar içeren, ince fibröz başlıklı, artan makrofaj infiltrasyonu gösteren, düz kas hücre içeriğinin azaldığı duyarlı plaklardır (Fayad, Fuster & 2001). İnflamasyonun serum belirteçlerinde (IL-6) görülen yükselme ile akut koroner sendrom riski arasında pozitif bir korelasyon vardır (Boersma, Mercado, Poldermans, Gardien, Vos & 2003). Koroner arter hastalığının bir de genetik komponenti vardır. İnflamatuvar olayların genetik regülasyonundaki değişikliklere bireylerde gözlenen farklı klinik tablolar açıklayabilir. Sınırlı verilere göre TNF- α , transforming büyüme faktörü, interlökin-1, CD-1 ve adezyon proteinlerinin gen polimorfizmleri ile koroner hastalık arasında ilişki bulunmaktadır (Andreotti, 2002).

2.4.1 İsoproterenol

Deneysel olarak akut miyokard infarktüsü oluşturabilmek için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bunlar içerisinde koroner arter ligasyonu sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bunu yanı sıra bazı kimyasal bileşikler uygulanarak da AMİ oluşturulabilmektedir (Klaassen, 2001).

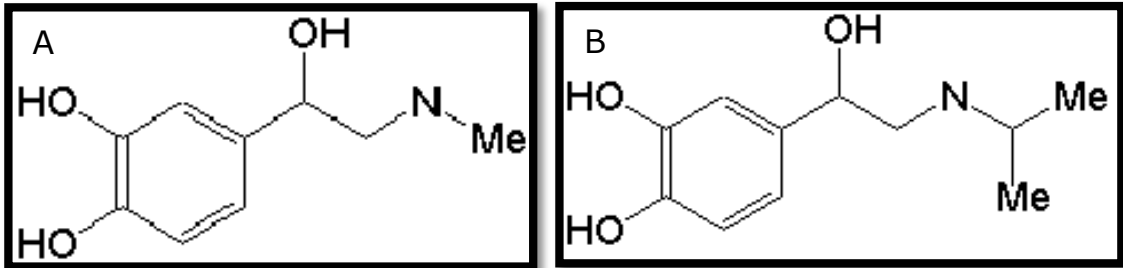
İsoproterenol (ISO) deneysel miyokard infarktüsü oluşturmak için en sık kullanılan maddedir (Anandan, Mathew, Sankar, Nair & 2007), (Shiny, Kumar, Farvin, Anandan, Devadasan & 2005) (Zhou vd., 2008).

2.4.2 İsoproterenolün yapısı ve etki mekanizması

Sistemik ismi 4-(1-hidroksi-2-[(metiletil)amino]etil)-1,2-benzendiol hidro-klorit, kapalı formülü $C_{11}H_{17}NO_3 \cdot HCl$, molekül ağırlığı 242.72 g olan non-selektif β mimetiktir. Sentetik bir sempatomimetik amin (katekolamin) olup, β_1 (inotropik ve kronotropik) ve β_2 (vazodilatör ve bronkodilatör) reseptörleri uyarır (Tipnis, He, Li, Campbell, Boor & 2000).

Adrenalin doğal olarak vücutta sentezlenen bir katekolamindir. İsoproterenol, yapı olarak adrenaline çok benzemektedir (Şekil 2.13 B). Ancak adrenalin gibi α reseptörlerini etkilemez. Vazokonstriktör değil, vazodilatör etkisi vardır. Adrenalin gibi barsakta inaktive edildiğinden ağız yoluyla kullanılamaz. İskemik koroner hastalığı olanlarda kontrendikedir (Şekil 2-13 A) (Tipnis vd., 2000).

İsoproterenol (ISO), intravenöz veya aerosol şeklinde inhalasyon yoluyla, astım tedavisinde bronkodilatör olarak; kalp bloğunda kalp hızını arttırmak amacıyla ve pulmoner hipertansiyonlu hastalarda pulmoner vasküler resistansı azaltmak amacıyla kullanılır (Benjamin vd., 1989).



Şekil 2.13. A) İsoproterenol yapısı. B) Adrenalin yapısı. Me: Metil

İsoproterenol, ratlarda deneysel miyokard infarktüsü oluşturmak için yaygın olarak kullanılan sentetik bir katekolamindir (Benjamin vd., 1989).

İsoproterenol ile miyokard infarktüsü oluşturulmuş sıçan kalbinde meydana gelen patofizyolojik değişikliklerin insanlarda miyokard infarktüsü sonrası oluşan değişikliklere benzerlik gösterdiği bilinmektedir (Stelzner vd., 1987). Katekolamin ile uyarılmış nekrozda, siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeylerindeki artışın (Bhagat, Sullivan, Fischer, Nadel, Dhalla & 1976), intrasellüler kalsiyum artışının ve yüksek enerjili fosfatların tüketilmesinin (Fleckenstein, 1974) Katekolaminler tarafından uyarılan miyokardiyal nekrozun patogenezi multifaktöryel olmasına rağmen oksidatif stresin önemli rolü olduğu gösterilmiştir (Banerjee, Sood, Dinda, Das, Maulik & 2003).

ISO nedenli kardiyotoksitenin patolojik mekanizmasını açıklayan çeşitli hipotezler öne sürülmektedir. Arteriyal hipotansiyona bağlı olarak relatif bir iskeminin oluşması, aşırı oksijen tüketimi, kalbin hiperkontraksiyonu, intrasellüler kalsiyum birikimi, yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin tükenmesi bunlardan bazılarıdır (Klaassen, 2001).

Ayrıca ISO lipitleri, özellikle LDL yükselterek infarktüse zemin hazırladığı düşünülmektedir (Anandan, Mathew, Sankar, Nair & 2007) (Yogeeta vd., 2006). Bazı araştırmacılar ISO uygulaması ile oluşan AMİ'de serbest oksijen radikallerinin önemli bir rol oynadığını ileri sürmektedir (Apple, 1999a) (Waeber & Feihl, 2007).

2.4.3 Miyokard infarktüsü'nde oksidatif stresin rolü

Çalışmalar iskemiye bağlı olarak miyokard dokusunda gelişen nekrotik ve apoptotik değişimlerde serbest radikallerin önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir (Klaassen, 2001) (Yogeeta vd., 2006). Bilindiği gibi, serbest oksijen radikalleri (ROS) bir taraftan lipit, protein, DNA gibi makro moleküllerde hasar oluştururken, diğer taraftan sinyal ileti yolların başlıca etkileyerek gen ekspresyonunda değişikliklere neden olur. Hücre ölümü iki farklı olayla gelişmektedir. Bunlar apoptozis ve nekrozdur. Apoptozisten nekroza geçiş apoptozisin oluşum hızı ile fagositoz hızı arasında bir dengesizlik oluştuğunda görülür. Apoptozise uğrayan hücreler parçalanmadan ve inflamasyonu uyarmadan önce fagosite edildiği için inflamasyon gelişmemektedir. Dokudaki apoptotik hücrelerin sayısı dokunun fagositoz kapasitesini aştığı zaman apoptotik hücreler parçalanmakta inflamasyon ve nekroz gelişmektedir. Mitokondri, gerek apoptozis, gerekse nekroz gelişiminde anahtar rol oynayan bir organeldir. ROS oluşumundaki artışın yarattığı oksidatif stres mitokondri zar bütünlüğünü etkileyerek apoptozise ve

nekroza yol açan olayların tetiklenmesini sağlamaktadır (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Klaassen, 2001) (Kregel & Zhang, 2007).

2.4.4 Miyokard hasarının biyokimyasal belirteçleri

MI'da oluşan temel fizyopatoloji iskemidir. Kardiyak dokudaki bozuk perfüzyon enerji yetersizliğine ve oksijenden yoksun miyokard dokusunun kontraktıl aktivitesinin kaybına yol açar. Etkilenen hücrelerde kardiyak metabolizma artıklarının birikmesi yanında sarkolemma boyunca iyon dengesi de bozulur. Kardiyak hücrelerde iskeminin uzamasına bağlı olarak hücre bütünlüğü kaybolur ve hücre ölümü gerçekleşir (Guyton & Hall, 2001). Koroner arter akımının zaman içinde yeniden sağlanması yani reperfüzyon kardiyak hasarın önlenmesi için temel bir yoldur. Deneysel çalışmalar reperfüzyonun akut fazı esnasında bir miktar daha doku hasarının oluştuğunu göstermiştir. Reperfüzyon hasarı olarak bilinen bu olay, mikrosirkülasyondaki endotel hücrelere nötrofil adhezyonunu, intrasellüler enzimlerin salınımını, kalsiyum iyonlarının hücre içine girişini, sarkolemma fosfolipitlerinin bozunmasını ve ROS oluşumunu artırır. ROS düzeylerinin artması açıl zincirlerinin peroksidasyonuna neden olur ve sonuç da hücre ölümü gerçekleşir (Flaherty & Zweier, 1991).

Moleküler oksijenin indirgenmesi veya uyarılması sonucu serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Fizyolojik şartlarda mitokondrial elektron transport zincirinden sızma tarzında patolojik süreçlerde ise ksantin oksidaz metabolizmasından, aktive olmuş nötrofillerden, katekolamin oksidasyonundan, endotel hücrelerinden ve prostaglandinlerden serbest radikaller üretilmektedir (Kukreja, Kontos, Hess & Ellis, 1986). İskemi reperfüzyon sırasında, hidrojen peroksidin lipit peroksidasyonuna yol açmasına bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres, membran hasarına yol açan mekanizmalardan birisidir ve intrasellüler kalsiyum artışına ve "stunned" miyokardiyumda miyokard kontraktılıtesinin disfonksiyona neden olur (Dhalla, Golfman, Takeda & Takeda, 1999) (Halliwell & Gutteridge, 1999). Dolayısıyla MI sonrasında en önemli biyokimyasal olaylardan biride serbest oksijen radikallerinin artmasıdır (Keles, Demirci, Yildirim, Atamanalp & Altinkaynak, 2008). Bu serbest oksijen radikallerinin artması sadece iskemi sırasında değil aynı zamanda reperfüzyon sırasında da olmaktadır. Günümüzde yapılan birçok bilimsel çalışmanın amacı iskemi ve/veya reperfüzyon sırasında oluşan serbest oksijen radikallerinin konsantrasyonunu azaltarak doku hasarını azaltmaktır (İlhan, Şahin, Seçkin & İlhan, 2002).

MI sırasında sadece serbest oksijen radikalleri salınmaz. Miyokarda oksijen temin edilememesi halinde nekroze olduğu zaman, sarkolemmal membranın bütünlüğü bozulur ve intrasellüler makromoleküller ve iyonlar interstisyuma oradan mikrovasküler yapıya ve lenfatiklere, daha sonra da

periferik dolaşıma geçer. Periferik dolaşıma geçen bu makromoleküller serum kardiyak belirteçleri olarak adlandırılırlar (Antman & Braunvvald, 2001). İdeal bir kardiyak belirtecin optimal düzeyde spesifik kabul edilebilmesi için miyokard dokusunda yüksek konsantrasyonda bulunması, miyokard dışı dokularda ve serumda bulunmaması gerekir (Ellis, 1991). Optimal spesifisiteye sahip olabilmesi için ise miyokard hasarından sonra hızla kana salınabilmeli, ayrıca belirtecin plazma düzeyi ile miyokard hasarının büyüklüğü arasında pozitif bir ilişki bulunmalıdır (Sacks & Troponin, 1994). Klinikte yaygın kullanılabilmesi için, tanı için yeterli bir zaman süresince kanda tespit edilebilir düzeyde kalması, tespit metodun da kolay ve ucuz olması gerekir (Sağlam, 2006).

2.4.4.1 Kreatin kinaz - MB

Kreatin kinaz kas metabolizmasının temel bir enzimi olup ATP aracılı kreatinin fosforilasyonu geri dönüşümlü olarak katalize eder. CK alt birimleri; B (beyin) ve M (kas)'dır. İzoenzimleri BB (CK1), MB (CK2), MM (CK3)'dür. BB en fazla beyinde olmak üzere prostat, barsaklar, akciğer, mesane, uterus ve tiroide; MB %25-46 oranında kalp kasında ve %5'den az oranda iskelet kasında; MM en fazla iskelet ve kalp kasında bulunmaktadır. Normalde total CK aktivitesinin %94-98'ni MM fraksiyonu, %2-6'sını da MB fraksiyonu teşkil eder (Harıkcı vd., 2001). Miyokard infarktüsü sonrasında serumda total CK aktivitesi 4-6 saat içinde yükselmeye başlar. CK-MB göğüs ağrısı başladıktan yaklaşık 10-20 saat sonra maksimum düzeye ulaşır. CK-MB'nin yarı ömrü CK-3'ten daha kısa olduğundan total CK'dan daha hızlı azalır. CK-MB enziminin MB-1 ve MB-2 formu vardır. Miyokard infarktüsünde MB-2 formu salınır (Güzel, 2008).

2.4.4.2 Beyin natriüretik peptidler

Beyin natriüretik peptidler (BNP) öncelikle kalpte üretilir. BNP öncül bir peptidin son ürünlerini temsil eder. Normalde BNP'nin temel salınım bölgesi kardiak ventriküllerdir (Ruskoaho, 2003). Miyosit içinde sentez edilen pre pro BNP 134 aminoasitten oluşur. Pro BNP oluşturmak üzere 26 aminoasitlik bir sinyal peptidi ayrılır. Sonrasında 76 aminoasitlik kısım ayrılarak 32 aminoasitten oluşan BNP oluşur (Ceylan, 2005). Kalp dokusundan BNP'nin salınımı 6-12 saatte doruk noktasına ulaşır (Niedner vd., 2010).

BNP'nin salınımının uyarılmasında hem ventriküler yapının hem de nörohormonal faktörlerin önemli olduğunu gösteren kanıtlar vardır. Natriüretik peptidlerin biyosentezinin ve salınımının düzenlenmesinde; elektrolit dengesi, kan basıncı ve vazomotor halin kontrol edilmesini içeren kompleks bir mekanizma vardır. Miyokardiyal gerilme BNP'nin salınımına

neden olur. Endotelin 1, anjiotensin 2, katekolaminler, tiroid hormonları ve prostaglandinler natriüretik peptidlerin gen ekspresyonunu ve salınımını uyarır (Ruskoaho, 2003). Kardiyovasküler fonksiyonun kontrolünde hormonal sistemin en önemlilerinden biri olan natriüretik peptid sistem rol oynar. BNP'nin fizyolojik etkileri arasında vazodilatasyon, natriürez, renin - anjiotensin-aldosteronun ve sempatik sinir sistemi inhibisyonu vardır. BNP salınımı nörotransmisyon, endokrin fonksiyonlar ve hücre çoğalması ile hipertrofinin regülasyonunda da etkindirler (Filippatos vd., 2001) (Ruskoaho, 2003).

Tüm memeli türlerinde natriüretik peptid genlerinin uyarılması kardiyak hipertrofinin bir göstergesidir ve klinik şiddetin belirteçidir (Filippatos vd., 2001). Natriüretik peptidler kimyasal maddelerin kalp üzerindeki etkilerini belirlemede kullanılabilir (Wigle vd., 1993).

2.4.4.3 İnflamatuvar mediyatörler

İnflamatuvar doku yanıtı oluşmasında rol oynayan mediyatörlerden ilk keşfedilen histamin olmakla birlikte sayıları giderek artmaktadır. Sepsisli hastalarda 1986 yılından bu zamana kadar çok çeşitli inflamatuvar sitokinler tespit edilmiştir. Mediyatörler hasarlı dokudan, hücrelerden veya plazmadan köken alan çeşitli kimyasal maddelerdir. Genel özellikleri: Plazma kaynaklı mediyatörler (komplemanlar) biyolojik aktivasyon için çeşitli proteolitik değişiklikler geçirirler. Hücre kaynaklı olan mediyatörler uyarıcı olmadığı durumlarda intrasellüler granüllerde (histamin mast hücrelerinde) depolanırlar; ihtiyaç olduğunda salgılanır veya bir uyarıcıya karşı yeniden sentez edilirler (örneğin: prostaglandinler) (Kuralay & Çavdar, 2006).

Aktivasyon ve salınım bu mediyatörlerin çoğunun metabolik değişime uğramasına (araşidonik asit metabolitleri) veya enzimatik inaktivasyonuna neden olur (kininaz bradikininini inaktive eder) (Kuralay & Çavdar, 2006).

Mediyatörlerin büyük bir çoğunluğu ilgili hücrelerdeki reseptörlerine bağlanarak hedef hücrede ikincil mediyatör çıkışını uyarabilir. Bu ikincil mediyatörler hücreyi uyarıcı mediyatörlere benzeyebilir veya aynı olabilir. Bununla birlikte karşıt aktivite de gösterebilirler (Kuralay & Çavdar, 2006).

MI ortaya çıkan aşırı inflamatuvar cevap, karşıt etki gösteren molekül, mediyatör ve sitokinlerle dengelenmeye, düzenlenmeye çalışılır. Bu olaylar zinciri içerisinde yer alan mediyatörleri aşağıdaki başlıklar altında sınıflandırmak mümkündür.

2.4.4.3.1 Sitokinler

Sitokinler primer olarak immün sistem hücreleri tarafından sentezlenen küçük (8-26 kDa), oldukça aktif moleküllerdir. Pro-inflamatuar sitokinlerin dolaşımdaki düzeyleri sağlıklı bireylerde düşük veya tespit edilemeyecek düzeydedir fakat patojenik mikroorganizmalar tarafından konağın enfekte olması salınımlarını uyarır (Netea, van der Meer , van Deuren, & Kullberg, 2003).

Sitokinlerin MI inflamatuvar olaylarla uyarılabilirler ve inflamasyonda en önemlileri interlökinler (IL) ve tümör nekroz faktörü-alfa'dır (TNF- α). Özellikle IL-6 ve TNF- α birçok ortak biyolojik özellikleri paylaşır. Her ikisi de aktive makrofajlar, lenfosit ve diğer hücre tipleri tarafından oluşturulur ve pro-inflamatuar sitokinler olarak adlandırılırlar (Kuralay & Çavdar, 2006).

2.4.4.3.1.1 Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α)

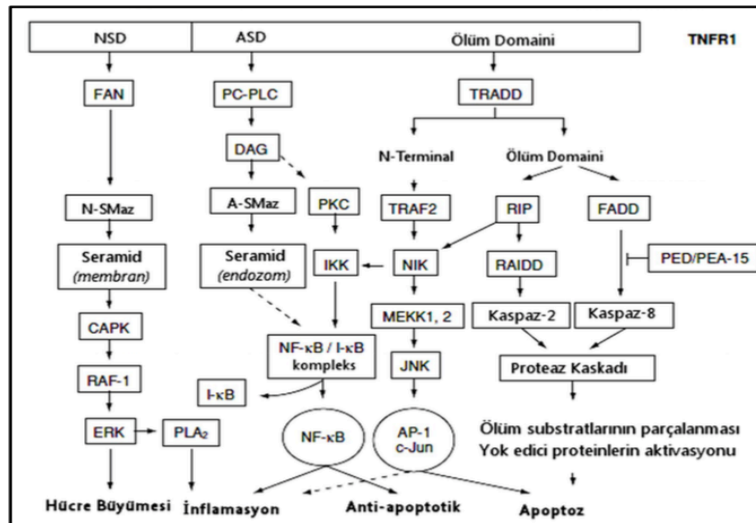
TNF'nin hücre sel kaynağı lipopolisakkarit ile aktive olan mononükleer fagositlerdir. İnsan TNF'si nonglikolize bir transmembran protein olup, molekül ağırlığı 17 kDa'dır. İki çeşit TNF vardır. Bunlar, genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (kaşektin) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (Lenfotoksin)'dir (Abbas, Lichtman, & Rober, 1997).

Tümör nekroz faktörü alfa'nın pleiotropik etkilerine iki farklı, fakat yapısal olarak benzer TNF reseptörleri aracılık eder. TNFR1; 60 kDa reseptör 1 ve TNFR2; 80 kDa reseptör 2 olarak adlandırılan bu reseptörler tip 1 transmembran glikoproteinlerdir. ve TNF reseptör süper ailesinin üyeleridir. TNFR1 ve TNFR2 eritrositler dışında hemen hemen tüm canlı hücre tiplerinde bulunur. TNFR1 çoğunlukla her yerde bulunurken, TNFR2 daha çok endotel hücreleri ve hematopoietik kökenli hücrelerde baskındır. Her iki reseptörde TNF'ye yüksek bir afiniteyle bağlanabilir (Thomson & Lotze, 2003).

TNFR1'in hücre içi fonksiyonel alt birimleri, hücre içi adaptör proteinlerle etkileşerek TNF'nin biyolojik aktivitesinin koordinasyonunda hücre içi sinyallerle uyum sağlar. TNFR1, C – terminal ölüm domaini ve birbirine yakın konumlanmış N-SMaz (nötral sfingomyelinaz) ile A-SMaz (asidik sfingomyelinaz) aktive edici domainleri (NSD ve ASD) olmak üzere üç fonksiyonel domainden oluşmaktadır. Bu domainler hücre dışından gelen TNF sinyallerini hücre içi adaptör proteinlere aktarırlar. TNFR1 ilişkili ölüm domaini (TRADD) reseptörün ölüm domainine bağlanarak hem apoptotik hem de antiapoptotik yolda rol oynar. TNF'nin proapoptotik etkilerine ASD domaini üzerinden fosfotidilkolin – özel fosfolipaz c (PC-PLC) aktivasyonu aracılık eder. N-SMaz ilişkili faktör (FAN) TNFR1'in NSD domainine bağlanarak TNF'nin çeşitli inflamatuvar cevap ve hücre proliferasyonu

sonuçlanan olaylarına aracılık eder. NSD domaini inflamatuvar cevap ve hücre proliferasyonunun TNF aracılı düzenlenmesinde merkezi bir noktadadır. N-SMaz ilişkili faktör (FAN) bir sfingomyelin yıkım ürünü olan seramid üretimi üzerinde özellikle N-SMaz'ı aktifleyerek ayarlayıcı fonksiyon görür. Plazma membranında seramid ilişkili protein kinazları (CAPK) aktifler ki bu aktivasyon sitoplazmik raf-1'i fosforile eder. Aktive raf- 1 sırayla MAP kinaz kaskadını ve MAPK/ERK'ı (ekstrasellüler sinyal-düzenleyici kinaz) ve fosfolipaz A₂'yi aktive edebilir. Fosfolipaz A₂ araşidonik asit metabolitleri olan lökotrienler ve prostaglandinlerin üretiminden sorumludur (şekil 2.14). Bu metabolitler TNF'nin proinflamatuvar aktivitelerine katkı sağlarlar (Thomson & Lotze, 2003). TNFR2 aracılı sinyalizasyon daha az karakterize edilmekle birlikte TNF'nin T ve B hücre proliferasyonunu sağlayan etkilerine aracılık eder. TNFR2 insan ve kemirgen aktive T hücrelerini apoptozisi indükleyerek baskılar. TNFR2'nin hücre içi ölüm domaini olmaması apoptozisi indüklemekte farklı mekanizmalar üzerinden etki gösterdiğini desteklemektedir. Anti-apoptotik bir protein olan Bcl-xL'nin baskılanması TNFR2'nin indüklediği apoptozisle korelasyon halindedir (Thomson & Lotze, 2003). TNF Reseptör -1 aracılı sinyal iletim yolları (Şekil 2.14) (Thomson & Lotze, 2003). TNF Reseptör -1 aracılı sinyal iletim yolları (Şekil 2.14) (Thomson & Lotze, 2003).

TNF nanomolar konsantrasyonlarda lökosit ve endotel hücreleri için lokal olarak parakrin ve otokrin düzenleyicidir. Düşük yoğunluklarda (<10⁻⁹ M) biyolojik etkileri şunlardır: ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektin gibi hücre yüzey adezyon moleküllerinin yapımını artırarak lökositlerin adezyonuna destek olur. Böylece lökositlerin hücre yüzeyine tutunması ve endotel bariyerden geçişini hızlandırır (Wolf vd., 2001). Pro-inflamatuvar sitokin üretiminde "master düzenleyici" olarak görev yapar (Park vd., 2009). Endotel hücreleri ve makrofajları kemokin salınımı için uyarır (Abbas & Lichtman, 2007).

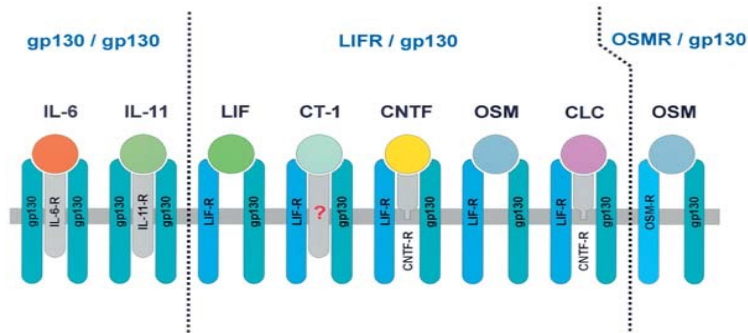


Şekil 2.14. TNF Reseptör -1 aracılı sinyal iletim

2.4.4.3.1.2 İnterlökin-6

Sitokinler, immün ve inflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılması için; uyarılmış lenfositler, monositler ve makrofajlar ile diğer bazı somatik hücreler tarafından sentezlenen 20-30 kD ağırlığına sahip peptid ve glikoprotein yapısındaki maddelerdir. 1975 yılında ilk kez interlökin tanımı kullanıldı. 1981 yılında ise sitokinlerin sadece lökositler değil diğer hücreler tarafından da sentezlendiği gösterildi. Lökositler arasında iletişimi sağlayan sitokine İnterlökin adı verilmiştir. IL-6 pleotropik bir sitokindir. Dendritik hücreler, monositler, makrofajlar ve aktive olmuş T hücreleri, endotel hücreleri, osteoklastlar, fibroblastlar, mast hücreleri ve timositler tarafından sentezlenir. B hücrelerinde Ig sentezinde artış, T hücre aktivasyonu ve akut faz proteinlerinde artışa yol açması proinflamatuvar, ama proinflamatuvar stokinleri baskılaması da antiinflamatuvar özelliğidir. IL-6 ilk olarak preaktivasyon halindeki normal insan lenfositleri ve Ebstein Barr virüsünce transformasyona uğratılmış B lenfositler tarafından immunglobulin salgılatan bir faktör olarak tanımlanmıştır. 26 kD ağırlığında olup 184 aminoasitten oluşur. Başlıca T ve B lenfositler, monositler, fibroblastlar, keratinositler, endotelial hücreler, astrositler, kemik iliği stromal hücreleri ve mezenkimal hücreler tarafından sentez edilir. Lenfosit, monosit, mesane ve akciğer hücreleri tarafından oluşturulabildiği gibi kardiyak miksoma, myeloma ve hipernefroma gibi tümör hücrelerince de oluşturabilmektedir. (Baykal, Karaayvaz, & Kutlu, 1998).

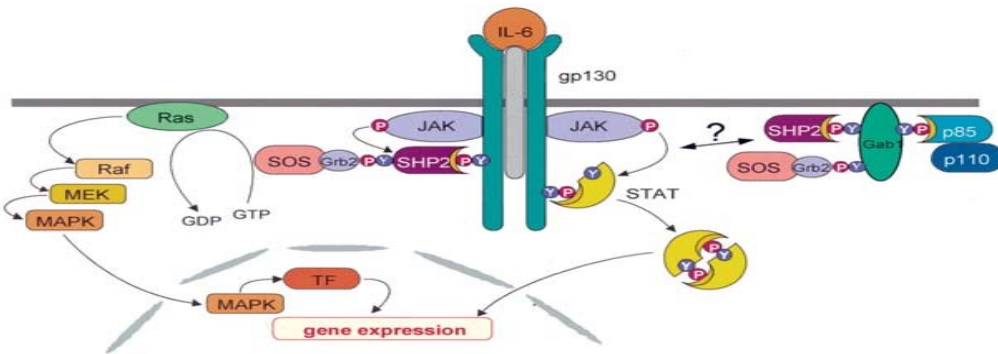
İnterlökin 6-tip sitokin ailesi IL-6, IL-11, LIF (lösemi inhibitör faktör), OSM (onkostatın M), CNTF (siliar nötrofik faktör), CT-1 (kardiotrofin-1) ve CLC (kardiotrofin-benzeri sitokin) üyelerinden oluşur. Farklılaşma, hayatta kalma, apoptoz, çoğalma gibi fonksiyonların sürdürülmesinde hedef genleri aktive ederler (Şekil 2.15) (Heinrich, Behrmann, Haan, Hermanns, Müller-Newen, & Schaper, 2003).



Şekil 2.15. IL-6 tipi sitokinlerin reseptör kompleksleri

İnterlökin-6 çeşitli uyarılar tarafından düzenlenir. T-hücreleri veya T-hücre klonlarında T-hücre mitojenleri yada antijenik uyarılarla üretimleri uyarılır. Monosit ve fibroblastlarda LPS IL-6 üretimini artırırken, glukokortikoidler bu üretimi baskılar. IL-1, TNF, IFN- β , trombosit - kökenli büyüme faktörü (PDGF), protein kinaz C, kalsiyum iyonofor A23187 gibi hücre içi siklik AMP derişimini artırıcı ajanlar aynı zamanda IL-6 üretimini de uyarırlar. Oysa IL-4 ve IL-13 monositlerde IL-6 üretimini durdururlar (Thomson & Lotze, 2003)

İnterlökin-6 birçok akut faz proteininin üretiminde esas uyarıcı iken, diğer sitokinler akut faz proteinlerin alt grupları üzerinde etki gösterirler. İnterlökin 6'nın biyolojik aktivitelerine aracılık eden reseptör kompleksi 2 alt birimden oluşur. Bunlardan α alt birim IL-6R olarak isimlendirilen tip 1 transmembran glikoprotein (CD126, gp80) ve β alt birim tip 1 transmembran sinyal değiştirici protein gp130 (CD130)'dan oluşur. Hedef hücrelerde, IL-6 ilk önce membrana bağlı sinyal aktivitesi olmayan α reseptör IL-6R (mbIL-6R)'ye bağlanır. Daha sonra bu kompleks gp130'un iki molekülüne bağlanır ve JAK/STAT, ERK ve PI3K sinyal uyum yollarını aktive eden IL-6 sinyal aktarımı gerçekleşir (Scheller, Chalaris, Schmidt-Arras, & Rose-John, 2011). IL-6 ve IL-11 bu sitokin ailesi içerisinde sinyal aktarımını sadece gp130 homodimerleri üzerinden gerçekleştiren sitokinler olup, diğer IL-6 sitokin ailesi üyeleri sinyal aktarımını ya gp130 homodimerleri, LIFR (LIF, CNTF, CT-1 ve CLC) veya gp130 ve OSMR (OSM) aracılığıyla gerçekleştirirler (Şekil 2.16) (Heinrich vd., 2003).



Şekil 2.16. IL-6 tipi sitokinlerin reseptör kompleksleri (Heinrich, Behrmann, Haan, Hermanns, Müller-Newen, & Schaper, 2003)

Moleküler ağırlığı 130 - 150 kDa olan gp130, 6 ekstrasellüler, tek bir transmembran ve bir sitoplazmik domainden oluşan glikolize tip 1 transmembran proteindir. Gp130 N-terminal Ig - benzeri domain (D1), bunu takip eden iki sitokin bağlama bölgesi (CBD; D2 ve D3) ve üç fibronektin-benzeri (FNIII) domainden oluşur (D4-D6). N-terminal yerleşimli domain 2

birbirlerine disülfid köprüleri ile bağlı iki çift sistein kalıntısı içerir. C-terminal yerleşimli D3 Trp-Ser-X-Trp-Ser (WSXWS) motifi içerir (Scheller vd., 2011).

Gp130 taşıyan sitokin reseptörlerinin birçoğunun intrinsik katalitik domainleri yoktur. Janus ailesi tirozin kinazların (JAK1, JAK2, JAK3, Tyk-2) bulunmasıyla sitokinlerin ve hormonların sinyal iletimleri konusunda önemli bir nokta aydınlatılmış oldu. Bununla birlikte, sinyal aktarıcı ve transkripsiyon aktivatörü (STAT)'nın sitokin sinyal aktarım yollarında merkezi bir role sahip olduğunun belirlenmesiyle sitokin sinyalinin ekstrasellüler – intraselüler – nükleus süreci de büyük ölçüde belirlenmiştir.

Otofosforilasyon özelliği bulunan bu tirozin kinaz ailesi üyelerinden özellikle JAK1, IL-6 sinyal iletiminde esansiyeldir ve yokluğunda sinyalizasyon önemli ölçüde bozulur (Rodig vd., 1998).

Gp130 ve JAK1 arasındaki bağlantı son derece sıkı ve dayanıklıdır. Janus ailesi tirozin kinazlar sitokin reseptörlerinin box-1 ve box-2 olarak adlandırılan membran-proksimal bölgesine bağlanırlar. JAK'ların sinyal aktarım görevleri dışında bazı sitokin reseptörlerinin eksprese edilmelerinde de görev üstlenirler. JAK1, JAK2 ve Tyk-2'nin birlikte ekspresyonları insan OSMR yüzey reseptörlerinin ekspresyonlarını artırır. Tyk-2 IFN- α reseptör 1 zincirinin yüzey ekspresyonunda önemlidir (Heinrich vd., 2003).

MI'da, myositlerin geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz hasarı sonucu kan damarları büzülür ve lökositler hasarlı dokuya infiltre olur. Ardından myosit ve monositler aktif hale geçerek interlökin-1, tümör nekroz faktör (TNF α), interferon γ ve IL-6 gibi inflamasyonun aracı maddelerini salıvermeye başlarlar (Komsala, Przewlocka-Kosmala, & Macurek, 2005).

Meredith ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada IL-6 akut miyokard infarktüsünde anstabil anjinaya göre daha önemli ve değerli bulunmuştur (Meredith, Plunkett, Worthey, Hope, & Camero, 2005). Chiappelli ve arkadaşları (2005)'nin yapmış olduğu bir çalışmada IL-6'nın kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili proinflamatuvar bir anahtar madde ve immün düzenleyici bir sitokin olduğu gösterilmiştir. Lee ve arkadaşları (2005); endotelial hasarın bir göstergesi olan dolaşımda artmış endotelial hücrelerden akut koroner sendromda bahsetmişler, bu artışın yetersiz ortalama akım dilatasyonu (FMD, endotelial disfonksiyonun bir göstergesidir) ve de artmış IL-6, von wille brand faktör ve doku faktörü (TF) ne bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir (Lee, Blann & Lip, 2005).

2.5 Serbest Radikaller ve Antioksidan Mekanizma

Hücrelerde serbest oksijen radikallerinin yol açtığı oksidatif hasarı önleyen, sınırlayan veya kısmen tamir eden moleküllere "antioksidanlar" denir. Antioksidanların plazma ve damar çeperindeki LDL ve Lipoprotein (Lp(a)) oksidasyona duyarlılığını azalttığı bildirilmiştir. Lipoproteinlerin oksidasyona uğramasının, makrofajlar üzerindeki çöpçü reseptörler tarafından tanınmaları için bir ön koşul olduğu düşünüldüğünden, oksidasyona karşı koruyucu etkileri olan antioksidan maddelerin düzeyinin azalması MI riskini de arttırabilir (Wu, Kago, Martin & Meydani, 1999).

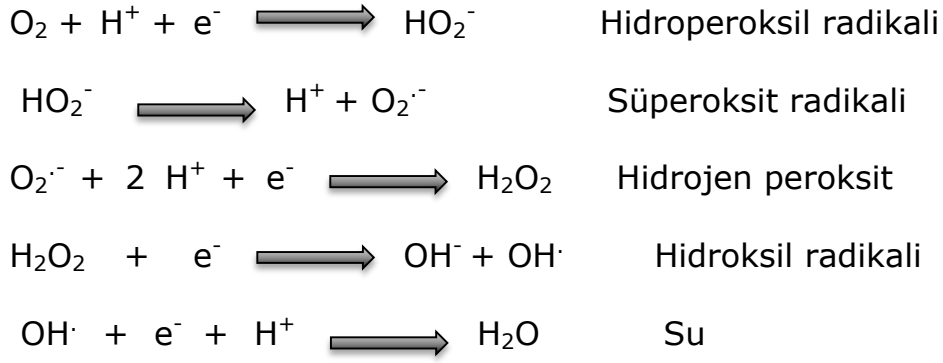
2.5.1 Serbest radikaller

Herhangi bir atom veya molekülün dış orbitallerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektronun bulunması, söz konusu kimyasal türün reaktivitesini artırır. Dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron içeren bu türler radikal (veya serbest radikal) diye adlandırılır (Dündar & Aslan, 2000).

