



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BETA AMYLOİD PEPTİDİN İZOLE RAT KALP KASINA VE  
BARSAK DÜZ KASINA ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**NEDA YOUSEFİRAD**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. ZİYA KAYGISIZ**

**2015**



**T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BETA AMYLOİD PEPTİDİN İZOLE RAT KALP KASINA VE  
BARSAK DÜZ KASINA ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**NEDA YOUSEFİRAD**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. ZİYA KAYGISIZ**

**Proje No: 2013-319**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

NEDA YOUSEFİ RAD' ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "**Beta amyloid peptidlerin izole sıçan kalp kasına ve barsak düz kasına etkileri**" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih

Üye: Prof. Dr. Ziya Kaygısız



Üye: Prof. Dr. Ruhi Uyar



Üye: Prof. Dr. Ahmet Ünalır



Üye: Prof. Dr. Yasemin Aydın



Üye: Prof. Dr. Selda Kabadere



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 10 / 02 / 2015 tarih ve 1032/484 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR  
Enstitü Müdürü

## Özet

Alzheimer hastalığında beyinde ve kan damarlarında nörotoksik beta amyloid peptidler birikir ve bunlar hastalığın patogeneğinde rol oynar. Beta amyloid peptidler kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde de bir rol oynayabilir. Bu peptidlerin nöronlar üzerindeki etkilerinin iyi bilinmesine karşılık bunların kardiyovasküler fonksiyonlara ve ileum kasılmasına etkisi hakkında bilgi azdır. Ayrıca beta amyloid 1-42'nin ve beta amyloid peptid 22-35'in izole sıçan kalplerinde kardiyovasküler fonksiyonlara ve sıçan ileum kontraksiyonlarına etkisi çalışılmamıştır. Bu nedenle bu peptidlerin izole sıçan kalbi ve ileumu üzerindeki etkilerini araştırdık.

Sıçanlardan kalpler ve ileumun uzunlamasına kas şeritleri izole edildi. Kalpler Langendorff yöntemi uygulanarak sabit basınç koşullarında modifiye Krebs-Henseleit solüsyonu (mKHS) ile perfüze edildi. Sol ventrikülün geliştirdiği basınç (SVGB; bir kasılma indeksi),  $+dP/dt_{max}$  (diğer kasılma indeksi), koroner akım, monofazik aksiyon potansiyeli amplitüdü (MAPamp) ve repolarizasyonun % 90'ında MAP süresi (MAP<sub>90</sub>) ve ileum düz kasının spontan kasılmaları ölçüldü.

Beta amyloid peptid 1-42'nin 1, 10 ve 100 nM dozları, SVGB'ı,  $+dP/dt_{max}$ 'ı ve kalp atım sayısını anlamlı olarak azalttı. Bu peptidin 1 nM dozu koroner akımı etkilemedi fakat 10 ve 100 nM dozları bu parametreyi anlamlı olarak azalttı. Peptidin 1, 10 ve 100 nM dozları MAPamp'ünü değiştirmeksizin MAP<sub>90</sub>'ı arttırdı. Beta amyloid peptid 22-35'in 1, 10 ve 100 dozları SVGB'ı ve  $+dP/dt_{max}$ 'ı azaltırken diğer kardiyovasküler parametreleri değiştirmede. Ayrıca beta amyloid peptid 1-42'nin ve beta amyloid peptid 22-35'in 1, 10, 100 ve 1000 nM dozları ileum kasılmalarını etkilemedi.

Bu bulgular beta amyloid 1-42'nin negatif inotropik ve negatif kronotropik etkilerle birlikte MAP süresini arttırabileceğini göstermektedir. Bu peptidin yüksek dozları koroner akımı azaltabilir. Bulgular beta amyloid peptid 22-35'in negatif inotropik etkiler yapabileceğini de göstermektedir. Ayrıca bulgular her iki peptidin ileum düz kaslarının kasılmasını etkileyemeyeceğini gösterir.

**Anahtar Sözcükler:** SVGB,  $+dP/dt_{max}$ , MAP<sub>90</sub>, Beta amyloid peptid, İzole kalp kasi, İleum düz kasi

## Summary

The neurotoxic beta amyloid peptides accumulate in brain and blood vessels of patients with Alzheimer disease and are involved in the pathogenesis of Alzheimer disease. Beta amyloid peptides may play a role in the regulation of cardiovascular functions. The effects of beta amyloid peptides on neurons are well known. However, there is little information about the actions of these peptides on cardiovascular functions and ileum contractility. Furthermore, the action of beta amyloid peptide 1-42 and beta amyloid 22-35 on cardiovascular functions of isolated rat heart and contractions of rat ileum has not been studied. Therefore, we investigated the possible effects of these peptides on isolated rat heart and rat ileum.

The rat hearts and longitudinal muscle strips of rat ileum were isolated. According to Langendorff's method, under constant pressure conditions, the hearts were perfused with modified Krebs-Henseleit solution. Left ventricular developed pressure (LVDP; an index of contractility),  $+dP/dt_{max}$  (other index of contractility), coronary flow, monophasic action potential amplitude (MAPamp) and MAP duration at 90 % repolarization (MAP<sub>90</sub>), and spontaneous contractions of ileum smooth muscle were measured.

Beta amyloid peptide 1-42 in doses of 1, 10 and 100 nM significantly decreased LVDP,  $+dP/dt_{max}$  and heart rate. This peptide in a dose of 1 nM did not affect coronary flow, but 10 and 100 nM doses significantly reduced this parameter. The peptide in doses of 1, 10 and 100 nM did not alter MAPamp, but increased MAP<sub>90</sub>. Beta amyloid peptide 22-35 in doses 1, 10 and 100 nM decreased LVDP and  $+dP/dt_{max}$ , without affecting other cardiovascular parameters. In addition, beta amyloid peptide 1-42 and 22-35 in doses of 1, 10, 100 and 1000 nM also did not affect ileum contractions.

These results indicate that beta amyloid peptide 1-42 may produce negative inotropic and negative chronotropic effects with an increase in MAP duration. Furthermore, this peptide at high doses may decrease coronary flow. These results also indicate that beta amyloid peptide 22-35 exerts negative inotropic action. In addition, our findings suggest that both peptide may not affect ileum contractility.

**Key Words:** LVDP,  $+dP/dt_{max}$ , MAP<sub>90</sub>, Beta amyloid peptide, Ileum smooth muscle

# İçindekiler

|  |      |
|--|------|
| Kabul ve Onay Sayfası.....   | ii   |
| Özet.....  | iii  |
| Summary.....   | iv   |
| İçindekiler.....   | v    |
| Tablo Dizini.....  | vii  |
| Şekil Dizini.....  | viii |
| Simge ve Kısaltmalar Dizini.....   | ix   |
| 1- Giriş ve Amaç.....  | 1    |
| 2- Genel Bilgiler.....   | 3    |
| 2.1. Beta Amyloid Peptidler.....   | 3    |
| 2.1.1. Beta amyloid peptidlerin biyosentezi.....                                   | 4    |
| 2.1.2. Beta amyloid peptidlerin metabolizması.....                                 | 5    |
| 2.1.3. Beta amyloid peptidlerin kümeleşmesi.....                                   | 5    |
| 2.2. Beta Amyloid Peptidlerin Sinir Sistemi Üzerinde Etkileri.....                 | 6    |
| 2.2.1. Alzheimer hastalığı.....  | 6    |
| 2.3. Beta Amyloid Peptidlerin diğer etkileri.....                                  | 7    |
| 2.4. Beta Amyloid Peptidlerin Kardiyovasküler Sistem Üzerinde Etkileri.....        | 8    |
| 2.4.1. Beta amyloid peptidlerin vasküler sistem üzerinde etkileri.....             | 8    |
| 2.4.2. Beta amyloid peptidlerin kalp üzerinde etkileri.....                        | 9    |
| 2.5. Beta Amyloid Peptidlerin Kas Üzerinde Etkileri.....                           | 10   |
| 2.5.1. Beta amyloid peptidlerin iskelet kas üzerinde etkileri.....                 | 10   |
| 2.5.2. Beta amyloid peptidlerin düz kas üzerinde etkileri.....                     | 11   |
| 2.6. Retrograd Kalp Perfüzyonu: Langendorff Tekniği ile İzole Kalp Perfüzyonu..... | 11   |
| 2.7. Monofazik Aksiyon Potansiyeli.....  | 12   |
| 2.7.1. Kontakt elektrod yöntemi.....   | 12   |
| 2.8. Kalp Kasında Kontraktilite.....   | 13   |
| 2.8.1. Kardiyak miyositlerin yapısı.....   | 13   |
| 2.8.2. Kalp kasında monofazik aksiyon potansiyeli.....                             | 14   |
| 2.8.3. Eksitasyon ve kontraksiyon arasındaki bağlantı ve Kalp kasında kasılma..... | 15   |
| 2.9. Kalp Kasında Kasılma Kuvveti.....   | 17   |
| 2.9.1. Frank-Starling yasası.....  | 17   |
| 2.9.2. Otonom sinir sistemi.....   | 18   |
| 2.10. $dP/dt_{max}$ .....  | 18   |
| 2.11. Kalp Atım Sayısı.....  | 18   |
| 2.11.1. Pacemaker dokusu monofazik aksiyon potansiyeli.....                        | 19   |
| 2.12. Koroner Akım.....  | 20   |
| 2.12.1. Koroner akımın düzenlenmesi.....   | 21   |
| 2.12.1.1. Metabolik faktörler.....   | 21   |
| 2.12.1.2. Nörojenik faktörler.....   | 22   |
| 2.13. Düz Kasın Yapısı.....  | 22   |
| 2.14. Düz Kasın Kasılması.....   | 23   |
| 3- Gereç ve Yöntemler.....   | 25   |

|  |    |
|--|----|
| 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....   | 25 |
| 3.2. Kullanılan Cihaz ve malzemeler.....   | 25 |
| 3.3. Deney Hayvanları.....   | 25 |
| 3.4. İzole Kalbin Hazırlanışı ve Perfüzyon Tekniği.....                                  | 25 |
| 3.4.1. Hemodinamik parametrelerin ölçülmesi.....   | 26 |
| 3.4.2. Çalışma protokolü.....  | 27 |
| 3.4.3. Kullanılan ilaçlar.....   | 27 |
| 3.5. İzole Barsak Düz Kasın Hazırlanışı ve İzole Organ Banyosu<br>Tekniği.....           | 28 |
| 3.5.1. Kullanılan ilaçlar.....   | 29 |
| 3.6. İstatistiksel Analiz.....   | 29 |
| 4- Bulgular.....   | 30 |
| 4.1. Beta Amyloid Peptid 1-42'nin Kardiyovasküler Etkileri.....                          | 30 |
| 4.2. Beta Amyloid Peptid 22-35'in Kardiyovasküler Etkileri.....                          | 36 |
| 4.3. Beta Amyloid Peptid 1-42'nin ve 22-35'in İleum Düz Kası<br>Üzerindeki Etkileri..... | 41 |
| 5- tartışma.....   | 43 |
| 6- Sonuç ve Öneriler.....  | 46 |
| Kaynaklar Dizini.....  | 47 |

## Tablo Dizini

- Tablo 4.1. :Kontrol grubu ve beta amyloid peptid 1-42 (1, 10 ve 100 nM) verilen kalplerde SVGB,  $+dP/dt_{max}$  ve dakikada kalp atım sayısı ortalama değerleri
- Tablo 4.2. :Kontrol grubu ve beta amyloid peptid 1-42 dozları verilen kalplerde koroner akım, MAPamp'ü ve MAP<sub>90</sub> ortalama değerleri
- Tablo 4.3. :Kontrol grubu ve beta amyloid peptid 22-35 (1, 10 ve 100 nM) verilen kalplerde SVGB,  $+dP/dt_{max}$  ve dakikada kalp atım sayısı ortalama değerleri
- Tablo 4.4. :Kontrol grubu ve beta amyloid peptid 22-35 (1, 10 ve 100 nM) verilen kalplerde koroner akım, MAPamp'ü ve MAP<sub>90</sub> ortalama değerleri
- Tablo 4.5. :Tablo 4.5. Beta amyloid peptid 1-42'nin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M'lık dozlarına ait yanıtların istatistiksel değerlerinden elde edilen veriler
- Tablo 4.6. :Beta amyloid peptid 22-35'in  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M'lık dozlarına ait yanıtların istatistiksel değerlerinden elde edilen veriler.
- Tablo 4.7 :Beta amyloid peptid 1-42'nin ve beta amyloid peptid 22-35'in ED50 Değerleri