Hücre intrasellüler normal metabolizma sonucu oluşan ve ekstrasellüler olarak ise UV radyasyon, iyonize radyasyon veya kısaca ksenobiyotik etkiler sonucu sürekli olarak serbest radikal türlerinin maruziyeti altındadır. Oksijenden oluşan serbest radikallere Reaktif Oksijen Species (ROS) denir (Sun, Oberley, & Li, 1988)

Serbest radikal oluşumundaki artış ve/veya antioksidan sistemdeki yetersizlik organizmada oksidatif strese neden olmaktadır (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Uysal, 2006). Serbest radikaller biyolojik sistemlerde çok önemli olup dış orbitallerinde paylaşılmamış bir elektron taşırlar. Ömürleri çok kısa olan ve kararsız bir yapı gösteren bu bileşikler etrafındaki moleküllerle etkileşime girerek elektron almaya çalışırlar ve en kısa zamanda kararlı bir hale varmak isterler (Kehrer & Smith, 1994).

Aerobik organizmalarda yaşamın devamı için oksijene mutlak ihtiyaç duyulur. Oksijen hücrede bir dizi reaksiyondan geçerek suya dönüşür ve bu süreçte hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlar. Fakat bu süreçte oksijenin %2-3 kadarı suya dönüşemez ve oksijen kaynaklı radikaller oluşur. Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), iki elektron alarak indirgenmesi ile de Hidrojen peroksit (H_2O_2) meydana gelir. Üçüncü elektron ilavesi ile yüksek derecede reaktif Hidroksil radikali (OH^{\cdot}) meydana gelir. Dördüncü elektron eklenmesi ile de su oluşur (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Kehrer & Smith, 1994).



Serbest radikaller organizmada mitokondrinin yanı sıra hücrenin tüm kısımlarında zara bağlı veya serbest halde bulunan pek çok enzimin katalizlediği reaksiyonlar sırasında oluşmaktadır. Bunlar arasında mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi (MEOS), Sitoplazmada ksantin oksidaz, hücre zarına bağlı NADPH oksidaz ve lipooksijenazlar gibi enzimlerin katalizlediği reaksiyonlar sayılabilir (Kehrer & Smith, 1994) (Nakazawa, Genka & Fujishima, 1996).

Aerobik organizmalarda serbest radikallerin çoğu oksijen ve azot kaynaklıdır. Bunlardan bir bölümü radikal nitelikli iken bir bölümü ise bazı reaksiyonlara katılarak radikallere dönüşmektedir (Nakazawa vd., 1996) (Uysal, 2006)

Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere tüm hücre bileşenleriyle etkileşme ve onlara zarar verme özelliğindedir (Halliwell & Gutteridge, 1999).

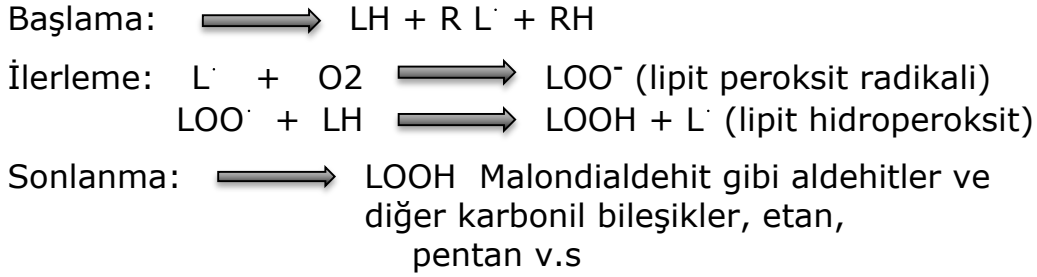
Serbest radikallerin proteinler üzerine olan etkileri: Serbest radikaller proteinler üzerinde doğrudan veya dolaylı etki gösterebilirler. Peptit bağları, prolin ve lizin gibi amino asitler serbest radikallerden oldukça kolay etkilenir. Protein oksidasyonu, özellikle histidin, tirozin, fenilalanin gibi amino asitlerde karbonil gruplarının oluşumu şeklinde olur. Lipit peroksidasyonun aldehit yapıdaki ürünleri sisteinin sülfhidril grupları ile veya lizin ve histidinler ile kovalent bağlar oluşturarak proteinlerde fragmentasyon ve çapraz bağlanmalara neden olur. Bu olaylar proteinlerin fonksiyonlarında bozulmalara yol açar (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Kehrer & Smith, 1994) (Nakazawa vd., 1996).

2.5.1.1 Lipid peroksidasyonu

Serbest radikallerin lipitler üzerine etkileri: Serbest radikallerin lipitler üzerindeki en önemli etkileri lipit peroksidasyonunu uyarmasıdır. Lipit peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan ve hücre zarlarında

bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan kimyasal bir olaydır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali ve alkoksil radikali lipit peroksidasyonunu başlatan başlıca radikallerdir (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Kehrer & Smith, 1994) (Nakazawa vd., 1996).

Lipit peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asidi (LH) zincirindeki-metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlar ve böylece yağ asidi zinciri bir radikal niteliği kazanır. Bu lipit radikali (L[•]) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. İlk önce, molekül içi çift bağ aktarılması (rezonans) ile dien konjugatı oluşmaktadır. Daha sonra yağ asidi radikaline hızlı bir şekilde oksijen eklenerek peroksil radikali (LOO[•]) oluşur. Bu lipit peroksil radikalleri zar yapısındaki diğer çok doymamış yağ asidi moleküllerinden hidrojen atomlarını çıkartarak yeni reaksiyonları başlatırlar, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşürler (LOOH). Lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile lipit peroksidasyon reaksiyonları sona ermektedir (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Nakazawa vd., 1996) (Uysal, 2006).



Hücre zarlarında lipit peroksidasyonu sonucu zar transport sistemi etkilenmekte, hücre içi ve dışı iyon dengeleri bozulmaktadır. Bunun sonucunda hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artmakta ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olmaktadır. Bu olaylar hücre hasarında etkin bir rol oynamaktadır. Öte yandan lipit peroksidasyonun son ürünü olan aldehitler de sitotoksik etkilere sahiptir (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Nakazawa vd., 1996) (Uysal, 2006). Organizmada sürekli biçimde serbest radikal niteliğinde bileşikler oluşmaktadır. Ancak bu radikallerin organizmaya zarar vermesi güçlü bir savunma sisteminin varlığı sayesinde engellenmektedir. Bu nedenle serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızının dengede tutulması son derece önemlidir. Bu denge bozulduğu zaman, serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkmakta ve çeşitli organ ve sistemler olumsuz etkilenmektedir. Bu nedenle antioksidan sistemlerin bilinmesi, oksidan stresin yol açtığı zararların engellenmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Nakazawa vd., 1996).

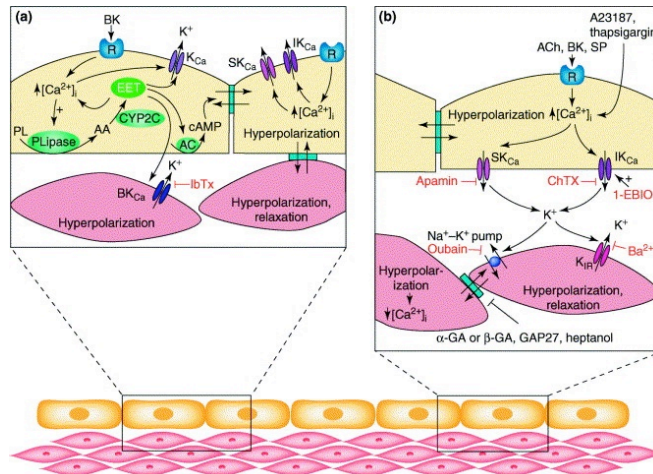
Antioksidanlar, radikal oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama, oluşan radikalleri ortadan kaldırma ve

hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini göstermektedirler. Antioksidan sistem; enzimleri, suda ve yağda çözünen radikal tutucularını ve metal iyonlarını bağlayan proteinleri kapsamaktadır (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Nakazawa vd., 1996)

2.5.1.2 Nitrik oksit

ABD New York Downstate Üniversitesi Farmakoloji bölümünden Furchgott ve Zawadski ilk olarak 1980 yılında kendisinin tanımladığı tavşan aortik damar şeritlerin noradrenalin, fenilefrin veya başka bir kasıcı agonistle supramaksimal (maksimal kasılmanın % 60-70'i) bir kasılma sağladıktan sonra ortama asetilkolin (ACh) ilavesi ile gevşemelerin oluştuğunu gösterdiler. Bu gevşemenin endotelyuma bağımlı olduğunu ve bu etkiden endotelyumdan düz kasa geçebilen non prostanoid labil bir maddenin sorumlu olduğunu ileri sürdüler. Bu hazırlanan gevşeme izole aort halkalarında endotel mevcutsa olmakta, ancak endoteli alındıktan sonra gevşeme kaybolmakta veya kasılmaya dönüşmekteydi. Endotelyum kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak adlandırılan bu maddenin, daha sonra venler, arterler, ve mikrodamarlarda yapılan çalışmalarda, ACh'den başka trombin, adenin nükleotidler, P maddesi, bradikinin, bir kalsiyum iyonoforu olan A23187 ve elektriksel stimülasyonla da salınımının uyarıldığı bildirilmiştir. Daha sonra yapılan deneysel çalışmalarda EDRF'nin Nitrik oksit (NO) veya NO ile ilişkili bileşikler örneğin nitroksil anyonu (NO^-) yada S-nitrozotiyol bileşiği olduğu saptanmıştır (Taylor & Weston, 1988).

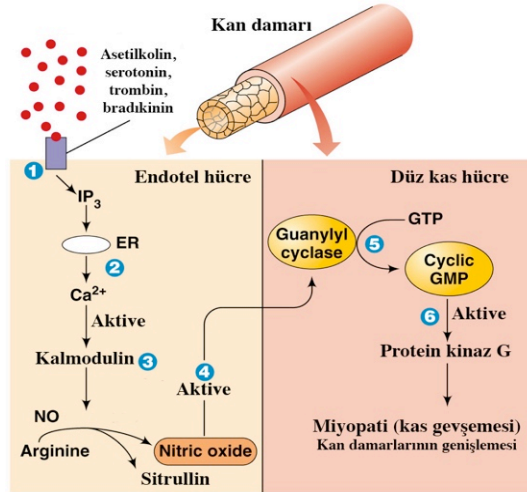
NO tek nitrojen ve tek oksijen atomunun birleşmesiyle oluşmaktadır. Bu maddenin dokularda ve oksijenlenmiş fizyolojik sıvılarda çok çabuk yıkıldığı, bu nedenle yarılanma ömrünün çok kısa (4-40 sn) olduğu bildirilmiştir. EDRF'nin etkisi hemoglobin, hidrokinin ve metilen mavisi tarafından inhibe edilmektedir (Moncada, Palmer & Higgs, 1991).



Şekil 2.17. Nitrik oksit endotelyum düz kasalarında etkisi

NO, endotel hücrelerinde caveolae'da (hücre membranındaki invajinasyonlar) lokalize endotelial NO sentaz'ın (eNOS), enzimatik etkisiyle prekürsörü olan L-arjininden sentezlenir. Kaveolin-1, kalmodulin'e bağlanır ve eNOS aktivitesini inhibe eder. Kalsiyumun (Ca^{2+}) kalmodulin'e bağlanması Kaveolin-1'i ayırır ve eNOS'u aktive ederek, NO üretimine yol açar. Tetrahydrobiopterin (BH4) ve nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) gibi kofaktörlerde NO üretiminde rol alır (Şekil 2-17) (Behrendt & Ganz, 2002).

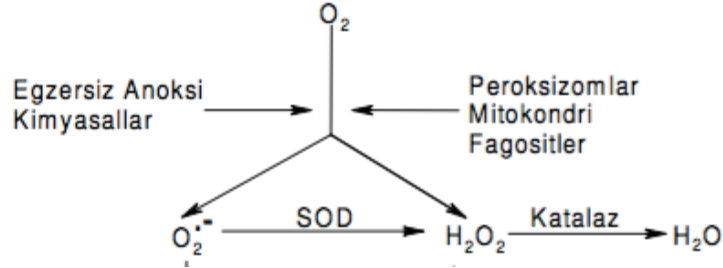
Damar endotelinin antikoagülan, antitrombotik ve fibrinolitik özellikleri sayesinde damar tonus ve yapısı düzenlenir. Bu düzenlemede de en önemli maddelerden birisi bir vazodilatör olan endotel kökenli nitrik oksit (NO)'tir (Drexler, 1998). Temel olarak koroner arter hastalığını haber veren en erken bulgu, henüz ateroskleroz plağı oluşmadan endotel fonksiyonunun bozulmasıdır. Bu fonksiyon bozukluğu sonucunda, NO sentez ve salınımının azalması ile başlayan ve ateroskleroz plağı oluşumundan koroner arter hastalığına ve koroner sendrom gelişmesine doğru hızla ilerleyen bir süreç ortaya çıkar (Şekil 2.18) (Lüscher & Barton, 1997).



Şekil 2.18. NO Endotel hücrelerde ve düz kas hücrede

2.5.1.3 Katalaz

Tetramerik bir hemoprotein olan katalaz enzimi yüksek konsantrasyonda oluşan H₂O₂'i oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler. Enzim, peroksizomlarda yerleşmiştir (Şekil 2.19) (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Nakazawa vd., 1996).



Şekil 2.19. Katalaz reaksiyonu

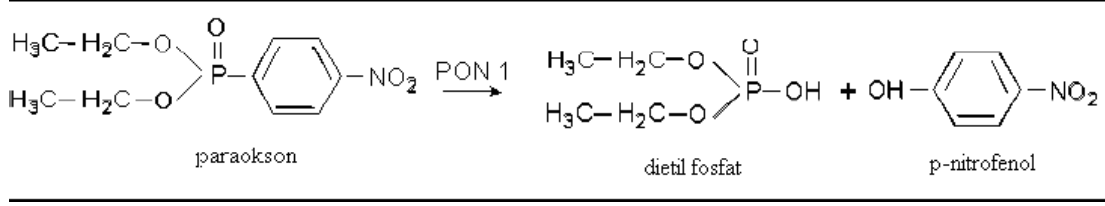
2.5.1.4 Paraoksonaz ve Aril esteraz

Paraoksonaz (PON1), hem arilesteraz (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip, glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır (Durrington, Mackness & Mackness, 2001). 1946'da Abraham Mazur hayvan dokusunda organofosfat bileşiklerini hidroliz edebilen bir enzimin varlığını ilk kez bildirmiştir (Mazur, 1946). Bu enzim 1953 yılında Aldridge W.N. tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak teşhis edilmiştir (Aldridge, 1952). 1961'de Uriel tarafından insan serumunda yapılan bir çalışmada ilk kez HDL ile PON1 ilişkisi gösterilmiştir (Uriel, 1961). Mackness ve ark., yaptıkları çalışmalar ile, 1985' te PON1'un HDL üzerinde bulunduğunu (Mackness & Halam, 1985), 1988' de, PON1'un HDL üzerinde apoA-I'e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini (Mackness & Walker, 1988) ve 1991 yılında da LDL üzerindeki lipidperoksit birikimini azalttığını bulmuşlardır (Mackness, Arrol & Durrington, 1991). İmmunoaffinite kromatografi çalışmaları insan serum paraoksonazının HDL'nin yapısındaki apolipoprotein AI ve klusterin (apolipoprotein J) ile ilişkili olduğunu ve total HDL'nin çok küçük bir bölümünü oluşturduğunu göstermiştir (Pedersen vd., 1994) Bu bulguların sonucunda araştırmacılar, kardiyovasküler hastalıklar ile PON1 arasındaki ilişkiyi araştırmaya yönelmişlerdir.

Paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 şeklinde 3 üyesi vardır. PON1, PON2 ve PON3 genlerinin memeliler arasında; %60 sekans benzerliği gösterir. PON ailesi enzimleri substrata spesifik hidrolazlardır. PON1 bu ailenin ilk bulunan ve üstünde en çok çalışma yapılan üyesidir (Deakin & James, 2004).

PON1'in amino asit bileşimi incelendiğinde, lösin içeriğinin yüksek olmasına karşılık, "kringle" yapısına sahip olacak kadar sistein içermediği görülür. Bununla beraber, 42, 284 ve 353. konumlarda yer alan sistein

artıklarının, PON1'in yapısal ve fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunduğu söylenebilir. Protein yapısında bulunan tek disülfid bağı, polipeptid zincirinin sıklık yapıda olmasına neden olmaktadır (Şekil 2.20).



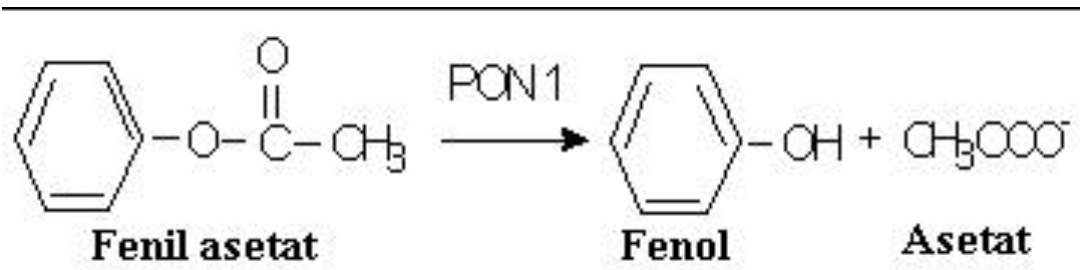
Şekil 2.20. Paraoksonazın Paraoksonu hidrolizi

Karaciğerde sentezlenen ve dolaşıma verilen PON1'in HDL yapısında yer aldığı bilinmektedir. PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL lipidlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri, Apolipoprotein A1(Apo A1) ve Apo J (klusterin) proteinlerini de içerdiğinden, Apo A1 ve Apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (Başkol & Köse, 2004).

PON1, 6 yapraklı beta tabakası bir yapı içerir. Her bir yaprak 4 beta tabakası içerir ve enzimin merkez kısmında yapı ve katalitik aktivitesinin korunması için gerekli olan iki kalsiyum atomu vardır. Bunlardan bir tanesi yapısal kalsiyum olup, yapıdan uzaklaştırılması irreversibl denatürasyona neden olmaktadır. Diğeri ise katalitik etkinlikte görev alan kalsiyumdur. Bu kalsiyum iyonu bir su molekülü ile fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşmektedir (Harel vd., 2004).

PON1 tarafından hidrolize edilen bileşikler olan organofosfatlar (paraokson ve diazokson), sinir gazı ajanları (somon ve sarin) ve aromatik esterler (fenilasetat) PON1'in non-fizyolojik substratları olduğu bildirilmiştir.

Parokson (O, O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat), paroksonazın hem Aril esteraz aktivitesini hem de Paroksonaz aktivitesini ölçmede en sık kullanılan substrattır. Arilesteraz (aril-ester hidrolaz) (ARE) da bir paraoksonaz olarak sınıflandırılmaktadır (Lorentz, Wirtz & Weiss, 2001) PON1 arilesteraz aktivitesi ile fenil asetatı fenol ve asetata hidrolize eder. Fenol 270 nm'de absorbanans verir. Fenil asetat ise sadece arilesteraz aktivitesini ölçmede kullanılan bir substrattır. PON1 polimorfik dağılımı nedeniyle aynı substrata karşı farklı aktivite gösterir (Şekil 2.21) (Başkol & Köse, 2004).



Şekil 2.21. Paraoksonazın Fenil Asetatı hidrolizi

PON1 lipoprotein kaynaklı fosfolipid peroksitlerinde ve kolesterol ester peroksitlerinde bulunan O ve P arasındaki ester bağına hidroliz ettiği gösterilmiştir. Okside olmuş lipoproteinler ve kolesterol esterlerinin HDL bağımlı PON1 için fizyolojik substrat olduğu düşünülmektedir. İnsan arteriyel duvar hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada PON1'in okside 1-palmitil-2-araşidonoil-sn-glisero-3-fosforilkolin üzerindeki fosfolipid türlerini hidroliz ettiği, böylece HDL'nin LDL'yi oksidasyondan koruyucu etkisinin paraokson hidroliz kapasitesinden bağımsız olduğu görülmüştür (Mackness, 1998).

2.5.1.4.1 PON1'in fizyolojik fonksiyonu

Paraoksonaz enziminin, aromatik karboksilik asit esterleri ve paraokson, diazookson, sarin, somon gibi organofosfat türevlerini detoksifiye ettiği pek çok çalışma ile göstermiştir. Paraoksonaz enzimi, paraoksondaki O-P ester bağına hidrolizinden sorumlu olan esterazdır. Son yıllarda PON1'in ayrıca laktonaz, siklik karbonat esterleri ve farmakolojik ajanları da hidroliz ettiği gösterilmiştir (Aslan , Kosecik, Horoz, Selek, Celik & Erel, 2007). PON-1 serum ve dokularda oksidatif stresi de azaltmaktadır ve kardiyovasküler hastalıklara karşı korumaktadır (Aviram & Rosenblat, 2004).

HDL, LDL'yi oksidasyondan koruyabilme yeteneğine sahiptir. Çeşitli mekanizmalar bu koruyucu rolün açıklanmasında önem kazanmaktadır. HDL ile ilişkili enzimlerin (PON1, LCAT, Trombosit Aktive Edici Faktör Asetil Hidrolaz (PAF-AH)) oksidatif modifikasyonlara karşı lipoproteinleri koruduğuna inanılmaktadır. Paraoksonaz; LDL'yi, Cu iyonunun ve serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan korumaktadır (Durrington vd., 2001).

HDL yapısında bulunan PON1 enzimi, Minimal Modifiye LDL (MM-LDL)'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterebilir. Paraoksonaz, okside LDL'deki kolesterol linoleat hidroperoksitleri ve spesifik okside fosfolipidleri de hidroliz eder (Navab vd., 1991).

Paraoksonazın, HDL'yi oksidasyondan koruduğunu gösteren çalışmalarda saflaştırılmış PON1'in HDL'ye eklenmesi ile doza bağımlı olarak oksidasyonun lag fazının uzadığı, HDL'de lipid peroksit ve aldehit birikiminin %95'e kadar azaldığı gösterilmiştir. Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil hücrenin yapısındaki lipidler de lipid peroksidasyonuna uğramaktadır. Paraoksonaz lipid peroksitlerinin aterojenik etkilerini nötralize eder, hücre membranlarını koruyucu etki gösterir. LDL oksidasyonu esnasında oluşan okside fosfolipidlerden okside kolesterol esterleri, lizofosfatidilkolinler PON1 enzimidaki serbest sülfidril grubu ile (Sistein 284'deki) etkileşime girer ve enzimin inaktive olmasına yol açarlar (Bolayirli vd., 2007).

LDL oksidasyonu esnasında PON1'in inaktive olduğuna ilişkin görüşler çalışmalarda desteklenmiştir. Yapılan bir çalışmada, PON1'in arilesteraz aktivitesinin, LDL oksidasyonu esnasında yaklaşık %50 oranında azaldığı gösterilmiştir. LDL'yi oksidasyona karşı koruyan paraoksonaz enzimi okside LDL oluşumu esnasında zamana bağlı olarak inaktive olmaktadır. Bu olayın mekanizması henüz yeterince açıklanamamıştır. Paraoksonazın serbest sülfidril grubu ile lipid peroksidasyonunun bazı ürünleri arasında bir ilişki olabilir. Bu durum; okside LDL'deki okside kolesteril araşidonat veya okside araşidonat içeren fosfolipidler ile PON1'in sistein 284 bölgesinde bulunan serbest sülfidril grubu arasındaki etkileşim ile ilişkili olabilir (Ekmekçi, Donma & Ekmekçi, 2004).

2.5.1.4.2 PON1'in sentezi

PON1 karaciğer tarafından üretilir ve kana verilir. Kanda HDL ile birlikte bulunur. İnsanda serum PON1 konsantrasyon ve aktivitesi geniş bir aralığa sahiptir. Enzim aktivitesinin ve konsantrasyonunun PON1 geninin polimorfizmiyle birlikte diet, yaşam biçimi ve çeşitli hastalıklardan etkilendiği gösterilmiştir (Arrol, Mackness & Durrington, 1996).

2.5.1.4.3 PON1'in hücrelerden salınımı

PON1 sekresyonunun mekanizması önemlidir. Çünkü çeşitli faktörler bu mekanizmayı değiştirerek serum düzeyinin belirlenmesini sağlar. Lipoproteinlerin yokluğunda az miktarda PON1 sekrete edilir. Hücrelerden sekrete edilen PON1'i fosfolipid miçeller ve HDL sekresyonu stimüle ederken, LDL ve ApoA1 etki göstermez (Deakin & James, 2004).

PON1 HDL ile fosfolipidlerden ayrılabilir. Membrana bağlı PON1 fenilasetata etki gösterir. HDL'nin belirmesiyle bu etki ortadan kaybolur. Bu da HDL'nin PON1'i hücre membranından ayırabildiğini gösterir. HDL ile indüklenmiş PON1 sekresyonu konsantrasyona bağımlıdır. Aynı zamanda

reseptöre de bağımlıdır. HDL en uygun alıcı olmasına rağmen fosfolipid kompleks tek başına hücrelerden PON1 salınımını uyarma kapasitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte sadece fosfolipid içeren lipid kompleks salınım için yeterli değildir. Bu da PON1 salgılanması için niye LDL'nin yetersiz olduğunu açıklamayı sağlayabilir (Deakin & James, 2004).

2.5.2 Kalpainler

Kalpainler (Kalsiyumda aktive olan proteazlar) onarılamayacak derecede hasar görmüş hücrelerin hücre iskeletinin parçalanmasından sorumludur. Ayrıca kalpainlerin hücre iskeletinin şekillendirilmesinde ve subletal aksonal membran hasarını onarmayı kolaylaştırma gibi ek görevleri de vardır. Kalpainler, nekroz ve apoptoz gibi hücre ölümü ile sonuçlanan olaylarda görev yüklenirler. Kalpainler aktif merkezinde nükleofilik thiol grubu bulunduran sistein proteazlardır (Goll , Thompson, Li, Wei & Cong, 2003).

Kalpain adı kalsiyum bağlayıcı bölge olarak kalmoduline sahip olduğundan "cal" ekini, papain benzeri sistein proteaz özelliği gösterdiğinden "pain" ekini alarak isimlendirilmiştir (Croall & Demartino, 1991). Kalpain ilk olarak 1964 yılında Guroff tarafından sıçan beyin ekstraktında gözlemlenmiştir (Guroff & neutral, 1964).

İsim	Tipik/Atipik	Bulunduğu Yerler	Hastalıklar
Calpain 1	Tipik	Yaygın	Huntington Hastalığı, Katarakt, Müsküler distrofi, Travmatik Beyin Hasarı, Spinal Kord Hasarı, Kanser, Alzheimer...
Calpain 2	Tipik	Yaygın	Katarakt, Müsküler distrofi, Travmatik Beyin Hasarı, Spinal Kord Hasarı, Alzheimer, Parkinson, Kanser...
Calpain 3	Tipik	Lens, Retina, İskelet kası	Katarakt.
Calpain 4	Tipik	Yaygın	
Calpain 5	Atipik		Huntington Hastalığı, Polikistik Ovaryum Sendromu, Metabolik Sendrom...
Calpain 6	Atipik	Plasenta	
Calpain 7	Atipik	Yaygın	Huntington Hastalığı
Calpain 8	Tipik	Mide mukozası	
Calpain 9	Tipik	Sindirim Sistemi	Mide Kanseri
Calpain 10	Tipik	Yaygın	Huntington Hastalığı, Katarakt, Diyabet...
Calpain 11	Tipik	Testis	
Calpain 12	Tipik	Yaygın	Alzheimer
Calpain 13	Atipik	Yaygın	
Calpain 14	Atipik	Yaygın	
Calpain 15	Atipik	Yaygın	
Küçük alt Ünite 2	Tipik		

Şekil 2.22. Kalpainlerin sınıflandırılması

Kalpainlerin tipik ve atipik kalpainler olmak üzere 2 sınıfa ayrılması, karboksil uçta EF el motifine sahip olup olmamasına dayandırılmıştır

(Carragher, 2006). Aktifleşmeleri için m-kalpainer 200-1000 milimol seviyelerinde Ca^{+2} konsantrasyonlarına ihtiyaç duyarken, μ kalpainer ise 5-50 mikromol düzeylerinde Ca^{+2} konsantrasyonlarında aktiflenirler (Şekil 2.22) (Goll , Thompson, Li, Wei & Cong, 2003) (Kar vd., 2010).

Kalpainer; iskelet kası, kalp kası, beyin, böbrek, akciğer, karaciğer ve adipöz doku gibi çeşitli dokularda geniş bir yayılım gösterirler (Kishimoto, Kajikawa, Tabuchi, Shiota & Nishizuka, 1981). Bu dokularda kalpainerin fizyolojik ve patolojik düzeni karışıktır fakat kalpainerin, fizyolojik ve patolojik durumlarda önemli rol oynayan yapısal proteinlere ve hücre içi sinyallere ayrıldığı kabul edilmektedir. Hücre iskeleti ve yapısal proteinler (spektrin, α -aktinin, distrofin, tubulin), membrana bağlı proteinler ve reseptörler (EGF reseptörü), kalmodulin bağlayıcı proteinler (kalsiyum pompası, inositol 1.4.5-trifosfat kinaz), miyofibril proteinleri (troponin I, troponin T, miyozin), transkripsiyon faktörleri (c-fos, c-jun) ve birkaç önemli enzimin (protein kinaz C, 3-hidroksil-3-metilglutaril-CoA redüktaz, cAMP-bağımlı kinaz) kalpain substratları içerdiği bilinir (Wang & Yuen, 1997) (Rami, 2003).

Ateroskleroz, alzheimer hastalığı, kanser, musküler distrofi, travmatik nörolojik hasar ve toksik veya hipoksik durumlarda gelişen organ hasarı gibi hastalıklarda rolü olduğu düşünülen kalpainer üzerine son yıllarda birçok araştırma yapılmaktadır (Wang & Yuen, 1997).

2.5.2.1 Tipik kalpainer

Tipik kalpainer, kalpainerin EF el motifine sahip alt ailesi olarak bilinir. Bu ailenin üyeleri kalpain 1, 2, 3, 4, 8, 9, 11, 12, 13 ve küçük alt ünite II olmak üzere 10 farklı kalpainen oluşur. Bu ailenin üyeleri karboksil uçta Ca^{+2} bağlayan EF el motifi yapısına sahiptir (Carragher, 2006).

2.5.2.2 Atipik kalpainer

Atipik kalpainer terminal uçta, 4. bölgedeki EF el motifine ve kalsiyum bağlayıcı bölgeye sahip değildir. Bu ailenin üyeleri kalpain 5, 6, 7, 10, 14, 15 olmak üzere 6 kalpainen oluşur. Atipik kalpainerin aktiviteleri için kalsiyuma gerek duyup duymadıkları tam olarak bilinmemektedir (şekil 2.22).

Kalpainer, Guroff tarafından MSS" de bulunmuş hücre içi proteazlardır (Ray, Hogan & Banilk, 2003). Enzimatik aktiviteleri kalsiyuma bağımlı sitozolik sistein proteazlardır. Kalpain ailesi üyeleri memelilerden Drosophila melanogaster ve Caenarhabditis elegans" a kadar birçok organizmada

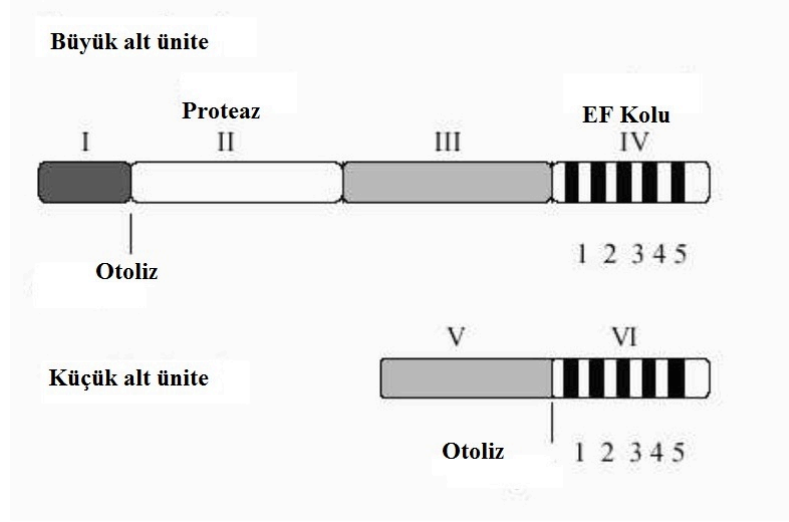
bulunur. En iyi bilinenler; m-kalpainer ve μ -kalpainerdir. Aktiflenmeleri için m-kalpainer milimol seviyelerinde Ca^{+2} konsantrasyonlarına ihtiyaç duyarken, μ -kalpainer ise mikromol Ca^{+2} konsantrasyonlarında aktiflenir (Ray, Hogan & Banilk, 2003).

Kalpainer 80 kDa ve 30 kDa'luk subünitelerden oluşan heterodimerlerdir. 80 kDa'luk ünit katalitik yan birimi içerir ve her izozimde tektir. 30 kDa'luk ünit ise regülatör subünittir ve her iki izozim içinde de yer alır. 80 kDa'luk subünit dört domain (d1-d4), 30 kDa'luk subünit ise 2 domain (d5-d6) içerir (Şekil 2.23) (Ray, Hogan & Banilk, 2003) (Croall & Demartino, 1991).

m ve μ -kalpainerin substratları aynıdır ve bunlar; sitoskeletal proteinler, membran proteinleri, sitokinler, protein kinazlar, fosfatlar ve lens proteinleridir (Banik, Hogan & Powers, 1982) (Ray, Matzella, Wilford, Hogan & Banik, 2000).

Tipik kalpainerden, kalpain-1 μ -kalpain olarak bilinirken kalpain-2 ise m-kalpain olarak bilinmektedir. Kalpain-1, 82 kDa katalitik alt üniteye sahipken kalpain-2 ise 80 kDa katalitik alt üniteye sahiptir. Kalpain-1 ve kalpain-2 ile birlikte 28 kDa düzenleyici alt üniteye sahiptir. Kalpain-1 ve Kalpain-2 birbirlerine yaklaşık %60 oranında benzerlik gösterirler Kalpain-1 ve kalpain-2" nin büyük alt üniteleri temel olarak 4 farklı aminoasit dizisi içeren bölgeye ayrılmıştır (Şekil 2.23) (Carragher, 2006) 1. Bölge otoliz bölgesi içermektedir ve Ca^{+2} ye duyarlılık artması durumunda otolitik aktivasyon gerçekleşir (Suzuki, Hata, Kawabata & Sorimachi, 2004) 2. Bölge substratları hidroliz etmek için katalitik üçlü (Cys-His-Asn) aminoasidi içeren katalitik proteaz bölgesidir. Üçlü yapı sistein (Cys), histidin (His) ve asparajin (Asn) aminoasitlerinden oluşur (Strobl vd., 2000) 3. Bölge katalitik bölge olarak bilinen 2. bölge ile Ca^{+2} bağlayıcı 4. bölgeyi birbirine bağlar (Suzuki, Hata, Kawabata & Sorimachi, 2004) 4. Bölge 5 EF el motifine sahip kalmodulin benzeri bölgedir. İlk 4 EF el motifi bölgesi Ca^{+2} bağlayıcı bölgedir. 5. EF el motifi bölgesinin karboksil ucu 28 kDa küçük alt üniteyle (Kalpain 4) dimerizasyon yapabilir. Kalpain-4, kalpain-1 ve 2" nin küçük alt ünitesi yada düzenleyici alt ünitesi diye bilinir. Bu isim genelde kalpain küçük alt ünitesi I diye bilinir. Kalpain-4 bir ucunda NH_2 içeren 5. bölge diğer ucunda COOH içeren 6. bölgeden oluşmaktadır (Şekil 2.23) (Khorchid & Ikura, 2002). 5. bölge glisin bakımından zengindir. Bu bölgenin yaklaşık % 30 glisinden oluşur ve hidrofobik bölge olarak adlandırılır. 5. bölgenin fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir fakat membranla bağlantı sağladığı düşünülmektedir. Böyle düşünülmesinin nedeni ise membranın canlı dokularda enzimlerin aktivasyonunu sağlamasıdır (Khorchid & Ikura, 2002) 6. bölge 5. bölgeye poliprolin sayesinde bağlanır. 4. bölge ile % 50 oranında benzerlik gösterir. İlk 4 bölgesi Ca^{+2} iyonlarını bağlayan, 5. bölgesi ise kalpain-1 ve kalpain-2

ile aynı olan katalitik EF el motifine sahiptir. (Carragher, 2006) (Lin vd., 1997).



Şekil 2.23. Kalpainlerin bölgeleri

2.5.2.3 Kalpain aktivasyonunun düzenlenmesi

Kalpain aktivitesi, oto proteolitik salınım, fosforilasyon, Ca^{+2} konsantrasyonu ile düzenlenir (Wingrave vd., 2003). Kalpainler için gerekli olan kalsiyum konsantrasyonları $\mu\text{mol}''$ den mmol'' e kadar değişir. Bundan dolayı hücrelerde Ca^{+2} gereksinimini düşürecek veya kalsiyuma karşı kalpainlerin hassasiyetini arttıracak mekanizmalar vardır. Hücre içi kalsiyum seviyelerine kalpainlerin hassasiyeti membran fosfolipitleri sayesinde (Wingrave vd., 2003) (Ray, Hogan & Banilk, 2003).

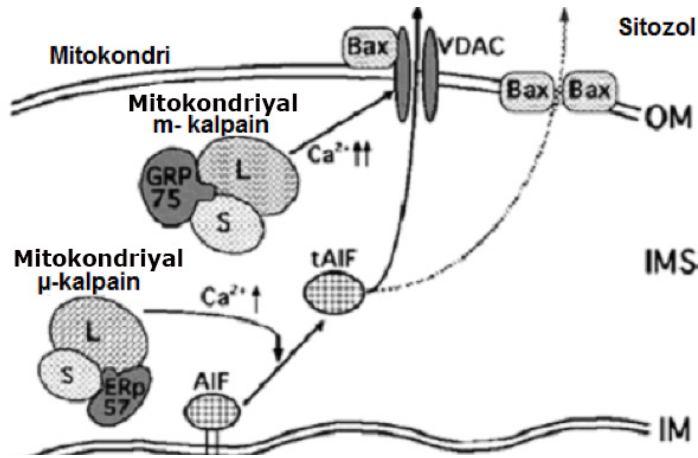
Kalpainlerin Ca^{+2} afinitesini arttıran aktivatör proteinlerin varlığında kalpain aktivasyonu başlar (Suzuki, Sorimachi, & Yoshizawa, 1995).

Aktif kalpain membranlarda bulunur. Kalpain aktivasyonunda membrandaki lokalizasyonları önemli rol oynar. Kalpainlerin aktivasyonlarında veya inaktivasyonlarında fosforilasyon uçları rol alır (Ray, Hogan & Banilk, 2003) (Banik, Hogan & Powers, 1982) (Ray vd., 2000) (Suzuki, Sorimachi, & Yoshizawa, 1995).

Mitokondriyal kalsiyum konsantrasyonundaki artış mitokondriyal kalpainleri aktive eder, akabinde apoptotik hücre ölümü tetiklenir. Mitokondriyal kalsiyum konsantrasyonundaki bu artışta, μ -kalpainler tarafından NCX'in yarılması, mitokondriyal majör kalsiyum fıskırması düz kas hücrelerinin ölümünde önemli rol oynayabilir (Şekil 2.24) (Kar vd., 2010).

Bir apoptotik uyarın hücre içine kalsiyum akışına neden olur. Kalsiyum konsantrasyonundaki artış, AIF yapımına neden olan IMS/IM daki kalpain aktivasyonu ile sonuçlanır. Eş zamanlı olarak da mitokondriyal NCX de yarılma, majör kalsiyum fıskırması olabilir ve mitokondriyal kalsiyum aşırı dolması, sitokrom c salınımı olur. AIF ün yarılıp parçalara ayrılması, sonra sitozol içine salınımı (A), Bax/Bak- aracılı porlar (B) veya kalsiyum bağımlı mitokondriyal permeabilite geçişinin uyarılması, nükleusa translokasyon ve orada kromatin kondensasyonu ve DNA fragmentasyonu oluşumu (Şekil 2.24) (Kar vd., 2010).

Mitokondriyal μ -kalpainler, olgun AIF'ü (62kDa) yarmaktadır ve tAIF (57kDa) mitokondri iç zarından zarlar arası bölgeye salınır. Bu mitokondriyal μ -kalpainlerin AIF indüklemeli kaspaz bağımsız programlı hücre ölümü yolağında bir başlatıcı olduğunu göstermektedir (Ozaki, Yamashita & Ishiguro, 2008). Ayrıca kalpainler mitokondriyal geçiş porlarının oluşumunu artırarak AIF salınımında direkt rol alırlar. Voltaj bağımlı anyon kanallarının (VDAC) proteolitik süreci aracılığıyla sitozole tAIF'nin salınımında mitokondriyal m-kalpainler önemli bir rol oynar. AIF, VDAC'ın yarılması ve Bax'ın mitokondriyal birikimi aracılığı ile sitozole salınır AIF'ün oluşumu ve mitokondriden salınımı modeli. Bir apoptotik uyarıcı sitozol içine kalsiyum akışına neden olur. Kalsiyum konsantrasyonundaki artış mitokondri içine kalsiyum akışına neden olur. Bu da IMS içinde mitokondriyal μ -kalpain aktivasyonu ile sonuçlanır. Aktive olan mitokondriyal μ -kalpain AIF'ü keser ve IM'den IMS'ye salınır. Mitokondriyal kalsiyum düzeyinde meydana gelen daha fazla artışlar OM daki Bax ile ilgili VDAC'ın yarılmasına neden olan mitokondriyal m-kalpaini aktive eder. tAIF bu durumda VDAC/Bax-aracılı porlar veya Bax/Bax-aracılı porlar aracılığıyla sitozole salınır (Şekil 2.24) (Kar vd., 2010).



Şekil 2-24. Mitokondriyal kalpain aktivasyonu

3 GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Deney Hayvanları

Deneysel aşamalarda kullanılmak üzere Erkek, *Wister Albino* cinsi, 300-350 gr ağırlığında albino sıçanlar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi (TICAM)'den sağlanmıştır. Bu çalışma için ESOĞÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Komite Raporu alınmıştır (407/2014) ve bu araştırma için gerekli kaynak, Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenen 2014-620 nolu projeden sağlanmıştır.

Çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz biyokimyasal analizler ESOĞÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda, histolojik analizler ESOĞÜ Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda, elektron mikroskop görüntüleme ve analizleri ESOĞÜ Elektron Mikroskop Görüntü ve Analiz Birimi merkezinde (ESOGÜSTEM) yapılmıştır.

Deney hayvanları ağırlıklarına göre, 10 adet sıçan bir grupta olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Gruplara ayrılan sıçanlar adaptasyon için 2 gün laboratuvarında bekletildi. Sıçanlar 12 saat aydınlık-karanlık periyodu altında, oda sıcaklığında (25 ± 1 °C) ve sabit nemli (%55±5) ortamda bakıldı. Ayrıca serbest bir şekilde erişebilecekleri standart sıçan yemi ve su verilmiştir.

3.2 Borik Asit ve Omega-3 Uygulaması

Borik asit uygulaması için 100 mg/kg/gün Borik asit (Sigma B0394) ve 800 mg/kg/gün Omega-3 [ağırlık (g) \times 0.008]/ yoğunluk (g/ml)] (Sigma F8020) 28 gün süre ile her sabah saat 10.00'da oral gavaj yolu ile verilmiştir (Arbabi, Baharuldin, Moklas, Fakurazia, & Muhammad, 2014).

3.3 Miyokard İnfarktüs Modelinin Oluşturulması

MI oluşturmak için İsoproterenol-HCl (ISO) subkutan olarak 24 saat aralıklarla iki kez (26. Ve 27. günde) 200 mg/kg olacak şekilde uygulanmıştır. İkinci ISO dozundan 12 saat sonra sıçanlara anestezi altında cerrahi işlemler uygulanmıştır. (Anandan, Mathew, Sankar, Nair & 2007), (Rajadurai & Stanely Mainzen Prince, 2006), (Shiny vd., 2005), (Zhou vd., 2008).

3.4 DENEY GRUPLARI

Sıçanlar 5 gruba ayrılmıştır (n=10):

Kontrol Grubu (n=10): Serum fizyolojik (2 ml) gavaj yolu ile 28 gün boyunca uygulandı.

MI Grubu (n=10): Serum fizyolojik (2 ml) gavaj yolu ile 28 gün boyunca verildi ve Miyokard İnfarktüsü Modeli oluşturuldu.

Borik asit + MI Grubu (n=10): Borik asit (100 mg/kg) serum fizyolojik içerisinde çözülüp gavaj yolu ile 28 gün boyunca verildi ve Miyokard İnfarktüsü Modeli oluşturuldu.

Omega-3 + MI Grubu (n=10): Omega-3 (800 mg/kg) gavaj yolu ile 28 gün boyunca verildi ve Miyokard İnfarktüsü Modeli oluşturuldu.

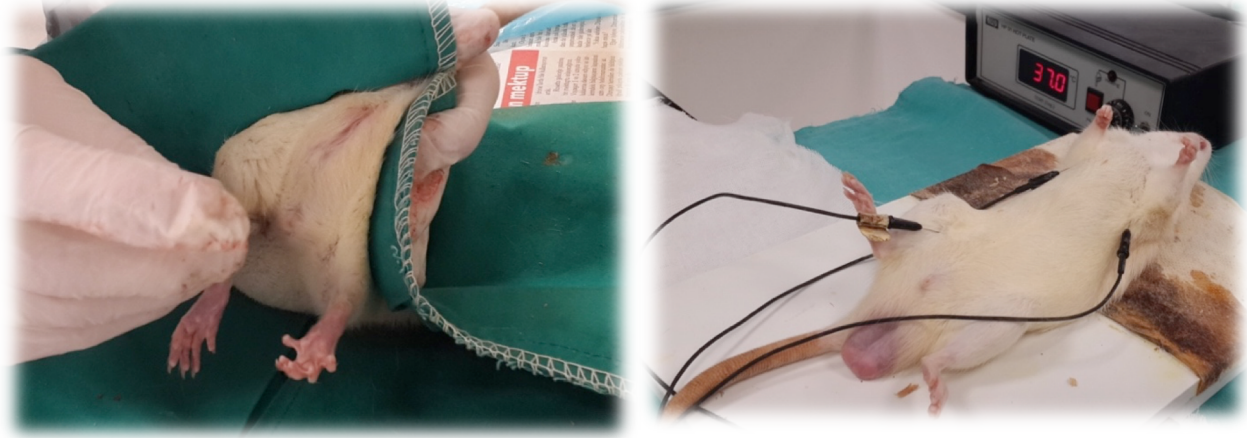
Omega-3 + Borik asit + MI Grubu (n=10): Omega-3 (800 mg/kg) ve Borik asit (100 mg/kg) serum fizyolojik içerisinde çözülüp gavaj yolu ile 28 gün boyunca verildi ve Miyokard İnfarktüsü Modeli oluşturuldu.

Ketamin (Ketalar) (50 mg/kg) ve Ksilazin (Rompun) (10 mg/kg) periton içi (i.p.) anestezisi altında EKG ölçümleri yapılmıştır ve EKG ölçümünden sonra kalbin sol ventrikülünden yedi'er hayvan her gruptan intrakardiyak kan alımı gerçekleştirildi. Kan örnekleri 4 kan tüpüne ayrıldı ve sonra 1000 x g 20 dakika ve 3000 x g 20 dakika kullanan kitlerin prosedürüne göre santrifüj edildi. Serumlar ependorf tüplerine ayrıldı ve biyokimyasal parametrelerin analizi yapılana kadar derin dondurucuda (-80°C) muhafaza edildi. Üç'er hayvan her gruptan kalp çıkartıldıktan sonra sol ventrikülü ayrılıp serum fizyolojide yıkandı ve biyokimyasal parametrelerin analizi yapılana kadar derin dondurucuda (-80°C) muhafaza edildi. Histoloji ve Elektron Mikroskobu (TEM) incelemeleri için kalbin sol ventrikülünden dokuları alındı. Histolojisi için %10'luk formaldehitte bekletilirken, TEM için taze ve soğuk glutaraldehit (+4°C) ESOGÜSTEM merkezine gönderilmiştir.

3.5 EKG Çekimi

Anestezi uygulandıktan sonra sıçanlar bilgisayarlı (Biopar MP100) veri değerlendirme ve EKG'lerinin çekimi için sırtüstü pozisyonda 37°C'ye ayarlanabilen masaya yatırıldı. İki kolunun alt kısmı ve sağ ayak yan kolları alkol ile temizlendi ve sonra tıraş edildi. Akım geçişini kolaylaştırmak amacıyla iki kolunun alt kısmına ve sağ ayak yanına elektrot jeli sürüldü. Daha sonra iğne uçlu elektrotlar bu kısımlara yerleştirildi. EKG cihazı kayıt

sistemi kullanılarak ölçüm yapıldı ve D-II kayıtları kullanıldı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Ratlarda Anestezi 2. Ratlarda EKG çekimi

3.6 Biyokimyasal Parametreler

3.6.1 Kreatin Kinaz- MB (CK-MB) düzeyi ölçümü

Serum CK-MB düzeyleri MyBioSource Rat CK-MB (MBS267137, USA) Double Antikor sandviç ELISA test kiti kullanılarak ölçüldü. Kitin ölçüm-içi kesinlik değeri (intra-assay % CV) \leq % 8 ve ölçüm-arası kesinlik değeri (inter-assay % CV) \leq % 12'dir.

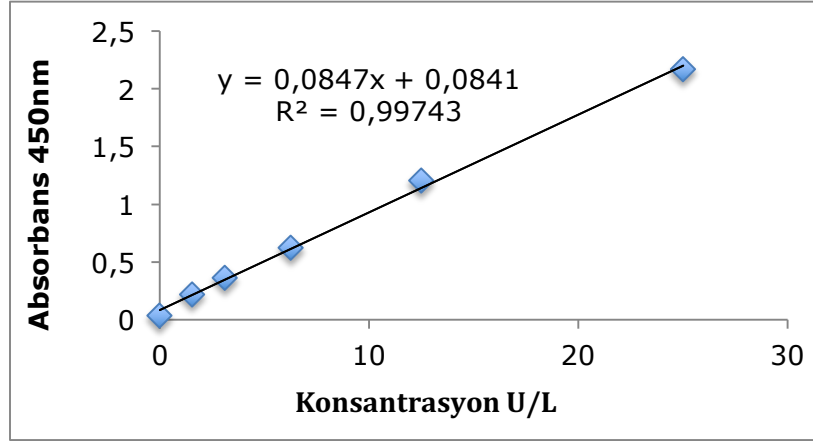
CK-MB Düzeyleri Ölçüm Metodu Prensibi

MyBioSource Rat CK-MB kiti solid faz çift sandviç Enzim Bağlı Immün Ölçüm (ELISA) prensibine dayanır. Rat CK-MB molekülüne spesifik monoklonal antikorlar strip halindeki 8'li kuyucuklara kaplanmıştır.

Deney Prosedürü

Kitin içerisinden çıkan 96'lık plaka'ın Rat CK-MB standartları ve örnekler kuyucuklara 100 μ l pipetlendi. 1,5 saat 37 C⁰ de bekletildi. Yıkama tamponu ile 3 kez yıkandıktan sonra kuyucuklara 100 μ l Biotinile Rat CK-MB antikoruna pipetlendi. 1 saat 37 C⁰ de bekletildi. Yıkama solüsyonu ile tekrardan 3 kez yıkanan kuyucuklara 100 μ L Enzim-konjugatı pipetlendi. 30 dakika 37 C⁰ de bekletildi. Yeniden 5 kere yıkanan kuyucuklara daha sonra 100 μ L renkli reaktif sıvı pipetlendi. 30 dakika 37 C⁰ de inkübe edildi. 100 μ L renkli reaktif C pipetlendi. Oluşan renk 450 nm de ELISA okuyucu (Victor) ile ölçüldü.

Kitin içerisinde bulunan standart ile seri dilüsyon yapıldı. Standartların absorbanans değerleri ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 3.2). CK-MB sonuçları U/L olarak ifade edildi.



Şekil 3.2. CK-MB kalibrasyon eğrisi

3.6.2 Beyin natriüretik peptid (BNP) düzeyi ölçümü

Serum BNP düzeyleri Sigma-Aldrich Rat BNP (RAB0386, USA) ELISA test kiti kullanılarak ölçüldü. Kitin ölçüm-içi kesinlik değeri (intra-assay % CV) \leq %10 ve ölçüm-arası kesinlik değeri (inter-assay % CV) \leq %15'dir.

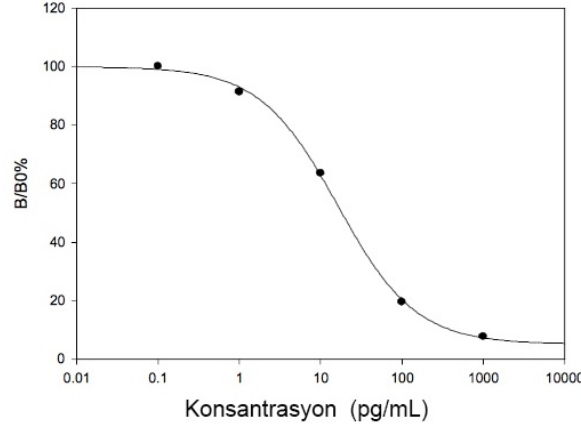
BNP Düzeyleri Ölçüm Metodu Prensibi

Sigma-Aldrich Rat BNP kiti solid faz çift sandviç Enzim Bağlı Immün Ölçüm (ELISA) prensibine dayanır. Rat BNP molekülüne spesifik monoklonal anti-tavşan ikincil antikoru ile önceden kaplanır. 8'li kuyucuklara kaplanmıştır.

Deney prosedürü

Kitin içerisinde bulunan mikropłaka'ın; standart, kör ve örnek kuyucuklarına, 100 μ l anti-BNP antikoru pipetlendi. 1,5 saat oda ısısında bekletildi. Tüm kuyucular 4 kez yıkandı ve 100 μ L standart serileri, pozitif kontrol, kör ve örnekler pipetlendi. 2,5 saat süresince oda ısısında bekletildi. Daha sonra her bir kuyucuk yeniden 3 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 μ l stop solüsyonu pipetlendi ve 30 dakika oda ısısında bekletildikten sonra oluşan sarı renk 450 nm de ELISA okuyucu (Victor) ile ölçüldü.

Kitin içerisinde bulunan standart ile seri dilüsyon yapıldı. Standartların absorbanans değerleri ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 3.3). BNP sonuçları pg /ml olarak ifade edildi.



Şekil 3.3. BNP'in kalibrasyon eğrisi

B = OD standart ve örnekler
B0 = OD sıfır standart

3.6.3 Tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) düzeylerinin ölçümü

Serum TNF- α düzeyleri R&D Rat TNF- α (RAT00, R&D systems, USA) kantitatif ELISA test kiti kullanılarak ölçüldü. Kitin ölçüm-içi kesinlik değeri (intra-assay % CV) % 2,2 ve ölçüm-arası kesinlik değeri (inter-assay % CV) % 9,6'dır.

TNF- α Düzeyleri Ölçüm Metodu Prensibi

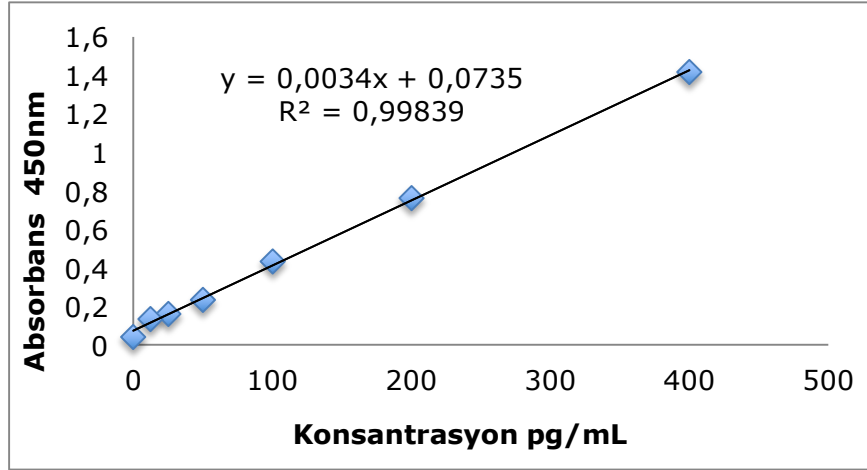
R&D TNF- α kiti solid faz sandviç Enzim Bağlı Immün Ölçüm (ELISA) prensibine dayanır. Rat TNF- α molekülüne spesifik monoklonal antikolar strip halindeki 8'li kuyucuklara kaplanmıştır.

Deney Prosedürü

Kitin içerisinde bulunan standart ile seri dilüsyon yapıldı. Standartların absorbanans değerleri ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi. Kitin ölçüm-içi kesinlik değeri (intra-assay % CV) % 2,2 ve ölçüm-arası kesinlik değeri (inter-assay % CV) % 9,6'dır. Kitin içerisinde bulunan standart ile seri dilüsyon yapıldı. Standartların absorbanans değerleri ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi.

Kitin içerisinde bulunan standart ile seri dilüsyon yapıldı. Standartların absorbanans değerleri ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi.

absorbans değerleri ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 3.4). TNF- α sonuçları pg/ml olarak ifade edildi.



Şekil 3.4. TNF- α kalibrasyon eğrisi

3.6.4 İnterlökin-6 (IL-6) düzeyleri ölçümü

Serum IL-6 düzeyleri Quantikine ELISA Rat IL-6 (R6000B, R&D Systems, USA) kantitatif ELISA test kiti kullanılarak ölçüldü. Kitin ölçüm-içi kesinlik değeri (intra-assay % CV) % 8,8 ve ölçüm-arası kesinlik değeri (inter-assay % CV) % 8,1'dur.

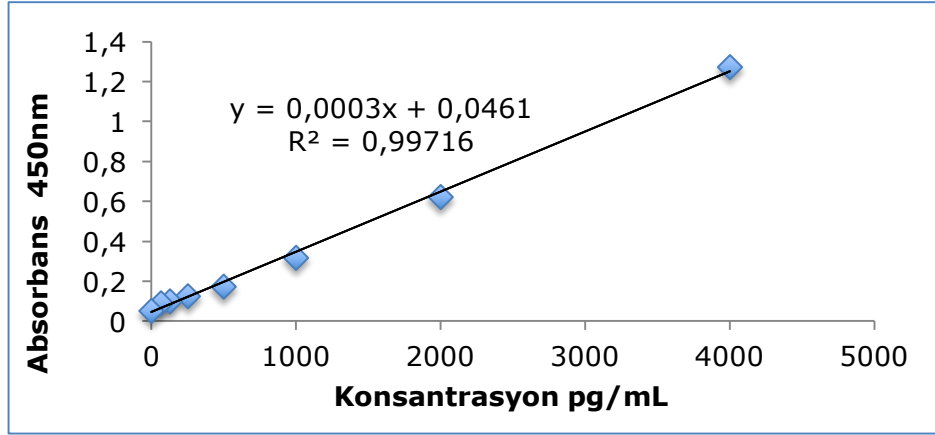
IL-6 Düzeyleri Ölçüm Metodu Prensipleri

R&D IL-6 kiti solid faz sandviç Enzim Bağlı Immün Ölçüm (ELISA) prensibine dayanır. Rat IL-6 molekülüne spesifik monoklonal antikolar strip halindeki 8'li kuyucuklara kaplanmıştır.

Deney prosedürü

Kitin içerisinden çıkan 96'lık plaka standart, kör ve serum kuyucuklarına 50 μ l RD1-54 daha sonra üzerlerine 50 μ l standart, kontrol ve örneklerden pipetlendi. 2 saat oda ısısında bekletildi. Yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Kuyucuklara 100 μ l Rat IL-6 konjugatı pipetlendi. 2 saat oda ısısında bekletildi. Yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. 100 μ L substrat solüsyon pipetlendi ve 30 dk oda ısısında inkübe edildi. 100 μ L stop solüsyonu pipetlendi. Oluşan renk 450 nm de elisa okuyucu (Victor) ile ölçüldü.

Kitin içerisinden çıkan standart ile seri dilüsyon yapıldı. Standartların absorbans değerleri ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 3.5). IL-6 sonuçları pg/ml olarak ifade edildi.



Şekil 3.5. IL-6 kalibrasyon eğrisi

3.6.5 Doku malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçümü

Prensip

Yöntem, lipid peroksidasyonu son ürünlerinden olan malondialdehit (MDA)'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır (Ohkawa, Ohishi & Yagi, 1979).

Kullanılan çözeltiler

%8,1'lik sodyum dodesil sülfat (SDS): 8,1 gr SDS tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

%20'lik Asetat Tamponu (pH:3,5): 20 ml asetik asit alındı ve 100 mL'ye tamamlandı. NaOH ile pH, 3,5'e ayarlandı.

%0,8'lik TBA: 0,8 gr TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

N-butanol/pyridine karışımı: 15/1 hacimleri karıştırılarak kullanılmadan hemen önce hazırlandı.

Doku homojenizasyonu

Çalışma anına kadar -80 °C'de saklanmış olan Kalp dokuları derin dondurucudan çıkarıldı, tartıldı ve çözdürüldü. Bu dokular 1/10 oranında 0,15 N KCl solüsyonundan eklenerek örnekler homojenize edildi. Homojenatlar, +4 °C'de 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar alındı ve ölçüm için kullanıldı.

Deney prosedürü

Kapaklı tüpler alınarak kör, standart ve örnek tüpleri hazırlandı. Kör tüpüne, 0,2 mL SDS, 1,5 mL asetat tamponu, 1,5 mL TBA ve 0,8 mL distile su; örnek tüplerine 0,4 mL süpernatant, 0,2 mL SDS, 1,5 mL asetat tamponu, 1,5 mL TBA ve 0,4 mL distile su eklendi. Tüpler 95 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı ve süre sonunda musluk suyu altında soğutuldu. Soğutulmuş tüplere n-bütanol/pyridine karışımından 5'er mL eklenerek vorteksledi. 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant alınarak ölçüm için kullanıldı. Örneklerin absorbanları 532 nm'de köre karşı okundu (Tablo 3.1).

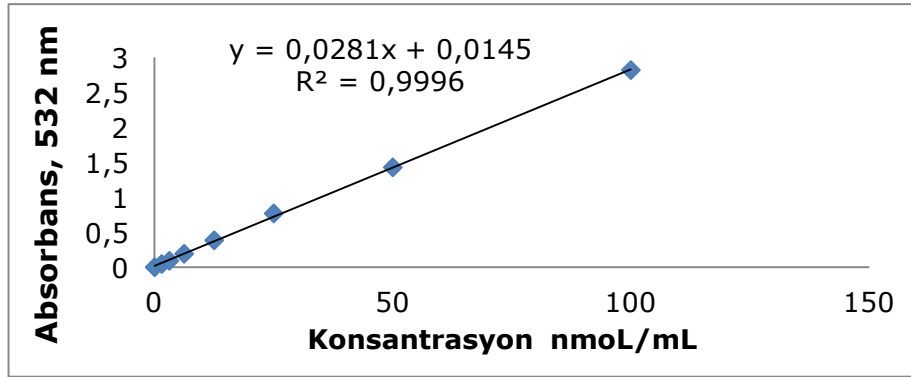
Tablo 3.1. MDA deney prosedürü

Doku homojenatları 400 rpm de 15 dakika santrifüj			
İşem sırası	Numune	kör	standart
Süpernatant	100 μ L	-----	100 μ L
%8.1 SDS	40 μ L	40 μ L	40 μ L
%20'lik asetik asetik asit	300 μ L	300 μ L	300 μ L
%0.8'lık TBA	300 μ L	300 μ L	300 μ L
Distile su	80 μ L	160 μ L	80 μ L
95 0C'de 60 dakika			
N-Bütanol/piridin	1mL	1mL	1mL
4000 rpm de 10 dakika santrifüj			

Hesaplanması

- Örneklerin konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için lipid peroksit standardı (1.1.3.3.tetraetoksipropan) 10, 20, 40, 60, 80, 100 nmol/mL konsantrasyonlarda hazırlandı.
- Standart tüplerine 0,2 mL SDS, 1,5 mL asetat tamponu ve 1,5 mL TBA konuldu ve farklı konsantrasyonlardaki standarttan 0,4 mL numaralandırılmış tüplere eklendi.
- Kör ve örnek tüplerinde olduğu gibi işlemlerden geçirildi ve 532 nm'de absorbanları okundu.
- Elde edilen absorbanlarla, konsantrasyon değerleri Microsoft Office Excel 2013 programı kullanılarak grafiğe geçirilerek standart grafiği elde edildi (Şekil 3.6).

- Örneklerin konsantrasyonları, standart grafiği kullanılarak hesaplandı.
- Aynı homojenatların total proteinleri ölçüldü ve örneklerin konsantrasyonları total proteinlerine oranlandı. Doku MDA sonuçları nmol/mg protein olarak verildi.



Şekil 3.6. MDA kalibrasyon eğrisi

3.6.6 Doku Nitrik oksit (NO) düzeylerinin ölçümü

Prensibi

Nitrik oksit direkt ölçümü zor olduğu için biyolojik sıvılarda NO'in stabil oksidasyon ürünleri olan nitrat (NO^{-3}) ve nitrit (NO^{-2}) düzeyleri in vivo ve in vitro NO markırı olarak ölçülmektedir. Çalışmamızda rat sol kalp dokularındaki nitrit miktarı Cortas ve Wakid'in yöntemine göre belirlenmiştir (Cortas & Wakid, 1990).

Kullanılan Çözeltiler

Kadmiyum granüllerinin aktive edilmesi: Kadmiyum granülleri 2,5 - 3 gr ağırlığında tartıldı. H_2SO_4 içerisinde tutulan kadmiyum granülleri distile su içerisinde üç defa yıkandı. CuSO_4 içerisinde iki dakika bekletildikten sonra glisin-NaOH tamponu ile üç defa yıkandı ve 10 dakika içerisinde kullanıldı.

0.2 M H_2SO_4 : 2.8 mL derişik H_2SO_4 alınır ve içinde 250 mL distile su olan balon jojeye karıştırılarak aktarılır ve son hacim 500 mL'ye tamamlandı.

0.2 mol/L Glisin-NaOH tamponu: 15 gr glisin 100 mL distile suda çözüldü. 0.1 M'lık NaOH solüsyonu ile glisin pH'sı 9.7'ye ayarlandı. Daha sonra çözelti 1000 mL'ye tamamlandı. Bu tampon çözelti +4-8 °C'de buzdolabında bir ay saklanabilir.

58 mM'lık Sülfanilamid Çözeltisi: 3M HCl'den 66.2 mL alınıp hacmi distile suyla 250 mL'ye tamamlanıp 2.5 gr sülfanilamid eklendi. Sülfanilamid sıcak HCl içinde iyice çözüldü. Bu çözelti oda sıcaklığında bir yıl stabildir.

0.1 M'lık NaOH: 3.2 gr NaOH tartılıp 40 mL suda çözüldü.

55 mM'lık NaOH: 1.1 gr NaOH alınıp bir miktar distile su ile çözümlenip son hacim 500 mL'ye tamamlandı.

0.77 M'lık N-Naftiletilediamin (NED) Çözeltisi: 50 mg N-naftiletilediamin tartıldı ve 250 mL distile suda çözüldü. 0 - 8 °C'de iki ay stabildir.

5 mM CuSO₄ Çözeltisi: 6.24 gr CuSO₄. 5H₂O bir miktar distile suda çözümlenip son hacim 500 mL'ye tamamlandı.

75 mM ZnSO₄ Çözeltisi: 10.78 gr alınıp ZnSO₄. 7H₂O alınıp distile suda çözüldü ve son hacim 500 mL'ye tamamlandı.

3 M HCl Çözeltisi: 123.176 mL HCl alınıp son hacim distile suyla 500 mL'ye tamamlandı.

Standart Sodyum Nitrit (NaNO₂) Çözeltisi: 0,1 mol/L NaNO₂ stok çözeltisi hazırlandı (0,069 gr tart 10 ml ye tamamlandı) (9 Ay stabil). Daha sonra Na₂B₄O₇.10H₂O'dan 0,1906 gr tartılıp 50 ml ye tamamlanarak 0,01 mol/L Sodyum tetraborat çözeltisi hazırlandı. Daha sonra Sodyum nitrattan 10 µl alınıp 10 ml'ye (distile su ile) tamamlandığında günlük kullanım için 100 µmol/L'lik çözelti hazırlanmış olduk. 100 µmol/L'lik çözeltiyi seri dilüsyondan geçirip 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56 ve 0 µmol/L konsantrasyonlarındaki standart çözeltileri hazırlanmış olduk.

Doku homojenizasyonunun hazırlanması

Kalp dokuları homojenizatör kullanılarak 1/10 oranında soğuk 0.1 M Fosfat tamponu (pH:7.4) ile homojenize edildi. Doku homojenizatları 4000 x g'de ve +4 °C'de 20 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi.

Deney prosedürü

Deproteinizasyon işlemi için 50µL süpernatant, 200 µL NaOH, 250 µL mL ZnSO₄ ilave edilip 10 dakika beklendi. 3500 x g hızda 10 dakika santrifüj

yapıldı ve süpernatant numune olarak kullanıldı. Bakır kaplı kadmiyum granülleri üzerine 100 μL glisin tamponu eklendi. Üzerine 100 μL deproteinize numune konuldu ve üzerine 200 μL distile su ilave edildi. Oda ısısında 90 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 200 μL alınıp üzerine 250 μL distile su, 100 μL sülfanilamid ve 100 μL N-naftiletilendiamin ilave edildi ve oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildikten sonra 545 nm’de köre karşı okundu (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Nitrik Oksit deney Protokolü

İŞLEM	DENEY	KOR	STANDART
Süpernatant	500 μL	-	(std.)
NaOH	200 μL	200 μL	200 μL
ZnSO ₄	250 μL	250 μL	250 μL
3500 g’de 10 dk santrifüj			
Süpernatant	100 μL	100 μL	100 μL
Distile su	200 μL	200 μL	200 μL
Glisin Tamponu	100 μL	100 μL	100 μL
Kadmiyum granülleri	Eklenir	Eklenir	Eklenmez
90 dk inkübasyon			
Süpernatant	200 μL	200 μL	200 μL
Sulfanilamide	100 μL	100 μL	100 μL
N-Naftiletilendiamin	100 μL	100 μL	100 μL
Distile su	250 μL	250 μL	250 μL
60 dk inkübasyon			

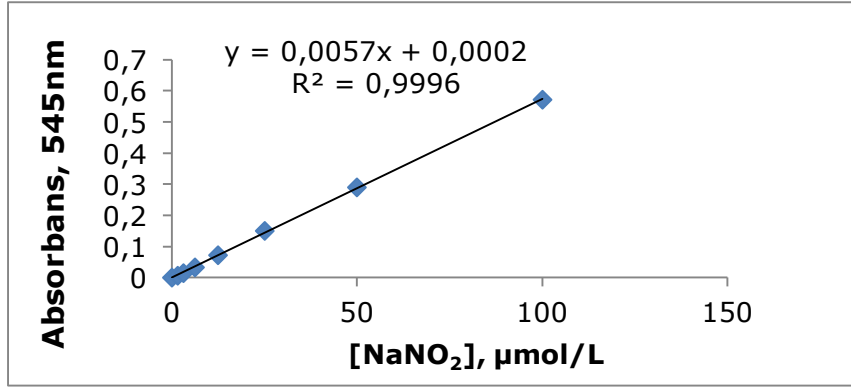
$$\lambda = 545 \text{ nm}$$

Hesaplanması

Örneklerin konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 ve 0 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonlarındaki NaNO₂ standart çözeltileri kullanıldı. Standart tüplerine 200 μL NaOH, 250 μL mL ZnSO₄, 100 μL glisin tamponu eklendi. Kadmiyumsuz ortamda 100 μL sülfanilamid ve 100 μL N-naftiletilendiamin ve farklı konsantrasyonlardaki standartlardan numaralandırılmış tüplere eklendi.