## Şekil Dizini

- Şekil 2.1. :APP'nin proteolitik enzimlerle parçalanması ve beta amyloid peptidin sentezlenmesi
- Şekil 2.2. :Beta amyloid peptidlerin agregasyonu
- Şekil 2.3. :Monofazik aksiyon potansiyelinin kaydı
- Şekil 2.4. :Kalp kasının yapısı
- Şekil 2.5. :Kalp kası aksiyon potansiyel fazları
- Şekil 2-6. :Kalp kasında kasılmanın moleküler temeli
- Şekil 2.7. :Pacemaker zar potansiyeli
- Şekil 2.8. :Kalp kasında koroner dolaşım
- Şekil 2.9. :Kalsiyum ve kalmodulin ile düz kas kasılmasının Aktivasyonu
- Şekil 3.1. :Langendorff tekniği ile izole kalp perfüzyonu
- Şekil 3.2. :İzole organ banyosu
- Şekil 4.1. :Beta amyloid peptid 1-42'nin SVGB üzerinde etkisi
- Şekil 4.2. :Beta amyloid peptid 1-42'nin  $+dP/dt_{max}$  üzerinde etkisi
- Şekil 4.3. :Beta amyloid peptid 1-42'nin kalp atım sayısı üzerinde etkisi
- Şekil 4.4. :Beta amyloid peptid 1-42'nin koroner akım üzerinde etkisi
- Şekil 4.5. :Beta amyloid peptid 1-42'nin MAPamp üzerinde etkisi
- Şekil 4.6. :Beta amyloid peptid 1-42'nin MAP<sub>90</sub> üzerinde etkisi
- Şekil 4.7. :Beta amyloid peptid 22-35'in SVGB üzerinde etkisi
- Şekil 4.8. :Beta amyloid peptid 22-35'in  $+dP/dt_{max}$  üzerinde etkisi
- Şekil 4.9. :Beta amyloid peptid 22-35'in kalp atım sayısı üzerinde etkisi
- Şekil 4.10. :Beta amyloid peptid 22-35'in koroner akım üzerinde etkisi
- Şekil 4.11. :Beta amyloid peptid 22-35'in MAPamp üzerinde etkisi
- Şekil 4.12. :Beta amyloid peptid 22-35'in MAP<sub>90</sub>' a etkisi
- Şekil 4.13. :Beta-Amyloid 1-42 ve Beta-Amyloid 22-35 'in izole sıçan ileumu üzerindeki etkisi

## Simge ve Kısaltmalar Dizini

|                       |  |
|-----------------------|--|
| AICD                  | :Amyloid öncü proteinin intraselüler alanı           |
| APP                   | :Amyloid öncü protein                                |
| APP <sub>α</sub>      | :Çözünebilir amyloid öncü protein α                  |
| APP <sub>β</sub>      | :Çözünebilir amyloid öncü protein β                  |
| ATP                   | :Adenozin trifosfat                                  |
| AV                    | :Atriyovenriküler                                    |
| CTF-α                 | :Karboksil terminal fragman α                        |
| CTF-β                 | :Karboksil terminal fragman β                        |
| +dP/dt <sub>max</sub> | :Sol ventrikül basıncının maksimum artış hızı        |
| eNOS                  | :Endotel kaynaklı nitrik oksit sentaz                |
| MAP                   | :Monofazik aksiyon potansiyeli                       |
| MAPamp                | :Monofazik aksiyon potansiyeli amplitüdü             |
| MAP <sub>90</sub>     | :Monofazik aksiyon potansiyeli süresi                |
| mKHS                  | :Modifiye Krebs-Henseleit solüsyonu                  |
| MVO2                  | :Kalp kasının oksijen tüketim miktarı                |
| NADPH                 | :Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat               |
| NK-1                  | :Taşikinin reseptörü                                 |
| NO                    | :Nitrik oksit  |
| PGE <sub>2</sub>      | :Prostaglandin E <sub>2</sub>                        |
| PGF <sub>2a</sub>     | :Prostaglandin F <sub>2a</sub>                       |
| PKA                   | :Protein kinaz A                                     |
| PKC                   | :Protein kinaz C                                     |
| ROS                   | :ROS   |
| RYR1                  | :Riyanodin reseptörü                                 |
| SA                    | :Sinoatriyal   |
| SERC2a                | :Sarkoplazmik retikulum kalsiyum ATP <sub>az2a</sub> |
| SR                    | :Sarkoplazmik retikulum                              |
| SVGB                  | :Sol ventrikülün geliştirdiği basınç                 |

# 1- GİRİŞ VE AMAÇ

Alzheimer hastalığı yaşlılarda demansın en önemli nedenlerinden biridir (Di Carlo, Giacomazza & San Biagio, 2012). Demans beyni etkileyen bozuklukların neden olduğu belirtileri tanımlar (Guerchet, Prina, & Prince 2014, s. 19). Alzheimer hastalığı beyinde bulunan sinapsların ve nöron hücrelerinin kaybı ile ilişkilidir. Bu hastalıkta hafıza, düşünce, davranış ve günlük faaliyetleri yerine getirme yetisi etkilenir (Di Carlo vd., 2012; Mukhamedyarov vd., 2011). Alzheimer hastalarında bilişsel değişikliklerin yanı sıra motor bozukluğu belirtileri de bulunur. Bu motor bozuklukları denge ve yürüyüş bozukluğu, göz hareketlerinin bozulması, hareket yavaşlığı, titreme, konuşma bozukluğu, anormal yüz ifadesi ve kasta sertlik gibi belirtileri içerir (Mukhamedyarov vd., 2011; Wirths, Bayer, 2008). Bu hastalıkta nöron hücrelerin içinde nörofibriler yumakların ve hücre dışındaki plaklarda beta amyloid peptidlerin birikmesi görülür (Di Carlo vd., 2012). Ayrıca beta amyloid peptidler Alzheimer hastalığında nöritik plaklar dışında, beyin parenkiminde ve serebral damarların duvarlarında da birikir (Haase vd., 2013).

Beta amyloid peptid ilk olarak 1984 yılında Glenner ve Wong (Glenner, Wong, 2012) tarafından tanımlanmıştır. Bu peptidler aminoasit dizilişi bakımından ve içerdikleri aminoasit sayısına göre değişiklik gösterirler. Bu peptidler arasında tam uzunlukta olanlar yani beta amyloid (1-40) 40 aminoasit ve beta amyloid (1-42) 42 aminoasit içerir. Daha kısa uzunlukta olanların örneğin beta amyloid (22-35), (12-28), (25-35) ve (1-28)'in aminoasit sayıları daha azdır (Haase vd., 2013).

Beta amyloid peptidler yaşam boyunca doğal olarak merkezi sinir sistemin hücrelerinde oluşur (Haase vd., 2013). Normal hücrel metabolizma sırasında sentezlenen beta amyloid peptidler ekstraselüler ortama salınıp beyin-omurilik sıvısına geçer (Kumar, Walter, 2011). Bu peptidler genç ve sağlıklı olan kişilerde birikmeden önce yıkıma uğrar (Saido, 2013). Beta amyloid peptidler bir transmembran proteini olan amyloid öncü proteinin (APP) enzimatik bölünmesi sonucunda oluşur. Bu bölünme  $\beta$ - ve  $\gamma$ -sekretaz enzimlerinin ardışık etkileri ile olur (Di Carlo vd., 2012). Monomer halinde olan beta amyloid peptidler en çok  $\alpha$ -sarmal yapılarını içerir. Beta amyloid peptid monomerleri yanlış katlanma sonucunda çözünebilir oligomerler ve onun ardından çözünebilir protofibrillere dönüşür. Son olarak bu protofibrillerden olgun beta amyloid fibriller yapılı. Olgun beta amyloid fibriller fazla miktarda  $\beta$ -yaprakları içerir ve çözünmezler (Kumar, Walter, 2011; Klein, Krafft & Finch, 2001). Son zamanlarda yapılan çalışmalar Alzheimer hastalığında görülen nörotoksik etkilerin büyük kısmından beta amyloid peptidlerin çözülebilir formlarının sorumlu olduğunu göstermiştir (Mukhamedyarov vd., 2011). Çözülebilir beta amyloid peptidler plazma, beyin-omurilik sıvısı ve beyin dokusunda bulunur (Koudinov, Berezov, 2004). Çözülebilir beta amyloid peptidler merkezi sinir sisteminde iyon kanallarının modülasyonu, kinaz

aktivasyonu, kolesterol transportunun düzenlemesi, metal kaynaklı oksidatif hasara karşı korunma, öğrenme, hafıza ve Alzheimer hastalığı ile ilgili genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesi gibi etkiler gösterir (Kumar, Walter, 2011).

Beta amyloid peptidlerin sinir sistemi dışında da önemli etkileri vardır. Serebral dolaşımında vazokonstriksiyonu artırır ve böylece serebral kan akımını azaltır (Niwa vd., 2001). Ayrıca serebral kortekste vasküler direnci ve damar tonusunu arttırmaktan başka endotelin-1 ve serotonin gibi ajanların vasküler aktivitesini daha da güçlendirir. Bundan başka endotel hücrelerinde nitrik oksit (NO) üretimini ve damarların asetilkoline duyarlılığını azaltır (Bölükbaşı Hatip, Hatip-Al-Khatib, 2013; Paris vd., 2000; Thomas, McLendon, Sutton & Thomas, 1997; Dietrich, Xiang, Han, Zipfel & Holtzman, 2010). Beta amyloid peptidler  $\alpha$ 1-adrenerjik reseptörleri aktive ederek izole perfüze sıçan kalbinde koroner arterlerde ve aortta vazokonstriksiyona yol açar ve böylece koroner akımı azaltır (Haase vd., 2013). Beta amyloid peptidler pulmoner ven kardiyomiyositlerinin kalsiyum homeostazını düzenleyerek aritmogenik etkiye sebep olur. Dolayısıyla atriyal fibrilasyonun fizyopatolojisinde de önemli rol oynar (Tsao vd., 2012). Beta amyloid peptidler hem kurbağa hem de sıçan iskelet kası liflerinde kuvvetli depolarizasyona yol açar. Fakat kurbağa iskelet kasında kontraktileti ve nöromüsküler iletiyi azaltırken sıçanlarda bu etkiyi göstermezler (Mukhamedyarov vd., 2011). Bundan başka transgenik farelerde beta amyloid peptidlerin iskelet kasında kalsiyum serbestleşmesini ve kontraktiletiyi azalttığı gösterilmiştir (Shtifman vd., 2010). Hâlbuki bu peptidler domuz ileum düz kasında P maddesi reseptörlerin agonisti olarak davranıp kasılmaya neden olur (Shimohigashi vd., 1993).

Beta amyloid peptid birikimi Alzheimer hastalarının deri ve iskelet kaslarında görülür ve bu hastalarda beta amyloid peptid konsantrasyonunda anlamlı bir artış bulunmuştur (Joachim'den aktaran Mukhamedyarov, 2011; Soininen vd., 1992). Kalp kası ve düz kaslar da beta amyloid peptid tarafından etkilenebilir. Beta amyloid peptid'in beyin dokusunda önemli toksik etkilere sahip olduğu bilinir. Ancak bu peptidlerden beta amyloid peptid 1-42'nin ve beta amyloid 22-35'in izole sıçan kalplerinde kasılma kuvvetine, koroner akıma ve aksiyon potansiyeline etkisi bilinmemektedir. Bundan başka beta amyloid peptid 1-42 ve beta amyloid peptid 22-35'in düz kas gibi başka uyarılabilir dokularda kontraktileteye etkisi araştırılmamıştır. Bu nedenle beta amyloid peptid 1-42'nin ve beta amyloid 22-35'in izole sıçan kalplerinde kasılma kuvvetine, dakikada atım sayısına, koroner akıma ve ventrikül kası aksiyon potansiyeline etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır. Ayrıca beta amyloid peptid 1-42'nin ve beta amyloid peptid 22-35'in sıçan barsak düz kası kontraktilesi üzerine etkisi de çalışılacaktır. Bu çalışmada beta amyloid peptidlerin izole sıçan kalp kasında ve barsak düz kasında zararlı etkileri saptanırsa bu bulgular bu etkilerin önlenmesi konusunda yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

## 2-GENEL BİLGİLER

### 2.1. Beta Amyloid Peptidler

Beta amyloid peptid 1984 yılında ilk defa Glenner ve Wong (Glenner, Wong, 2012) tarafından tanımlanmıştır. Beta amyloid peptidler yaşam boyunca merkezi sinir sisteminin hücrelerinde oluşur (Di Carlo vd., 2012; Haase vd., 2013). Bu peptidler ekstrasellüler sıvıya salınır, genç ve sağlıklı olan kişilerde birikmeden önce yıkıma uğrar (Kumar, Walter, 2011; Saido, 2013).

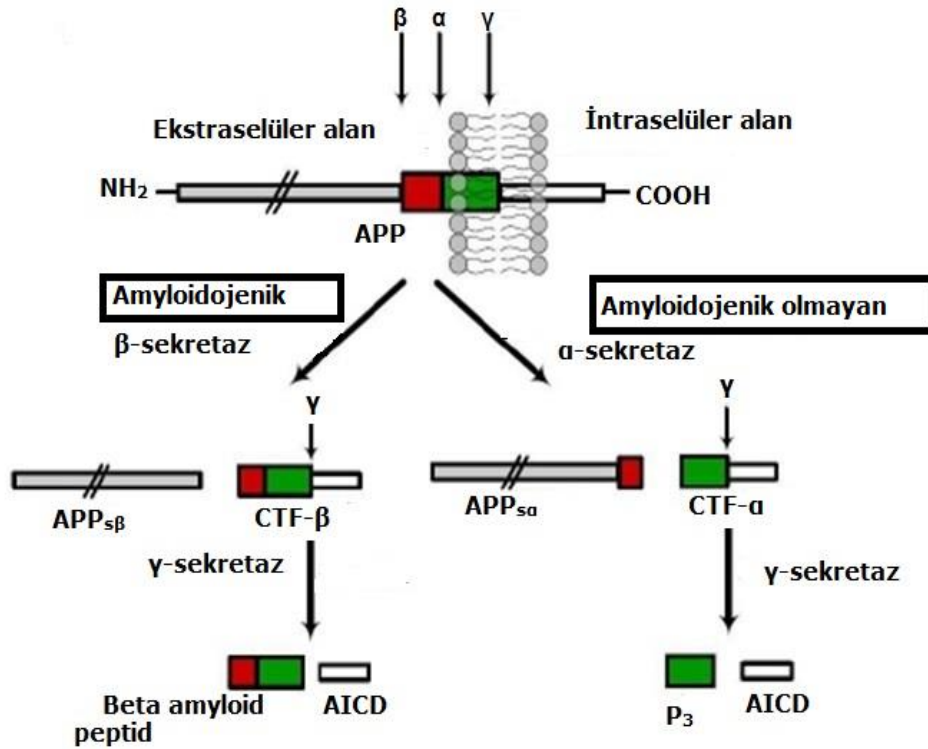
Alzheimer hastalığında olduğu gibi, patolojik durumlarda hastalığa sebep olan proteinler normal yapılarını kaybeder ve toksik fibriller şeklinde toplanırlar. Bu fibriller amyloid fibriller olarak adlandırılır (Di Carlo vd., 2012). Amyloid fibriller boyları ve ultra-yapısal görünümleri değişen, büyük (megadalton) fibriller olup bunların yapısı beta-tabakalarından çok zengindir. Ayrıca beta-tabakaları iki önemli şekilde yani paralel ve paralel olmayan şekilde bulunur (Toyama, Weissman, 2011). 1992 yılında değişik raporlar beta amyloid peptidlerin çözünebilir formlarına sahip olduğunu göstermiştir (Koudinov, Berezov, 2004). Bu çözünebilir beta amyloid peptidler plazmada, beyin-omurilik sıvısında ve beyin dokusunda bulunur ve bunlar plazmada ve beyin-omurilik sıvısında yüksek dansiteli lipoprotein bir parçası olarak taşınır (Koudinov, Berezov, 2004). Ayrıca çözünebilir formlar daha çok küçük oligomerler ve protofibril halindedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar Alzheimer hastalığında görülen nörotoksik etkilerin büyük kısmından beta amyloid peptidlerin çözülebilir formlarının sorumlu olduğunu göstermiştir (Mukhamedyarov vd., 2011; Klein, 2001). Bundan başka beta amyloid peptid 1-42 kaynaklı difüze olabilen oligomer ligandın sinaptik fonksiyonların bozulmasında ve sonuçta nöronal dejenerasyonda rolü olduğu gösterilmiştir. Bu ligand çözünebilir oligomerlerden biridir (Di Carlo vd., 2012). Beta amyloid peptidler iyon kanallarının modülasyonu, kinaz aktivasyonu, kolesterol transportunun düzenlenmesi, metal kaynaklı oksidatif hasara karşı korunma, öğrenme, hafıza ve Alzheimer hastalığı ile ilgili genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesi gibi etkiler gösterir (Kumar, Walter, 2011).

Alzheimer hastalığında biriken beta amyloid peptidler aminoasit dizilişi bakımından ve içerdikleri aminoasit sayısına göre değişiklik gösterir. Beta amyloid peptidler arasında tam uzunlukta olanlar yani beta amyloid (1-40) ve beta amyloid (1-42) en çok aminoasit sayısını içerir. Beta amyloid peptid 1-42 diğer peptidlere göre kümeleşmeye daha çok eğilim gösterir ve Alzheimer hastalığında hücre dışı plaklarda en çok biriken beta amyloid peptid türüdür. Ayrıca beta amyloid peptid 1-42, beta amyloid 1-40' a göre daha çok toksik etkiye sahiptir. Beta amyloid peptid 1-42' nin yapısında bulunan ve 15-21, 24-32 sırasında yer alan aminoasitler beta-tabakaların oluşumunda ve 22 ile 23 pozisyonunda olan aminoasitler ise bu peptidin kümeleşmesinde önemli rollere sahiptir. Daha kısa uzunlukta

olan beta amyloid peptidler örneğin beta amyloid peptid (22-35) 14 aminoasit, beta amyloid peptid (12-28) 17 aminoasit, beta amyloid peptid (1-28) 28 aminoasit ve beta amyloid peptid (25-35) 11 aminoasit içerir (Di Carlo vd., 2012; Haase vd., 2013).

### 2.1.1. Beta amyloid peptidlerin biyosentezi

Beta amyloid peptidler bir tip I transmembran proteini olan APP' nin enzimatik bölünmesi sonucunda oluşur. Bu enzimatik bölünme  $\beta$ - ve  $\gamma$ -sekretaz enzimlerinin ardışık etkileri şeklinde gelişir. APP birçok hücre tipinde vardır ve beyindeki beta amyloid peptidlerin tek ve özel kaynağıdır. Şekil 2.1'de de görüldüğü gibi amyloidojenik yolakta öncelikle  $\beta$ -sekretaz APP' nin hücre membranı dışında kalan N-terminal ucunu parçalar ve bunun sonucunda karboksil terminal fragman  $\beta$  (CTF- $\beta$ ) ve çözünebilir amyloid öncü protein  $\beta$  (APP<sub>s $\beta$</sub> ) ortaya çıkar. Daha sonra  $\gamma$ -sekretaz enzimi CTF- $\beta$ ' nin membranı geçen kısmına etki ederek monomerik beta amyloid peptidi ve ayrıca amyloid öncü proteinin intraselüler alanı (AICD) olarak tanımlanan ve hücre içinde yer alan kısmı oluşturur. Üçüncü sekretaz yani  $\alpha$ -sekretaz amyloid beta peptid dizisini parçaladığı için Amyloidojenik olmayan bir enzim olarak kabul edilir.  $\alpha$ -sekretaz APP' nin membran dışında kalan kısmını parçalayarak çözünebilir amyloid öncü protein  $\alpha$  (APP<sub>s $\alpha$</sub> ) ve karboksil terminal fragman  $\alpha$  (CTF- $\alpha$ ) fragmanlarının oluşumuna neden olur. CTF- $\alpha$ ,  $\gamma$ -sekretaz tarafından parçalanıp P<sub>3</sub> ve AICD ortaya çıkar (Di Carlo vd., 2012; Kumar, Walter, 2011).



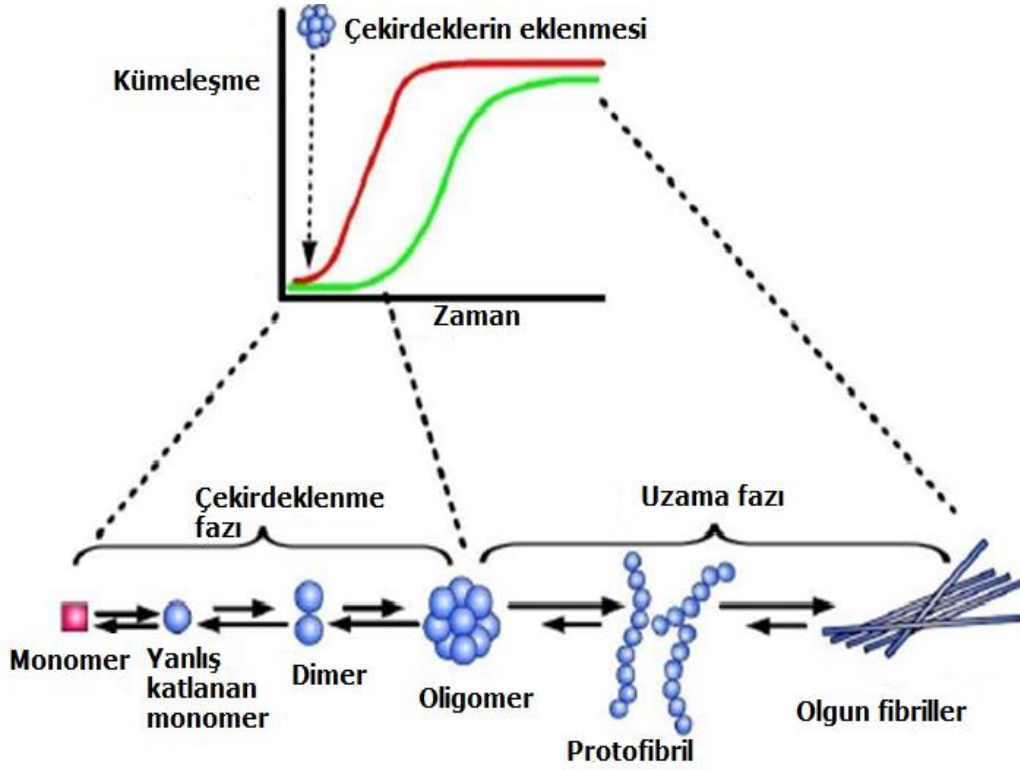
Şekil 2.1. APP'nin proteolitik enzimlerle parçalanması ve beta amyloid peptidin sentezlenmesi (Kumar, Walter, 2011)

### **2.1.2. Beta amyloid peptidlerin metabolizması**

Hasta olmayan kişilerde beta amyloid peptidler sürekli sentezlenir ancak birikmeden önce hızlıca yıkıma uğrar. Bu katabolizma fonksiyonu, beyinin içinde veya beyin dışına ve dolaşım sistemine taşınınca gerçekleşir. Beyin çeşitli peptidazlardan zengindir ve bu enzimler beta amyloid peptidleri proteolize edebilir. Bu peptidler için anabolizma, katabolizma ve hücre dışına taşınma üç ana metabolik süreç olarak kabul edilir. Anabolizmanın azalması veya katabolizma ve hücre dışına taşınmanın artması beta amyloid peptidlerin beyinde birikmesini azaltır. Ayrıca  $\alpha$ -sekretaz'ın aktivasyonu anabolizmanın azalmasına yardımcı olur. Alzheimer hastalığında beta amyloid peptidlerin birikmesinde katabolizmanın azalmasının daha çok etkili olduğu düşünülmektedir (Saido, 2013).

### **2.1.3. Beta amyloid peptidlerin kümeleşmesi**

Alzheimer hastalığında beta amyloid peptidlerin yanlış katlanması sonucunda kümeleşmeye eğilimli olan amyloid fibriller oluşur. Monomerik beta amyloid peptidler  $\alpha$ -sarmaldan oluşmuştur. Halbuki yanlış katlanan oligomerler ve polimerler  $\beta$ -tabakalarından daha zengindir. Yapısal değişiklikler büyük  $\beta$ -tabakaların oluşumuna ve sonuçta beta amyloid peptid oligomerlerin ortaya çıkmasını sağlar. Bu oligomerler daha sonra fibrillerin büyümesini hızlandıran çekirdekler olarak etki eder. Amyloid fibrillerin yapımı çekirdeklenmeye bağlı polimerizasyon modeli kabul edilmektedir. Şekil 2.2'de görüldüğü gibi bu modelde fibrilasyon işlemi çekirdeklenme ve uzama fazı olarak ikiye ayırır. Çekirdeklenme fazında çözünür monomerler birbirine bağlanır ve bu işlem yavaş ilerler. Çekirdeklenme fazında beta-tabakalarından zengin oligomerik çekirdekleri oluşturur. Uzama fazında büyük polimerler yani fibriller oluşur (Kumar, Walter, 2011).



Şekil 2.2. Beta amyloid peptidlerin agregasyonu (Kumar, Walter, 2011)

## 2.2. Beta Amyloid Peptidlerin Sinir Sistemi Üzerinde Etkileri

### 2.2.1. Alzheimer hastalığı

Alzheimer hastalığı demansın en sık nedeni ve kronik nörodejeneratif bir hastalıktır. İlk olarak 1907 yılında Alman hekim Alois Alzheimer (Alzheimer'den aktaran Castellani, 2010) tarafından tanımlanmıştır. Alzheimer hastalığı beyinde bulunan sinapsların ve sinir hücrelerinin kaybı ile ilişkilidir. Bu hastalıkta hafıza, düşünce, davranış ve günlük faaliyetlerin yerine getirme yetisi etkilenir. Alzheimer hastalarında bilişsel değişikliklerin yanı sıra motor bozukluğu belirtileri de bulunur. Bu motor bozuklukları denge ve yürüyüş bozukluğu, göz hareketlerinin bozulması, hareket yavaşlığı, titreme, konuşma bozukluğu, anormal yüz ifadesi ve kasta sertlik gibi belirtileri içerir (Di Carlo vd., 2012; Mukhamedyarov vd., 2011; Guerchet vd., 2014; Wirths, Bayer, 2008). Alzheimer hastalığının patolojisinde sinir hücresi dışında senil veya nöritik amyloid plaklar, sinir hücresi içinde nörofibriller yumak oluşumu, sinaps-nöron kaybı ve beyinde belirgin bir atrofi saptanır. Senil plakların oluşumu hastalığın patolojisinde en önemli belirti olup ve özellikle amigdala, hipokampus ve neokortekste görülür. Hiperfosforile tau proteini nörofibriller yumakların temel bileşeni olup Alzheimer hastalığında hiperaktif kinazlar veya hipoaktif fosfatazlar bu proteininin fosforilasyonuna yol açar. Fosforilasyondan sonra bu proteinin mikrotübüllere bağlanma yeteneği bozulur. Mikrotübüllere



bağlanamayan fosforilize tau proteini aksonal transportun ve ayrıca nöron ve sinapsların bozulmasını sağlar. Bu protein nöron içinde çözülme- yen fibriller halinde toplanıp yumakları oluşturur. Alzheimer hastalığında diğer temel nöropatolojik değişiklik nöritik plakların oluşumudur. Bu plakların ana bileşeni beta amyloid peptidlerdir. Beta amyloid peptidler ilk diffüz plaklara ve sonra nöritik plaklara dönüşür. Ayrıca beta amyloid peptidler Alzheimer hastalığında nöritik plaklar dışında, beyin parenkiminde ve serebral damarların duvarlarında da birikir. Nöritik plakların oluşumu iltihap, toksisite, oksidatif stres, mitokondri fonksiyon bozukluğu, nöritik dejenerasyon ve hücre ölümüne neden olur (Haase vd., 2013; Castellani, Rolston & Smith, 2010; Blennow, de Leon & Zetterberg, 2006). Son zamanlarda yapılan çalışmalar Alzheimer hastalığında görülen nörotoksik etkilerin büyük kısmından beta amyloid peptidlerin çözülebilir formlarının sorumlu olduğunu göstermiştir (Mukhamedyarov vd., 2011).