Kör ve örnek tüplerinde olduğu gibi işlemlerden geçirildi ve 545 nm’de absorbansları okundu. Elde edilen absorbanslarla, konsantrasyon değerleri Microsoft Office Excel 2013 programı kullanılarak standart grafiği elde edildi (Şekil 3.7). Doku örneklerinin NO konsantrasyonları, standart grafiği kullanılarak hesaplandı. Doku nitrik oksit düzeylerinin hesaplanması için, aynı doku homojenatlarının total proteinleri ölçüldü ve örneklerin

konsantrasyonları total proteinlerine oranlandı. Doku NO sonuçları, $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein olarak verildi.



Şekil 3.7. Nitrik Oksit kalibrasyon eğrisi

3.6.7 Katalaz (CAT) düzeylerinin ölçümü

Prensip

CAT H_2O_2 'in yıkımını katalize eder. H_2O_2 'in katalaz tarafından yıkım hızı H_2O_2 'in 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülür (Beutler, 1984) .



Kullanılan Çözeltiler

- 10 mM H_2O_2
- 0.05 M Fosfat Tamponu (pH 7.4)
- Tris Tamponu (pH 8.0): Tris-HCl 1M + 5mM EDTA biraz distile suda çözüldü ve PH 8.0 olduktan sonra 100 mL distile suya tamamlandı ve PH ayarlamak için 2M HCl'den kullanıldı.

Doku homojenizasyonu

Kalp dokuları homojenizatör kullanılarak 1/10 oranında soğuk 0.05 M Fosfat tamponu (pH:7.4) ile 0 °C'de homojenize edildi. Doku homojenatları 600 x g'de ve +4 °C'de 10 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi.

Deney prosedürü

Reaktifler tüplere Tablo 3.3'de gösterildiği şekilde koyuldu. Kör ve örnek absorbanları 230 nm dalga boyunda 0., 1. ve 2. dakikada ölçüldü.

Tablo 3.3. Katalaz deney Protokolü

Çözeltiler	Kör	Örnek
Trish Tamponu	50 μ L	50 μ L
H ₂ O ₂		900 μ L
H ₂ O	930 μ L	30 μ L
37 °C'de 10 dk inkübasyon		
Örnek	20 μ L	20 μ L

Hesaplanması

$$\text{Katalaz aktivitesi (U/mL)} = \frac{\Delta\text{OD} \times V_t}{0.071 \times V_ö}$$

ΔOD = Zamana göre absorban değışimi

V_t = Toplam hacim

$V_ö$ = Örnek hacmi

0.071 = H₂O₂'in 230 nm'deki mM ekstinksiyon katsayısı

$$\text{Katalaz Spesifik Aktivitesi (U/mg protein)} = \frac{\text{Katalaz aktivitesi}}{\text{Protein miktarı}}$$

3.6.8 PON1 enzim aktivitesinin ölçümü

Prensip

Doku PON1 enzim aktivitesi Eckerson ve arkadaşlarının modifiye edilen yöntemi (Eckerson, Romson, Wyte & La Du, 1983) kullanıldı. Doku paraoksonazı, paraoksonu (O,O-dimetil-O-p- nitrofenol fosfat) hidrolize ederek dietil fosfat ve p-nitrofenole ayırır. Oluşan p-nitrofenolün 25 °C ve 405 nm'de spektrofotometrik olarak birim zamandaki absorban değışiminin tespit edilmesi PON1 enzim aktivitesi ölçümünün esasını oluşturmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler

- 100 mM Tris
- 1 mM CaCl₂
- 1 mM NaCl
- 2 mM Paraokson

100 mM'lık tris/HCl tamponu (pH=8): 100 mM tris + 1 mM CaCl₂ + 1 mM NaCl 200 ml distile suda çözüldü. HCl ile çözeltinin pH'sı 8'e ayarlandı. Son hacim distile suyla 250 ml'ye tamamlandı.

2 mM paraokson çözeltisi: 20 µl paraokson 785 µl asetonda çözüldü, üzerine 12,7 ml tris/HCl tamponu eklendi ve iyice karıştırıldı. Çözelti renkli şişede taze olarak hazırlandı. Daha sonra üzerine 50 ml tris tamponu ilave edilerek paraokson reaktifi hazırlanmış oldu (Paraoksonaz aktivitesi ölçümünde substrat olarak kullanılan paraokson çözeltisi günlük hazırlanmalıdır).

Dokuların homojenizasyonu

Çalışma anına kadar -80 °C'de saklanmış olan kalp dokuları derin dondurucudan çıkarıldı ve tartıldı. Bu dokular 1/10 oranında, 50 mM Tris-HCl ve 2mM CaCl₂ içeren ve NaCl olmayan tampon içinde 0°C'de homojenize edildi. Homojenize dokular 10,000 x g'de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmı arilesteraz, paraoksonaz ve protein ölçümü için ayrıldı.

Deney prosedürü

Tablodaki gibi reaksiyon karışımı hazırlandıktan sonra örnekler mikropilaka'ye pipetlendi (Tablo 3.4). Daha sonra, sekiz kanallı ayarlanabilir mikropipet yardımıyla paraokson çözeltisi bütün örneklerle pipetlendi. Victor X3 mikropilaka okuyucusunda 25 °C ve 405 nm'de 5 dakika boyunca absorbanları okundu ve p-nitrofenolden dolayı meydana gelen dakikadaki absorban değişimi (ΔA/dk) kaydedildi.

Tablo 3-4. PON1 deney prosedürü

	Numune	Kör
Tris/Hcl tampon (100mM pH 8.0)	190 µl	190 µl
Numune	50 µl	-
H ₂ O	-	50 µl
Paraokson	47 µl	47 µl

Paraoksonaz Aktivitesinin Hesaplanması

Paraoksonaz aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Dakikada bir nmol p-nitrofenol oluşturan enzim miktarı bir ünite olarak ifade edildi.

$$U/ml = \frac{\Delta A/dk}{\epsilon} \times SF \times 10^6 \times 1/0,6$$

$\Delta A/dk$: Bir dakikadaki absorbans değişimi.

ϵ : p-nitrofenolün absorbtivite katsayısı, mevcut deney şartları için (pH=8) $17600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

SF: Seyreltme Faktörü (Total hacim/numune hacmi).

10^6 : nmol'e çevirme faktörü.

1/0,6: Plaka ışık yolunun uzunluğu.

3.6.9 Arilesteraz (ARE) aktivitesinin ölçümü

Prensip

Doku arilesteraz (ARE) aktivitesi Eckerson ve arkadaşlarının yöntemi (Eckerson, Romson, Wyte & La Du, 1983) kullanılarak belirlendi. ARE aktivitesi ölçümünde substrat olarak fenilasetat kullanıldı. ARE aktivitesi ölçüm prensibi, fenilasetatın hidrolizi sonucu oluşan fenolün absorbans değişiminin 25°C ve 270 nm 'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Kullanılan çözeltiler

- 100 mM Tris
- 1 mM CaCl_2
- Fenilasetat çözeltisi

100 mM'lık tris/HCl tamponu (pH=8): 100 mM tris + 1 mM CaCl_2 200 ml distile suda çözdürüldü. HCl ile çözeltinin pH'sı 8'e ayarlandı. Son hacim distile suyla 250 ml'ye tamamlandı.

Fenilasetat çözeltisi: 24 μl fenilasetat 15,2 ml tris/HCl tamponunda (NaCl olmayan tamponu) çözüldü.

Deney prosedürü

Örnekler 1/40 oranında dilüe edildi (8 μl supernatant + 312 μl distile su). 25 μl dilüsyonlu serum örneği + 500 μl fenilasetat çözeltisi spektrofotometr küvetine pipetlendi. 25°C ve 270 nm 'de 3 dk kinetik okuma yapıldı. ARE aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Dakikada bir μmol fenol oluşturan enzim miktarı 1 ünite olarak ifade edildi ve Sonuçlar U/ml protein olarak verildi.

$$U/ml = \frac{\Delta A/dk}{\epsilon} \times SF \times 10^3 \times 40$$

$\Delta A/dk$: Bir dakikadaki absorbans değişimi.

ϵ : Molar absorbtivite katsayısı, mevcut deney şartları için $1310 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
 $= 0.00131 \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

SF: Seyreltme Faktörü (Total hacim/numune hacmi).

10^3 : μmol 'e çevirme faktörü.

40: Seyreltilmiş örnekler.

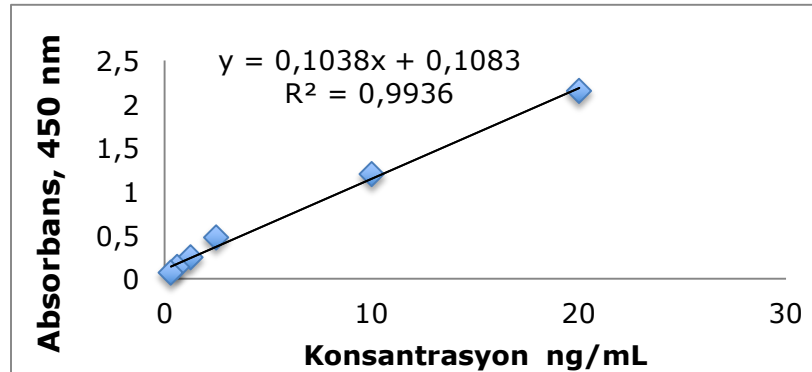
3.6.10 Kalpain (CAPN) aktivasyonu ölçümü

Kalp dokusunda Kalpain düzeyleri UNCU Life Science Rat CAPN (E2249r, UNCU systems) katalitik alt birimi sandviç Enzim Bağlı İmmün ölçüm (ELISA) test kiti kullanılarak ölçüldü.

Deney prosedürü

Kitin içerisinden çıkan mikroplaka'ın; standart, kör ve örnek kuyucuklarına, 100 μl pipetlendi. 2 saat 37°C bekletildi. Belirlenmiş A reaktifi'den 100 μL tüm kuyucuklarına pipetlendi. 1 saat süresince 37°C bekletildi. her bir kuyucuk 3 kez yıkandı. Belirlenmiş B reaktifi'den 100 μL tüm kuyucuklarına pipetlendi. 1 saat süresince 37°C bekletildi. Sonra her bir kuyucuk 5 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 90 μl substrat solüsyonu pipetlendi ve 15-30 dakika 37°C bekletildi. Tüm kuyucuklara 50 μl stop solüsyonu pipetlendi ve sonra oluşan renki 450 nm de ELISA okuyucu (Victor) ile ölçüldü.

Kitin içerisinden çıkan standart ile seri dilüsyon yapıldı. Standartların absorbans değerleri ölçüldü ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 3.8). CAPN sonuçları ng/mL olarak ifade edildi.



Kalp dokusu protein ölçümü

Prensibi

Kalp dokusundan elde ettiğimiz homojenatların protein miktarı Bradford yöntemi ile ölçüldü (Bradford, 1976).

Kullanılan çözeltiler

- Coomassie Brilliant Mavi G-250
 - Ethanol %95
 - Fosforik asit (H₃PO₄) %85
- *1 litre Bradford solüsyonu hazırlamak için;* 1 litrelik kabda 100 mg G-250 Coomassie Mavis boyası 50 ml %95'lik etanol kullanılarak çözüldü.
- Üzerine %85 lik fosforik asitten 100 ml eklendi.
- Distile su ile 1 litreye tamamlandı.
- Bu solüsyon derişik stok solüsyondur. Işıktan korunarak oda ısısında saklanabilir. Kullanımdan önce whatman filtre kağıdı ile süzöldü. 5 kez sulandırıldı.

Deney prosedürü

- 5 µl örnek 250 µl solüsyon ile karıştırıldı mikropilaka.
- 5 dakika oda ısısında bekledikten sonra 595 nm ölçüldü.
- Siğir serum albümini (BSA) ile seri dilüsyon yapılarak standartlar hazırlandı.
- Kalibrasyon eğrisi çizildi (Şekil 3.9).
- Protein sonuçları mg/ml olarak ifade edildi.

Doku homojenatının hazırlanması

PON1, ARE, NO, CAT, CAPN, MDA ölçümlerinde kullanılan homojenatlar kullanıldı ve ölçümlerin yapıldığı fraksiyonlarda protein değerleri belirlendi.

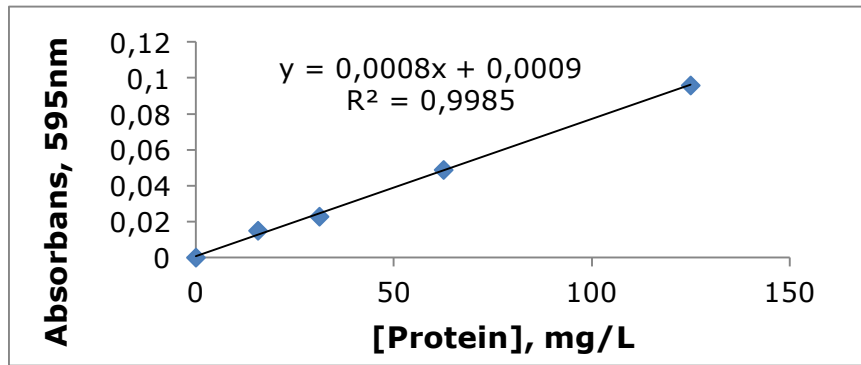
Hesaplanması

Örnek konsantrasyonlarının hesaplanabilmesi için protein standardı olarak bovine serum albumin (BSA) 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1.2 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlandı.

Belirteçten 5 mL ve farklı konsantrasyonlardaki standarttan 0,1 mL numaralandırılmış standart tüplerine eklendi.

Vortekslenen tüpler 5 dakika bekledikten sonra 595 nm’de absorbanları okundu.

Elde edilen absorbanlarla, konsantrasyon değerleri Microsoft Office Excel 2013 programı kullanılarak grafiğe geçirilerek standart grafiği elde edildi (Şekil 3.9). Örneklerin konsantrasyonları, standart grafiği kullanılarak hesaplandı.



Şekil 3.9. Protein kalibrasyon eğrisi

3.7 Histolojik yöntemler

3.7.1 Işık mikroskobu

Kalp dokusu için yapılan histolojik işlemler:

Kontrol, MI, Omega-3 + MI, Borik asit + MI ve Omega-3 + Borik asit + MI gruplarını oluşturan tüm sıçanlardan kalp’in ventrikülünden doku örnekleri alındı. Alınan kalp dokusu örneklerinin % 10’luk formalin fiksatifinde 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı. Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70’lik, %80’lik, %90’lık ve %96’lık alkol serilerinde 45’er dakika bekletilerek dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20’şer dakika ksilolde bekletildi. Kas dokusu örnekleri şeffaflandırmalarının ardından etüv içinde 65°C’de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dakika süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi. Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutulularak, mikrotom aracılığı ile

her bir örnekten 5'er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45°C'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı. Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında Hematoksilen-Eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dakika süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler Hematoksilen ile 2 dakika ve Eosin ile 10 dakika boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30'ar dakika tutularak şeffaflaştırıldı ve şeffaflanan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapılarak kalp doku örneklerini içeren tüm preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

3.7.2 Transmisyon Elektron Mikroskop (TEM) yöntemi

Örnekler zaman kaybetmeden 0.1 M fosfat tampon içeren %2.5'lük glutaraldehit içinde 24 saat 4°C'de primer fiksasyona alınmış, sonra fosfat tamponuyla 3 kez 15'er dakika yıkanmışlardır. Daha sonra 0.1 M fosfat tampon içeren %1'lik osmiyum tetroksit içinde, oda sıcaklığında ve rotatorda 2 saat sekonder fiksasyonları sağlanmış, devamında dokular tamponla tekrar 3 kez yıkanmışlardır. Dokudaki fazla suyun alınması (dehidrasyon) için örnekler giderek artan derecelerde ve 4°C'de ikişer kez belirli sürelerde etil alkol serilerinden geçirilmiş (%30, %50, %70, %90, %96, %100 (son yıkama ve sonraki işlemler oda ısısında) ve propilen oksitte 30 dk boyunca (iki kez) şeffaflaştırma işlemine alınmışlardır. 1/1 oranında propilen oksit-araldite karışımında 2 saat rotatorda bekletildikten sonra saf araldite alınan dokular bir gece boyunca rotatorda tutulmuşlar ve ertesi gün araldite gömülerek 60°C'de 48 saat polimerize edilmişlerdir. Elde edilen bloklar ultramikrotomda (Leica Ultracut R) 700 nm kalınlığında kesilerek toluidin mavisiyle boyanmış ve biyofilm olması muhtemel olan yüzey kısımları ışık mikroskopunda (Olympus BX50) incelenmiştir. TEM'de görüntülenmesi istenilen alanlar belirlendikten sonra dokular tekrar trimlenmiş ve ultramikrotomda 60 nm kalınlığında tam ince kesitleri alınmıştır. 300 meshlik bakır gridlere alınan bu kesitler uranil asetat-kurşun sitrat ile boyandıktan sonra JEOL JEM 1220 marka ve modeldeki TEM de incelenmeye alınmışlardır.

3.8 İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Windows 22.0 paket programı kullanıldı. Gruplar arasında

linik ve metabolik değişken ölçümleri açısından fark olup olmadığını analiz etmek için öncelikle dağılımların normal dağılıma uygunlukları analiz edildi. Parametrik verilerin normal dağılıp dağılmadığı Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmaları Tek Yönlü Varyans Analiz (Oneway ANOVA) testi ve grupların çoklu karşılaştırılmalarında TUKEY HSD testi kullanılmıştır ve veriler, ortalama \pm SD (standart sapma) olarak verildi. Normal dağılım göstermeyen verilerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi ve grupların çoklu karşılaştırılmalarında TUKEY HSD testi kullanılmıştır ve veriler ortanca değer, 25'inci ve 75'inci yüzdilik değerler olarak ifade edilmiştir. Değişkenler arasındaki ilişkiyi gösterebilmek için normalite testleri sonucuna göre Pearson ve Spearman korelasyon testlerinden yararlanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4 BULGULAR

28 gün süren bu çalışmada hayvanların haftalık ağırlık artışı değerlendirildi. Çalışmamızda EKG, histolojik ve biyokimyasal parametreler kullanılarak MI grubunda oluşan hasar ile Omega-3 ve Borik asitin bu hasar üzerine olası koruyucu etkileri değerlendirildi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların istatistiki anlamlılıkları belirtilmiş ve gruplara ait veriler hem tablo hem de grafik olarak verilmiştir.

4.1 Rat Ağırlık Bulguları

Çalışma gruplarının, çalışma başında, ortasında ve sonundaki rat ağırlıkları dağılımı aritmetik ortalama \pm standart sapma olarak Tablo 4.1' de verilmiştir.

Tablo 4.1. Gruplar arasında güne göre ağırlık artışının dağılımı

Gruplar	N	0.Gün (g)	14.Gün (g)	28.Gün (g)
Kontrol	10	300,8 \pm 17,59	307,6 \pm 20,72	314,90 \pm 33,53
MI	10	312,8 \pm 9,48	322 \pm 15,69	327,50 \pm 15,62
MI+Borik asit	10	278,4 \pm 63,71	280,8 \pm 62,54	284,20 \pm 59,59
MI+Omega-3	10	293,8 \pm 43,80	302,2 \pm 46,45	304,90 \pm 46,89
MI+Omega-3 +Borik asit	10	359,9 \pm 28,03	362,8 \pm 14,49	364,60 \pm 13,63

4.2 Biyokimyasal Ölçümler

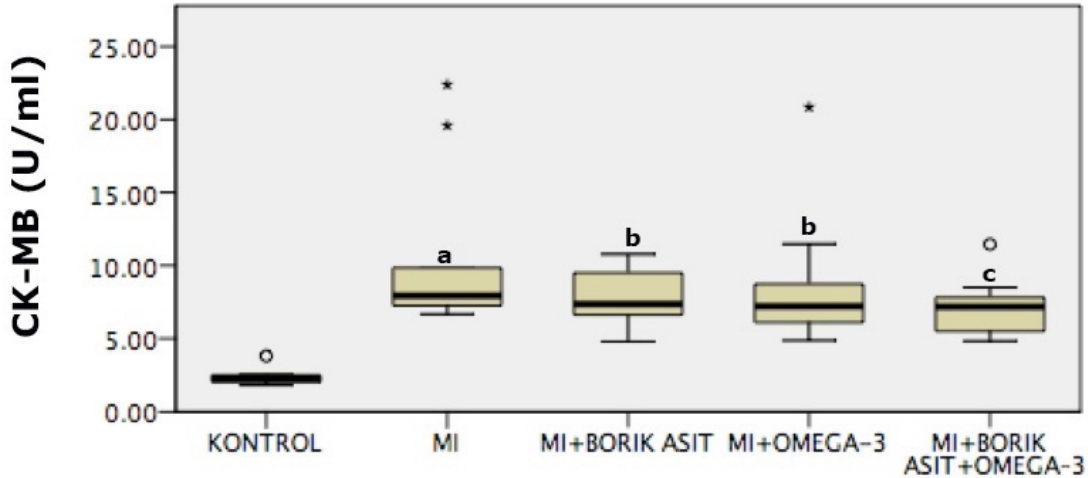
4.2.1 Kreatin Kinaz- MB (CK-MB) düzeyi bulguları

Çalışmamızda Serum CK-MB düzeyi ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.9' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın Serumunda CK-MB düzeyi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde fark bulundu ($p < 0,001$). Kontrol grup ile MI+Borik asit, MI+Omega-3, MI+Borik asit+Omega-3 arasında çok önemli düzeyde fark bulundu ($p < 0,01$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0,05$). (Tablo 4.2 ve Şekil 4.1).

Tablo 4.2. Serum CK-MB düzeyleri

Gruplar	N	CK_MB (U/ml) Ortanca (%25-%75)
Kontrol	10	2,30(2,01-2,52)
MI	10	7,94(7,13-12,28) ^a
MI+Borik asit	10	7,37(6,20-9,67) ^b
MI+Omega-3	10	7,22(5,98-9,42) ^b
MI+Borik asit+Omega-3	10	7,19(5,44-8,00) ^c

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$
- b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
- c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$



Şekil 4-1. Serum CK-MB düzeyleri.

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$
- b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
- c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

4.2.2 Beyin natriüretik peptid (BNP) düzeyi bulguları

Çalışmamızda Serum BNP düzeyi ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.3' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın Serumunda BNP düzeyi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde fark bulundu ($p < 0,001$). Kontrol grup ile MI+Borik asit+Omega-3 arasında önemli düzeyde fark bulundu ($p < 0,05$). MI grup ile MI+Borik asit arasında önemli düzeyde fark bulundu ($p < 0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0,05$). (Tablo 4.3 ve Şekil 4.2).

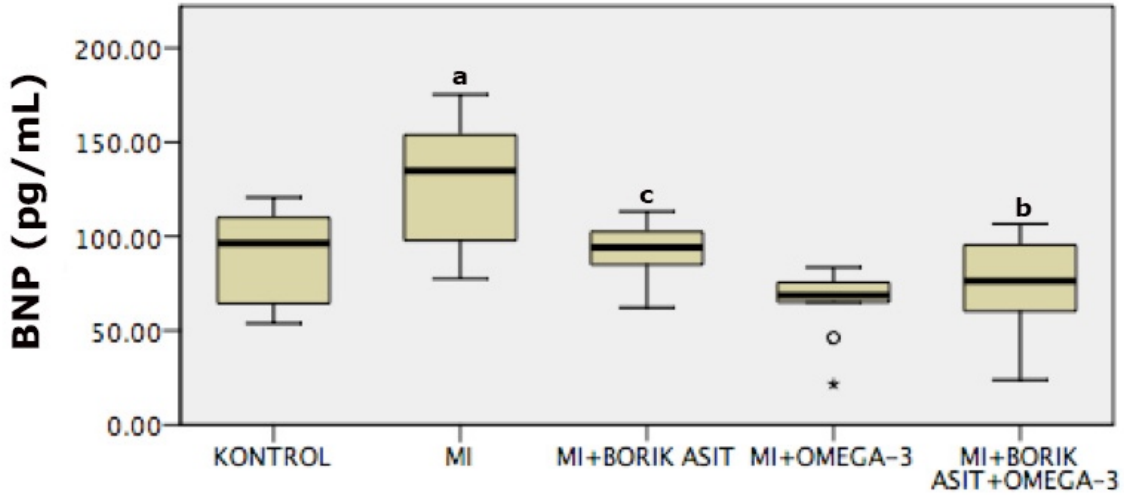
Tablo 4.3. Serum BNP düzeyleri

Gruplar	N	BNP(pg/mL) Ortanca (%25-%75)
Kontrol	10	42,96(39,88-44,63)
MI	10	54,43(52,47-56,12) ^a
MI+Borik asit	10	49,30(44,41-51,83) ^c
MI+Omega-3	10	50,14(43,59-55,06)
MI+Borik asit+Omega-3	10	52,68(50,49-53,63) ^b

a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$

b. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$



Şekil 4-2. Serum BNP düzeyleri

a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$

b. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

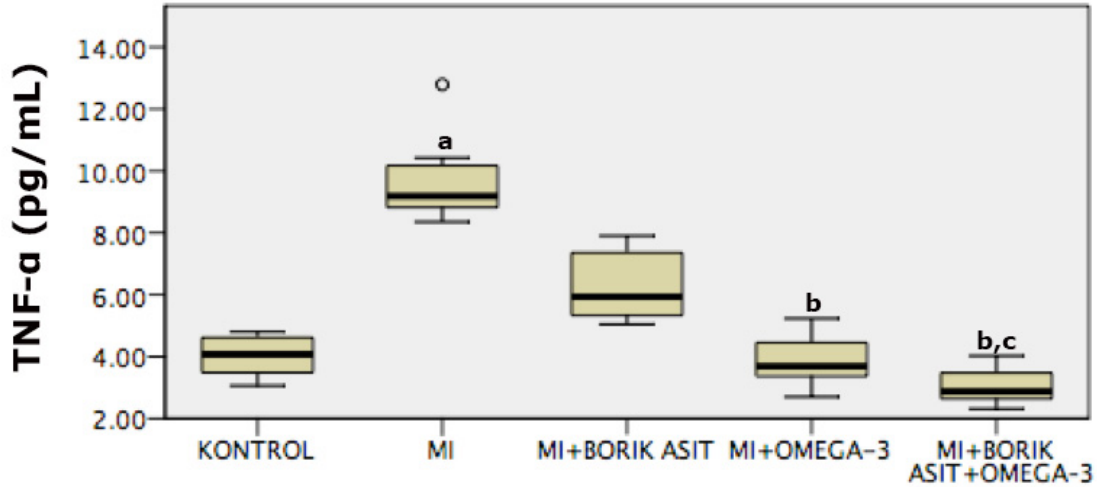
4.2.3 Tümör nekroz faktör-a (TNF-a) düzeyi bulguları

Çalışmamızda Serum TNF-a düzeyleri ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.4' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın Serumunda TNF-a düzeyi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI grup arasında istatistiksel olarak çok önemli düzeyde fark bulundu ($p<0,01$). MI grup MI+Omega-3, MI+Borik asit+Omega-3 arasında ileri düzeyde fark bulundu ($p<0,001$). MI+Borik asit grup MI+Borik asit+Omega-3 arasında ileri düzeyde fark bulundu ($p<0,001$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo 4.4 ve Şekil 4.3).

Tablo 4.4. Serum TNF-a düzeyleri

Gruplar	N	TNF-a (pg/mL) Ortanca (%25-%75)
Kontrol	10	4,08(3,41-4,62)
MI	10	9,19(8,72-10,23) ^a
MI+Borik asit	10	5,94(5,28-7,48)
MI+Omega-3	10	3,69(3,36-4,54) ^b
MI+Borik asit+Omega-3	10	2,88(2,59-3,56) ^{b,c}

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,01$
- b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$
- c. MI+Borik asit grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$



Şekil 4-3. Serum TNF-a düzeyleri

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,01$
- b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$
- c. MI+Borik asit grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$

4.2.4 Interlökin-6 (IL-6) düzeyi bulguları

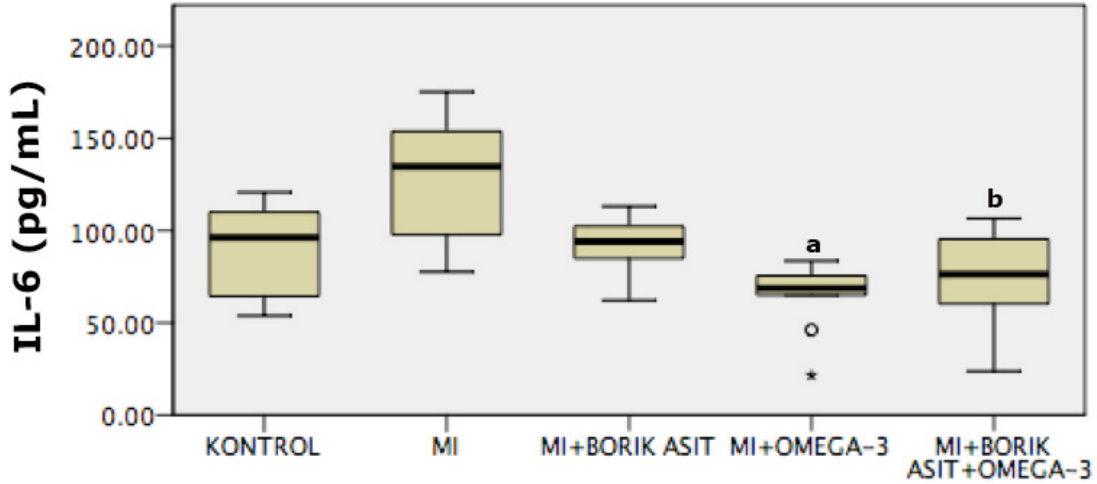
Çalışmamızda Serum IL-6 düzeyi ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.5' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın Serumunda IL-6 düzeyi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde MI grupla MI+Omega-3 grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde fark bulundu ($p<0,001$). MI grup MI+Borik asit+Omega-3 arasında önemli düzeyde fark bulundu ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$) (Tablo 4.5 ve Şekil 4.4).

Tablo 4.5. Serum IL-6 düzeyleri

Gruplar	N	IL-6(pg/mL) Ortanca (%25-%75)
Kontrol	10	96,22(64,01-112,33)
MI	10	134,72(97,58-156,84)
MI+Borik asit	10	94,08(83,33-104,09)
MI+Omega-3	10	68,69(60,28-75,69) ^a
MI+Borik asit+Omega-3	10	76,28(59,69-97,49) ^b

a. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$

b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$



Şekil 4-4. Serum IL-6 düzeyleri

a. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$

b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

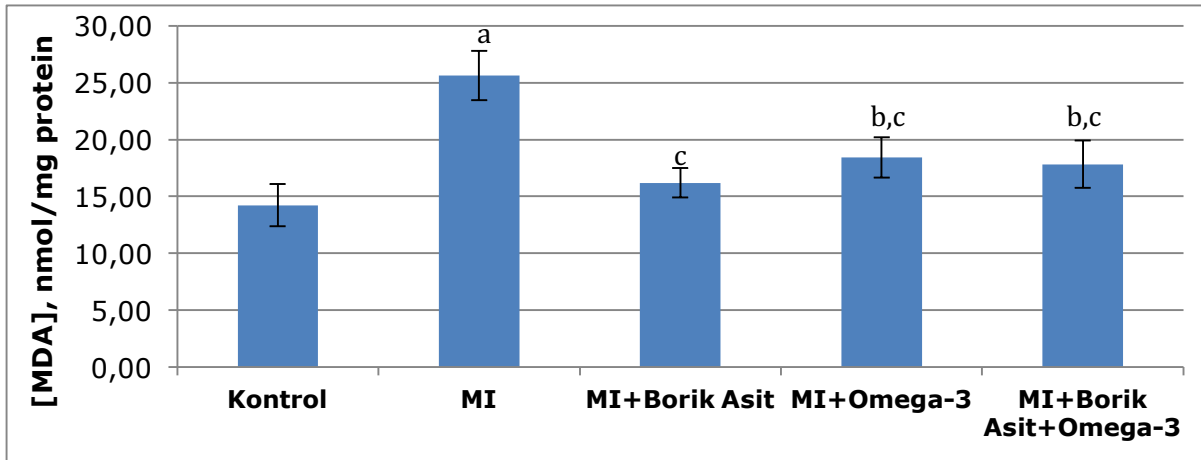
4.2.5 Malondialdehid (MDA) düzeyi bulguları

Çalışmamızda kalp sol ventrikül dokusunda MDA düzeyi ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.6' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın kalp sol ventrikül dokusunda MDA düzeyi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grubu ile MI grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde fark bulundu ($p<0,001$). Kontrol grup ile MI+Omega-3 grubu ve MI+Borik asit+Omega-3 arasında çok önemli düzeyde fark bulundu ($p<0,01$). MI grupla tüm gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde fark ($p<0,001$) bulundu. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo 4.6 ve Şekil 4.5).

Tablo 4.6. Kalp dokusunda MDA düzeyleri

Gruplar	N	MDA (nmol/mg protein)
Kontrol	7	14,24±1,88 ^a
MI	7	25,61±2,15
MI+Borik asit	7	16,20±1,30 ^c
MI+Omega-3	7	18,43±1,76 ^{b,c}
MI+Borik asit+Omega-3	7	17,83±2,08 ^{b,c}

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$
- b. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,01$
- c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$



Şekil 4-5. Kalp dokusunda MDA düzeyleri

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$
- b. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,01$
- c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$

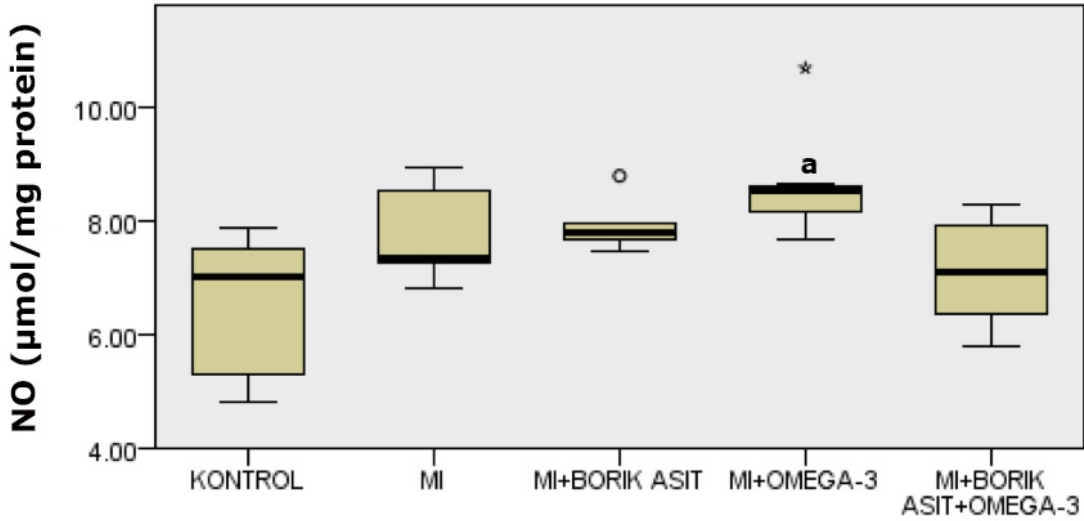
4.2.6 Nitrik oksit (NO) düzeyi bulguları

Çalışmamızda kalp sol ventrikül dokusunda NO düzeyi ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.7' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın kalp sol ventrikül dokusunda NO düzeyi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI+Omega-3 grup arasında istatistiksel olarak çok önemli fark bulundu ($p<0,01$). Kontrol grup ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo 4.7 ve Şekil 4.6).