Alzheimer hastalığında nörotransmitter kaybı da görünür. Kolinerjik kayıpta hipokampus ve neokortekste kolinerjik sinapslar bozulur. Alzheimer hastalarında kolinerjik kayıp bilişsel performansın azalmasına neden olur (Baskin vd., 1999). Ayrıca kolinerjik kayıp hastalığın başlangıç aşamalarında daha az olup, hastalığın ileri evrelerinde gelişme gösterir (Davis vd., 1999). Asetilkolin sentezi için kolin asetiltransferaz enzimi asetil-ko enzim A'dan asetil gurubunu koline taşıyarak asetilkolin sentezini kataliz eder. Yeni oluşan asetilkolin molekülleri presinaptik terminallerde veziküller şeklinde depolanır. Presinaptik sinir uyarıldığında veziküllerde bulunan asetilkolin sinaps bölgesine salınıp postsinaptik sinir membranında bulunan reseptörlerine bağlanır. Alzheimer hastalığında hipokampus ve neokortekste kolin asetiltransferaz enzimin düzeyi azaldığı için asetilkolin sentezlenmesi azalır. Bunun dışında bu hastalıkta bazal ön beyinde kolinerjik hücrelerin sayıları azaldığından dolayı asetilkolin düzeyinde de azalma olur. Böylece Alzheimer hastalığında asetilkolin düzeyindeki azalma kolinerjik kayba neden olur (Grutzendler, Morris, 2001).

### **2.3. Beta Amyloid Peptidlerin diğer etkileri**

Beta amyloid peptidler daha önce de belirtildiği gibi nöron dışında da toksik etkiler gösterir ve bu etkiler aşağıdaki nedenlerden dolayı ortaya çıkabilir. 1. İnsanlarda birçok hücrede amyloid öncü proteini hem santral sinir sisteminde hem de periferde eksprese edilir (Selkoe vd., 1988). 2. Çözünebilir beta amyloid peptid sistemik kan dolaşımında bulunur (Mehta vd., 2000). 3. Alzheimer hastalarından alınan kan hücreleri ve fibroblastlar kalsiyum homeostazinde anormallikler gösterirler (Palotás vd., 2001). 4. Alzheimer hastalarında beta amyloid peptidlerin birikimi sadece beyinde değil iskelet kaslarında ve deride görülür (Soininen vd., 1992). 5. Alzheimer hastalarının iskelet kaslarında beta amyloid peptidlerin konsantrasyonu belirgin bir şekilde artış gösterir (Roher vd., 2009). 6. Alzheimer hastalarında kas kitlesi azalır (Poehlman, Dvorak, 2000). 7. Alzheimer hastalarında bilişsel değişikliklerden başka kalp-damar ve motor

bozuklukları artar. Böylece beyin hücreleri ile birlikte miyositler de beta amyloid peptidlerin hedefi olabilir (Wirths, Bayer, 2008; Mukhamedyarov vd., 2011).

## **2.4. Beta Amyloid Peptidlerin Kardiyovasküler Sistem Üzerinde Etkileri**

### **2.4.1. Beta amyloid peptidlerin vasküler sistem üzerinde etkileri**

Beta amyloid peptidler hem beyin parenkiminde hem de kan dolaşımında bulunurlar. Kan dolaşımında bulunan beta amyloid peptidlerin kaynağı beyin veya damar düz kası hücreleri ve endotel hücreler gibi perifer dokular olabilir. Beta amyloid peptidlerin damar içinde birikmesi kapiller damarlarda bükülmelere, tıkanıklığa ve endotel hasarına neden olur. Ayrıca kapiller geçirgenliğinin, iltihaba neden olan sitokin salınımının ve vasküler adezyon moleküllerinin artmasına yol açar (Bölükbaşı Hatip, Hatip-Al-Khatib, 2013). Beta amyloid peptid 25-35 makrofajlardan ve mikroglialardan interlökin  $1\beta$ 'nin salınımını artırarak beyinde lokal bir iltihap yanıtına neden olur (Lorton, Kocsis, King, Madden & Brunden, 1996). Beta amyloid peptid 1-40 Alzheimer hastalığında görünen serebrovasküler değişikliklerde çok önemli bir peptid olup bu peptidin kan dolaşımındaki düzeyi normal fizyolojik değerden yüksek olursa vasküler fonksiyonun bozulmasına yol açar. Bu peptid serebral damar tonusunu artırır, kan akımını azaltır ve endotelin-1 ve serotonin gibi ajanların vasküler aktivitesini daha da güçlendirir (Bölükbaşı Hatip, Hatip-Al-Khatib, 2013; Paris vd., 2000; Thomas vd., 1997; Dietrich vd., 2010).

Sıçanlarda beta amyloid 1-40 amigdala içine enjekte edildikten 14 gün sonra yani bu peptidin yarı ömründen daha uzun bir süreden sonra vasküler cevapların değişmesini sağlar. Bu peptid sadece damar içinde biriktikten sonra serebrovasküler fonksiyonda değişikliğe yol açar. Damarlar içinde beta amyloid peptid birikimi sonucunda ortaya çıkan hücre yıkımı damar bütünlüğünü bozar. Beta amyloid 1-40'ın endotelde prostaglandin  $E_2$  ( $PGE_2$ ) gibi maddelerin yapımını azaltarak (Paris vd., 2000) ve glikoz transportunu zayıflatarak endotel fonksiyonun bozulmasına yol açtığı bildirilmiştir (Blanc, Toborek, Mark, Hennig & Mattson, 1997). Ayrıca beta amyloid peptidler damar düz kas hücrelerini etkiler. Bu hücrelerde iltihap oluşumuna ve vazokonstriksiyona neden olur. Damar düz kas hücrelerinde beta amyloid peptid 1-40 birikimi sonucunda araşidonik asit ve eicosanoid ( $PGF2_\alpha$ ) yapımı artar (Townsend vd., 2002). Bunlar da peptidin vasküler etkilerine katkıda bulunur. Her ne kadar damar endoteli ve düz kası çevresinde beta amyloid peptid 1-40 birikimi saptansa da dejeneratif değişikliklerin başlıca endotel hücrelerinde olduğu bildirilmiştir (Bölükbaşı Hatip, Hatip-Al-Khatib, 2013).

Asetilkolin endoteldeki muskarinik reseptörlere bağlanıp endotel kaynaklı nitrik oksit sentezi (eNOS) aktive edilerek NO sentezini sağlar. NO,

guanil siklaz enzimi aracılığı ile cGMP oluşumuna neden olur ve cGMP de damarlarda vazodilatasyona neden olur. Ayrıca NO, cGMP aracılığı olmadan potasyum kanallarını aktive ederek ve kalsiyum kanallarından hücreye kalsiyum girişini azaltarak da damarlarda vazodilatasyon yapar (Lovren, Triggle, 2000). Beta amyloid peptid 1-40 sıçan aortında asetilkolinden kaynaklanan gevsemeyi azaltır çünkü bu peptid damar endotelinde endoplazmik retikulumun inozitol üç fosfat reseptörlerinden kalsiyum sızmasına sebep olur. Böylece sitozolik kalsiyum konsantrasyonu artar ve bu da protein kinaz C (PKC) enzimini aktifleştirir, eNOS'un fosforilasyonunu değiştirerek bu enzimi inhibe eder. Sonuç olarak beta amyloid peptid 1-40 endotel hücrelerde nitrik oksit üretimini, damarların asetilkoline olan duyarlılığını azaltır ve endotel fonksiyonun bozulmasına sebep olur (Bölükbaşı Hatip, Hatip-Al-Khatib, 2013). Bu peptidin vazokonstriktör etkileri ROS yapımı sonucunda da ortaya çıkabilir. Bu peptid ya kendisi serbest radikalleri oluşturur ya da düz kas ve endotel hücrelerinde nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidazı (NAPDH oksidaz) aktifleştirerek serbest radikalleri üretir. Bu peptidin fenilefrin ile tonusu arttırılan sistemik ve serebral damarlarda vazokonstriktör etkisi görünmüştür (Niwa vd., 2001; Mattson, 1997). Diğer taraftan beta amyloid peptid 25-35 sıçanlarda deri kapillerlerinde vazokonstriktör etki gösterir ve endotel fonksiyon bozukluğuna yol açar. Ayrıca bu peptid  $\alpha$ 1-adrenerjik kardiyovasküler reseptörleri aktifleştirerek sıçan aorta'sında ve koroner arterlerinde vazokonstriksiyona yol açar (Haase vd., 2013).

#### **2.4.2. Beta amyloid peptidlerin kalp üzerinde etkileri**

Kardiyak amyloidoz ekstraselüler homojen protein fibrillerin yani amyloidlerin kalpte birikmesi ile karakterize edilen bir hastalıktır. Kardiyak amyloidoz hastalığında kalbin normal fonksiyonu bozulur ve amyloidler ekstraselüler alanda oluştuktan sonra miyokarda sızarak interstisyel alanda, kardiyomiyositler etrafında ve kalp ileti sistemi bölgelerinde birikirler (Dubrey, Falk, 2010; Shah, Inoue & Mehra, 2006). Kardiyak amyloidoz hastalığında amyloidler APP'den hücre dışında oluşup birikse de bunun yanı sıra hücre içinde sentezlenen sitoplazmik çözünebilir preamyloid oligomerlerin de bu hastalıkta sitotoksik etkileri olduğu gösterilmiştir (Walsh, Tseng, Rydel, Podlisny, & Selkoe 2000). Bu oligomerler kardiyomiyositlerin içinde endozom-benzeri vakuoller şeklinde birikip kardiyak amyloidoza neden olur. Hücre içinde bu çözünebilir oligomerlerin oluşumuna aracılık eden mekanizmalar bilinmemektedir (Fidziańska, Walczak, Bekta & Chojnowska, 2011).

Amyloidler ventrikül içine sızarsa restriktif kardiyomiyopatiye neden olur. Restriktif kardiyomiyopatide ventrikül duvarlarında biriken amyloidler bu duvarların kalınlaşmasına, ventriküllerin normal gevsememesi sonucunda tam olarak kanla dolamamasına ve diyastol sonu basıncın artmasına neden olur. Bu da diyastolik kalp yetmezliğine yol açar (Shah vd., 2006). Kalp kapakçıklarında da amyloidler birikebilir ama nadiren kapakçıkların fonksiyon bozukluğuna neden olur (Dubrey, Falk, 2010).

Bundan başka eğer amyloidlerin birikimi atriyumda olursa kalbin ileti sistemini etkiler, atriyumların depolarizasyon dalgası olan P dalgasının süresini uzatır ve atriyal aritmiye yol açar. Amyloid birikmesi atriyal fibrilasyon için duyarlılığı da arttırır. Atriyal fibrilasyon sürekli olarak devam eden bir ritim bozukluğu olup sonuçta kalbin fonksiyon bozukluğuna ve inmeye sebep olur. Atriyumda amyloidlerin birikmesi interstisyumda, damarların etrafında ve endokardde görünür (Röcken vd., 2002).

Preamyloid oligomeri olan ve kalpte bulunan beta amyloid peptid 25-35 tam uzunlukta olan peptidler gibi nörotoksik etkiler gösterir. Bu peptid pulmoner ven kardiyomiyositlerinde SERCA2a protein düzeyini değiştirmez fakat fosforile fosfolamban düzeyini azalttığından dolayı SERCA2a aktivitesini azaltır ve böylece sarkoplazmik retikulumda (SR) kalsiyum depolanması azalır. Bu azalma hücre içi kalsiyum düzeyini azaltır. Ayrıca bu peptid voltaja bağımlı L-tipi kalsiyum kanallarından kalsiyumun hücre içine geçişini azaltır. Bu da hücre içi kalsiyumunu azaltır. Böylece beta amyloid peptid 25-35 pacemaker aktivitesine sahip pulmoner ven kardiyomiyositlerinde kalp atımlarını yavaşlatır ve kalp kontraktilitesi de bozulur (Tsao vd., 2012). Öte yandan bu peptid neonatal sıçanların kardiyomiyositlerinde  $\alpha_1$ - adrenerjik reseptörler aracılığıyla spontan kalp atım sayısı üzerinde etki eder ve pozitif kronotropik etki yaratır (Haase vd., 2013).

## **2.5. Beta Amyloid Peptidlerin Kas Üzerinde Etkileri**

### **2.5.1. Beta amyloid peptidlerin iskelet kas üzerinde etkileri**

Beta amyloid peptid 25-35 hem kurbağa hem de sıçan iskelet kası liflerinde 20-30 mV gibi kuvvetli depolarizasyona yol açar. Beta amyloid peptid 25-35' in kas liflerinde sebep olduğu depolarizasyonun nedeni tam olarak belli değildir ama hücre membranının bozulması, membranda bulunan iyon kanallarının ve pompaların aktivitesinin değişmesi, seçici olmayan gözeneklerin oluşumu ve miyofibrillerin membranlarında sodyum iyonuna olan geçirgenliğinin artması bu depolarizasyona sebep olabilir (Kourie, 2001).

Bu peptid plazma membranındaki direkt etkilerinden başka reaktif oksijen ürünlerini (ROS) oluşturarak ve kalsiyum dengesizliğine neden olarak indirekt yoldan kas fonksiyon bozukluklarına yol açar (Butterfield, Reed, Newman & Sultana 2007; Crouch vd., 2007). Ayrıca beta amyloid peptid 25-35 kurbağa iskelet kasında kontraktıl fonksiyonun bozulmasına ve nöromüsküler iletinin azalmasına yol açarken sıçanlarda bu etkiyi göstermez. Bu peptid uç plak potansiyel amplitüdünü azaltır, eşik potansiyeli arttırır ve böylece nöromüsküler iletinin fizyolojik ve patofizyolojik durumlardaki etkinliğini azaltır. Dinlenme durumunda bu peptid fazla bir şekilde kas fonksiyon bozukluğuna neden olmaz. Halbuki

egzersizde olduğu gibi hareket şiddeti arttığında kasların motor nöron aracılığıyla uyarılmasının artması nedeni ile fonksiyon bozukluğu artar (Mukhamedyarov vd., 2011).

Beta amyloid peptid 1-42 transgenik farelerde iskelet kasında kalsiyum serbestleşmesini ve kontraktileteyi azaltır. Bu peptid SR membranında bulunan ryanodin reseptörlerin (RYR1) membran dışındaki alanını değiştirir ve bu kanallardan serbestleşen kalsiyum miktarını azaltır (Shtifman vd., 2010).

### **2.5.2. Beta amyloid peptidlerin düz kas üzerinde etkileri**

Beta amyloid 21-35 domuz ileum düz kasında P maddesi reseptörlerin veya taşıkinin reseptörlerin (NK-1) agonisti olarak davranıp kasılmaya neden olur. Aslında bu peptid, P maddesi reseptörlerinin bir peptid ligandı olarak davranıp kasılma etkisini yaratır (Shimohigashi vd., 1993).

## **2.6. Retrograd Kalp Perfüzyonu: Langendorff Tekniği ile İzole Kalp Perfüzyonu**

Elias Cyon ve Carl Ludwiy (Zimmer, 1998) 1866 yılında ilk defa izole kurbağa kalp perfüzyonu ve daha sonra Oscar Langendorff (Bell, Mocanu & Yellon, 2011) 1895 yılında ilk defa memelilerde retrograd kalp perfüzyonu yöntemini ortaya koymuştur. Bu yöntem kardiyovasküler ve farmakolojik çalışmalarda çok yararlı bir yöntem olup kalp fonksiyonunun düzenlenmesi, kardiyak metabolizma, ilaçların kalbe etkileri ve iskemi-reperfüzyon çalışmalarında kullanılmaktadır (Skrzypiec-Spring, Grotthus, Szelag & Schulz, 2007). Bu yöntemde kalbin izolasyonundan sonra aort kanüle edilir. Bu işlemde kalp direkt olarak soğuk mKHS'dan, perfüzyon sistemine bağlı olan ve içinden ısıtılmış ve oksijenlenmiş perfüzyon sıvısı yani mKHS akan kanül üzerine taşınır. Kalp aorttan kanüle iplikle bağlanır. Böylece sıvıdan sıvıya bağlantı kurulup hava embolisi riski ve mikrovasküler tıkanıklıklar azaltılır (Bell vd., 2011).

Langendorff yönteminde perfüzyon sıvısı vücuttaki normal duruma ters olarak yani retrograd şekilde aorttan kalbe doğru akar. Belli bir basınç ile verilen perfüzyon sıvısı aort kapakçığını kapatır ve sıvı sol ventrikül içine giremez. Ancak perfüzyonun başlamasıyla sağ ve sol koroner arterler aort kapakçığın üst kısmında bulunan valsalva sinüslerinin aracılığıyla perfüzyon sıvısı ile dolmaya başlar. Perfüzyon sıvısı damar yatağından geçip koroner venlerle sağ atriyumun arka duvarında bulunan koroner sinüse boşalır. Sağ atriyumdan sağ ventriküle geçen perfüzyon sıvısı kesilmiş olan pulmoner arterle dışarı atılır. Perfüzyon ya sabit basınç veya sabit akım şeklinde yapılır. Sabit basınçla perfüzyonda koroner akım ve sabit akımla yapılan perfüzyonda koroner perfüzyon basıncı ölçülür (Bell vd., 2011).

## 2.7. Monofazik Aksiyon Potansiyeli

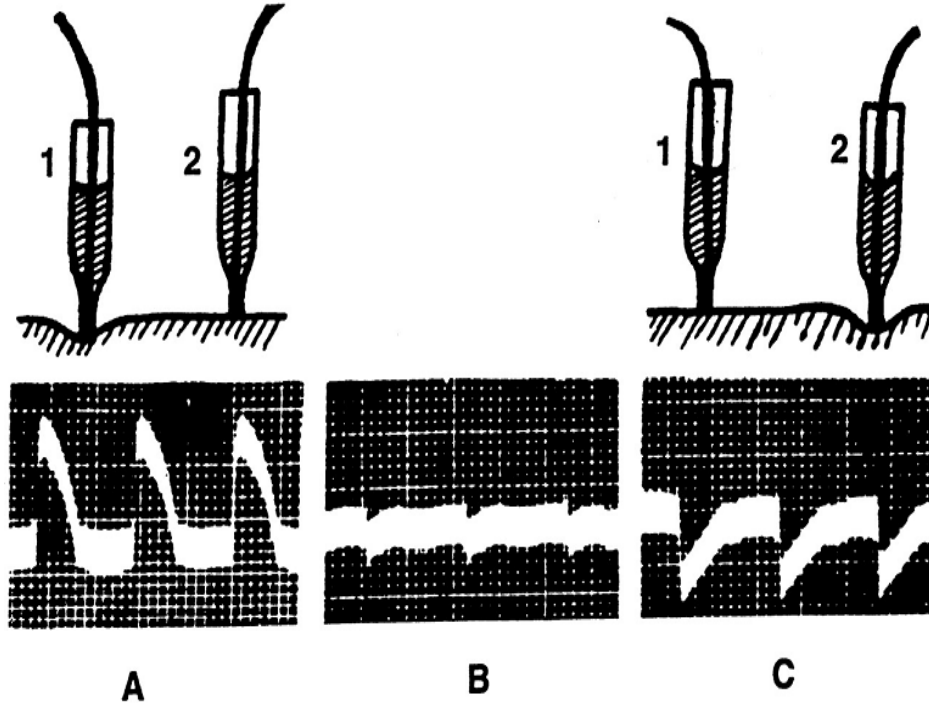
Monofazik aksiyon potansiyeli (MAP) ekstraselüler olarak kaydedilen aksiyon potansiyelleridir. Transmembran aksiyon potansiyelinin ölçülmesi için cam bir mikroelektrod kalp kası lifinin içine ve bir referans elektrod lifin dışına konur (Franz, 1994). Bu yüzden bu yöntem in vitro preparasyonlara sınırlıdır. Halbuki monofazik aksiyon potansiyeli insanlarda endokard ve epikarddan kaydedilebilir. Monofazik aksiyon potansiyeli 1-2 mm'lik bir çapa sahip olan ekstraselüler elektrodlarla ölçülür bu yüzden tek bir kalp hücresine giremez. MAP kayıtları kalpte elektrofizyolojik çalışmalarda ve özellikle repolarizasyonun araştırılmasında önem taşır. Ayrıca MAP kayıtları ritim bozukluklarını araştırmak için de kullanılır (Franz, 1999).

Schütz'un hipotezine göre ekstraselüler direncin artması sonucunda örneğin kalp yüzeyinin kuru olması ile MAPamp'ü daha büyük olur. Tersine ekstraselüler direnç azalırsa örneğin kalp yüzeyi bir elektrolit solüsyonu ile ıslatılırsa MAPamp'ü azalır (Antzelevitch, Moe, 1981). Ayrıca MAP oluşumuna katkıda bulunan hücrelerin sayısı da çok önemlidir. MAP elektrodu ve kalp arasındaki temas basıncı arttığında MAPamp'ü artar. Kalpte ventrikülden ve büyük kalplerden örneğin insan kalbinden kaydedilen MAP, küçük kalplerden ve atriyumdan kaydedilen MAP'lara göre daha büyük amplitüde sahiptir (Franz, 1999). Böylece MAP elektrodunun altında bulunan kalp duvarının kalınlığı ve hücrelerin hacmi MAPamp'ü üzerinde etkilidir. MAP kaydı uzun bir süre içinde tek bir bölgeden yapılırsa MAP ampitüdün azalmasına neden olur (Moore, Franz, 2007).

Repolarizasyon işlemi asimptotik olarak biter ve bu da MAP süresinin tamamını ölçmeyi güçleştirir. Bu yüzden MAP süresi genellikle repolarizasyon MAPamp'üne göre %90'a ulaştığında belirlenir (Franz, 1999). MAP süresi kalp frekansına göre de değişebilir. Böylece kalp atım sayısı artarsa MAP süresi azalır (Wang, Chen, Liu, Xiao & Wang, 2014)

### 2.7.1. *Kontakt elektrod yöntemi*

Franz (Franz, 1999) tarafından 1980 ile 1983 yılları arasında tanımlanan ve klinikte kullanılan kontakt elektrod yönteminde polarize olamayan bir elektrodla nazikçe endokard veya epikarda karşı bir basınç uygulanır ve MAP kaydı yapılır. Kontakt elektrod yöntemi basit ve klinik bakımdan güvenli olup miyokard hasarı olmadığı için bu yöntemle zaman içinde sabit MAP kayıtları alınır. Bu da aynı bölgeden uzun bir sürede MAP'ın izlenmesine olanak sağlar. Böylece lokal miyokard repolarizasyonu hakkında daha fazla araştırma yapılabilir (Franz, Swerdlow, Liem & Schaefer, 1988) (Şekil 2.3).

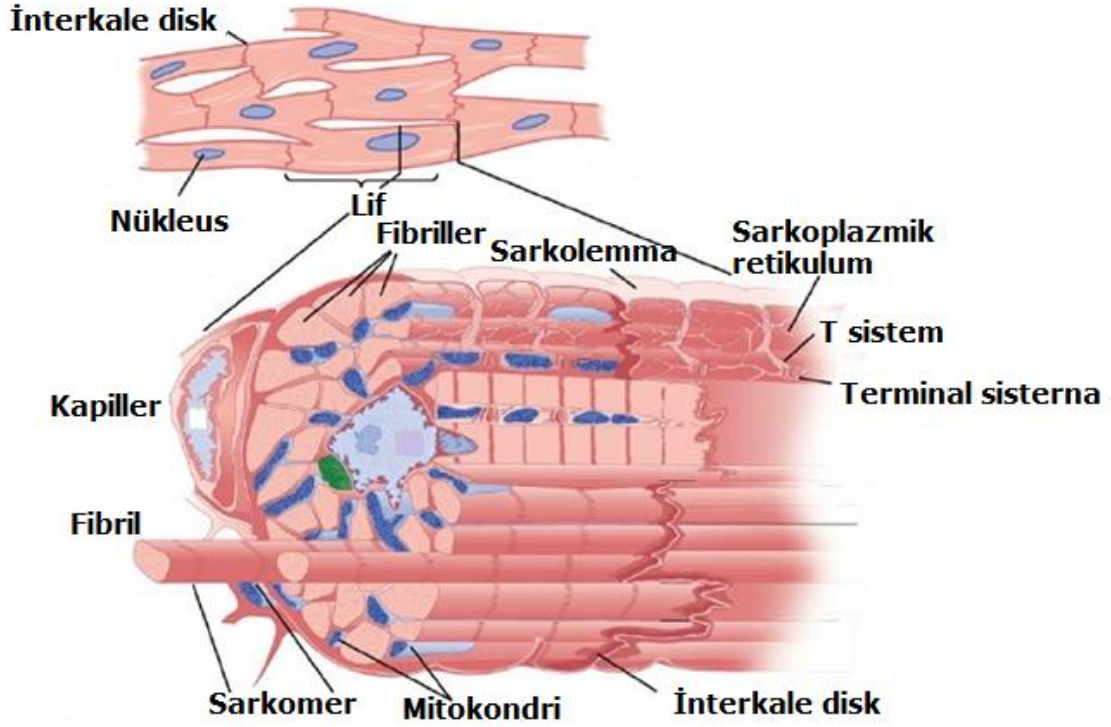


Şekil 2.3. Monofazik aksiyon potansiyelinin kaydı. A: Pozitif elektrod (1) epikardiyumla temas ettiğinde pozitif MAP elde edilir. C: Negatif elektrod (2) epikardiyumla temas ettiğinde negatif MAP elde edilir. B: Her iki elektrod epikardiyuma hafifçe temas ettiğinde bifazik elektrogram elde edilir (Franz, 1999)

## 2.8. Kalp Kasında Kontraktilite

### 2.8.1. Kardiyak miyositlerin yapısı

Kardiyak miyositler sarkolemma denilen hücre membranı ile çevrilmiş olup sadece bir çekirdek içerir. Adenozin trifosfat'ın (ATP) sürekli kaynağını sağlamak için ve böylece kalp kasılmasını sürdürmek için hücrelerde çok sayıda mitokondri bulunmaktadır (Barrett, Barman, Boitano & Brooks, 2010, s. 106). İskelet kaslarında olduğu gibi kardiyak miyositler de kasılabilen proteinleri yani aktin (ince filament) ve miyozin (kalın filament) ve troponin ve tropomiyozin içerir. Kalp kası çizgili olmasına rağmen iskelet kasından farklıdır. Kalp kas lifinde transvers tübülleri (T-tübülleri) hücrelerin Z-çizgisinden geçip kas liflerini enine keserler. T-tübülleri ekstraselüler sıvı ile doludur ve sarkolemmada yayılan aksiyon potansiyelinin hücre içine iletilmesini sağlar. İki komşu kalp kası lifi interkale disk denilen yapılarla birleşir. Bu yapılar Z-çizgisinde görülür. Bu noktalarda hücre membranları dezmozomlarla birbirine sıkıca bağlı olan birkaç paralel kat oluşturur (Pinnell, Turner & Howell 2007). Kalp kası lifleri birbirinden zarlar aracılığıyla ayrılmıştır, ama sinsisyum gibi davranmalarına olanak sağlayan aralarındaki gap junctionlar nedeniyle aksiyon potansiyeli bir kas lifinden diğerine büyük bir hızla iletilir (Barrett vd., 2010, s.106) (Şekil 2.4).