Tablo 4.7. Kalp dokusunda NO düzeyleri

Gruplar	N	NO($\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein) Ortanca (%25-%75)
Kontrol	7	7,04(4,81-7,74)
MI	7	7,35(7,19-8,94)
MI+Borik asit	7	7,79(7,55-7,95)
MI+Omega-3	7	8,54(8,16-8,67) ^a
MI+Borik asit+Omega-3	7	7,11(6,25-7,98)

a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,01$



Şekil 4-6. Kalp dokusunda NO düzeyleri

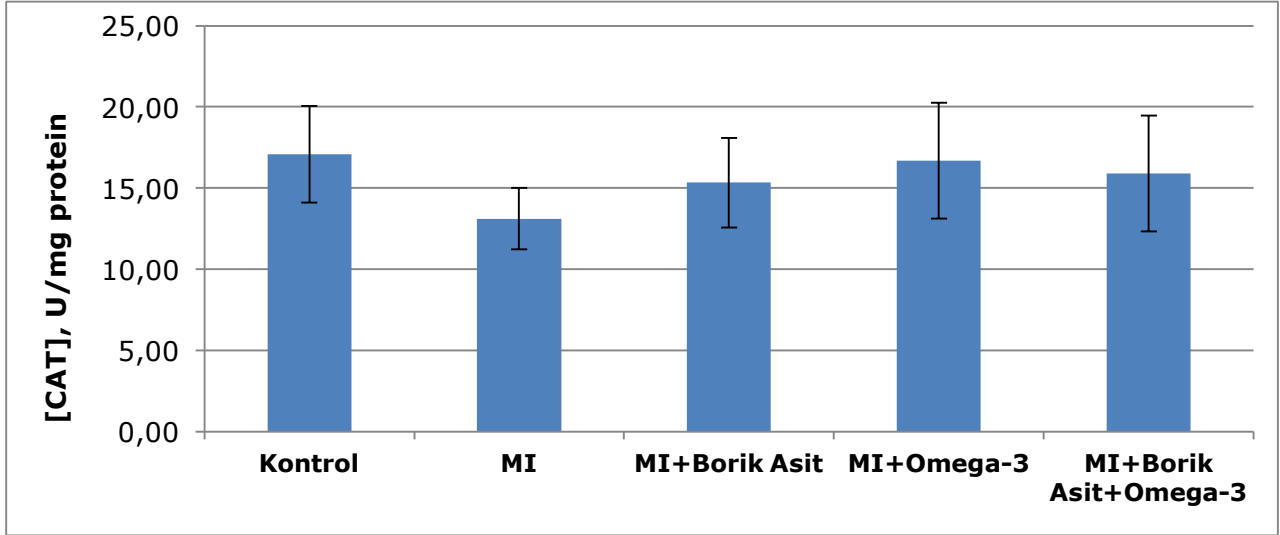
a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,01$

4.2.7 Katalaz (CAT) düzeyi bulguları

Çalışmamızda kalp sol ventrikül dokusunda CAT aktivitesi ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.8’ de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın kalp sol ventrikül dokusunda CAT aktiviteleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI grup arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmadı ($p>0,05$). Kontrol grup ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo 4.8 ve Şekil 4.7).

Tablo 4.8. Kalp dokusunda CAT düzeyleri

Gruplar	N	CAT(U/mg protein)
Kontrol	7	17,09±2,98
MI	7	13,12±1,89
MI+Borik asit	7	15,34±2,76
MI+Omega-3	7	16,69±3,55
MI+Borik asit+Omega-3	7	15,89±3,58



Şekil 4-7. Kalp dokusunda CAT düzeyleri

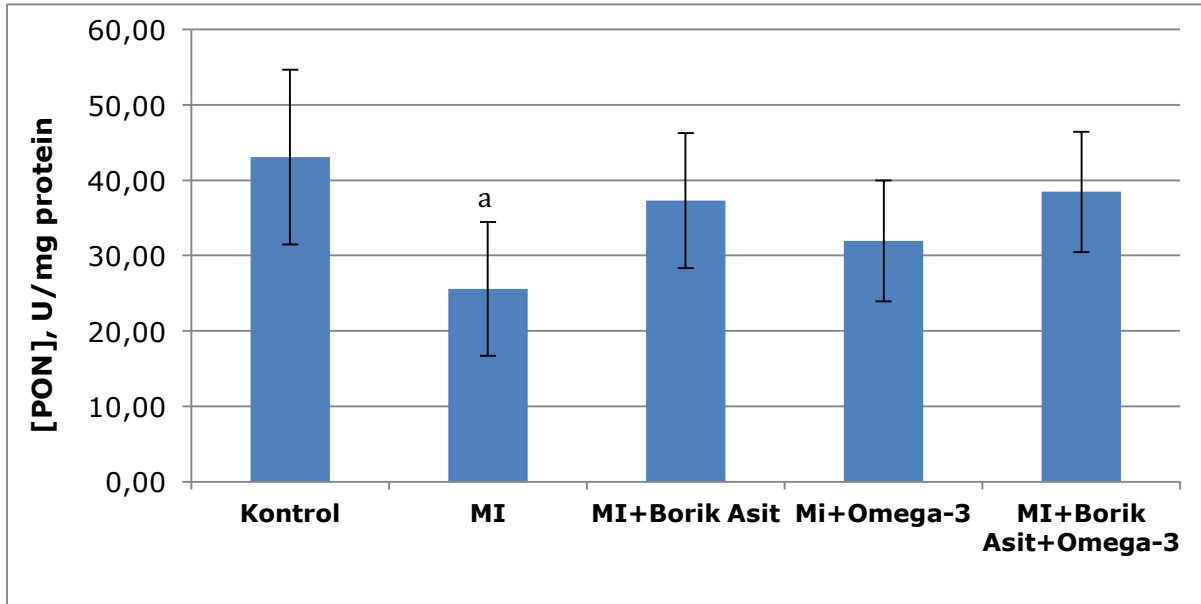
4.2.8 Paraoksonaz (PON1) aktivitesi bulguları

Çalışmamızda kalp sol ventrikül dokusunda PON1 aktivitesi ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirildi (Tablo 4.2). Çalışma gruplarımızın kalp sol ventrikül dokusunda PON1 aktiviteleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI grup arasında istatistiksel olarak önemli fark bulundu ($p < 0,05$). Kontrol grup ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0,05$). (Tablo 4.2 ve Şekil 4.1).

Tablo 4.9. Kalp dokusunda PON1 aktivitesi

Gruplar	N	Ortalama (U/mg protein)
Kontrol	7	43,08±11,59
MI	7	25,60±8,90 ^a
MI+Borik asit	7	37,30±8,93
Mi+Omega-3	7	31,98±8,03
MI+Borik asit+Omega-3	7	38,47±8,00

a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$



Şekil 4-8. Kalp dokusunda PON1 aktivitesi düzeyleri

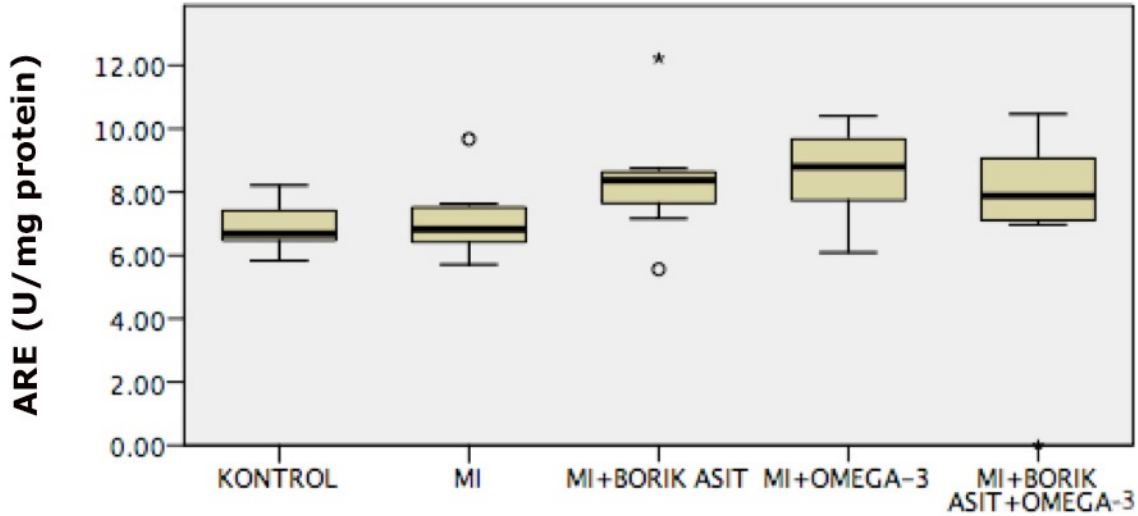
a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

4.2.9 Arilesteraz (ARE) aktivitesi bulguları

Çalışmamızda kalp sol ventrikül dokusunda ARE aktivitesi ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.10' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın kalp sol ventrikül dokusunda ARE aktiviteleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI grup arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmadı ($p>0,05$). Kontrol grup ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo 4.10 ve Şekil 4.9).

Tablo 4.10. Kalp dokusunda ARE aktivitesi

Gruplar	N	ARE (U/mg protein) Ortanca (%25-%75)
Kontrol	7	6,7(6,3-8,1)
MI	7	6,8(6,0-7,6)
MI+Borik asit	7	8,4(7,2-8,7)
MI+Omega-3	7	8,8(7,4-10,4)
MI+Borik asit+Omega-3	7	7,9(7,0-9,7)



Şekil 4-9. Kalp dokusunda ARE aktivitesi düzeyleri

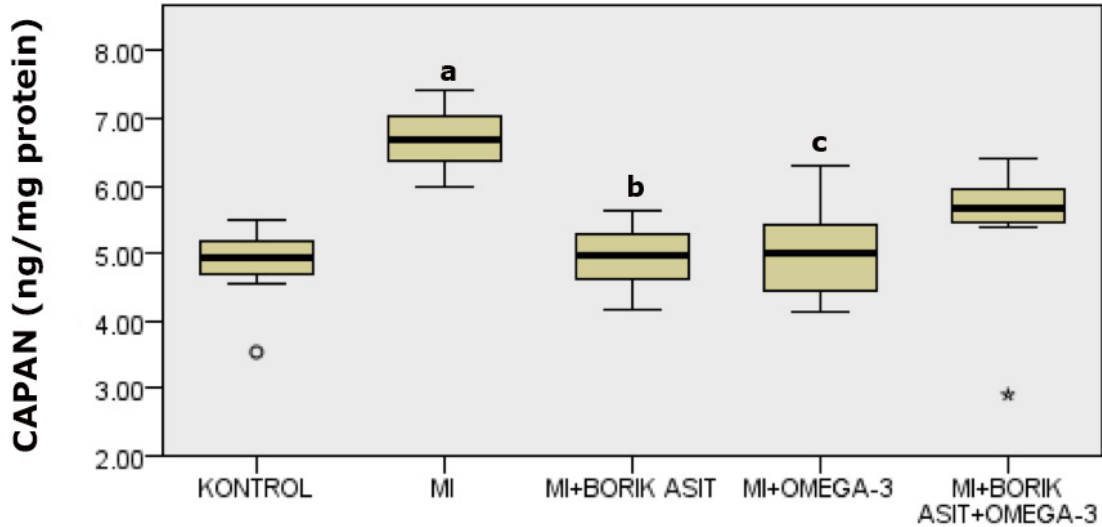
4.2.10 Kalpain (CAPAN) aktivitesi bulguları

Çalışmamızda kalp sol ventrikül dokusunda CAPAN düzeyi ölçüldü ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4.11' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın kalp sol ventrikül dokusunda CAPAN düzeyi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI grup arasında istatistiksel olarak çok önemli fark bulundu ($p < 0,01$). MI grupla MI+Borik asit grup arasında istatistiksel olarak çok önemli fark bulundu ($p < 0,01$). MI grup ile MI+Omega-3 grup arasında önemli fark bulundu ($p < 0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0,05$). (Tablo 4.11 ve Şekil 4.10).

Tablo 4.11. Kalp dokusunda CAPAN düzeyleri

Gruplar	N	CAPAN (ng/mg protein) Ortanca (%25-%75)
Kontrol	7	4,95(4,54-5,35)
MI	7	6,69(6,26-7,23) ^a
MI+Borik asit	7	4,98(4,27-5,40) ^b
MI+Omega-3	7	5,00(4,22-5,71) ^c
MI+Borik asit+Omega-3	7	5,67(5,40-6,06)

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
- b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
- c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$



Şekil 4-10. Kalp dokusunda CAPAN düzeyleri

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
- b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
- c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

4.3 Elektrokardiyogram (EKG) İncelemesi

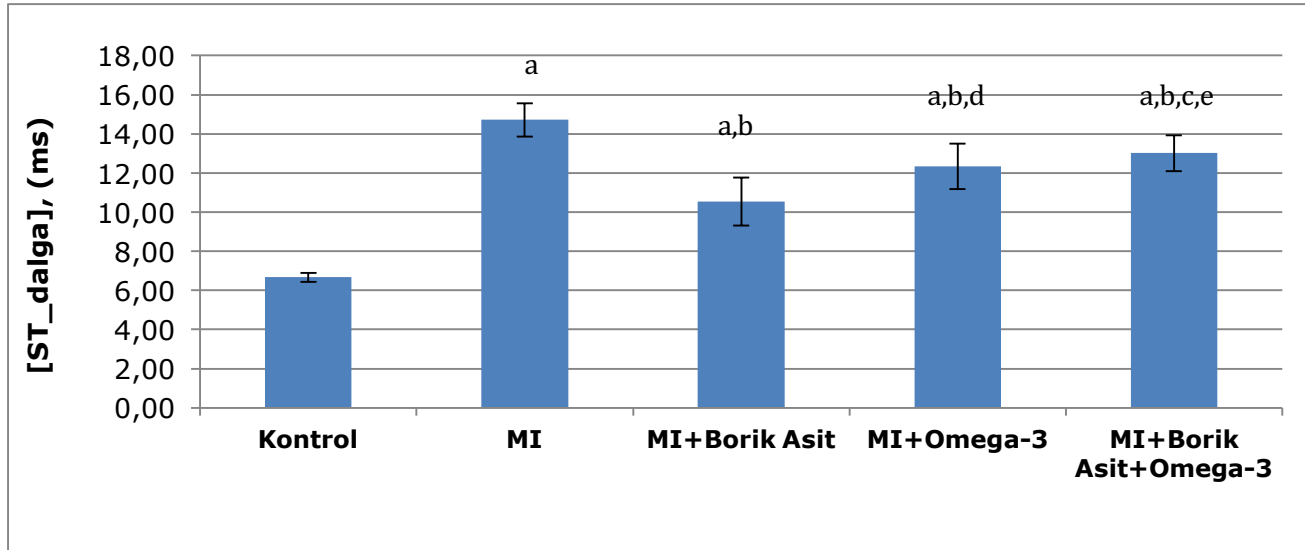
4.3.1 ST dalga ölçümü

Çalışmamızda ST dalga değişiklikleri ölçümünün değerlendirilmesi Tablo 4.12’ de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın EKG çekildi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI, MI+Borik asit, MI+Omega-3, MI+Borik asit+Omega-3 grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde fark bulundu ($p<0,001$). MI grup ile MI+Borik asit, MI+Omega-3 grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde fark bulundu ($p<0,001$) ve MI grupla ile MI+Borik asit+Omega-3 grup arasında istatistiksel olarak çok önemli düzeyde fark bulundu ($p<0,01$). MI+Borik asit grupla ile MI+Omega-3 grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde fark bulundu ($p<0,001$) ve MI+Borik asit grup ile MI+Borik asit+Omega-3 arasında istatistiksel olarak çok önemli düzeyde fark bulundu ($p<0,01$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$) (Tablo 4.12 ve Şekil 4.11).

Tablo 4.12. ST dalga düzeyleri

Gruplar	N	ST-dalga (ms)
Kontrol	10	6,75(6,42-6,88)
MI	10	14,85(13,85-15,45) ^a
MI+Borik asit	10	10,40(9,58-11,83) ^{a,b}
MI+Omega-3	10	12,50(11,50-13,40) ^{a,b,d}
MI+Borik asit+Omega-3	10	13,05(12,40-13,83) ^{a,b,c,e}

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$
- b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$
- c. MI+Borik asit grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,01$
- d. MI+Borik asit grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,01$
- e. MI+Borik asit grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$



Şekil 4-11. EKG'in ST dalga düzeyleri

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$
- b. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$
- c. MI+Borik grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
- d. MI+Omega-3 grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
- e. MI+Borik Asit+Omega-3 grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$

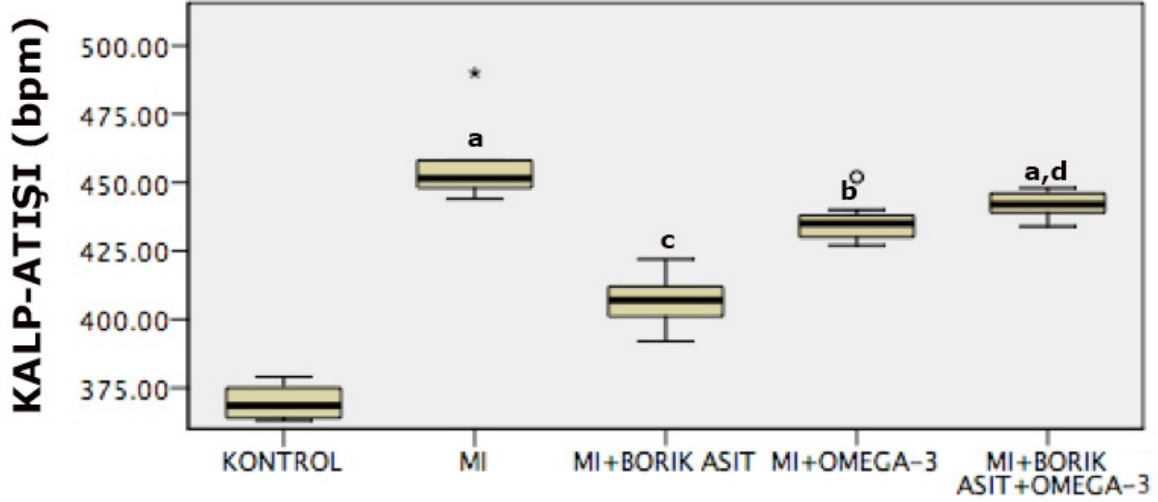
4.3.2 Kalp atış ölçümü

Çalışmamızda Kalp atış ölçümünün ve istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 4-13' de verilmiştir. Çalışma gruplarımızın EKG çekildi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde kontrol grupla MI, MI+Borik asit+Omega-3 grup arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde fark bulundu ($p < 0,001$) ve MI+Omega-3 grup arasında istatistiksel olarak çok önemli düzeyde fark bulundu ($p < 0,01$). MI+Borik asit grupla ile MI+Borik asit+Omega-3 grup arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde fark bulundu ($p < 0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0,05$). (Tablo 4-13 ve Şekil 4-12).

Tablo 4.13. Kalp atış düzeyleri

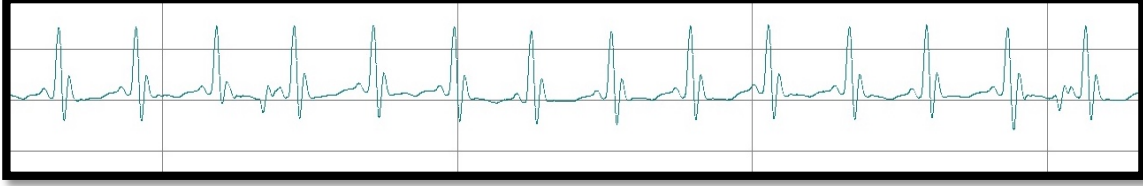
Gruplar	N	KALP-ATIŞI (bpm)	KALP-ATIŞI (bpm) Ortanca (%25-%75)
Kontrol	10	369,40±6,04	368,50(364,00-375,75)
MI	10	453,60±14,69 ^a	451,50(447,00-458,00) ^a
MI+Borik asit	10	407,00±9,30 ^c	407,00(399,75-413,50) ^c
MI+Omega-3	10	435,40±7,12 ^b	435,00(429,75-438,50) ^b
MI+Borik asit+Omega-3	10	441,70±4,22 ^{a,d}	442,00(438,75-446,00) ^{a,d}

- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$
b. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$
d. MI+Borik asit grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$

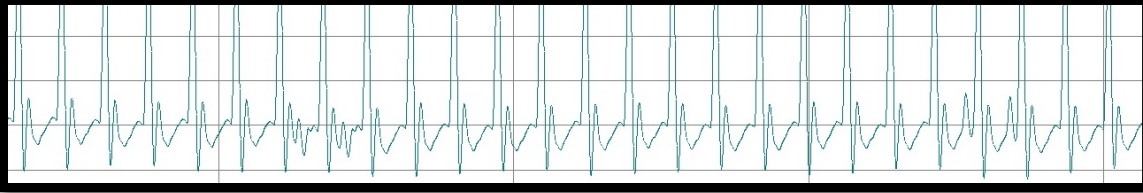


Şekil 4-12. Kalp atış düzeyleri

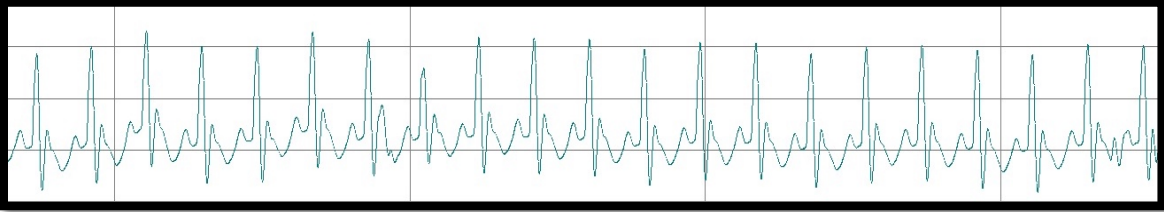
- a. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$
b. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,01$
c. MI grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,001$
d. MI+Borik asit grubu ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$



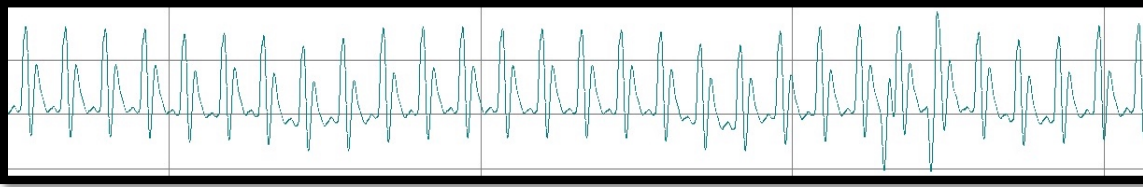
Kontrol grubun EKG'si



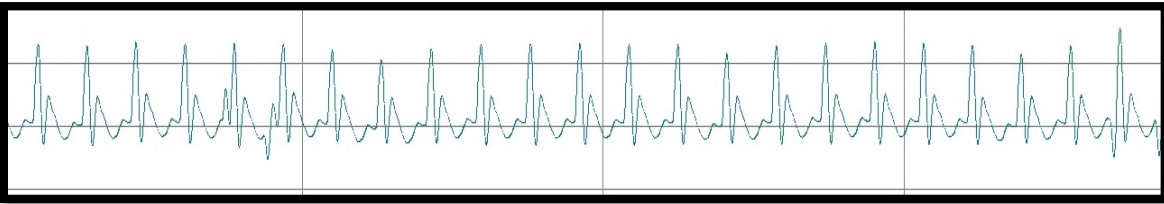
MI grubun EKG'si



MI+Borik asit grubun EKG'si



MI+Omega-3 grubun EKG'si



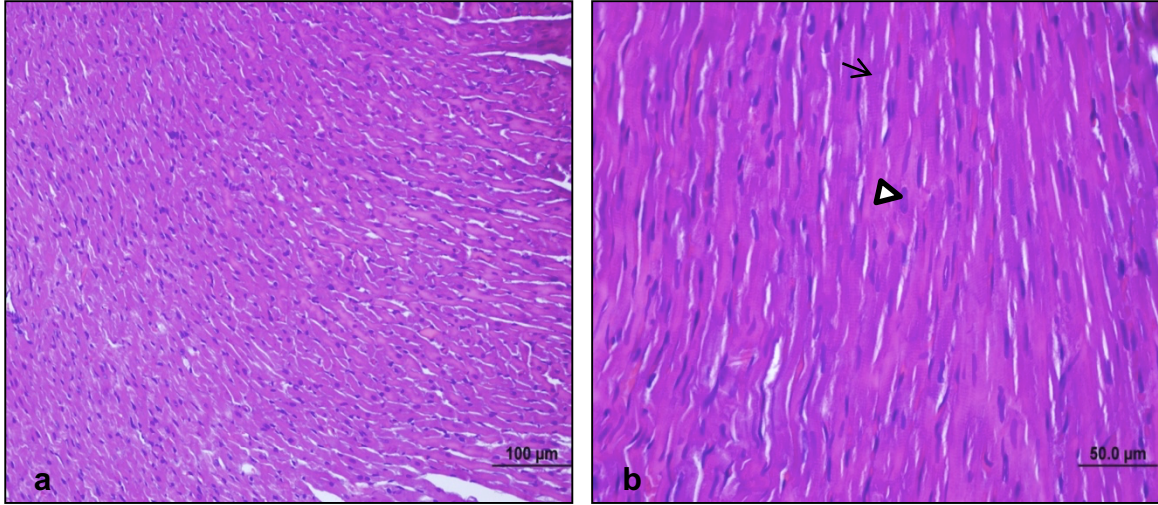
MI+Borik asit+Omega-3 grubun EKG'si

Şekil 4.13. Deney gruplarında EKG ölçümün

4.4 Histolojik Bulgular

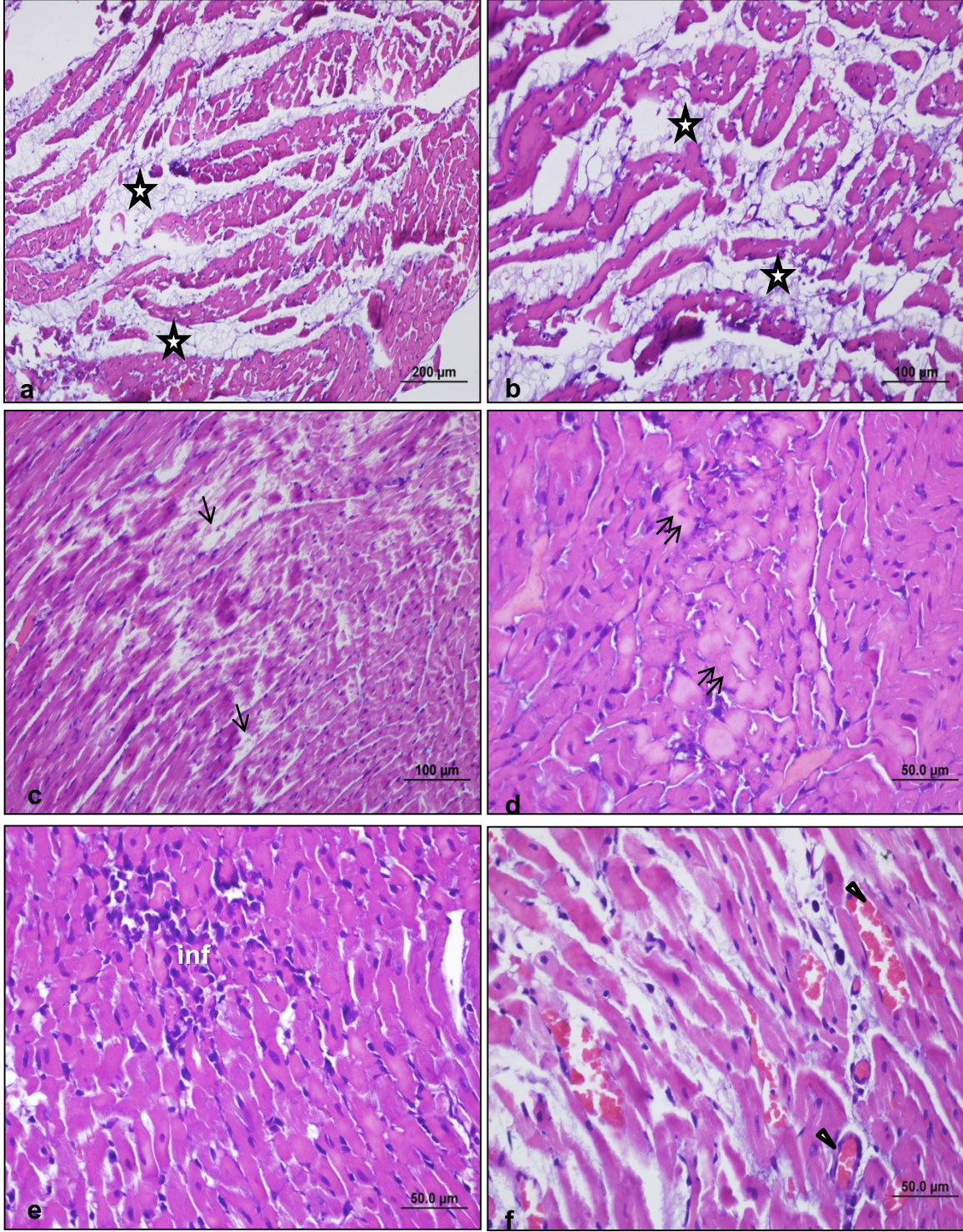
4.4.1 Hemotoksilen Eosin Bulgularına göre yapılan inceleme

Hemotoksilen Eosin (HE) ile boyanan kalp dokusunun Sol ventrikül bölgesinin genel histolojik özellikleri ve doku hasarı incelenmiştir.



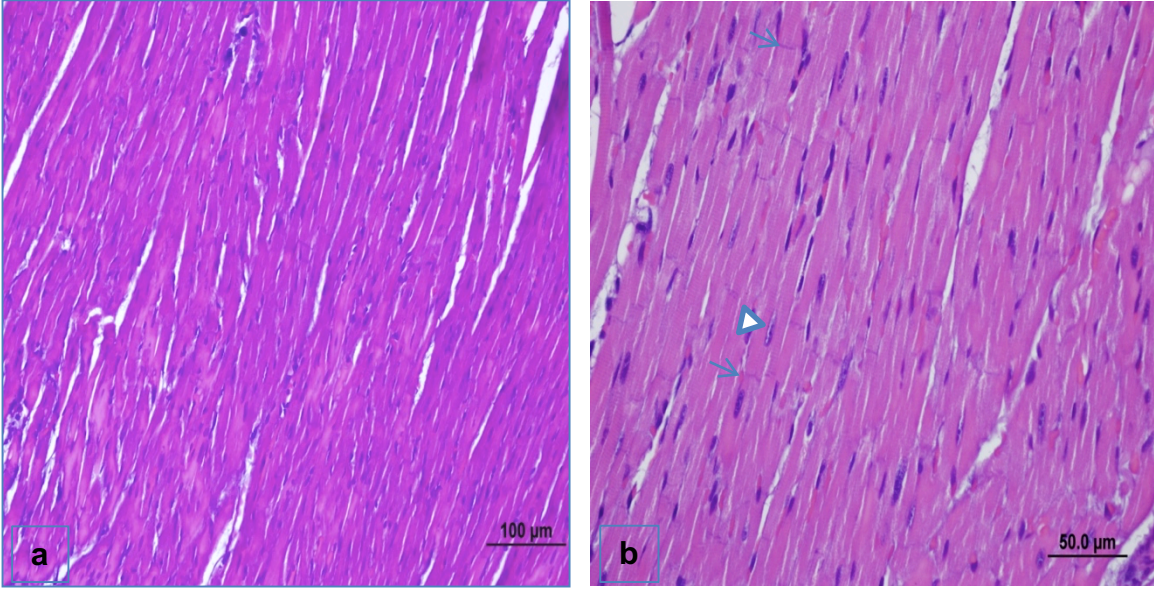
Şekil 4-14. Kalp kası hücrelerinin Kontrol grubunda ışık mikroskopik incelemeleri

kontrol grubunda interkalar disk yapıları (→) ve merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla (▸) birlikte normal histolojik yapıdaki kas hücreleri gözlenmekte (a,b), (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, HE).



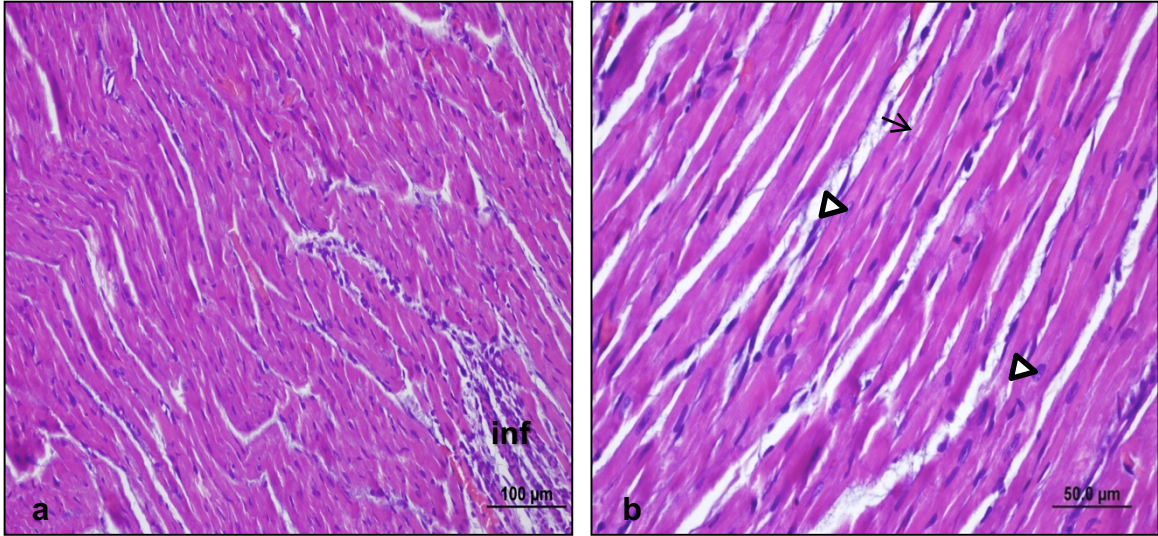
Şekil 4-15. Kalp kası hücrelerinin MI grubunda ışık mikroskopik incelemeleri

yoğun hasarlı devamlılığı bozulmuş (→) ve nekrotik miyofibril yapıları (çift ok) (a,b,c,d), interstisyel alanda mononükleer hücreli infiltrasyon (inf) (e) ile ödem (*) (a,b) ve vasküler kongesyon (↗) (f) izlenmekte (bar:200µm, X10, bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, HE).



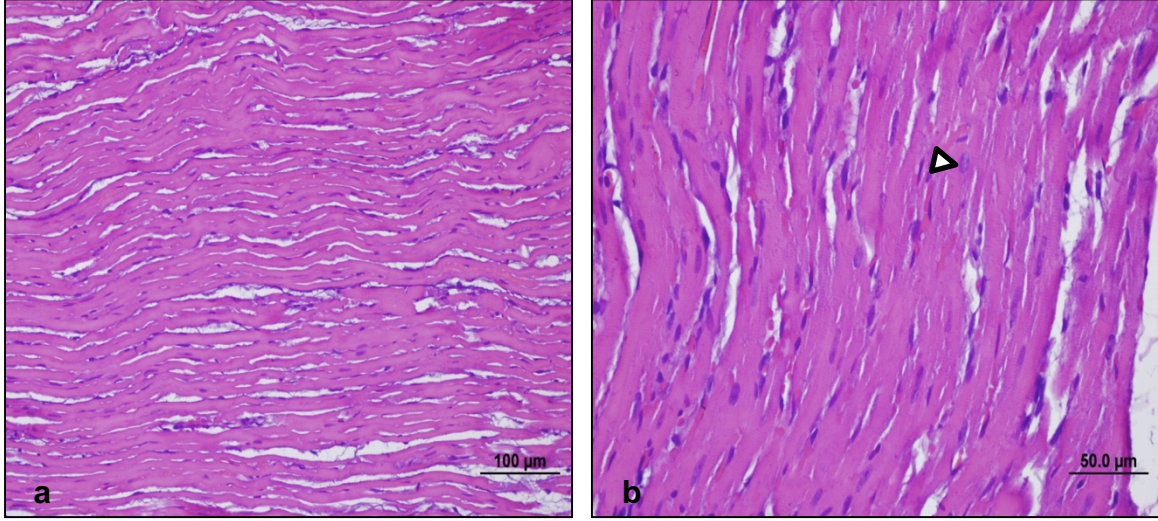
Şekil 4.16. Kalp kası hücrelerinin MI+Omega-3 grubunda ışık mikroskopik incelemeleri

MI+Omega-3 grubunda kısmi inflamasyon (inf) devam etmekle birlikte (a), interkalar disk yapıları (→) ve merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla (▸) normale yakın histolojik yapıdaki kas hücreleri gözlenmekte (a,b), (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, HE).