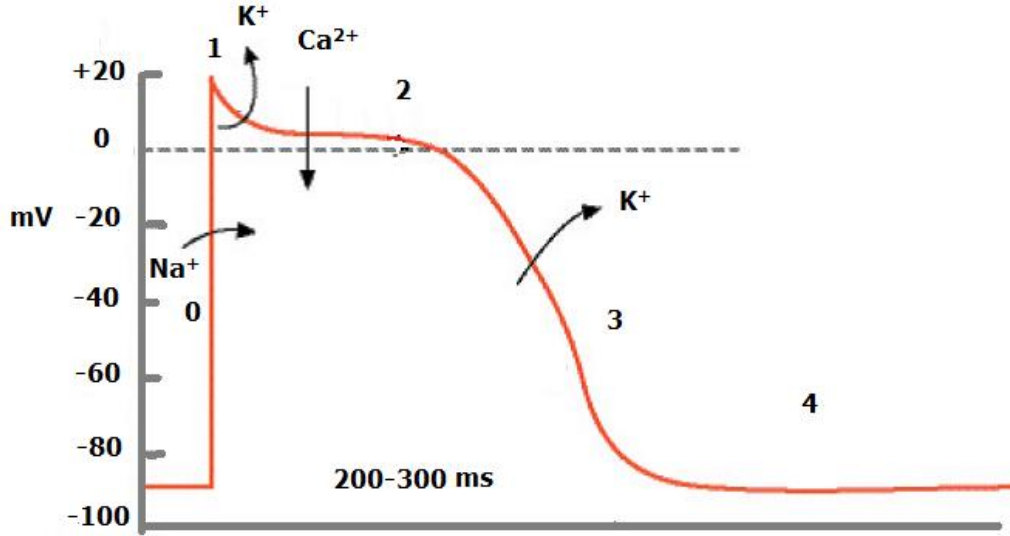
Şekil 2.4. Kalp kasının yapısı (Barrett vd., 2010, s. 107)

### 2.8.2. Kalp kasında monofazik aksiyon potansiyeli

Atriyum ve ventrikülleri oluşturan kas lifleri büyük ve sabit bir dinlenme membran potansiyeline ve platolu uzun bir aksiyon potansiyeline sahiptir. Kalpteki aksiyon potansiyel uzun plato fazından dolayı yaklaşık 200-300 ms sürer. Kardiyak aksiyon potansiyeli şekil 2.5'de de görüldüğü gibi faz 0, faz 1, faz 2, faz 3 ve faz 4 olmak üzere 5 fazdan oluşur. Kalp kası liflerinin dinlenme zar potansiyeli yaklaşık -90 mV'dır. Tek bir kalp kası hücrelerinin transmembran aksiyon potansiyelinin başlangıçtaki hızlı depolarizasyon ve aşma fazına Faz 0 denir. Bu fazda hızlı sodyum kanalları açılıp bu kanallar yolu ile hücre içine sodyum girer ve dinlenme zar potansiyeli +20 mV'a kadar artış gösterir. Başlangıçta repolarizasyon fazı, faz 1 adını alır ve bu faz sodyum kanallarının kapanması ve potasyum kanallarının açılması ile oluşur (Barrett vd., 2010, s. 106-108; Pinnell vd., 2007). Bu fazda potasyum iyonları hücre içinden dışına geçer. Böylece kısmi bir repolarizasyon ortaya çıkar. Faz 2, plato fazı olup bu faz sırasında membranın kalsiyuma olan geçirgenliği artar. Böylece kalsiyum iyonları yavaş açılan ve uzun süre açık kalan voltaja bağımlı kalsiyum kanallarından hücre içine difüzyon gösterir. Ayrıca bu kanallardan kalsiyum dışında sodyum iyonları da hücre içine girdiği için bu kanallara kalsiyum-sodyum kanalları da denir. Plato fazı depolarizasyonun devam etmesine ve kardiyak aksiyon potansiyelinin uzamasına neden olur. Final repolarizasyon fazı (Faz 3) voltaj kapılı potasyum kanallarından hücre



dışına potasyumun net akışı ile ortaya çıkar. Bu repolarizasyon sonucunda görülen faz 4 dinlenme membran potansiyelidir (Pinnell vd., 2007).



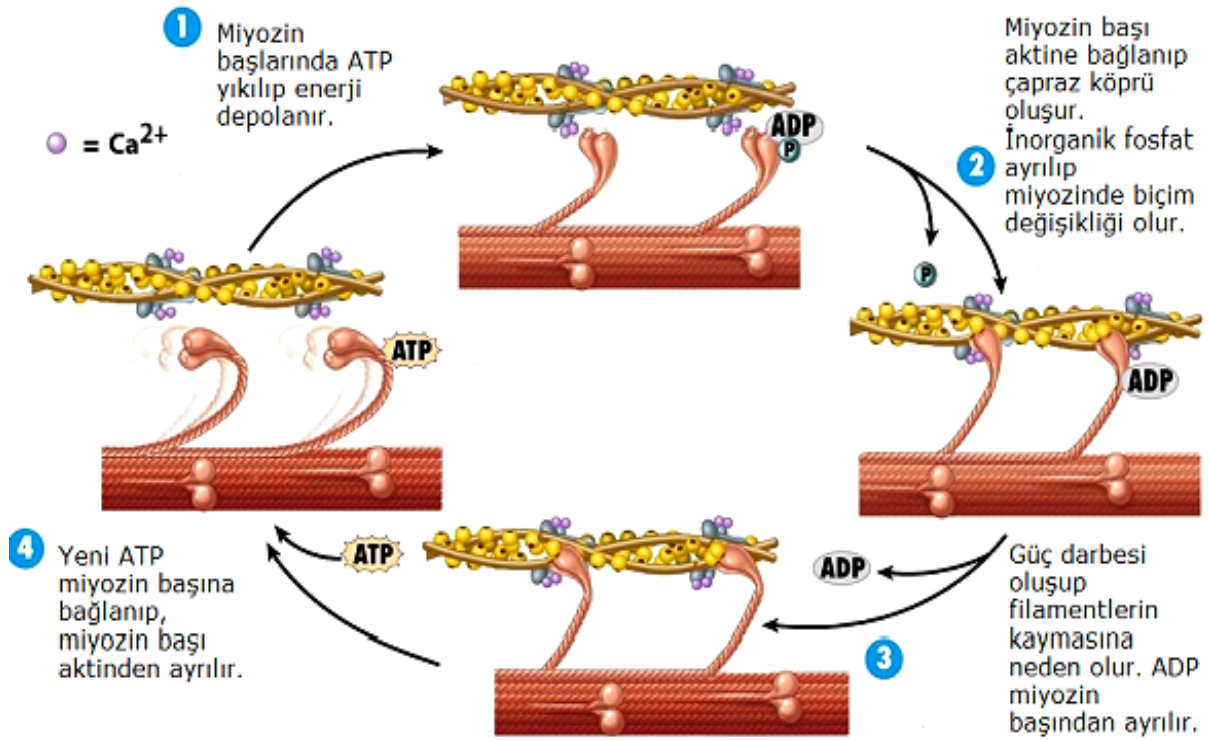
Şekil 2.5. Kalp kası aksiyon potansiyel fazları (<http://www.oytunerbas.com.tr/tip-fizyoloji-ders-notu/14/>)

### 2.8.3. Uyarma ve kasılma arasındaki bağlantı ve kalp kasında kasılma

Kalp kası aksiyon potansiyeli başladıktan birkaç milisaniye sonra kasılmaya başlar, aksiyon potansiyelinin son bulmasından birkaç milisaniye sonraya kadar kasılmaya devam eder. Kalp kası membranında ilerleyen aksiyon potansiyeli aynı zamanda transvers (T) tübüllerin zarları boyunca kalp kası lifinin içine de yayılır. T tübüllerinin uçları hücre zarından geçerek kalp kasının çevresinde bulunan hücre dışı alana açıldığından, kalp kasının interstisyumundaki aynı hücre dışı sıvı T tübüllerinde de dolaşır. Bu yüzden hücre dışı sıvısında bulunan kalsiyum iyonların yoğunluğu kalp kasının kasılma kuvvetinde çok önemlidir. T tübüllerindeki aksiyon potansiyelleri kalsiyum iyonların SR'dan kasın sarkoplazmasına serbestleşmesini sağlar. SR'un sisternalarından sarkoplazmaya serbestlenen kalsiyum iyonlar dışında, aksiyon potansiyeli sırasında T tübüllerinden de sarkoplazmaya büyük miktarda kalsiyum difüzyonu ile kalp kasının kasılma gücü artar. Çünkü kalp kasında SR az gelişmiştir ve tam bir kasılma sağlayacak kadar kalsiyum içermez. SR sisternalarından sarkoplazmaya serbestleşen kalsiyum iyonlarından başka aksiyon potansiyeli sırasında T tübüllerinden sarkoplazmaya kalsiyum iyonları salınır. Bu kalsiyum iyonları daha fazla kalsiyum iyonun SR'da bulunan ryanodin reseptörlerinden serbestleşmesini tetikler (Guyton, Hall, 2006, s. 106).

Kalp kası dinlenme halindeyken troponin I, aktin filamentine sıkıca bağlanıp onu inhibe eder. Ayrıca aktin filamentlerin etkin yerleri troponin-tropomyozin kompleksi tarafından örtülmüştür. Miyozin filamentinin baş kısmında aktine bağlanma bölgesi ve bunun arkasında da ATP bağlanma yeri bulunur (Barrett vd., 2010, s. 99-100).

Şekil 2-6'da da gösterildiği gibi kasılma başlamadan önce miyozin başlarındaki ATPaz aktivitesi ile ATP parçalanıp ADP ve inorganik fosfat oluşur. Bu yıkım ürünleri miyozin başlarına bağlı kalır. Bu durumda miyozin başları aktin filamentine doğru uzanır fakat aktine bağlanmamış olarak kalır. Aksiyon potansiyeli sırasında sarkoplazmada bulunan serbest kalsiyum iyonları troponin C'ye bağlanınca troponin I'nın aktine olan bağlantısı zayıflar. Ayrıca tropomyozin hareket eder. Böylece aktin üzerinde miyozin başlarının bağlanacağı yerler açığa çıkar. Kasılma sırasında miyozin filamentlerinin baş kısımları aktin üzerindeki aktif yerlere bağlanır. Bu bağlanma sonucunda inorganik fosfat ayrılır ve miyozin filamentinde bir biçim değişikliğine neden olur. Bu değişiklik başın kola doğru eğilmesine ve güç darbesinin ortaya çıkmasına neden olur. Güç darbesi aktin filamentlerinin miyozin filamentleri arasında kaymasını sağlar ve kas kasılması ortaya çıkar (Barrett vd., 2010, s. 99-100). Daha sonra ADP, miyozin filamentinin baş kısmından ayrılarak bu kısma yeni ATP bağlanır. ATP'nin bağlanması miyozin başının aktin filamentinden ayrılmasını sağlar (Boron, Boulpaep, 2012). Hücre içi kalsiyum yoğunluğu repolarizasyon sırasında azaldığında kalsiyum troponin'den ayrılıp kas dinlenme durumuna girer. Sitozoldeki kalsiyum SR'da bulunan SERCA2a ile SR'a, sarkolemmada bulunan Na-Ca değiştiricisi ve sarkolemmadaki Ca-ATPaz yoluyla hücre dışına çıkarılır. Bundan başka kalsiyum mitokondriye alınır (Pinnell vd., 2007).



Şekil 2-6. Kalp kasında kasılmanın moleküler temeli ([http://higheredbcs.wiley.com/legacy/college/tortora/0470565101/hearthis\\_ill/pap13e\\_c110\\_illustr\\_audio\\_mp3\\_am/simulations/hear/contraction\\_cycle.html](http://higheredbcs.wiley.com/legacy/college/tortora/0470565101/hearthis_ill/pap13e_c110_illustr_audio_mp3_am/simulations/hear/contraction_cycle.html))

## 2.9. Kalp Kasında Kasılma Kuvveti

Kasılma kuvveti hücre içindeki kalsiyum konsantrasyonunun artması ile ya da miyofilamentlerin kalsiyuma olan duyarlılığının değişmesiyle değişiklikler gösterebilir. Miyofilamentlerin kalsiyuma olan duyarlılığı asidoz sırasında azalır. Yüksek fosfat ve magnezyum konsantrasyonu kasılma fonksiyonunun bozulmasına neden olur (Hall, Fry, 1992; Van Der Velden vd., 2001). Diyastol sonu lif uzunluğu ve nöro-hormonal sinyaller ile kontraktilite değişir (Pinnell vd., 2007).

### 2.9.1. Frank-Starling yasası

Atım hacmi ve kalp performansı arasındaki ilişki Frank ve Starling (Headley, 2002, s. 6) tarafından açıklanmıştır. Frank-Starling yasası kalp kası uzunluğu ve kasılma kuvveti arasındaki ilişkiyi anlatır. Bu yasaya göre diyastol sırasında ventrikül içine dolan kan miktarı ne kadar fazla olursa kas lifleri o kadar çok gerilir ve bir sonraki sistolde kasılma kuvveti daha fazla artar. Böylece atım hacmi artar. Ama bu olay belirli bir fizyolojik sınıra kadar devam eder ve bu sınıra geldikten sonra liflerin daha fazla gerilmesine rağmen kasılma kuvveti azalmaya başlar (Headley, 2002, s. 6; Guyton, Hall, 2006, s. 111-112).

### **2.9.2. Otonom sinir sistemi**

Otonom sinir sisteminin adrenerjik ve kolinerjik sinyalleri kalpte kasılmayı belirleyen önemli faktörlerdir. Sempatik uyarılma sonucu kalsiyumun hücre içine girişi ve kasılma kuvveti artar. Noradrenalin beta adrenerjik reseptöre bağlandıktan sonra G-protein aracılığıyla adenil siklaz enzimini aktifleştirir ve ATP'den cAMP oluşur. Bir ikinci haberci olan cAMP protein kinaz A'yı (PKA) aktif eder. PKA, fosfolamban'ı, L-tipi kalsiyum kanallarını ve ryanodin reseptörlerini fosforile eder. Ayrıca miyozin bağlayıcı protein C ve troponin I'yi fosforile eder. Böylece hem sitoplazmadaki kalsiyum miktarını ve hem çapraz köprülerin oluşumunu artırıp kasılmaya neden olur (Solaro, 2011). Ayrıca noradrenalin SERCA2a yoluyla SR tarafından kalsiyumun geri alınımını artırarak kas gevşemesine yardımcı olur (Pinnell vd., 2007). Diğer taraftan parasempatik uyarının asetilkolinin muskarinik reseptörlere bağlanması sonucunda, atriyum kası ve daha az derecede ventrikül kası üzerinde negatif inotropik etkisi vardır (Solaro, 2011; Darcy, 2004, s. 475).

### **2.10. + dP/dt<sub>max</sub>**

Sol ventriküler basıncının zamana göre değişimi, (Little, 1985)  $dP/dt_{max}$  sol ventrikül basıncının maksimum artış hızı olarak tanımlanır. Ayrıca kalp kası kontraktilitesinin bir göstergesi olarak kabul edilir (Gleason, Braunwald, 1962). Bu parametre kalp kası kontraktilitesi dışında ventrikülde diyastol sonu kan basıncına ve aortun diyastol sonu basıncına bağlıdır (Markert vd., 2012). Böylece  $dP/dt_{max}$  değişiklikleri her zaman kalp kasındaki kontraktilite değişikliklerini belirlemez. Aort'un diyastol sonu basıncı ve ventrikülde diyastol sonu kan hacmi sabit kaldığında  $dP/dt_{max}$  kalp kası kontraktilitesinin bir göstergesi olabilir. Normal şartlarda  $dP/dt_{max}$  izovolumetrik kasılmanın sonunda aort kapakçığı açılmadan önce oluşur. Ancak aort basıncının çok düşük olduğu durumlarda aort kapakçığı açıldıktan sonra  $dP/dt_{max}$ 'a ulaşılır. Bu durumda ventrikülün geliştirdiği daha az bir basınçla aort kapakçığı açıldığından ventrikülün yüksek bir basınç oluşturması için yeterince zamanı olmaz. Bu durumda kontraktilitede bir değişiklik olmamasına rağmen  $dP/dt_{max}$  azalır (Hamlin, del Rio, 2012).

### **2.11. Kalp Atım Sayısı**

Kalp atımları özelleşmiş kalp ileti sisteminde oluşur ve bu sistemle kalp kasının bütün bölümlerine yayılır. İleti sistemini oluşturan yapılar sinoatriyal düğüm (SA düğüm), düğümler arası atriyal yollar, atriyoventriküler düğüm (AV düğüm), His demeti ve dalları ile pürkinje sistemidir (Darcy, 2004; Pinnell vd., 2007) . SA düğüm normalde en hızlı deşarj yapar ve diğer bölümler deşarjlarını yapmadan, SA düğümden depolarizasyon kalbin diğer bölümlerine yayılır. SA düğüm bu nedenle

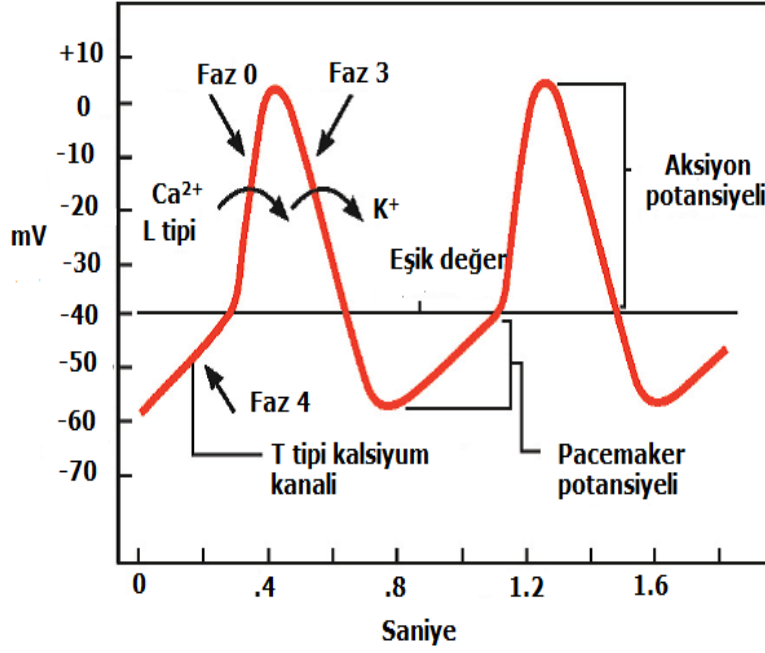
kalbin pacemaker'ı olarak tanımlanır ve SA düğümün deşarj hızı kalbin atım sayısını belirler (Guyton, Hall, 2006).

SA düğümde oluşan impulslar atriyal yollardan geçerek AV düğüme, bu düğümden His demetine ve His demeti dallarına ve sonra da purkinje sistemi yoluyla ventrikül kasına ulaşır (Darcy, 2004). Hastalıklı olmayan çoğu kalpler dakikada 40-170 atım sayısı değişikliklerini tolere edebilir. Kalp atım sayısı artarsa örneğin 90 atım/dakikadan daha yüksek atım sayılarında kalbin oksijen kullanımı artar. Ayrıca diyastol süresi kısalır ve bu da koroner arterlerin kanla perfüzyon süresini kısaltır. Ventriküllerin kanla dolma süreleri azaldığı için bir sonraki sistolde pompalanan kan hacmi azalır. Kalp atım sayısı azaldığında örneğin kalp atım sayısı 50 atım/dakikadan daha az olduğunda (Darcy, 2004, s. 470) ventriküllerin kanla dolma süresi arttığı için kalp debisi de artar (Headley, 2002). Sporcularda normal kişilere göre, kalp istirahat halindeyken daha düşük atım hızına, daha büyük sistol sonu ventrikül hacmine ve daha büyük atım hacimlerine sahiptir. Böylece sporcular antrenman yaparken kalp hızını normal kişiler kadar arttırmadan atım hacmini arttırarak kalp dakika hacminde artış oluştururlar (Barrett vd., 2010, s. 519).

### **2.11.1. Önderodak dokusu monofazik aksiyon potansiyeli**

Pacemaker hücreleri ventrikül kas liflerinden daha küçük ve değişken dinlenim membran potansiyeline sahip olup kendiliğinden depolarize olabilirler ve böylece kalp içindeki elektriksel aktiviteyi oluştururlar. Pacemaker hücreleri sinoatriyal (SA) ve atriyoventriküler (AV) düğümlerde bulunurlar fakat His demetindeki hücreler ve bazı purkinje hücreleri de kendiliğinden uyarı çıkarabilirler (Pinnell vd., 2007).

Şekil 2.7'de de görüldüğü gibi pacemaker potansiyeli kalp kası aksiyon potansiyelinden farklıdır. Pacemaker potansiyelinde faz 1 ve faz 2 yoktur. Pacemaker potansiyelin (prepotansiyel) in başlaması için membranın potasyuma olan geçirgenliğinin azalması ve T-tipi kalsiyum kanallarından kalsiyumun yavaş bir şekilde hücre içine girmesi gerekir. Pacemaker potansiyeli tamamlanıp eşik potansiyel düzeyine gelindikten sonra L-tipi kalsiyum kanalları açılır ve kalsiyum hücre içine girerek depolarizasyon olur (faz 0). Kalp kasından farklı olarak pacemaker hücrelerinde depolarizasyon aşamasında sodyum iyonların hücre içine girişi daha az olup kalsiyum iyonlarının hücre içine akması depolarizasyondan sorumludur. Faz 3'de repolarizasyon potasyuma olan geçirgenliğin artması ile ortaya çıkar (Pinnell vd., 2007, Barrett vd., 2010).

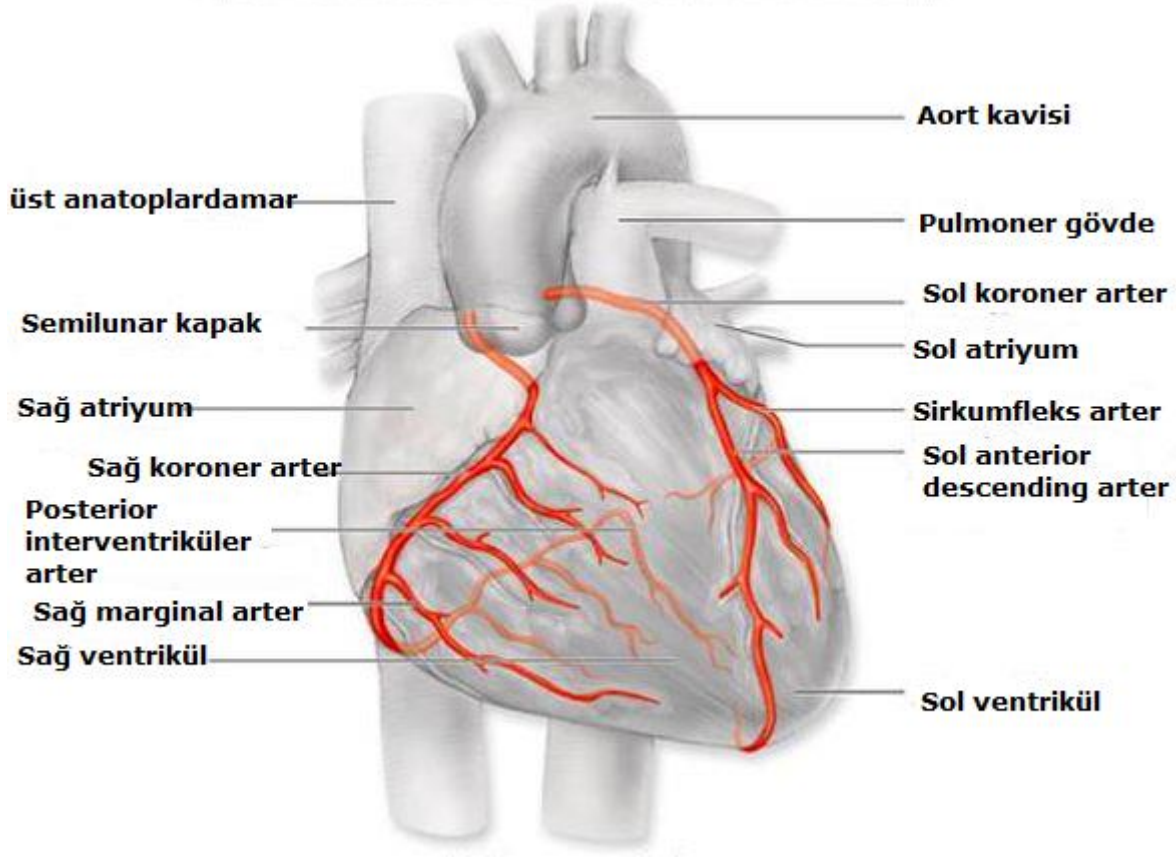


Şekil 2.7. Pacemaker zar potansiyeli (<http://www.oytunerbas.com.tr/tip-fizyoloji-ders-notu/21/>)

## 2.12. Koroner Akım

Kalbe kan perikarttaki arterler yoluyla sağlanır. Bu arterlerdeki kan intramüral, vasküler pleksus ve kollateral damarlar aracılığıyla tüm kalbe dağılır. Dinlenme sırasında normal koroner kan akımı 60-80 ml/dakika/100 gr kalp dokusudur. Halbuki egzersiz sırasında bu akım, 4-5 kat artma gösterir ve 400 ml/dakika/100 gr kalp dokusu olur. Sağ ve sol koroner arterler koroner ostia'dan çıkarlar. Ostia normal olarak 1 cm'den daha az bir yükseklikte aort kapakçığının üstünde yerleşmiştir. Normal insanların % 90'ından fazlasında sol koroner arter sol atriyoventriküler oluk boyunca seyrederek bu damar sirkumfleks ve sol anterior descending arter dallarına bölünmeden önce 2-40 mm arasında ve ortalama 13.5 mm arasında değişen boylarda görünür. Sirkumfleks arter, atriyoventriküler oluk boyunca seyrederken sol atriyum, sol ventrikül ve insanların %40'ında SA düğümüne dallar verir. Sol anterior descending arter, anterior interventriküler oluk boyunca seyrederek iki ventrikülü ve interventriküler septumu kanlandırır. Sağ koroner arter sağ atriyoventriküler olukta seyrederek ve seyri boyunca sağ atriyum, sağ ventrikül ve insanların %60'ında SA düğümü kanlandıran değişik dallar oluşturur. Sağ ve sol koroner sistem kollateral damarlar ve onların terminal dallarının anastomozu ile birbirine bağlanır. İntramüral kan kaynağı epikardiyal koroner arterlerden kaynaklanan ve direkt ventrikül duvarına giren damarlarla sağlanır. Bu dallar subepikardiyal ve subendokardiyal kapiller ağı oluşturmak üzere bölünürler (Green, Hutton, 1999; Darcy, 2004). Sol ventrikül ve septumun venöz drenajının büyük kısmı koroner sinus aracılığıyla sağ atriyuma geri döner. Koroner sinus büyük kardiyak venin

devamı olup ve küçük ve orta boylu venlerden kan alır. Geri kalan kan ise anterior kardiyak ven aracılığıyla sağ atriyuma boşalır ve uzaklaştırılır (Green, Hutton, 1999; Hood, 1968) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Kalp kasında koroner dolaşım (<http://tube.medchrome.com/2011/04/coronary-circulation-anatomy.html>)