Şekil 4.17. Kalp kası hücrelerinin MI+Borik asit grubu ışık mikroskopik incelemeleri

borik asit grubunda interkalar disk yapıları (→) ve merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla (▸) birlikte normale yakın histolojik yapıdaki kas hücreleri gözlenmekte (a,b), (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, HE).

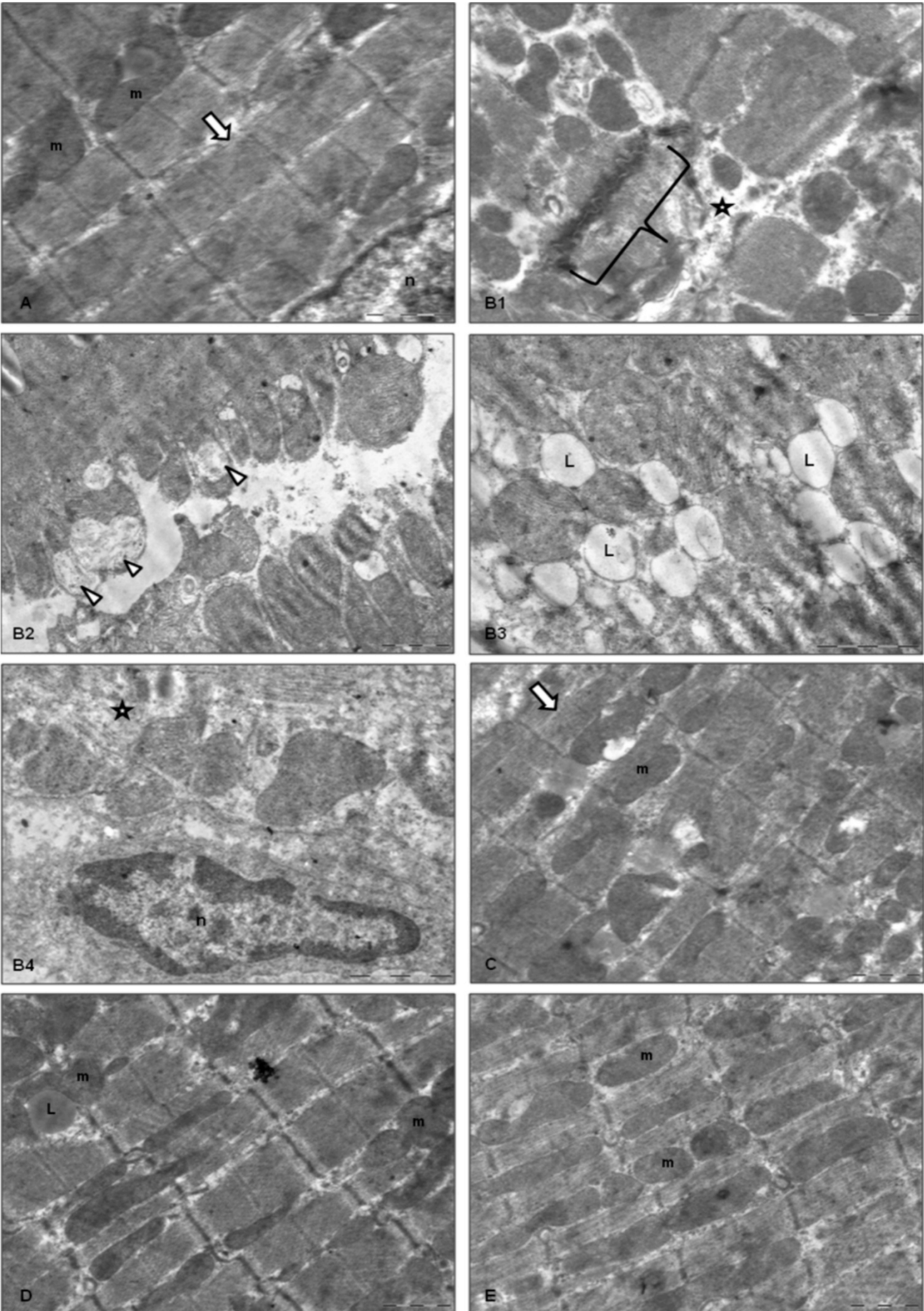


Şekil 4.18. Kalp kası hücrelerinin MI+Omega-3+Borik asit grubunda ışık mikroskopik incelemeleri

MI+Omega-3+Borik asit grubunda diğer gruplara göre daha da az olsa azalmış hasarla birlikte merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla (▸) normale yakın histolojik yapıdaki kas hücreleri gözlenmekte (a,b), (bar:100µm, X20, bar:50.0µm, X40, HE).

4.4.2 Transmisyon Elektron Mikroskopik Bulgularına göre yapılan inceleme

Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) ile boyanan kalbin dokusunun Sol ventrikülünden bölgesinin genel histolojik özellikleri ve doku hasarı daha hassas incelenmiştir.



Şekil 4.19. Kalp kası dokusu tüm gruplara ait transmisyon elektron mikroskopik (TEM) görüntüleri (A,B1,B2,B3,B4,C,D,E) (uranil asetat, kurşun sitrat, TEM).

Kontrol grubu: Kalp kası dokusunun transmisyon elektron mikroskopik (TEM) görüntüsü. Kas miyofibrilleri (→), miyofilaman yapıları ve hücre nükleusu (n) ile birlikte normal yapıda gözlenmekte. İnterstisyel alanda normal görünümlü mitokondri (m) yapıları (A).

MI grubu: Kalp kası dokusunun transmisyon elektron mikroskopik (TEM) görüntüsü. Tüm preparatlarda kas hücrelerinde miyofibriler dejenerasyon, kas liflerinde düzensizlik dikkat çekmekte. Ayrıca interstisyel alanda ödem (*), artmış lipid yapıları (L) ve mitokondriyal hasar (✶) gözlenmekte. Miyofibriler dejenerasyona rağmen, kas lifinde korunmuş interkalar disk yapısı görülmekte (}), (B1,B2,B3,B4)

MI+Omega-3 grubu: Kalp kası dokusunun transmisyon elektron mikroskopik (TEM) görüntüsü. Normale yakın korunmuş kas miyofibrilleri (→), interstisyel alanda normale yakın görünümlü mitokondri (m) yapıları gözlenmekte (C).

MI+Borik asit grubu: Kalp kası dokusunun transmisyon elektron mikroskopik (TEM) görüntüsü. Normale yakın korunmuş kas miyofibrilleri ve miyofilaman yapıları, interstisyel alanda normale yakın görünümlü mitokondri (m) yapıları gözlenmekte (D).

MI+Omega-3+Borik asit Grubu: Kalp kası dokusunun transmisyon elektron mikroskopik (TEM) görüntüsü. Normale yakın korunmuş kas miyofibrilleri ve miyofilaman yapıları, interstisyel alanda normale yakın görünümlü mitokondri (m) yapıları gözlenmekte (E).

4.4.3 Histolojik bulguların değerlendirilmesi

4.4.3.1 Hemotoksilen Eosin (HE) ile boyanan

Kontrol grubu: Kontrol grubunu oluşturan ratların kalp kası hücrelerinin ışık mikroskopik incelemelerinde kontrol grubunda interkalar disk yapıları ve merkezi yerleşimli ökromatik nükleuslarıyla birlikte normal histolojik yapıdaki kas hücreleri gözlemlendi.

MI grubu: MI grubunu oluşturan ratların kalp kası hücrelerinin ışık mikroskopik incelemesinde yoğun hasarlı devamlılığı bozulmuş ve nekrotik miyofibril yapıları, interstisyel alanda mononükleer hücrel infiltrasyon ile ödem ve vasküler kongesyon görüldü.

MI+Omega-3 grubu: MI+Omega-3 grubunu oluşturan ratların kalp kası hücrelerinin ışık mikroskopik incelemelerinde Omega-3 grubunda kısmi inflamasyon devam etmekle birlikte, interkalar disk yapıları ve merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla normale yakın histolojik yapıdaki kas hücreleri görüldü.

MI+Borik asit grubu: MI+Borik asit grubunu oluşturan ratların kalp kası hücrelerinin ışık mikroskopik incelemelerinde borik asit + MI grubunda interkalar disk yapıları ve merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla birlikte normale yakın histolojik yapıdaki kas hücreleri görüldü.

MI+Omega-3+Borik asit Grubu: MI+Omega-3+Borik asit Grubunu oluşturan ratların Kalp kası hücrelerinin ışık mikroskopik incelemelerinde Omega-3 + Borik asit + MI grubunda diğer gruplara göre daha da az olsa azalmış hasarla birlikte merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla normale yakın histolojik yapıdaki kas hücreleri görüldü.

4.4.3.2 Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) ile boyanan

Kontrol grubu: Kontrol grubunu oluşturan ratların kalp kası dokusunun TEM görüntüsü. Kas miyofibrilleri, miyofilaman yapıları ve hücre nükleusu ile birlikte normal yapıda gözlenmekte. İnterstisyel alanda normal görünümlü mitokondri yapıları gözlemlendi.

MI grubu: MI grubunu oluşturan ratların kalp kası dokusunun TEM görüntüsü. Tüm preparatlarda kas hücrelerinde miyofibriler dejenerasyon, kas liflerinde düzensizlik dikkat çekmekte. Ayrıca interstisyel alanda ödem, artmış lipid yapıları ve mitokondriyal hasar gözlenmekte. Miyofibriler dejenerasyona rağmen, kas lifinde korunmuş interkalar disk yapısı görüldü.

MI+Omega-3 grubu: MI+Omega-3 grubunu oluşturan ratların kalp kası dokusunun TEM görüntüsü. Normale yakın korunmuş kas miyofibrilleri, interstisyel alanda normale yakın görünümlü mitokondri yapıları görüldü.

MI+Borik asit grubu: MI+Borik asit grubunu oluşturan ratların kalp kası dokusunun TEM görüntüsü. Normale yakın korunmuş kas miyofibrilleri ve miyofilaman yapıları, interstisyel alanda normale yakın görünümlü mitokondri yapıları görüldü.

MI+Omega-3+Borik asit Grubu: MI+Omega-3+Borik asit Grubunu oluşturan ratların Kalp kası dokusunun TEM görüntüsü. Normale yakın korunmuş kas miyofibrilleri ve miyofilaman yapıları, interstisyel alanda normale yakın görünümlü mitokondri yapıları görüldü.

5 TARTIŞMA

Akut miyokard infarktüsü (AMI) ve ateroskleroz dünyanın pek çok ülkesinde mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir. MI başlatan ve ilerlemesine yol açan biyokimyasal ve hücresele olaylar tümüyle açıklanabilmiş değildir. Yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, ailede iskemik kalp hastalığı öyküsü, hiperkolesterolemi, diyabetes mellitus ve hipertansiyon gibi endojen ve ekzojen faktörlerin herbiri AMI riskini belirgin olarak artırmaktadır. Ancak bu faktörler olguların sadece bir bölümünü açıklayabilmektedir. KKH önlenmesindeki stratejilerin geliştirilmesinde, risk faktörü kavramı önemli bir atılım olmuştur. Çeşitli epidemiyolojik ve prospektif çalışmalarda, dislipidemi bu risk faktörleri arasında merkezi konuma gelmiştir. Son zamanlarda da koroner kalp hastalıklarının önlenmesi için geliştirilecek stratejileri değiştirebileceği düşünülen yeni risk faktörleri üzerindeki çalışmalar hızla devam etmektedir.

Aynı zamanda sağlık harcamalarının büyük bir kısmı kardiyovasküler sistem hastalıklarının tanı ve tedavilerine harcanmaktadır. MI'ı diğer hastalıklardan ayıran en önemli farkları ise mutlaka ani başlangıçlı olması ve ölümlerin büyük çoğunluğunun ilk saatlerde yaşanıyor olmasıdır. Eğer kişi MI'ın akut evresini atlarsa, MI'a bağlı birçok komplikasyonlarla da karşı karşıya gelir.

EPA ve DHA yağ asitlerinin diyetle uzun süreli alımları Amerikan Kalp Birliği (AHA)'ne göre yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL) düzeyini arttırarak koroner kalp rahatsızlıkları, trombozis oluşumu ve miyokardiyal enfarktüs gibi kalp ve damar sağlığı ile ilgili birçok hastalığa karşı iyi gelmesiyle beraber bu hastalıkları önlemede de önemli sağlık etkilerine sahiptir (Domingo, 2007) (Harris & Von Shacky, 2004). Omega-3 yağ asitleri kalp kasları üzerine doğrudan etki yaparak kan akışını arttırır, damarlarda iyileşmeler ile aritmiyi, enfarktüs olasılığını ve şiddetini, kalp fonksiyonlarında tehlikeli olan kimyasal ve hücresele işlemleri azaltır (Nettleton, 2000). Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri de balık tüketimi ile kalp damar rahatsızlıkları arasındaki bu çarpıcı ilişkiyi doğrular niteliktedir (HE, 2009).

Bu nedenle son yıllarda birçok bilim adamı MI'ın önlenmesi veya MI sonrası oluşabilecek komplikasyonları azaltmak amacıyla sayısız çalışma yapmaktadır. Bu çalışmaların sonucunda MI sonrasında kullanılmak üzere birçok yeni ilaç geliştirilmiş olup hangi ilacın daha etkin olduğu hala tartışılmaktadır.

İnsanlar üzerinde çalışma yapılmasının içerdiği riskler ve etik tartışmalar

sebebiyle çeşitli deneysel hayvan modelleri oluşturulmuştur. Bu bilgilerden yola çıkılarak mevcut çalışmamızda sıçanlarda MI öncesi kullanılan Borik asit ve Omega-3, 28 gün boyunca verilmiş ve deneyin kalan son 2 günü ISO enjekte edilerek MI modeli oluşturulmuştur. Elde edilen model dokuda gelişen değişikliklerin dokuda ve serumda biyokimyasal, histolojik ve EKG yöntemleri ile incelenerek grupların birbirleri arasındaki etkinliklerinin mukayese edilmesi amaçlanmıştır.

MI modellerinin en yaygın olarak kullanılanı ratlarda cerrahi olarak koroner arter ligasyonu veya katekolaminlerle (ISO) indüklenen modelidir. Çalışmamızda ISO ile indüklenen MI modeli kullanılmıştır. Bir katekolamin olan ISO, hızlı bir şekilde otooksidasyon yaparak miyokardiyumda oksidatif ürünlerin ortaya çıkmasına neden olur (Yates & Dhala , 1975). ISO verilmesi kardiyak kas hücrelerinde enerji rezervini azaltarak kompleks biyokimyasal ve yapısal değişikliklere neden olur ki bu da nekrozis ile sonlanır (Rona, 1985). Wexler ve Greenberg'in (Wexler & Greenberg, 1978) bir çalışmasında ratlarda yüksek doz ISO uygulamasının insanda oluşan MI'daki patofizyolojik değişikliklerle aynı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, ratlara yüksek doz ISO uygulaması insanlarda oluşan MI'ın tüm biyokimyasal, fizyopatolojik, histopatolojik ve EKG değişiklikleri ile birebir örtüşmektedir (Rona, 1985). Bu nedenle ISO ile indüklenen MI modeli standardize edilmiş bir model olup birçok ilacın yararlı etkilerini veya kardiyak fonksiyonlar üzerine olan etkisini araştırmak için sıklıkla kullanılmaktadır (Thompson & Hess, 1986).

MI' da oluşan temel fizyopatoloji iskemidir. İskemi, organa gelen kan akımının yetersizliği veya dokunun bozulmuş perfüzyonudur; uzayan iskemi durumunda hücrelerin bütünlüğü kaybolup miyokarda yeterli oksijen ve metabolizmayı devam ettirmeye yetecek miktarda substrat ulaşamaz (Cohen, 1978).

Koroner arter akımının zaman içinde yeniden sağlanması yani reperfüzyon olayı kardiyak hasarın önlenmesi için temel bir yoldur. Deneysel çalışmalar reperfüzyonun akut fazı esnasında bir miktar daha doku hasarının oluştuğunu göstermiştir. Reperfüzyon hasarı olarak bilinen bu olay, mikro sirkülasyondaki endotel hücrelere nötrofil adhezyonunu, intrasellüler enzimlerin salınımını, kalsiyum iyonlarının hücre içine girişini, sarkolemma fosfolipitlerinin bozunmasını ve ROS oluşumunu arttırır. ROS düzeylerinin artması açıl zincirlerinin peroksidasyonuna neden olur ve sonuçta hücre ölümü gerçekleşir (Flaherty & Zweier, 1991) (Mohanty vd., 2004).

Hücreler hasara uğramaya, sonunda da ölmeye başlar. İşte iskeminin bu

evresinde gerekli olan oksijenin temin edilemediği her durumda doku hasara uğrayacaktır. Bu nedenle MI'nın akut evresinde tıkanmış olan damarı açmak en etkin çözümdür. Çalışmamızda denediğimiz Borik asit ve Omega-3, MI'nın akut evresinden önce kullanılmıştır. Bu nedenle, dokuyu hasara uğratabilecek dereceye ulaşmasını engellediği veya etkilerin iskemik hasarın oluşma hızına yetişememesinden dolayı ve hasar oluşacak doku etrafında etki ederek hasarın yayılmasını ve şiddetini önlediği, kardiyak hasar belirteçlerini sağlıklı kontrol grubuna yaklaştırmaya sebep olduğu düşünülmüştür.

Akut koroner yetmezlik, miyokardın oksijen gereksinimini karşılamaya yetecek kan dolaşımına sahip olamaması ile ortaya çıkan bir durumdur. Miyokardiyal hücre ve/veya hücre membranı hasara uğradığı zaman hücre içindeki enzim ve proteinlerin dolaşıma salınması kaçınılmaz olur. Bunlardan özellikle Kreatin kinaz klinik olarak önemlidir (Melanson & Tanasijevic, 2005).

MI sonrası iskemik alan etrafında kollateral dolaşım (Ana kan damarının tıkanması halinde kanın yan kanallardan dolaşması) oluşmakta olup, bu iskeminin hasarını sınırlayan doğal bir savunma mekanizmasıdır (Elayda vd., 1985). Aynı zamanda Moss ve Benhorin tarafından iskemiden sonra çevre dokularda antioksidan sistemin pozitif yönde arttığı gösterilmiştir (Moss & Benhorin, 1990). Bizim bulgularımızda da ISO ile indüklenen MI sonrası kontrol grubumuzdaki kardiyak belirteçlerinin değişmesi bu sistemlerin aktif halde olduğunu göstermektedir.

Bir çalışmada kardiyovasküler hastalık riski açısından, genel beslenme kalıplarıyla özel beslenme kalıpları karşılaştırılmıştır. Koroner arter hastalığı hastalarının bir kısmına, meyvelerin, sebzelerin, baklagillerin ve lifli besinlerin miktarı arttırılmış, etler, tereyağı ve krema azaltılmıştır. Ayrıca Omega-3 yağ asiti öncüsü olan alfa linoleik asitle zenginleştirilmiş margarinle birlikte yağlı balıklar içeren Akdeniz diyeti uygulanmıştır ve hem bu grup hem de kontrol grubunun diyetinde aldığı toplam yağ miktarı %31 düzeyinde tutulmuştur. Çalışma sonunda Akdeniz diyeti uygulanan grupta öldürücü olmayan miyokard infarktüsünün %70, kardiyak mortalitenin %56 azalmış olduğu gösterilmiştir (Reilly, Mantle & Salisbury, 2000). Başka bir çalışmada ise koroner arter hastalığı bulunan bireylerin bir kısmına çok düşük yağ içerikli diyet uygulanmıştır. Bir yıl sonra yapılan kontrolde diyet grubunda ortalama koroner arter darlık yüzdesi gerilerken kontrol grubunda ilerlediği gösterilmiştir (Ren & Brown, 2000).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar Grönland Eskimolarında tüm ölümlerin % 3,5'nin iskemik kalp hastalığı nedeniyle olduğunu ortaya koymuştur, oysa Batı toplumlarında bu oran yaklaşık olarak on kat daha fazladır. Eskimoların bol miktarda deniz ürünü tüketiyor olması ve bunların da Omega-3 (eikozapentaenoik aside ve dokozahekzaenoik aside) olarak bilinen çoklu doymamış yağ asidi içermesi, dikkatleri Omega-3 (balık yağı) üzerine çekmiştir (Dyerberg & Bang, 1982).

Çalışmamızda Omega-3 yağ asitlerini kullanmamızın nedeni Omega-3 yağ asitlerinin antioksidan, antiinflamatuvar ve antifibrotik maddeler olmalarıdır. Literatürde Omega-3'ün antiinflamatuvar, antifibrotik ve antioksidan özellikleri üzerine yapılmış farklı çalışmalar taranmıştır.

Hücrelerde veya dokularda oluşan oksidatif stres ROS'ların üretimine ve/veya antioksidan sistemlerin azalmasına, bu da prooksidan/antioksidan sistemin dengesinin bozulmasına yol açar. Bu bilgilerden yola çıkılarak, ISO ile indüklenen MI'lı ratlarda Omega-3 ve Borik asit uygulamasının oksidan ve antioksidan sisteme olan etkilerini incelendiğinde, kontrol grubuna göre her üç grupta da antioksidan sistem üzerine olumlu yönde etki ettiği ve serbest radikalleri azalttığı söylenebilir.

Bir çalışmada da deneysel olarak farelerde transvers aort darlığı oluşturmuşlar. Bir gruba Omega-3 yağ asidi bir gruba da normal diet verilmiştir. Sekiz hafta takip edilen ratlarda kardiyak fonksiyonlar, kardiyak fibroblastlar üzerindeki etkiler, nitrit/nitrat, cGMP konsantrasyonu ve fibrozis düzeyi incelenmiştir. Çalışma sonunda Omega-3 yağ asitlerinin kardiyak fibrozisi ve kardiyak fonksiyon bozukluklarını önlediği sonucuna ulaşılmıştır (Chen vd., 2011).

Bor elementi doğada en çok Borat ve Borik asit olarak bulunmaktadır. Borik asit hücre membran fonksiyonu, hücre sel sinyal transdüksiyonu, membran bütünlüğü, mineral ve hormonal metabolizma ve enzim reaksiyonlarında rol oynar (Şaylı vd., 1996).

Bizim çalışmamızdaki bulgularda da diğer çalışmalara benzer şekilde ISO ile MI oluşturulmuş kontrol grubundaki ratların kan biyokimyasal kardiyak doku belirteçlerinden olan PON1, CAPAN, MDA, BNP, CK-MB, TNF- α ve EKG incelemesinde ST dalga ve kalp atış seviyelerinin istatistik açıdan anlamlı derecede değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, ISO ile indüklenen MI'da, MI öncesi Borik asit ve Omega-3 uygulamasının oluşan hasarı azalttığını yalnız tam olarak durduramadığını göstermektedir.

Çalışmamız Omega-3 yağ asidinin kalp dokusu üzerine MI etkilerine karşı Borik asitin koruyucu etkilerinin birlikte gösterildiği ilk çalışma olma

özelliğini taşımaktadır. Borik asit ve Omega-3 'ün önceden uygulanan ve sonra ISO ile indüklenen MI modelinde hasarı biyokimyasal, histolojik ve EKG ile kardiyak belirteçler üzerinden kıyasladığımızda Borik asit ve Omega-3' ün birbirleri arasında anlamlı bir üstünlüklerinin olmadığı görüldü.

MI tanısı klinik, laboratuvar ve EKG değişiklikleri tespit edilerek konmaktadır. Miyokard hasarı sonucu, kan dolaşımına kalp dokusundan yüksek oranda CK-MB izoenzimi salınır. MI değerlendirmede tek bir CK-MB ölçümüne güvenilmemeli, bunun yerine bu enzimlerin zaman içerisindeki yükseliş ve düşüşleri dikkate alınmalıdır. İskelet kası tarafından salınan CK-MB, kalp kası tarafından salınana göre genellikle daha uzun süre yüksek kalır ve CK-MB'nin günlerce yüksek kaldığı plato paterni denen bir duruma neden olur (Varoğlu, 2002).

CK hem iskelet hem de kardiyak kasında mevcuttur ve miyosit nekrozu oluştuğunda kana salınır. Total CK, miyokardiyal nekrozun bir sensitif markıdır ancak spesifitesi çok azdır. Çünkü iskelet kasında yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır (Rajappa & Sharma, 2005). Miyokardiyumdaki total CK aktivitesinin %10-30'u CK-MB'dir. Kalbe ait damarların kan akımının kesilmesi ile oluşturulan akut miyokardiyal hasardan 5 saat sonra CK-MB'nin 5 kat arttığı tespit edilmiştir (Apple, 1999b). Yeni kardiyak markırlarla karşılaştırıldığında CK-MB, klinik uygulamada yüksek yararlılığı olan altın standarttır. İlk semptomlardan sonra ilk 24 saatteki ölçümlerin miyokardiyal hasar yönünden yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olduğu iddia edilmektedir (Rajappa & Sharma, 2005). Bizim CK-MB ölçümlerimiz de MI modeli oluşumundan on iki saat sonra alınan kanların serumlarında yapılmıştır. MI grubunda görülen yüksek CK-MB aktivitesi kardiyomiyopati tablosunu göstermektedir.

Serum CK-MB düzeyi değerlendirildiğinde MI grubu CK-MB düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı görülmüştür ve bu artış istatistik olarak ileri düzeyde anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p < 0,001$). MI grubu ile MI+Borik asit, MI+Omega-3 ve MI+Borik asit+Omega-3 grupları arasında kıyaslandığında ise sırası ile %27.66, %17.20, %21.42 oranlarında azalma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Böylece MI+Borik asit kullanımının etkisi serum BNP düzeylerinde de görülmektedir. Miyokardiyal nekrozun bir belirteci olan CK-MB üzerinde Borik asit etkisinin Omega-3'e oranla daha etkin olduğu saptanmıştır.

KKH norepinefrin düzeyi miyokard üzerinde miyosit hipertrofisi, toksite ve apoptozu içeren yan etkiler gösterir (Bristow, 2000). Hayvan ve insan modellerinde nörohormonlar kalp üzerinde olumsuz etkiler göstermektedir. Renin anjiyotensin sistemi ve natriüretik peptidlerin düzeyi hastalığın gidişatı ile koreledir fakat bu kalp hastalıklarının bir nedeni olmaktan ziyade bir

sonucudur (Iacovoni, De Maria, & Gavazzi, 2010). Sol ventrikül miyokardiyumundaki natriüretik peptidler ANP ve BNP kalp duvarında artan bir gerilimi yansıtır (Petermann vd., 2006).

Çalışmamızda Serum BNP düzeyi MI grubunda kontrol grubuna göre arttığını gördük ve bu artış istatistik olarak ileri düzeyde anlamlıydı ($p < 0,001$). MI+Borik asit grubunun MI grubuna göre önemli düzeyde azalması istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi ($p < 0,05$). MI+Omega-3 grubu MI grubuna göre kıyaslandığında ise %9.10 oranında azaldığı görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmemiştir. MI+Borik asit+Omega-3 grubu MI grubuna ile kıyaslandığında %6.49 oranında azaldığını gözlenmiştir ve istatistiksel olarak anlamlı değildir. Böylece MI+Borik asit kullanımı etkisi serum BNP düzeylerinde de görülmektedir.

MI ve Aterosklerotik lezyonun gelişimi, plak yırtılması ve sonuçta aterosklerozun progresyonu kronik inflamatuvar bir olaydır. Devam eden inflamatuvar olayın yarattığı kompleks aterosklerotik plaklar MI için substrat olmaktadır. Bunlar büyük lipid havuzlar içeren, ince fibröz başlıklı, artan makrofaj infiltrasyonu gösteren, düz kas hücre içeriğinin azaldığı duyarlı plaklardır (Fayad, Fuster & 2001). İnflamasyonun serum belirteçlerinde (IL-6) görülen yükselme ile akut koroner sendrom riski arasında pozitif bir korelasyon vardır (Boersma vd., 2003).

Sitokinlerin MI inflamatuvar olaylarla uyarılabilirler ve inflamasyonda en önemlileri interlökinler (IL) ve tümör nekroz faktörü-alfa'dır (TNF- α). Özellikle IL-6 ve TNF- α birçok ortak biyolojik özellikleri paylaşır. Her ikisi de aktive makrofajlar, lenfosit ve diğer hücre tipleri tarafından oluşturulur ve pro-inflamatuvar sitokinler olarak adlandırılırlar (Kuralay & Çavdar, 2006).

Apoptozise uğrayan hücreler parçalanmadan ve inflamasyonu uyarmadan önce fagosite edildiği için inflamasyon gelişmemektedir (Halliwell & Gutteridge, 1999) (Klaassen, 2001) (Kregel & Zhang, 2007).

Son çalışmalarda; MI başlaması, gelişimi ve tamamlanması sürecinde inflamasyonun önemli işlevi olduğu bildirilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda, birçok çalışmada inflamasyon belirteçleri, koroner kalp hastalıklarının ve miyokard infarktüsünün bir göstergesi olarak araştırılmıştır. TNF- α gibi birçok sitokin, miyokard infarktüsü için yeni potansiyel risk faktörü olarak araştırılmıştır (Ertek & Karatan, 2004).

Kalp hastalıklarında tüm aşamalarında immün sistemin önemli işlevi olduğu saptanmıştır. Kalp hastalıklarının başlaması, gelişimi ve tamamlanması sürecinde inflamasyonun rolü ile ilgili yapılan çalışmalar; inflamasyonun KKH' da önemli bir parametre olduğunu göstermiştir (Libby,

2000). İnflamasyonun biyokimyasal belirteçlerinin miyokard infarktüsünün (MI) önemli bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir (Kritchevsky, Cesari, & Pahor, 2005).

IL-6 ve TNF- α bazı türlerde MI cevabın verilmesi ve ardından sepsis benzeri semptomların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Yine bazı türlerde KKH durumlarında IL-6 ve TNF- α düzeylerinin çok yükseldiği ve bu süreçte hayatta kalma süresi ile negatif korale olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.

Omega-3, IL-6 ve TNF- α aktivasyonunu önleyerek vasküler enflamasyonu inhibe eder ve Omega-3 yağ asitlerinin IL-6 ve TNF- α gibi bazı medyatörlerin salınımında azalma sağlamaktadır (Ertek & Karatan, 2004).

Bizim çalışmamızda, MI grubunun serum TNF düzeylerinde önemli düzeyde yükselme bulundu ($p < 0,01$). MI+Borik asit grubu, MI grubuna göre kıyaslandığında %54.32 oranında azaldı ve istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmedi. MI+Omega-3, MI+Borik asit+Omega-3 grupları MI grubuna göre kıyaslandığında istatistiksel olarak ileri düzeyde azaldı ($p < 0,001$). MI+Omega-3, MI+Borik asit+Omega-3 grubu kontrol grubuna göre sırası ile %1.79, %32.12 oranlarında azaldığını görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı olmadıkları sonucuna varıldı.

Bu çalışmada, MI serumlarının IL-6 düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla %43.12 oranında artış elde edilmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. MI+Borik asit grubu, MI grubu ile kıyaslandığında %39.62 oranında azalma görülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmemiştir. MI+Omega-3 grubu ile MI grubu kıyaslandığında ise ileri düzeyde azalma gözlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). MI+Borik asit+Omega-3 grubu ile MI grubu arasında ise önemli düzeyde azalma elde edilmiştir ve anlamlı olarak değerlendirilmiştir ($p < 0,05$).

ROS'nin zararlı etkilerinden en çok etkilenen hücre elemanları membran lipitleridir. Oksidatif hücum özellikle poliansatüre (çoklu) yağ asitlerinin (PUFA) peroksidasyonu ile kendisini gösterir. Lipit peroksidasyonu sonucu poliansatüre yağ asitlerinden H atomunu kopararak lipit radikallerinin oluşturmasını sağlar (Sushamakumari & Menon, 1987). Bu radikaller biraraya gelerek konjuge dien'leri yaparlar. Devam eden oksidasyonla bu dienler de parçalanır, malondialdehit bu zincir sırasında bir ara ürün olarak oluşur. Bu nedenle malondialdehit düzeyi oksidatif PUFA hasarının bir göstergesi olarak kabul edilir. Lipit peroksidasyonu PUFA'dan oluşan bu ürünün malondialdehit miktarının artması ise hasar göstergesi olarak kabul edilmiştir (Janeiro & Burghardt, 1989). MI esnasında oluşan miyokardiyal hücre hasarını

göstermede MDA seviyesi de çok önemli rol oynar (Mohanty vd., 2004). Ayrıca lipit peroksidasyonu MI'nin şiddetini ve onunla ilgili komplikasyonlarıyla doğrudan orantılı olabilir (Hamberg, Svensson, Wakabayashi, & Samuelsson, 1974). Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer olarak kontrol grubu ve MI oluşturulmuş gruplardaki ratların kalp dokusundan elde ettiğimiz MDA düzeyinde istatistiksel olarak ileri düzeyde yükselme bulundu ($p < 0,001$). MI+Borik asit, MI+Omega-3, MI+Borik asit+Omega-3 ile MI grubuyla kıyaslandığında ileri düzeyde düşüş görülmüştür ($p < 0,001$). Borik asit kullanılan grupta diğer gruplara göre daha fazla azalma saptanmıştır.

İnflamasyon sırasında açığa çıkan nitrik oksit (NO) reaksiyona girmesi sonucu peroksinitritler oluşur. Peroksinitritler hücrel hasardan sorumlu moleküllerdir. Hücrel hasar sonucu olay yerine gelen inflamatuvar hücreler salgıladıkları çeşitli sitokinler ile inflamasyonu başlatır. Omega-3 hem inflamasyonu azaltıcı etkisi, hem de hücrel düzeyde fibrozis oluşturan transkripsiyon faktörleri üzerine etkisi ile fibrozis oluşumunu azaltır (Çolak, 2010) (Li dv., 2005) ki bu çalışmada görüldü.

Nitrik oksit (NO), vasküler endotelde endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) enzimi tarafından L-argininden sentezlenen vazoaktif bir maddedir ve vasküler düz kas gevşetici etkisi ile endotel bağımlı vazodilatasyonun ana mediyatörüdür (Kilinc & Kilinc, 2003). Bazal NO salınımının bazal vasküler tonusun sağlanmasında ve kan basıncının düzenlenmesindeki rolü çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Quyyumi vd., 1995). NO'nun vasküler endotelde ateroskleroz gelişimini önleyici çeşitli etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Trombosit ve lökositlerin endotele yapışmasını önler, vasküler düz kas hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu azaltır; LDL-K oksidasyonunu kısıtlayarak LDL-K'nin aterojenik LDL-K'ye dönüşümünü engeller. eNOS enziminin kronik inhibisyonunun aterosklerozu hızlandırdığı ve kan basıncında yükselmeye neden olduğu hayvan deneyleriyle ortaya konmuştur (Shesely vd., 1996).

NO üretimi ortamda bulunan oksijen miktarı ile doğru orantılı artarken, yüksek ve sabit bir hızda radikal sonlandırma reaksiyonu ile hidroksil radikali benzeri aktiviteye sahip daha toksik bir oksidan olan peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) oluşturmak üzere süperoksit ile reaksiyon verir (Liu, Hock, Nagele, & Wong, 1997). Böylece NO, oksijen serbest radikallerinin etkileri ile oluşan endotel harabiyeti sonucunda üretimi azalmakta ve direkt olarak oksijen serbest radikalleri ile büyük bir hızla reaksiyona girerek bloke olmaktadır (Ricardo, Susana, Jose & Domingo, 1988). Artmış serbest radikal düzeyleri peroksinitrit oluşumu yoluyla hem daha toksik bir radikal oluşturmakta hem de NO'nun yararlanımını azaltmaktadır. Artmış NO üretiminin koruyucu olarak etki göstermesinin beklenmesine rağmen Bouloumie ve ark (Bouloumie vd., 1997) deneyleriyle ortaya konmuştur.

NO çok reaktif bir moleküldür ve bu yüzden çok sayıda potansiyel moleküler hedefi bulunur. Guanilil siklaz'ın (sGC) hem parçasını bağlayarak, bu enzimin aktivitesini arttırır (Feelisch & Stamler, 1996). Hepsinin sonucundaki cGMP seviyelerinde yükselme cGMP bağımlı protein kinaz kaskadını aktive eder. Protein kinazlar düz kas gevşemesini ve trombosit adezyonunun inhibisyonunu düzenler. İlginç olarak, NOS enziminin hem parçasına NO bağlanması sonucu oluşan konformasyon değişiklikler enzim aktivitesini inhibe ederek, yüksek NO seviyelerinin NO üretimini kısıtladığı otoregülatuar bir geri bildirim oluşturur (Rogers & Ignarro, 1992).

NO'nun diğer biyolojik etkileri proteinlerdeki sülfidril kalıntıları ve demir-sülfür merkezler ile etkileşmesi ile oluşur (Feelisch & Stamler, 1996). Son zamanlarda Lander ve ark., (Lander, Ogiste, Pearce, Levi, & Novogrodsky, 1995) küçük GTPaz p21ras'ın NO için başka bir moleküler hedef olduğunu göstermiştir. NO, p21ras üzerindeki sistein kalıntısını (Cys118) nitroziller. Bu sayede GTPaz'ı aktifler, MAP kinaz ve NF-κB sinyal iletim yollarını uyarır. NO aynı zamanda süperoksit anyonları gibi oksijen kaynaklı serbest radikaller ile reaksiyona girerek, peroksinitrit anyon ve hidroksil radikali gibi çok reaktif moleküller oluşturabilir (Feelisch & Stamler, 1996). Bu toksik parçaların oluşması lipid peroksidasyonunu indükleyerek inflamatuvar yanıtın karakteristik özelliği olan doku hasarına katkıda bulunabilir (Lipton vd., 1993).

Katekolamin ile uyarılmış nekrozda, siklik adenozin monofosfat (cAMP) düzeylerindeki artışın (Bhagat vd., 1976), intrasellüler kalsiyum artışının ve yüksek enerjili fosfatların tüketilmesinin (Fleckenstein, 1974) Katekolaminler tarafından uyarılan miyokardiyal nekrozun patogenezi multifaktöryel olmasına rağmen oksidatif stresin önemli rolü olduğu gösterilmiştir (Banerjee vd., 2003).

Omega-3 Nitrik oksit düzeyini arttırarak arter kompliyansını arttırır (Ertek & Karatan, 2004). Omega-3 yağ asitlerin hücre membranı yapısına katılmasıyla NOS ekspresyonu artar ve NO üretimi artar. Artan NO cGMP ve PKG sinyal yolunu aktive eder, hücre içi haberciler olan pSMAD proteinlerinin nükleusa geçişleri bloke olur, kollajen üretimi azalır, fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümü azalır böylece fibrozis azaltılmış olur (Wang & O'Horo, 2011). Omega-3 yağ asitlerinden nitrik oksitle oluşan nitrolipidler (örneğin nitrolinoleat) ise düz kaslarda gevşeme, trombosit aktivasyonu, nötrofil fonksiyonlarının ve inflamasyonun baskılanması gibi olaylara neden olur (Das, 2006)

Ratlarda yapılan bir çalışmada, indüklenebilen nitrik oksit sentaz (iNOS)'daki artışın aort endotel fonksiyonlarında gelişmeden ziyade gerileme ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, NO

sinyal yolunun, *in vivo* ve *in vitro* kalp kasının kasılma özelliklerini düzenlemede doğrudan bir role sahip olduğuna dair ipuçları vermektedir. Ayrıca NO[•] ile oluşan peroksinitrit, Ca⁺² transport sistemini bozarak ve miyokard kontraktıl proteinlerinin fonksiyonunu zayıflatarak Ca⁺² akışını arttırabilir ve mitokondriyal ATP sentaz ve akonitaz gibi hücreselel enzimlerin aktivitesini inhibe edebilir (Balligand vd., 1994).

Bizim çalışmamızda, NO düzeyleri kontrol grubuna göre grupların hepsinde yükseldi. MI grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında %20.87 oranında artış görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. MI+Borik asit, MI+Omega-3 Asit, MI+Borik asit+Omega-3 gruplarla ise MI grubu kıyaslandığında sırası ile %1.02, 10.36 ve %9.98 oranında yükselme gözlemlendi ve istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmedi. Böylece Omega-3 kullanımının diğer gruplara göre Nitrik oksit düzeyini daha fazla arttırdığı sonucuna varılmıştır.

MI'da moleküler oksijenin indirgenmesi veya uyarılması sonucu serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır (Kukreja vd., 1986). İskemi reperfüzyon sırasında, hidrojen peroksidin lipit peroksidasyonuna yol açmasına bağlı ortaya çıkan oksidatif stres, membran hasarına yol açan mekanizmalardan birisidir ve intraselüler kalsiyum artışına ve "stunned" miyokardiyumda miyokard kontraktılitesinin disfonksiyona neden olur (Dhalla vd., 1999) (Liu, Hock, Nagele & Wong, 1997) (Halliwell & Gutteridge, 1989). Hücreler oksidatif hasarı önleyen yada kısmen azaltan mekanizmalara sahiptir. Doku hasarının tetiklemelele ile gelişen biyokimyasal olaylarda antioksidan sistem yetersiz kalmaktadır. İskemik dokuda oksidanlara bağlı olarak iskemi süresince CAT gibi enzimlerin inhibisyonunun hızlandığı ve buna bağlı olarak hücrelerin reperfüzyon sırasında hızla oluşan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale geldiği rapor edilmiştir (Nath & Norby, 2000).

Bizim çalışmamızda da ISO ile indüklenen kardiyak hasar da CAT aktivitesi önemli rol oynamış olabilir. SOD, süper oksit radikallerini daha zararsız olan H₂O₂ radikaline dönüştürmektedir (Gutteridge, 1995). Bizim çalışmamızda da bu bilgileri destekler şekilde CAT aktivitesi azalmıştır. Bu enzimlerin azalması süperoksit ve H₂O₂ oluşumunu artırarak daha toksik olan OH[•] radikallerinin oluşmasına neden olabilir. Çalışmamızda oluşan bu enzimlerin aktivitesinin azalmasının miyokardiyal hasara neden olmuş olabileceğini düşünmekteyiz. Zaten iskemi sonrasında oluşan serbest radikaller CAT aktivitesini değiştirirler (Padmanabhan & Stanely Mainzen, 2006).

Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer olarak ISO ile MI oluşturulmuştur. Kontrol grubumuzdaki ratların kalp doku örneklerinden elde ettiğimiz antioksidan enzimlerden CAT seviyelerinin %30.26 oranında azalmış

olduğu tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. MI+Borik asit, MI+Omega-3, MI+Omega-3+Borik asit kullanılan gruplarda MI grubuna göre sırası ile %16.92, %27.21, %21.11 oranlarında yükselme gözlenmiş ve istatistik olarak anlamlı olarak değerlendirilmemiştir. Oksidatif stresin diğer göstergelerinden biri olan PON1, antioksidan enzimlerin tersine olarak artmış olduğu tespit edilmiştir. ISO ile indüklenmiş MI'da doku savunma sistem aktivitesinin azaldığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadırdır (Lei, Pan, Aggarwal, Chen, Hartman & Sucher, 1992) Azalmış olan CAT aktivitesi diğer yapılan çalışmalarla örtüşmektedir (Sushamakumari & Menon, 1987) ISO grubunda azalmış CAT enziminin aktivitesi, artmış serbest radikal üretiminin bir işareti olarak kabul edilebilir.

Paraoksonaz-1 (PON1) karaciğerde sentezlenip HDL-K üzerinde lokalize olan bir proteindir. Aynı zamanda kalsiyum bağlı bir esteraz olup okside fosfolipidleri hidroliz edebilme yeteneğine sahip bir enzimdir ve bu yüzden de lipoproteinleri (HDL-K, LDL-K) ve membranları oksidatif modifikasyona karşı korumaktadır (Ferretti vd., 2005). PON1'in, antioksidan mekanizma olarak önemi buradan kaynaklanmaktadır. Lipid bileşimi (lipid içeriğinin yüzdesi veya lipid peroksidasyon ürünü) ve lipid-apoprotein etkileşimi, lipoproteinlerin yapısal organizasyonu ile fizikokimyasal özelliklerinde önemlidir (Ferretti, Bacchetti, Marchionni, Caldarelli & Curatola, 2001). HDL-K'nin okside olmasıyla birlikte reverse kolesterol transportu düzenleme kabiliyeti bozularak antiaterojenik aktivitesi azalırken, aynı zamanda lipoproteinleri ve membranları oksidatif hasardan koruma yeteneği de kaybolmaktadır (Garin, Kalix, Morabia & James, 2005). Yazarlar HDL-K'nin doğal antioksidan özelliğinin kaybolmasına modifiye HDL-K durumunun neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yapılmış çalışmalarda da HDL-K kompozisyonunun PON1 aktivitesini etkilediği gösterilmiştir (Garin, Kalix, Morabia & James, 2005).

PON1 aktivitesi, KKH ile ilişkisi birçok çalışmada araştırılmıştır. KKH insidans ve şiddetini arttırdığı görülmüştür. Konuyla ilişkili olarak Graner ve ark., (Graner vd., 2006) PON1 aktivitesi ve konsantrasyonunun KKH'li bireylerde daha düşük olduğunu ve bu düşüklük ile KKH şiddeti arasında anlamlı bir ilişki olduğuna işaret etmişlerdir. Aynı zamanda arilesteraz aktivitesinin de PON1 ile birlikte bu hastalarda düşük olduğu görülmüştür (Gur vd., 2006).

PON1 aktivitesindeki azalmanın lipid peroksidasyonunun ve serbest radikallerin artışına bağlamışlardır. Kumon ve ark., proinflamatuvar sitokinlerin PON1 aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir (Kumon vd., 2002).

PON-1 serum ve dokularda oksidatif stresi de azaltmaktadır ve kardiyovasküler hastalıklara karşı korumaktadır (Aviram & Rosenblat, 2004).

Lewis ve arkadaşları (Lewis, Lookinland, Beckstrand & Tiedeman, 2004) yaptıkları metanalizde Omega-3 yağ asidinin TG, TK, VLDL ve LDL düzeylerini sırasıyla %29, %11,6, %30,2 ve %32,5 oranlarında azalttığını, HDL düzeylerini %10 oranında arttırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, en düşük PON1 aktivite düzeyi MI grubunda iken en yüksek aktivite ise kontrol grubuna aitti. Bu durum koruyucu etkinliğini gösterir niteliktedir. MI+Borik asit, MI+Omega-3, MI+Borik asit+Omega-3 grup MI grupla kıyaslandığında sırası ile %45.7, %24.92, %50.27 oranlarında yükselme vardı. Ayrıca, ARE aktivite düzeyine MI grup ve kontrol grupla rastlanmasına karşın ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ama MI grubu kontrol grubuna göre %3.17 oranında yükselme görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı değildi. MI+Borik asit, MI+Omega-3, MI+Borik asit+Omega-3 grup MI grupla kıyaslandığında sırası ile %17.34, %20.14, %1.26 oranında yükselme vardı ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Sonuç olarak MI gelişiminde proinflamatuvar sitokinler, lipid peroksidasyonunun ve protein oksidasyonunun artışı, PON1 gibi antioksidanların ve çift yönlü etki mekanizması olan NO gibi osteoklast aktivasyonunu baskılayan radikallerin azalışının etkili olabileceği kanısındayız.

Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu mekanik, metabolik ve regülatör süreçler gibi çeşitli hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde bir ikinci haberci olarak merkezi rol oynar (Berridge, Bootman & Lipp, 1998). Miyokardiyumda kalsiyum konsantrasyonunun kontrolündeki bir sıkıntı çeşitli miyokardiyal fonksiyonların bozulmasıyla sonuçlanır ve hücrenin hayatta kalmasını etkiler. Miyokardiyal iskemi veya hipoksi boyunca miyokardiyal kalsiyum konsantrasyonunda karakteristik bir yükselme oluşur (Arthur & Belcastro, 1997). Akut iskemi durumunda, anaerobik metabolizma yetersizleşince hücre içi ATP sunumu azalır. Sonuçta intrasellüler asidoz gelişir ve ATP'ye bağımlı süreçler bozulur (hücre içi Ca^{2+} toplanır, ödem ve hücre ölümü oluşur) (Marks, Smith, Chansky, & Lieberman, 2007). miyokardiyal hücre ölümünde kilit olaydır ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonuna bağımlı enzimlerin aktivasyonu ile sonuçlanır. Miyokardiyal kalsiyum konsantrasyonundaki artış, miyokardiyal proteinlerde hasara neden olacak kalpainleri aktive edebilir ve miyosit ölümüne götürür, miyokardiyal yapı ve fonksiyon kaybıyla sonuçlanır (Sandmann, Prenzel, Shaw, Schauer, & Unger, 2002).

Çalışmamızda Borik asit ve Omega-3 uygulaması yaptığımız sıçanların kalp sol ventrikül dokusunda kalsiyum bağımlı kalpain aktivitesi ölçüldü ve MI grubu kalpain aktivitesi sonuçlarımız kontrol grubuna göre çok önemli düzeyde artış gösterdi ($p<0,01$). MI grubunda görülen kalpain aktivitesindeki artışın, MI hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu artırıcı etkilerinden dolayı

olabileceğini düşünürüz. Meydana gelen bu yüksek kalp aktivitesini ve sonrasında oluşacak hücre ölümünü engellemek amacıyla Borik asit ve Omega-3 kullandığımız grubunda, MI+Borik asit grubu MI gruba göre istatistik olarak daha çok önemli düzeyde düşüşü anlamlıydı ($p<0,01$). MI+Omega-3 grubu MI grubuna göre önemli düzeyde kalp aktivitesi azaldığı görülmüştür ($p<0,05$). Sonuçlarımızın Borik asit ve Omega-3 grubu kalp aktivitesi ve kontrol grubu hemen hemen aynı seviyede görülmesi, kullandığımız Borik asit ve Omega-3 etkinliğini göstermektedir. Bu durum doku hasarını azaltmayı amaçladığımız çalışmamızın odak noktasıdır. Çünkü miyokard infarktüsü, hipertansif kardiyomiyopati ve iskemi reperfüzyon hasarını içeren çeşitli patolojik durumlarda kalp aktivitesinin arttığını gösteren sayısız çalışma yapılmıştır (Arthur & Belcastro, 1997) (Barranco, Kim, Stella & Eckhert, 2009)

EKG, kalp ritim ve miyokart bozukluklarında uyarım merkezleri ile uyarı iletiminin aksaklıklarında, koroner damar rahatsızlıklarında ve kalp hipertrofilerinin tanısında önemli katkılar sağlar (Costant, 2003). Dalgaların süre ve amplitüdü ve kalbin ortalama elektriksel eksen değeri değerlendirilip karşılaştırıldığında ST ve elektriksel eksen değerlerinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar bulunmadı. MI'dan sonra EKG, ST segment elevasyonu (yükselme) olabilir veya olmayabilir. ST segment elevasyonu büyük çoğunluğunda miyokard infarktüsü meydana gelir. Bu gibi hallerde; ancak kardiyak enzimlerin takibiyle ayırıcı tanı yapılabilir (Yıldırım & Müderrisoğlu, 2001)

Çalışmamızda sıçanlara MI uyguladıktan sonra yaptığımız EKG çekimlerinde miyokard infarktüsü bulguları saptandı. Çalışmamızda miyokard hasarının belirteçlerinden EKG'de, ST dalgası ölçülmüştür. Gruplarımızın EKG'lerinde ST dalgası değerlendirildiğinde MI grubunun, kontrol grubuna göre net olarak yükselmesi bu sıçanlarda bir kalp hasarı oluştuğunu açıkça göstermekte ve bu artış istatistik olarak ileri düzeyde anlamlı olarak ifade edilmektedir ($p<0,001$). MI+Borik asit ile MI grubu kıyaslandığında ise ileri düzeyde düşmüştür ($p<0,001$). MI+Omega-3, MI+Borik asit+Omega-3 grupları ile MI grubu arasında önemli düzeyde düşüş ($p<0,01$) gözlenmiştir. Bu durum koruyucu etkinliğini gösterir niteliktedir. MI grubu ile MI+Borik asit arasında önemli düzeyde azalma olması da anlamlı bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda sıçanlara MI uyguladıktan sonra yaptığımız çekimlerinde kalp atışı EKG ile ölçüldü. Gruplarımızın MI grubunun kalp atışı değerlendirildiğinde kontrol grubuna kıyasla net olarak yükselmesi bu sıçanlarda Taşikardi oluştuğunu açıkça göstermektedir. Bu artış istatistiksel olarak da ileri düzeyde anlamlı olarak değerlendirilmektedir ($p<0,001$). MI+Borik asit ile MI grubu kıyaslandığında ise kalp atışı değerinde ileri

düzeyde düşüş ($p<0,001$) ve MI+Omega-3 grubu ile kontrol grubu arasında önemli düzeyde yükselme ($p<0,01$) gözlenmiştir. Bu durum koruyucu etkinliğini kanıtlar niteliktedir. MI grubu ile MI+Borik asit grupları mukayese edildiğinde aralarında önemli düzeyde azalma olması da anlamlı bulunmuştur.

Işık mikroskobu incelemesi ile kalp kası hücrelerinin, interkalar disk yapıları ve merkezi yerleşimli ökromatik nükleuslarıyla histolojik yapıdaki kas hücreleri incelenmiştir. MI grubunu oluşturan ratların kalp kası hücrelerinin yoğun hasarlı devamlılığı bozulmuş ve nekrotik miyofibril yapıları, interstisyel alanda mononükleer hücrel infiltrasyon ile ödem ve vasküler konjesyon görülmüştür.

MI+Omega-3 grubunda kısmi inflamasyon devam etmekle birlikte, interkalar disk yapıları ve merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla normale yakın, MI+Borik asit grubunda interkalar disk yapıları ve merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla birlikte normale yakın olduğu görülmüştür. MI+Omega-3+Borik asit grubunda ise diğer gruplara göre daha az da olsa azalmış hasarla birlikte merkezi yerleşimli eukromatik nükleuslarıyla normale yakın histolojik yapıdaki kas hücreleri görülmüştür. Bu bize Borik asit ve Omega-3'ün MI üzerindeki koruyucu göstermektedir.

TEM mikroskobu incelemesinde kalp kası hücrelerinin, kas miyofibrilleri, miyofilaman yapıları ve hücre nükleusu ile birlikte normal yapıda olduğu gözlenmiştir. İnterstisyel alanda normal görünümlü mitokondri yapıları gözlenmekte ve MI grubunu oluşturan ratların kas hücrelerinde miyofibriler dejenerasyon, kas liflerinde düzensizlik dikkat çekmiştir. Ayrıca interstisyel alanda ödem, artmış lipid yapıları ve mitokondriyal hasar gözlenmiştir. Miyofibriler dejenerasyona rağmen, kas lifinde korunmuş interkalar disk yapısı görülmüştür.

MI+Omega-3 grubunda kas miyofibrilleri, interstisyel alanda normale yakın görünümlü mitokondri ve MI+Borik asit ve MI+Omega-3+Borik asit grubunu'da kas miyofibrilleri ve miyofilaman yapıları, interstisyel alanda normale yakın görünümlü mitokondri yapıları görüldü. Bu bize Borik asit ve Omega-3'ün MI üzerindeki TEM incelemesinde koruyucu göstermektedir.

6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada biyokimyasal, histolojik ve EKG testler kullanılarak, ISO ile kalp dokusu üzerinde oluşturduğu hasarla meydana gelen kardiyomiyopati araştırılmıştır. Miyokard hasarı Kalp dokusunda biyokimyasal metotlarla ölçülen ARE, NO, kalpain aktivasyonu arttığı ve Katalaz, PON1 düşüşü görülmüştür. serum belirteçleri CK-MB, BNP, TNF- α ve IL-6 düzeylerinde yükselme saptanmıştır. Böylece hücre ölümü yolağının aktivasyonu gözlenmiştir. Histolojik yöntemlerden TEM ve ışık mikroskobu incelemeleri, biyokimyasal verilerimizi destekler niteliktedir. EKG incelemesi ST dalgası ve kalp atış düzeyinin yükseldiği görülmüştür. Bu sonuçlarımız ISO'nun neden olduğu kardiyomiyopati modelini kanıtlar niteliktedir. Ayrıca Borik asit, Omega-3 ve kombine önceden alan gruplar bu MI modelinin bu parametrelerin tersini yaparak iyileşme göstermişlerdir. Borik asidin tek başına Omega-3 ve kombine gruplara göre daha iyi geldiği görülmüştür ve bu konu literatürde yer alan MI bilgilerini desteklemekte, onlara katkı sağlamaktadır.

Bu çalışmada elde edilen veriler, MI modelinde gerçekleşen biyokimyasal, histolojik ve EKG testler ile kardiyak patolojinin gelişiminde önemli bir role sahip potansiyel terapötik hedef olduğunu, doku hasarını azaltmak için kullanılan Borik asit, Omega-3 ve kombine kardiyoprotektif etkisinin olabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde TEM ve ışık mikroskobu incelemelerinde morfolojik olarak belirgin iyileşmeler görülmüştür. Böylece Borik asit, MI gibi farklı bir alanda kardiyoprotektif etkinliği tespit edilmiştir. Bu bulguların sonraki çalışmalar için bir basamak oluşturacağını inanıyoruz.

Ratlarda MI modelini yaptığımız bu araştırma; daha ileriki zamanlarda MI oluşabilecek riskli kişilerde hasarların önlenmesinde Borik asit, Omega-3 ve kombine kullanımının etkisini destekleyecek niteliktedir.

Sonuç olarak, MI ve diğer nedenlerin indüklediği kardiyomiyopati modellerinde miyokard hasarının azaltılmasında Omega-3, Borik asit ve bunların kombine uygulamasında kardiyoprotektif etkisinin olabileceğini sorgulayan *in-vivo* hayvan modelleri, *in-vitro* hücre modelleri ve ileri moleküler çalışmalarının yapılmasının ve bu bilgilerin klinik ve insan deney çalışmalarıyla desteklenmesinin sonuçların güvenilirliğini artırmada fayda sağlayacağı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Abbas, A., & Lichtman, A. (2007). *Temel İmmünoloji, İmmün sistemin işlev ve bozuklukları*. İstanbul: İstanbul medikal yayıncılık.

Abbas, A., Lichtman, A., & Rober, J. (1997). *Cytokines. Cellular And Molecular Immunology* (3th Ed.). Philadelphia: WB Saunders Company.

Aldridge, W. (1952). *Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl pnitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera*. *Biochem J*, 53(11), 7-24.

Aliev, R., & Panfilov, E. (1996). *A simple two-variable model of cardiac excitation*. *Chaos. Solutions & Fractals*, 7(3):293-301.

Anandan, R., Mathew, S., Sankar, T. V., & Nair, P. G. (2007). *Protective effect of n-3 polyunsaturated fatty acids concentrate on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats*. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 76(3), 153 -158.

Andreotti, F., Porto, I., Crea, F., & Maseri, A. (2002). *İnflammatory gene polymorphisms and ischemic heart disease: review of population association studies*. *Heart*, 87(2), 107-112.

Antman, E., & Braunvald, E. (2001). *Acute myocardial infarction in Braunwald E, Zipes DP, Libbi P, eds. Heart disease*, 6. A textbook of cardiovascular medicine. Philadelphia WB Saunders Company.

Apple, F. S. (1999). *Creatine kinase isoforms and myoglobin: early detection of myocardial infarction and reperfusion*. *Coron Artery Dis*, 10, 75-79.

Apple, F. S. (1999). *Tissue specificity of cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase-MB*. *Clinica Chimica Acta*, 284(2), 151-159.

Arbabi, L., Baharuldin, M. T., Moklas, M. A., Fakurazia, S., & Muhammad, S. I. (2014). *Antidepressant-like effects of omega-3 fatty acids in postpartum model of depression in rats*. *Behavioural Brain Research*, 271, 65-71.

Arrol, S., Mackness, M. I., & Durrington, P. N. (1996). *High-density lipoprotein associated enzymes and the prevention of low-density lipoprotein oxidation*. *Eur J Med Chem*, 4, 33-48.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Arthur, G., & Belcastro, A. (1997). *A calcium stimulated cysteine protease is involved in isoproterenol induced cardiac hypertrophy*, Mol. Cell. Biochem, 176, 241-248.

Aslan , M., Kosecik, M., Horoz, M., Selek, S., Celik, H., & Erel, O. (2007). *Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia*. Atherosclerosis, 191(2), 397-402.

Aviram, M., & Rosenblat, M. (2004). *Paraoxonases 1, 2, and 3, oxidative stress, and macrophage foam cell formation during atherosclerosis development*. Free Radic Biol Med, 37(9), 1304-16.

Başkol, G., & Köse, G. (2004). *Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi*. Erciyes: Tıp Dergisi.

Badır, A., & Türkmen, E. (2002). *Elektrokardiyografi: EKG Analizi Aritmilerin Tanı ve Tedavisi*. İstanbul: Özlem Grafik Matbaacılık.

Bahattin, B. (2013). *Günlük crataegus oxyacantha (alıç) uygulamasının ratlarda biyokimyasal ve ekg değerlerine etkisi*, Veterinerik Doktora Tezi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van.

Bakan, E. (2001). *Klinik Biyokimya Laboratuvar El Kitabı*. Erzurum: Aktif yayınevi.

Balligand, J. L., Ungureanu-Longrois, D., Simmons, W. W., Pimental, D., Malinski, T. A., Kapturczak, M., Taha, Z., Lowenstein, C. J., Davidoff, A. J., & Kelly, R. A. (1994). *Cytokine- indu-cible nitric oxide synthase (iNOS) expression in cardiac myocytes*. J. Biol. Chem , 269(44), 27580-8.

Banerjee, S. K., Sood, S., Dinda, A. K., Das, T. K., & Maulik, S. K. (2003). *Chronic oral administration of raw garlic protects against isoproterenol-induced myocardial necrosis in rat*. Comp Biochem Physiol Toxicol Pharmacol , 136(4), 377-86.

Banik, N., Hogan, E., & Powers, L. (1982). *Degradation of cytoskeletal proteins in spinal cord injury*. Neurochem Res, 7, 1465-1475.

Barranco, W. T., Kim, D. H., Stella, SL. Jr., Eckhert, C. D. (2009). *Boric acid inhibits stored Ca²⁺release in DU-145 prostate cancer cells*. Cell Biol Toxicol, 25(4), 309-20.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Baykal, Y., Karaayvaz, M., & Kutlu, M. (1998). *İnterli kinler Türkiye Klinikleri*. J-Med. Sci.

Behrendt, D., & Ganz, P. (2002). *Endothelial function: from vascular biology to clinical applications*. Am J Cardiol, 90(10C), 40L-48L.

Benjamin, I. J., Jalil, J. E., Tan, L. B., Cho, K., Weber, K. T., & Clarc, W. A. (1989). *İsoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis*. Circ Res , 65(3), 657-70.

Berridge, M., Bootman, M., & Lipp, P. (1998). *Calcium, a life and death signal*. Nature, 645-648p.

Beutler, E. (1984). *Red cell metabolism: A manual of biochemical methods*. New York: Red Cell Metabolism.

Bezard, J., Blond, J. P., Bernard, A., & Clouet, P. (1994). *The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues*. Semin Nephrol, 34(6), 539-68.

Bhagat, B., Sullivan, J. M., Fischer, V. W., Nadel, E. M., & Dhalla, N. S. (1976). *cAMP activity and isoproterenol-induced myocardial injury in rats*. Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab, 12, 465-70.

Boersma, E., Mercado, N., Poldermans, D., Gardien, M., Vos, J., & Simoons ,M. L. (2003). *Acute myocardial infarction*. Lancet, 361(9360), 847-858.

Bolaños, L., Lukaszewski, K., Bonilla, I., & Blevins, D. (2004). *Why boron?*, Plant Physiology and Biochemistry, 42, 907-912.

Bolayirli, I., Aslan, M., Balci, H., Altug, T., Hacibekiroglu, M., & Seven, A. (2007). *Effect of atorvastatin therapy on hypercholesterolemic rabbits with respect to oxidative stress, nitric oxide pathway and homocysteine*. Life Sci, 81(2), 121-127.

Bonaa, K. H, Bjerve, K. S, & Nordoy, A. (1992). *Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids in plasma phospholipids are divergently associated with high density lipoprotein in humans*. Arterioscler Thromb , 12(6), 675-81.

Bouloumie, A., Bauersachs, J., Linz, W., Schölkens, B., Wiemer, G., Fleming, I., Busse, R. (1997). *Endothelial dysfunction coincides with an enhanced*

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

nitric oxide synthase expression and superoxide anion production. Hypertension, 30(4), 934-41.

Bradford, M. M. (1976). *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 72(1-2), 248-54.*

Bristow, M. R. (2000). *Beta-Adrenergic receptor blockade in chronic heart failure. Circulation, 101(5), 558-569.*

Brown, H., & Kozlowski, R. (1998). Physiology and Pharmacology of the Heart. Wiley-Blackwell. 37.

Bucher, H. C., Hengstler, P., Schindler, C., & Meier, G. (2002). N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. Am J Med , 112(4), 298-304.

Carragher, N. O. (2006). *Calpain inhibition: a therapeutic strategy targeting multiple disease states. Curr Pharm Des , 12(5), 615-38.*

Ceylan, C. (2005). *Akut Miyokard İnfarktüsünde Serum Nt-Probnp Düzeyi Ve Sol Ventrikül Ejeksiyon Fraksiyonu ilişkisi. İstanbul: İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi.*

Chen, C. T., Liu, Z., Ouellet, M., Calon, F., & Bazinet, R. P. (2009). Rapid beta-oxidation of eicosapentaenoic acid in mouse brain: an in situ study. Prostaglandins Leukotirienes and Essential Fatty Acids , 80(2-3), 157-163.

Chen, J., Shearer, G. C., Chen, Q., Healy, C. L., Beyer, A. J., Nareddy, V. B., Gerdes, A. M., Harris, W. S., O'Connell, T. D., Wang, D. (2011). *Omega-3 fatty acids prevent pressure overload-induced cardiac fibrosis through activation of cyclic GMP/protein kinase G signaling in cardiac fibroblasts. Circulation, 123(6), 584-93.*

Christie, W. W. (2010). Fatty acids: Methylene-interrupted double bonds: Structures, occurrence and biochemistry. Lipid Library.aocs.org , 1-10.

Cohen, M. V. (1978). *The functional value of coronary collaterals in myocardial ischemia and therapeutic approach to enhance collateral flow. Am Heart, 95(3), 396-404.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Collins, T., Read, M. A., Neish, A. S., Whitley, M., Thanos, D., & Maniatis, T. (1995). Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF-kappa B and cytokine-inducible enhancers. FASEB J , 9(10), 899-909.

Cortas, N. K., & Wakid, N. W. (1990). Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. Clin Chem, 36, 1440-3.

Costant, J. (2003). Pratik Elektrokardiyografi. Ankara: Güneş kitabevi.

Croall, D. E., & Demartino, G. N. (1991). Calcium-activated neutral protease (calpain) system: structure, function, and regulation. Physiol Rev, 71(3), 813-47.

Cunedioğlu, U. (2007). Aliev-Panfilov Modeli kullanarak kalbin elektriksel aktivitesinin 3-boyutlu simülasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Baskent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Çolak, Ç. (2010). Deneysel yanık modelinde omega-3 yağ asidi kullanımının yara iyileşmesi ve sistemik enflamasyon üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mersin.

Dündar, Y., & Aslan, R. (2000). Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Afyon AKÜ , 35.

Danao-Camara, T. C., & Shintani, T. T. (1999). The dietary treatment of inflammatory arthritis: case reports and review of the literature. Hawaii Med J , 58(5), 126-31.

Das, U. N. (2006). Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. Biotechnol J , 1(4), 420-39.

De Caterina, R., & Zampolli, A. (2007). Omega-3 fatty acids, atherogenesis, and endothelial activation. J Cardiovasc Med , 8, 11-4.

De Lorgeril, M., Salen, P., Martin, J. L., Monjaud, I., Delaye, J., & Mamelle, N. (1999). Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction. Circulation, 99, 779-85.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Deakin, S., & James, R. (2004). *Genetic and Enviromental factors modulating serum consentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-I*. *Clinical Science*, 107, 435-447.

Dehmer, G. J, Popma, J. J., van den Berg E. K., Eichhorn, E. J., Prewitt, J. B., Campbell, W. B., Jennings, L., Willerson, J. T., & Schmitz, J. M. (1988). *Reduction in the rate of early restenosis after coronary angioplasty by a diet supplemented with n- 3 fatty acids*. *N Engl J Med* , 319(12), 733-40.

Devirian, T. A., & Volpe, S. (2003). *The physiological effects of dietary boron*. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 43(2), 219-231.

Dhalla, N. S., Golfman, L., Takeda, S., Takeda, N., & Nagano, M. (1999). *Evidence for the role of oxidative stress in acute ischemic heart disease a brief review*. *Can J Cardiol*, 15(5), 587-93.

Domingo, J. L. (2007). *Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: Is all that glitters gold?*. *Environment International*, 33(7), 993-8.

Drexler, H. (1998). *Factors involved in the maintenance of endothelial function*. *Am J Cardiol*, 82(10A), 3S-4S.

Dubin, D. (2009). *Hızlı EKG Yorumu. Türkiye Klinikleri Yayınevi (6. Baskı). İzmir: İzmir Güven Kitabevi.*

Durrington, P. N., Mackness, B., & mackness, M. I. (2001). *Paraoxonase and Atherosclerosis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21(4), 473-480.

Dyerberg, J., & Bang, H. O. (1982). *A hypothesis on the development of acute myocardial infarction in Greenlanders*. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 161, 7-13.

Eckerson, H., Romson, J., Wyte, C., & La Du, B. (1983). *Human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their responses to salts*. *Am J Hum Genet*, 35(2), 214-27.

Ekmekçi, Ö. B., Donma, O., & Ekmekçi, H. (2004). *Paraoksonaz*. 35(2), istanbul: Cerrahpaşa Tıp Dergisi.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Elayda, M. A., Mathur, V. S., Hall, R. J., Massumi, G. A., Garcia, E., & de Castro, C. M. (1985). *Collateral circulation in coronary artery disease*. *Am J Cardio*, 55(1), 58-60.

Ellis, A. (1991). *Serum protein measurements and diagnosis of acute myocardial infarction*. *Circulation*, 83(3), 1107-9.

Emsley, J. (1989). *The elements*. Clarendon Press, 32.

Ertek, S., & Karatan, O. (2004). *Böbrek hastalarının tedavisinde omega-3 yağ asidinin yeri*. *Mecmuası: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi*.

Fayad, Z., & Fuster, V. (2001). *Clinical imaging of the high-risk or vulnerable atherosclerotic plaque*. *Circ Res*, 89, 305-316.

FDA, U. (2004). *Product formulation data*. Computer printout. Washington, DC, US Food and Drug Administration.

Feelisch, M., & Stamler, J. (1996). *Methods in Nitric Oxide Research*. Chichester: J. Wiley&Sons.

Ferretti, G., Bacchetti, T., Marchionni, C., Caldarelli, L., & Curatola, G. (2001). *Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonase activity*. *Acta Diabetol*, 38(4), 163-9.

Ferretti, G., Bacchetti, T., Moroni, C., Savino, S., Liuzzi, A., Balzola, F., Bicchiega, V. (2005). *Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females*. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(3), 1728-33.

Filippatos, G. S., Gangopadhyay, N., Lalude, O., Parameswaran, N., Said, S. I., Spielman, W., & Uhal, B. D. (2001). *Regulation of apoptosis by vasoactive peptides*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 281(4), 749-761.

Flaherty, J. T., & Zweier, J. L. (1991). *Role of oxygen radicals in myocardial reperfusion injury: Experimental and clinical evidence*. *Wien Klin Wochenschr*, 69(21-23), 1061-1065.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Fleckenstein, A., Janke, J., Döring, H. J., & Leder, O. (1974). *Myocardial fiber necrosis due to intracellular Ca overload-a new principle in cardiac pathophysiology*. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab*, 4,563-80.

Fogoros, R. (Ed.). (1999). *Elektrofizyolojiye Giriş, (3. Baskı)*. Ankara: Alfa Basım Yayın.

Güzel, S. (2008). *Akut Miyokard İnfarktüsünde Serum Matriks Metalloproteinaz-9 Düzeyleri*, Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Garin, M., Kalix, B., Morabia, A., & James, R. (2005). *Small, dense lipoprotein particles and reduced paraoxonase-1 in patients with the metabolic syndrome*. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(4), 2264-9.

Goll, D. E., Thompson, V. F., Li, H., Wei, W., & Cong, J. (2003). *The calpain system*. *Physiol Rev*, 83(3), 731-801.

Graner, M., James, R., Kahri, J., Nieminen, M., Syvanne, M., & Taskinen, M. (2006). *Association of paraoxonase-1 activity and concentration with angiographic severity and extent of coronary artery disease*. *J Am Coll Cardiol*, 47(12), 2429-35.

Gur, M., Aslan, M., Yildiz, A., Demirbag, R., Yilmaz, R., Selek, S., Erel, O., Ozdogru, I. (2006). *Paraoxonase and arylesterase activities in coronary artery disease*. *Eur J Clin Invest*, 36(11), 779-87.

Guroff, G., & neutral, A. (1964). *A neutral, calcium-activated proteinase from the soluble fraction of rat brain*. *Biol Chem*, 239, 149-155.

Gutteridge, J. (1995). *Lipid Peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage*. *Clin. Chem*, 41-12, 1819-1828.

Guyton, A., & Hall, J. (Ed.). (2001). *Tıbbi Fizyoloji, 10*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1989). *Free Radicals in Biology And Medicine*. 2.Oxford: Oxford University Press.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Hamberg, M., Svensson, J., Wakabayashi, T., & Samuelsson, B. (1974). *Isolation and structure of two prostaglandins endoperoxides that cause platelet aggregation*. Proc. Natl. Acad. Sci , 71, 345–359.

Harıkcı, E., Erbaycu, A., Çakan, A., Dereli, M., Özsöz, A., & Kalenci, D. (2001). *The evaluation of serum creatin kinase (total-CK) and creatin kinase MB (ck-MB) levels in lung cancer*. Solunum, 3, 300-305.

Harel, M., Aharoni, A., Gaidukov, L., Brumshtein, B., Khersonsky, O., Meged, R., Dvir, H., Ravelli, R. B., McCarthy, A., Toker, L., Silman, I., Sussman, J. L., & Tawfik, DS. (2004). *Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes*. Nat. Struct. Mol. Biol, 11(5), 412–9.

Harris , W., & Von Schack, C. (2004). *The omega-3 index: a new risk factor for death from coronary heart disease? . Prev Med , 39, 212-20.*

HE, K. (2009). *Fish, long-chain Omega-3 polyunsaturated fatty acids and prevention of cardiovascular disease- eat fat fish or take fish oil supplement?. Prog Cardiovascular Dis, 52(2), 95–114.*

Heinrich, P., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H. M., Müller-Newen, G., & Schaper, F. (2003). *Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation*. Biochem J, 374, 1-20.

Hunt C. D., Herbel, J. L., & Idso, J. P. (1994). *Dietary boron modifies the effects of vitamin D3 nutriture on indices of energy substrate utilization and mineral metabolism in the chick*. Bone Miner. Res, 9(2), 171–182.

Hunt, C., & Herbel, J. (1993). *Trace elements in man and animals-TEMA 8: Proceedings of the Eighth International Symposium on Trace Elements in Man and Animals, Gersdorf , 714-718.*

Iacovoni, A., De Maria, R., & Gavazzi, A. (2010). *Alcoholic cardiomyopathy*. J Cardiovasc Med, 11(12), 884-92.

İlhan, N., Şahin, Ş., Seçkin, D., & İlhan, N. (2002). *Deneyisel Kardiyak İskemi Reperfüzyon Hasarı Sonrası Eritrosit Antioksidatif Enzim Düzeyleri*, F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi, 16(3-4), 251-255.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Janeiro, D., & Burghardt, B. (1989). *Cardiac membrane Vitamen E and malondialdehyde levels in heart muscle of normotensive and spontaneously hypertensive rats*. *Lipids*, 24, 33-38.

Kaergel, E., Muller, D. N., Honeck, H., Theuer, J., Shagdarsuren, E., Mullally, A., Luft, F.C., & Schunck, W. H. (2002). *P450-dependent arachidonic acid metabolism and angiotensin-II-induced renal damage*. *Hypertension*, 40(3), 273-9.

Kar, P., Samanta, K., Shaikh, S., Chowdhury, A., Chakraborti, T., & Chakraborti, S. (2010). *Mitochondrial calpain system: An overview*, *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 495(1), 1-7.

Kehrer J. P., Smith C. V. (1994). *Free radicals in biology: Sources, reactivities, and roles in the etiology of human diseases*. *Natural Antioxidants in Human Health and Disease*. New York: Academic Press, 25-62.

Keles, M. S. , Demirci, N., Yildirim, A., Atamanalp, S. S., & Altinkaynak, K. (2008). *Protective effects of N-acetylcysteine and Ginkgo biloba extract on ischaemia-reperfusion-induced hepatic DNA damage in rats*. *Clin Exp Med*, 8(4), 193-198.

Khorchid, A., & Ikura, M. (2002). *How calpain is activated by calcium*. *Nat Struct Biol*, 9(4), 239-41.

Kilinc, A., & Kilinc, K. (2003). *Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonlari ve Toksik Etkileri*, 1. Ankara: Palme Yayinlik.

Kishimoto, A., Kajikawa, N., Tabuchi, H., Shiota, M., & Nishizuka, Y. (1981). *Calcium dependent neural proteases, widespread occurrence of a species of protease active at lower concentrations of calcium*. *J Biochem*, 90(3), 889-92.

Klaassen, C. D. (2001). Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 6. New York: McGraw-Hill Med Publ Div.

Komsala, W., Przewlocka-Kosmala, M., & Macurek, W. (2005). *Proinflammatory cytokines and myocardial viability in patients after acute myocardial infarction*. *Int.J.Cardiol*, 101(3), 449-56.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Kregel, K. C., & Zhang, H. J. (2007). *An integrated view of oxidative stress in aging: Basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 292(1), R18-R36.

Kritchevsky, S. B., Cesari, M., & Pahor, M. (2005). *Inflammatory markers and cardiovascular health in older adults*. *Cardiovas Res*, 66(2), 265–275.

Kukreja, R. C., Kontos, H. A., Hess, M. L., & Ellis, E. F. (1986). *PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH or NADPH*. *Circ Res*, 59(6), 612-9.

Kumon, Y., Nakauchi, Y., Suehiro, T., Shiinoki, T., Tanimoto, N., Inoue, M., Nakamura, T., Hashimoto, K., Sipe, J. D. (2002). *Proinflammatory cytokines but not acute phase serum amyloid A or C-reactive protein, down regulate paraoxonase 1 (PON1) expression by HepG2 cells*. *Amyloid* , 9(3), 160-4.

Kuralay, F., & Çavdar, Z. (2006). *İnflamatuvar medyatörlere toplu bakış*. Genel Tıp Der.

Lüscher, T., & Barton, M. (1997). *Biology of the endothelium* (Cilt 20). Clin Cardiol.

Lander, H., Ogiste, J., Pearce, S., Levi, R., & Novogrodsky, A. (1995). *Nitric oxide- stimulated guanine nucleotide exchange on p21ras*. *J Biol Chem* , 270, 7017- 20.

Lee, K. W., Blann, A. D., & Lip, G. Y. (2005). *Inter-relationships of indices of endothelial damage/dysfunction [circulating endothelial cells, von Willebrand factor and flow-mediated dilatation] to tissue factor and interleukin-6 in acute coronary syndromes*. *Int J Cardiol*, 111(2), 302-8.

Lei, S., Pan, Z., Aggarwal, S., Chen, H., Hartman, J., & Sucher, N. (1992). *Effect of nitric oxide formation on the redox modulatory site of NMDA receptor channel complex*. *Neuron*, 8, 1087–1088.

Lewis, A., Lookinland, S., Beckstrand, R., & Tiedeman, M. (2004). *Treatment of hypertriglyceridemia with omega-3 fatty acids: a systematic review*. *Am Acad Nurse Pract*, 16, 384-395.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Li, H., Ruan, X. Z., Powis, S. H., Fernando, R., Mon, W. Y., Wheeler, D. C., Moorhead, J. F., & Varghese, Z. (2005). EPA and DHA reduce LPS-induced inflammation responses in HK-2 cells: evidence for a PPAR-gamma-dependent mechanism. Kidney Int, 67(3), 867-74.

Libby, P. (2000). Changing concepts of atherogenesis . J Intern Med, 247(3), 349-58.

Lipton, S., Choi, Y. B., Pan, Z. H., Lei, S. Z., Chen, H. S., Sucher, N. J., Loscalzo, J., Singel, D. J., Stamler, J. S. (1993). A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. Nature , 364, 626-32.

Liu, P., Hock, C. E., Nagele, R., & Wong, P. Y. (1997). Formation of nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischemi are perfusion injury in rats. Am J Physiol, 272, 2327-36.

Lorentz, K., Wirtz, W., & Weiss, T. (2001). Continuous monitoring of arylesterase in human serum. Clin Chim Acta, 308(1-2), 69-78.

Mackness, B. (1998). Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorfizms. Febs Letter, 423, 57-60.

Mackness, M. I., Arrol, S., & Durrington, P. N. (1991). Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. FEBS Lett , 286, (1-2), 152-4.

Marcheselli, V. L., Hong, S., Lukiw, W. J., Tian, X. H., Gronert, K., Musto, A., Hardy, M., Gimenez, J. M., Chiang, N., Serhan, C. N., & Bazan, N.G. (2003). Novel docosanoids inhibit brain ischemia-reperfusion-mediated leukocyte infiltration and pro-inflammatory gene expression. J Biol Chem , 278(44), 43807-17.

Marchioli, R., Schweiger, C., Tavazzi, L., & Valagussa, F. (2001). Efficacy of n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: results of GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico. Lipids , 36, 119-26.

Mazur, A. (1946). An enzyme in animal tissues capable of hydrolyzing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophospates. J Biol Chem, 164, 271-89.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Meacham, S. L., Hunt, C. D. (1998). *Dietary boron intakes of selected populations in the United States*. Biol Trace Elem Res, 66(1-3), 65-78.

Melanson, S. F., & Tanasijevic, M. J. (2005). *Laboratory diagnosis of acute myocardial injury*. Cardiovasc Pathol, 14(3), 156-61.

Meredith, I. T., Plunkett, J. C., Worthey, S. G., Hope, S. A., & Camero, J. D. (2005). *Systemic inflammatory markers in acute coronary syndrome; association with cardiovascular risk factors and effect of early lipid lowering*. Coroner Artery Dis, 16(7), 415-22.

Meyer, B. J., Mann, N. J., Lewis, J. L., Milligan, G. C., Sinclair, A. J., & Howe, P.R. (2003). *Dietary intakes and food sources of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids*. Lipids , 38(4), 391-8.

Mohanty, I., Arya, D. S., Dinda, A., Talwar, K. K., Joshi, S., & Gupta, S. K., (2004). *Mechanisms of cardioprotective effect of Withania somnifera in experimentally induced myocardial infarction*. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 94(4), 184-90.

Moncada, S., Palmer, R. M., & Higgs, E. (1991). *Nitric Oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology*. Pharmacological Rev, 43(2), 109-142.

Moseman, R. F. (1994). *Chemical disposition of boron in animals and humans*, Environmental Health Perspectives, 102(7), 113-117.

Moss, A. J., & Benhorin, J. (1990). *Prognosis and management after a first myocardial infarction*. N Engl J Med, 322, 743-53.

Mozaffarian, Dariush., & Jason, H. Y. Wu. (2011). *Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease Effects on Risk Factors, Molecular Pathways, and Clinical Events*, J. of the American College of Cardiology, 58(20), 2047-67.

Naghii, M. R., & Samman, S. (1996). *The effect of boron supplementation on the distribution of boron in selected tissues and on testosterone synthesis in rats*. Nutritional Biochemistry, 7(9), 507-512.

Naghii, M. R., & Samman, S. (1993). *The role of boron in nutrition and metabolism*. Prog Food and Nutr Sci, 17(4), 331-349.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Naghii, M., & Samman, S. (1997). The effect of boron on plasma testosterone and plasma lipids in rats. Nutr Res, 17(3), 523-531.

Nakamura, N., Hamazaki, T., Jokaji, H., Minami, S., & Kobayashi, M. (1998). Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on plasma polyunsaturated fatty acid concentration in patients with hyperlipidemia. Int J Clin Lab Res , 28(3), 192-5.

Nakamura, N., Hamazaki, T., Ohta, M., Okuda, K., ...& Kobayashi, M. (1999). Joint effects of HMG-CoA reductase inhibitors and eicosapentaenoic acids on serum lipid profile and plasma fatty acid concentrations in patients with hyperlipidemia. Int J Clin Lab Res , 29(1), 22-5.

Nakazawa, H., Genka, C., & Fujishima, M. (1996). Pathological aspects of active oxygens/free radicals. Jpn J Physiol, 46, 15-32.

Narayanan, B. A., Narayanan, N, K., Simi, B., & Reddy, B. (2003). Modulation of inducible nitric oxide synthase and related proinflammatory genes by the omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid in human colon cancer cells. Cancer Res, 63(5), 972-9.

Nath, K., & Norby, S. (2000). Reactive oxygen species and acute renal failure. Am J Med, 109, 655-678.

Navab, M., Imes, S. S., Hama, S. Y., Hough, G. P., Ross, L. A., Bork, R. W., Valente, A. J., Berliner, J. A., Drinkwater, D. C., & Laks, H. (1991). Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. J Clin Invest, 88(6), 2039-46.

Navaei, A. (2007). Omega-3 yağ asidi'nin total venöz yetmezlik oluşturulmuş rat epigastrik ada flebinde yaşayabilirlik üzerine etkisinin araştırılması, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara.

Netea, M. G., van der Meer, J. W., van Deuren, M., & Kullberg, B. (2003). Proinflammatory cytokines and sepsis syndrome: not enough, or too much of a good thing?, Trends Immunol, 24(5), 254-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Nettleton, J. A. (2000). *Seafood nutrition in the 1990's issues for the consumer. Seafood science and technology*. Inst. of Fish. Tech. Canada: Tech. Uni. of Nova Scotia Halifax.

Niedner, M. F., Foley, J., Riffenburgh, R. H., Bichell, D. P., Peterson, B. M., & Rodarte, A. (2010). *B-type natriuretic peptide: perioperative patterns in congenital heart disease*. *Congenit Heart Dis*, 5(3), 243-55.

Nielsen, F. H. (2008). *Is boron nutritionally relevant?*, *Nutr Rev*, 66(4), 183-191.

Nielsen, F. H., Hunt, C. D., Mullen, L. M., & Hunt, J. R. (1987). *Effect of dietary boron on mineral estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women*. *Faseb*, 1(5), 394-397.

Nilsen, D. W., Albreksten, G., Landmark, K., Moen, S., Aarsland, T., & Woie, L. (2001). *Effects of a high-dose concentrate of n-3 fatty acids or corn oil introduced early after an acute myocardial infarction on serum triacylglycerol and HDL cholesterol*. *Am J Clin Nutr*, 74(1), 50-6.

Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). *Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction*. *Anal Biochem*, 95(2), 351-8.

Yokoyama, M., Origasa, H., Matsuzaki, M., Matsuzawa, Y., Saito, Y., Ishikawa, Y., Oikawa, S., Sasaki, J., Hishida, H., Itakura, H., Kita, T., Kitabatake, A., Nakaya, N., Sakata, T., Shimada, K., & Shirato, K. (2007). *Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis*. *Lancet*, 369(9567), 1090-8.

Ozaki, T., Yamashita, T., & Ishiguro, S. (2008). *ERp57-associated mitochondrial micro-calpain truncates apoptosis-inducing factor*. *Biochim Biophys Acta*, 1783(10), 1955-63.

Padmanabhan, M., & Stanely Mainzen, P. (2006). *Prince Preventive effect of S-allylcysteine on lipid peroxides and antioxidants in normal and isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats. A histopathological study*. *Toxicology*, 224, 128-137.

Park, B., Song, D. H., Kim, H. M., Choi, B. S., Lee, H., & Lee, J. O. (2009). *The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex*. *Nature*, 458, 1191-5.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Klocke, F. J., & Ellis A. K. (1990). *Physiology of the coronary circulation*. In Parmley W W, Chatterjee K (Eds.). *Cardiology Philadelphia* (pp. 1-16) J. B. Lippincott.

Pedersen, T., Kjekshus, J., Berg, K., Haghfelt, T., Faergeman, O., Faergeman, G., Pyörälä, K., Miettinen, T., Wilhelmsen, L., Olsson, A. G., & Wedel. (1994). *Randomised Trial Of Cholesterol Lowering In 4444 Patient With Coronary Heart Disease: Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S)*. *Lancet*, 344(8934), 1383-9.

Pehlivan, F. (2004). *Biyofizik 2*. Ankara: Hacettepe-Tas.

Petermann, I., Mayer, C., Stypmann, J., Biniossek, M., Tobin, DJ., Engelen, Dandekar, T., Grune, T., Schild, L., Peters, C., Reinheckel, T. (2006). *Lysosomal, cytoskeletal, and metabolic alterations in cardiomyopathy of cathepsin L knockout mice*. *The FASEB Journal* , 20(8), 1266-8.

Quyyumi, A. A., Dakak, N., Andrews, N. P., Husain, S., Arora, S., Gilligan, D. M., Panza, J., A, Cannon, R. O. (1995). *Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for coronary atherosclerosis*. *J Clin.Invest*, 95(4), 1747-55.

Rajadurai, M., & Stanely Mainzen Prince, P. (2006). *Preventive effect of naringin on lipit peroxides and antioxidants in isoproterenol-induced cardiotoxicity in Wistar rats: Biochemical and histopathological evidences*. 228(2-3), 259-268.

Rajappa, M., & Sharma, A. (2005). *Biomarkers of cardiac injury: an update*. *Angiology*, 56, 677- 91.

Rami, A. (2003). *Ischemic neuronal death in the rat hippocampus: the calpain calpastatin caspase hypothesis*. *Neurobiol Dis*, 13(2), 75-88.

Ray, S. K., Matzella, D. D., Wilford, G.G., Hogan E. L., & Banik, N. L. (2000). *Increased calpain expression is associated with apoptosis in rat spinal cord injury: calpain inhibitor provides neuroprotection*. *Neurochem Res*, 25(9-10), 1191-8.

Reilly, M. E., Mantle, D., Salisbury, J. Peters T. J, & Preedy V. R. (2000). *Comparative effects of acute ethanol dosage on liver and muscle protein metabolism*. *Biochemical Pharmacology*, 60(12), 1773-85.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Reimer K. A., Lowe, J. E., Rasmussen, M. M., & Jennings, R. B. (1977). The wave front phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size versus duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation*, 56(5), 786-794.

Ren, J., & Brown, R. (2000). Influence of chronic alcohol ingestion on acetaldehyde-induced depression of rat cardiac contractile function. *Alcohol Alcohol*, 35, 554-560.

Ricardo, F., Susana, L., Jose, M., & Domingo, S. (1988). Assessment of myocardial oxidative stress in patients after myocardial revascularization. *Am Heart J*, 15, 307-12.

Richter, W. O., Jacob, B. G., Ritter, M. M., & Schwandt, P. (1992). Treatment of primary chylomicronemia due to familial hypertriglyceridemia by omega-3 fatty acids. *Metabolism*, 41(10), 1100-5.

Risérus, U. (2008). Fatty acids and insulin sensitivity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 11(2), 100-5.

Robbins, P. B. (2001). *Patoloji Özeti*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.

Rodig, S. J., Meraz, M. A., White, J. M., Lampe, P. A., Riley, J. K., Arthur, C. D., King, K. L., Sheehan, K. C., Yin, L., Pennica, D., Johnson, E. M., & Schreiber, R. D. (1998). Disruption of the *Jak1* gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic responses. *J Biol Chem*, 273(3), 373-83.

Rogers, N., & Ignarro, L. (1992). Constitutive nitric oxide synthase from cerebellum is reversibly inhibited by nitric oxide formed from arginine. *Biochem Biophys Res Comm*, 189, 242-9.

Rona, G. (1985). Catecholamine cardiotoxicity. *J. Mol. Cell Cardiol*, 17(4), 291-300.

Ruskoaho, H. (2003). Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocrine Rev*, 24(3), 341-356.

Sacks, F. M., Stone, P. H., Gibson, C. M., Silverman, D. I., Rosner, B., & Pasternak, R. C. (1995). Controlled trial of fish oil regression of human coronary atherosclerosis. HARP Research Group. *J Am Coll Cardiol*, 25(7), 1492-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Sacks, D., & Troponin, T. (1994). *A cardiac specific marker in Goldman and Khalus HA, eds. Cardiac troponin T for the diagnosis of myocardial injury.*

Sancak, B. (2008). *Fonksiyonel Anatomi - Baş Boyun ve İç Organlar.* 4. Ankara: ODTÜ.

Sandmann, S., Prenzel, F., Shaw, L., Schauer, R., & Unger, T. (2002). *Activity profile of calpains I and II in chronically infarcted rat myocardium-influence of the calpain inhibitor CAL 9961.* Br J Pharmacol, 135(8), 1951-8.

Sağlam, I. (2006). *Akut Koroner Sendromda Pro-Bnp Düzeyinin; Ekokardiyografiyle Predikte Edilen İnfarkt Alanı İle İlişkisi,* Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, İstanbul.

Scheller, J., Chalaris, A., Schmidt-Arras, D., & Rose-John, S. (2011). *The pro-and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6,* Biochim Biophys Acta. Rose-John S , 1813, 878-88.

Shesely, E. G., Maeda , N., Kim, H., Desai, K., Krege, J., Laubach, V., Sherman, A., Sessa, W. C., & Smithies, O (1996). *Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase.* Proc Natl Acad Sci USA, 93(23), 13176-81.

Shiny, K. S., Kumar, H. S., Farvin, K. H., Anandan, R., & Devadasan, K. (2005). *Protective effect of taurine on myocardial antioxidant status in isoprenaline-induced myocardial infarction in rats.* Pharm Pharmacol, 57, 1313-1317.

Marks, A., Smith, C., Chansky, M., & Lieberman, M. (Ed.). (2007). *Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası (2.Baskı).* Ankara: Güneş Tıp Kiyabevleri

Stelzner, T. J., Welsh, C. H., Berger, E., McCullough, R. G., Morris, K., Repine, J. E., & Weil, J. V. (1987). *Antiarrhythmic agents diminish thiourea-induced pulmonary vascular protein leak in rats.* J Appl Physiol, 63(5), 1877-83.

Strobl, S., Fernandez-Catalan, C., Braun, M., Huber, R., Masumoto, H., Nakagawa, K., Irie, A., Sorimachi, H., Bourenkow, G., Bartunik, H., Suzuki, K., & Bode, W. (2000). *The crystal structure of calcium-free human m-calpain suggests an electrostatic switch mechanism for activation by calcium.* Proc Natl Acad Sci U S A, 97, 588-92.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Sun, Y., Oberley, L. W., & Li, Y. (1988). *simple method for clinical assay of superoxide dismutase*, *Clin Chem*, 34(3), 497-500.

Sushamakumari, S., & Menon, V. (1987). *Changes in levels of lipid peroxides and activities of superoxide dismutase and catalase in isoproterenol induced myocardial infarction in rats*. *Ind J Exp Biol*, 25, 419-423.

Suzuki, K., Hata, S., Kawabata, Y., & Sorimachi, H. (2004). *Structure, activation, and biology of calpain*. *Diabetes*, 53, 12-18.

Suzuki, K., Sorimachi, H., Yoshizawa T, Kinbara, K., & Ishiura, S. (1995). *Calpain: Novel family members, activation, and physiologic function*. *Biol. Chem. Hoppe Seyler*, 376(9), 523-9.

Ray, S. K., Hogan, E. L., & Banilk, N. L. (2003). *Calpain in the pathophysiology of spinal cord injury: neuroprotection with calpain inhibitors*. *Brain Res. Reviews* , 42(2), 169-85.

Swynghedauw, B. (1999). *Molecular mechanisms of myocardial remodeling*. *Physiol Rev*, 79(1), 215-262.

Şaylı, B., Tüccar, E., & Kavas, G. (1996). *İçme ve kullanma sularındaki borun insan sağlığına etkilerinin araştırılması, Dünya Sağlık Örgütüne Verilen Rapordur*.

Taylor, S. G., & Weston, A. H. (1988). *Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a new endogenous inhibitör from the vascular endothelium*. *Trends Pharmacol Sci*, 9(8), 272-4.

Thompson, J., & Hess, M. (1986). *The oxygen free radical system: a fundamental mechanism in the production of myocardial necrosis*. 28(6), 449-62.

Thomson, A., & Lotze, M. (2003). *The Cytokine Handbook* (Cilt 1). (4th Ed). London: Academic Press.

Tipnis, U. R., He, G. Y., Li, S., Campbell, G., & Boor, P. J. (2000). *Attenuation of isoproterenol-mediated myocardial injury in rat by an inhibitor of polyamine synthesis*. *Cardiovasc Pathol*, 9(5), 273-80.

Uriel, A. (1961). *Characterisation des cholinesterases et dieutres esterases carboxylique apres electrophorese en gelose*. *Am instit Pasteur* , 101, 104.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Uysal, M. (2006). *Serbest radikaller ve oksidatif stres*. Biyokimya, Gürdöl, F & Ademoğlu, E. (Eds), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 829-835.

Varoğlu, E. (2002). Miyokardiyal iskemik hasarın belirlenmesinde kardiyak troponin i ve troponin t. Doktora tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

Von Schacky, C. (2007). Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. Curr Opin Clin Nutr Metab Care , 10(2), 129-35.

Von Schackya, C., & Haris , W. S. (2007). Cardiovascular risk and the omega-3 index. J Cardiovasc Med , 8, 46-9.

Waeber, B., & Feihl, F. (2007). Stratification of global cardiovascular risk according to the ESH/ESC guidelines. Rev Med Suisse, 3-124, 1992-1994.

Wang, D., & O'Horo, J. (2011). Antifibrotic effects of w-3 fatty Acids in the heart: One possible treatment for diastolic heart failure. Trends Cardiovasc Med , 21(3), 90-5.

Wang, K. K., & Yuen, P. W. (1997). Development and therapeutic potential of calpain inhibitors. Adv Pharmacol, 37, 117-152.

Wexler, B. C, & Greenberg, B. P. (1978). Protective effect of clofibrate on isoproterenol induced myocardial infarction in arteriosclerotic and nonarteriosclerotic rats. Atherosclerosis, 29(3), 373-76.

WHO. (1998). Boron, Environmental health criteria. A WHO Monograph. World Health Organization, 204, 201.

Wigle, D. A., Pang, S. C., Watson, J. D., Sarda, I. R., Radakovic, N. N., & Flynn, T. G. (1993). Chronic ethanol treatment increases the circulating plasma levels of B-type natriuretic peptide (BNP-45) in the rat. Am J Hypertens, 6(8), 719-722.

Wingrave, J. M., Schaecher, K. E., Sribnick, E. A., Wilford, G. G., Ray, SK., Hazen-Martin, D. J., Hogan, E. L., & Banik, N. L. (2003). Early induction of injury factorscausing activation of calpain and mitochondria mediated neuronal apoptosis following spinal cord injury in rats. J Neuroscience Res, 73(1), 95-104.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Wolf , D., Hallmann, R., Sass, G., Sixt, M., Küsters, S., Fregien, B., Trautwein, C., & Tiegs, G. (2001). *TNF-alpha-induced expression of adhesion molecules in the liver is under the control of TNFR1-relevance for concanavalin A-induced hepatitis*. *Immunol*, 166(2), 1300-7.

Woods, W. G. (1994). *An introduction to boron: History, sources, uses, and chemistry*, *Environmental Health Perspectives* , 102(7), 5-11.

Wu, D., Kago, T., Martin, K. R., & Meydani, M. (1999). *Effect of vitamin E on human aortic cell production of chemokines and adhesion to monocytes*. *Atherosclerosis*, 147(2), 297-307.

Yıldırım, A., Müderrisoğlu, H. (2001). Akut koroner sendromlar ve sınıflaması. *Türk kardiyoloji dergisi*, 4, 12-5.

Yılmaz, B. (2000). *Fizyoloji*. Ankara: Feryal Matbaacılık.

Yates, J. C., & Dhala, N. S. (1975). *Induction of necrosis and failure in the isolated perfused rat heart with oxidized isoproterenol*. *J. Mol. Cell Cardiol*, 7, 807-816.

Yogeeta, S. K., Hanumantra, R. B., Gnanapragasam, A., Senthilkumar, S., Subhashini, R., Devaki, T. (2006). *Attenuation of abnormalities in the lipid metabolism during experimental myocardial infarction induced by isoproterenol in rats: beneficial effect of ferulic acid and ascorbic acid*. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 98(5), 467 -472.

Zhou, R., Xu, Q., Zheng, P., Yan, L., Zheng, J., & Dai, G. (2008). *Cardioprotective effect of fluvastatin on isoproterenol-induced myocardial infarction in rat*. *Eur J Pharmacol*, 586(1-3), 244-250.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler :

Adı-Soyadı: HADI KARIMKHANI

Doğum tarihi ve yeri: Khoy – 1983.11.06

Medeni durumu: Bekar

Uyruğu: İran

İletişim adresleri: Tıp Fakültesi Temel Bilimler Binası Tıbbi Biyokimya Bölümü (A.B.D) ESOGÜ Meşelik Yerleşkesi 26480 ESKİŞEHİR

Tel: 05078505887

Email: drhadi.h@gmail.com

Eğitim Durumu:

1989-1994 ilköğretim

1994-1997 Orta Okul

1997-2001 Lise

2002-2008 Veterinerlik, Urmiye İslamik Azad Üniversitesinde

yabancı diller: İngilizce, Türkçe, Farsça

Mesleki Deneyim:

2008 İran Tebriz tüberküloz merkezi' de araştırmacı

2008-2009 yılları veterinerlik muayenehanesi kliniğinde veterinerlik

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

İran'da Kızılay Derneği 2002/04/01 üyesi – halen

2015 Young Researchers Club and Elite Urmiye / İran

2015 Nanotechnology initiative council İran

Yayınlar:

Eda Ozcelik., Sema Uslu., Nilufer Erkasa ., Hadi Karimi. Protective effect of chitosan treatment against acetaminophen-induced hepatotoxicity. Kaohsiung Journal of Medical Sciences (2014) xx, 1-5

Karimkhani, H., Zahraie salehi, T., Sadeghi zali, M.H., Karimkhani, M., Lameyi, R. Isolation of pasteurilla multocida from cows and buffaloes in Urmia's Slaughter House. Archives of Razi Institute, Vol. 66, No. 1, June (2011) 37-41.

Sadeghi Zali M.H., Farajnia S., Moadab R., Karimchani H., Delshad R., Jahanbaksh K. Detection Of Mycobacterium Bovis In Cattle Suspected Of Having Bovine Tuberculosis In Urmia By Pcr Method. VETERINARY JOURNAL (TABRIZ) SPRING 2010; 4(1 (13)):773-780.

Posterler

Fatma Sultan Kılıç, Bilgin Kaygısız, Şule Aydın, Hadi Karimkhani, Cafer Yıldırım, Setenay Öner., Pregabalinin sıçanlarda antiinflamatuvar, mide mukusu ve ülser indeksi üzerine etkilerinin araştırılması. 23. ulusal farmakoloji kongresi 7-10 eylül 2015 hacettepe üniversitesi türk farmakoloji derneği - Ankara. P-022

Assessing the prevalence of Pasteurellosis in Cows and Buffaloes in Urmia's Slaughter House based on sex, age, breed and season. accepted poster for the 2nd Veterinary Pathobiology Congress October 13-14, 2010 Garmsar – Iran. Code 104H

Assessing the prevalence of Actinomycosis in cow sent to in Urmia s slaughter house . accepted poster for the 16th Iranian Veterinary Congress April 27-29,2010 Tehran – Iran page 73 . Cv-1502

Assessing the frequency of Pasteurellosis in Cows and Buffaloes in Urmia's Slaughter House. accepted poster for the 6th Convention of Iranian Veterinary Clinicians Sep 2009 Tabriz page . 167

Bilimsel Etkinlikler:

Burslar:

Tübitak Araştırmacı Busyeri

Projeler:

Kronik Alkol Tüketiminde Statin Kullanımının İskelet Kasındaki Apoptotik Hücre Ölümü Üzerine Olan Etkileri Ve Betainin Koruyucu Rolünün Araştırılması 2014-2015 (Tübitak 1002 proje Araştırmacı ve Bursyer No: 114S241)

Galanginin sıçanlarda öğrenme ve hafıza üzerindeki etkilerinin araştırması 2013-2015 (B tür PAB proje No: 110119)

Pregabalinin karragenan ile indüklenmiş pençe ödemi modelinde antiinflamatuvar ve akut faz reaktanlarına etkisinin araştırılması 2015-2016 (D tür PAB proje)

Pregabalinin sıçanlarda mide mukus salgısı, ülser indeksi ve antioksidanlar üzerindeki etkisinin araştırılması 2015-2016 (D tür PAB proje)

Parasetamol (Asetaminofen) ve omega-3 uygulanan hamilik döneminde ratlarda Yeni doğan yavrularının beyin dokusu üzerine olan etkilerinin araştırılması 2014-2015

Uzun dönem Parasetamol (Asetaminofen) ve omega-3 uygulanan hamile ratların yeni doğan yavrularının böbrek ve karaciğeri üzerinde Betain'in olası koruyucu etkileri 2014-2015

Travmatik Beyin Hasarının Oluşturduğu Nöroapoptozun Önlenmesinde Betain ve Omega-3'ün Koruyucu Rolünün İncelenmesi 2014-2015

Allerjik rinitte curcumin'in nazal mukoza üzerine etkilerinin araştırılması 2014-2015

Travmatik Beyin Hasarına Bağlı Oksidatif Stresin Önlenmesine Borik Asidin Olası Koruyucu Rolünün İncelenmesi 2014-2015

Seminerler:

6th Convention of Iranian Veterinary Clinicians 2010 Tabriz – Iran

16th Iran Veterinary Congress April 27-29,2010 Tehran, Iran

2nd Veterinary Pathobiology Congress October 13-14, 2010 Garmsar, Iran

The course of development within the program of academic writing articles on the scientific study and participated in educational work 16 march 2013 Samsun, Turkey

20th Euroepan Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine45th Congress of the Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology (SIBioC)19-23 May 2013 Milano, Italy. Milano Convention Center – MiCo

National Health Sciences Student Congress and Graduate Student Symposium STEM CELLS 17 - 20 April 2014 Manisa, Turkey.

Kurslar ve Eğitim Programları:

Hayvan deney sertifikası, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi-Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi mayıs 2012

Eppendorf New Brunswick Biyoprosese genel Bakış, Fermantasyon ve Hücre Kültürü Seçimi, Biyoproseste Tamamlayıcı Ekipmanlar, Üretim Süreci, Tipleri ve Yöntemlerine ilişkin olarak düzenlenen " Eppendorf New Brunswick Fermentör semineri " 10 Haziran 2015 Eskişehir, Turkey.