### 2.12.1. Koroner akımın düzenlenmesi

#### 2.12.1.1. Metabolik faktörler

Koroner kan akımını belirleyen en önemli faktör kalp kasının oksijen tüketim miktarıdır ( $MVO_2$ ).  $MVO_2$ , kalp atım sayısına, kalp duvarı gerginliğine ve kalbin kontraktilitesine göre değişir. Dinlenme durumunda  $MVO_2$  yaklaşık olarak 8-10 ml  $O_2$ /100 gr doku/dakikadır. Ağır egzersiz sırasında 60 ml  $O_2$ /100 gr doku/dakikaya kadar yükselebilir. Epikard ve koroner arterlerde damar düz kası tonusunun düzenlenmesinde vasküler endotelyumun çok önemli rolü vardır. Vasküler endotelyum birçok vazodilatör maddenin sentezini, sekresyonunu ve indirgemelerini sağlar. Metabolik, hormonal veya fiziksel uyarıya karşı NO sentezlenip salınır. NO damar düz kasında guanil siklazı aktif ederek cGMP yapımını sağlar ve böylece vazodilatasyona neden olur (Green, Hutton, 1999). ATP ve ADP yıkımından oluşan adenosin, koronerlerde güçlü bir vazodilatördür ve lokal

koroner akımın kontrol edilmesinde çok önemlidir. Bu madde kalpte metabolik aktivitenin artması sonucunda artar (Mubagwa, Mullane, & Flameng, 1996). Prostaglandin ve PGE<sub>2</sub>'de güçlü vazodilatörler olduklarından dolayı kan akımının metabolik kontrolünde rol oynarlar. Bunların vazodilatör etkileri cAMP' nin artması sonucu ortaya çıkar (Green, Hutton, 1999).

### **2.12.1.2. Nörojenik faktörler**

Artmış sempatik sinir aktivitesi koroner kan akımını iki şekilde değiştirir. 1: Metabolik gereksinimin artması sonucu kalp atım sayısını ve kalp kası kontraktilitesini artırır. 2: Koroner dolaşım boyunca bulunan  $\alpha$  ve  $\beta$  adreno-reseptörlerini aktive eder.  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$  reseptörlerin uyarılması koroner arter yatağında vazokonstriksiyona neden olur ve damar direncini artırır.  $\beta_1$  ve  $\beta_2$  adreno-reseptörlerin uyarılması ise vazodilatasyona yol açar. Artan sempatik aktivite olgun kollateral damarlarda kan akımını arttırır. Çünkü kollateral damarlar  $\beta$ -adreno-reseptörlere sahiptir. Parasempatik uyarıya karşı verilen yanıt da vazodilatasyondur. Asetilkolin, NO miktarını artırır ve sonuçta vazodilatasyona neden olur (Green, Hutton, 1999; Guyton, Hall, 2006; Harrison, Simonetti, 1991).

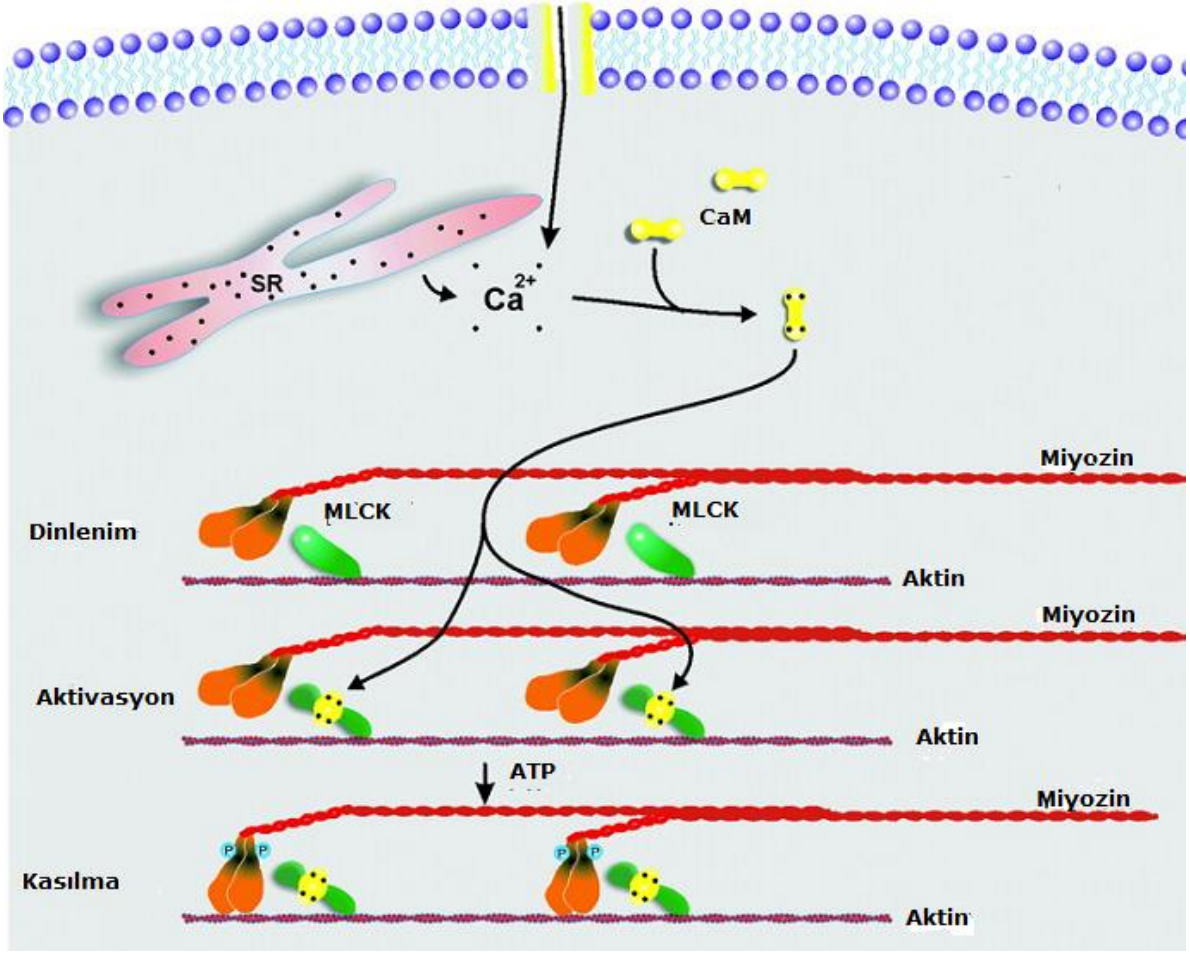
### **2.13. Düz Kasın Yapısı**

Düz kaslar çok küçük kas liflerinden oluşur. Düz kas liflerinin her biri tek çekirdekli olup çapları 2-5  $\mu$  ve uzunlukları da 20-500  $\mu$  arasındadır. Bu liflerde aktin ve miyozin filamentleri bulunur ama sarkomer yoktur. Ancak düz kasta aktin ve miyozin filamentleri çizgili bir görünüm göstermez. Düz kaslarda tropomiyozin bulunur fakat troponin bulunmaz. Troponin yerine kalsiyum bağlayıcı protein olan kalmodulin bulunur. Bundan başka düz kaslarda sarkoplazmik retikulum zayıf gelişmiştir ve mitokondri genel olarak az olduğundan enerji genellikle glikolizden sağlanır. Düz kaslar çok birimli ve iç organ düz kasları (viseral) olarak ikiye ayrılır. Çok birimli düz kaslar istemli kontrol altında olmayıp, ayrı ayrı kas liflerinden oluşur ve her bir kas lifi tek bir sinir lifi tarafından sinirlendirilir. Ayrıca çok birimli düz kas lifleri iskelet kas liflerine büyük benzerlik gösterir (Darcy, 2004). Bunlar başlıca sinir sinyalleri ile kontrol edilir. Bu kas lifleri nadiren kendiliğinden kasılma gösterebilir. Çok birimli düz kaslara örnek olarak gözde silyar kas, irisin düz kası, piloerector kaslar verilebilir (Guyton, Hall, 2006). İç organ düz kasları birçok iç organın duvarında bulunur. Bu kaslar örneğin barsaklar, safra kanalları, ureterler, uterus ve birçok kan damarlarının duvarında bulunur (Guyton, Hall, 2006). İç organ düz kasları tabakalar halinde olup kas lifleri arasında gap junctionlar bulunur. Bu kaslar sinsityum şeklinde fonksiyon yapar (Darcy, 2004).



## 2.14. Düz Kasın Kasılması

İskelet kasındaki gibi intraselüler kalsiyum iyon konsantrasyonundaki artma düz kaslarda da kasılmayı başlatır. Bu artma düz kas lifin sinir yoluyla ya da hormonlarla uyarılması, düz kas lifinin gerilmesi veya lifin çevresindeki kimyasal değişikliklerle olur. Viseral düz kasta sarkoplazmik retikulum zayıf gelişmiştir ve bu organelden salınan kalsiyum, kasılmanın ilk kısmından sorumludur. Kasılmanın diğer kısmından sorumlu olan kalsiyum iyonları, ekstraselüler sıvıdan voltaj kapılı kalsiyum kanalları yoluyla hücre içine girer. Ayrıca düz kaslarda miyozin ATPaz'ın aktive edilmesi miyozinin fosforilasyonunu gerektirir. Düz kaslarda kalsiyum kalmodulin'e bağlanıp kalsiyum-kalmodulin kompleksi oluşur. Bu kompleks miyozin hafif zincir kinazı'nı aktif duruma getirir. Miyozin hafif zincir kinaz'ı da miyozinin fosforilasyonunu sağlar. Fosforile miyozin ATPaz'ı aktifleştirir. Bundan sonra ATP yıkılarak enerji serbestleşir ve kasılma gerçekleşir. Kasın gevşemesi için miyozin hücrede bulunan fosfataz enzimleri ile defosforile edilir. Düz kaslarda kilitlenmiş köprü mekanizması nedeniyle defosforile miyozin çapraz köprüleri sitoplazmadaki kalsiyum iyon konsantrasyonu düştükten sonra bir süre aktine bağlı kalır. Böylece kas hemen gevşemez ve daha az ATP yıkımına neden olarak kasılmayı daha uzun süre sürdürür. Ayrıca düz kasın gevşemesi için kalsiyum kanallarının kapanması, sitoplazmada kalsiyum konsantrasyonunun düşmesi ve kalsiyumun kalmodulinden ayrılması gibi mekanizmalar işe karışır. Ayrıca kalmodolin miyozin hafif zincir kinazdan ayrılır ve bu enzim inhibe olur (Wilson, Sutherland & Walsh, 2002; Barrett vd., 2010; Guyton, Hall, 2006) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Kalsiyum ve kalmodulin ile düz kas kasılmasının aktivasyonu  
 Cam: Kalmodulin, SR: Sarkoplazmik retikulum, MLCK: Miyozin hafif zincir kinaz. (Wilson vd., 2002)

## 3-GEREÇ VE YÖNTEMLER

### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

|                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| NaCl                                 | :Carlo Erba, Fransa                                |
| KCl                                  | :Sigma-Aldrich, ABD                                |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O | :Sigma-Aldrich, ABD                                |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O | :Sisco Research Laboratories;<br>Mumbai, Hindistan |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>      | :Merck KGaA; Darmstadt, Almanya                    |
| NaHCO <sub>3</sub>                   | :Sisco Research Laboratories;<br>Mumbai, Hindistan |
| Glukoz                               | :Sigma-Aldrich, ABD                                |
| MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O | :E.Merck; Dramstadt, Almanya                       |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>     | :E.Merck; Dramstadt, Almanya                       |
| Heparin                              | :Koçak farma, Tekirdağ                             |
| Sodyum pentotal                      | :Ulagay ilaç san, İstanbul                         |
| Serum fizyolojik                     | :Osel ilaç san, İstanbul                           |

### 3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| Hassas terazi                  | :Model mark 500; Monza, Italy                                  |
| Veri toplama ve analiz sistemi | :Isoheart Software, Almanya                                    |
| Basınç transduseri             | :Isotec, Hugo Sachs Elektronik,<br>March-Hugstetten, Almanya   |
| Veri toplama ve analiz sistemi | :MP 36 Biopac, ABD   |
| İzotonik transduser            | :FDT 10-A Biopac, ABD  |
| İstatistik programı            | :versiyon 13.0, SPSS; Şikago,<br>ABD. R programı, Yeni Zelanda |

### 3.3. Deney Hayvanları

Deneyisel çalışmalar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 05.06.2014 tarih ve 378-1 numaralı karar numarası ile onaylı etik kurul kararı doğrultusunda yapıldı. Deneylerde 250-300 g ağırlığında Spraque-Dawley albino cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar standart sıçan yemi ile beslenmiş olup 20-25<sup>0</sup>C sıcaklıkta, 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık döngüsüne maruz bırakıldı.

### 3.4. İzole Kalbin Hazırlanışı ve Perfüzyon Tekniği

Deneyler başlamadan önce 1000 IU heparin intraperitoneal yoldan enjekte edilerek kan pıhtılaşması önlenildi. Heparin verildikten 30 dakika sonra 50 mg/kg sodyum tiyopental anestezisi uygulandı. Transvers insizyonla önce batın daha sonra diyafragma açıldı. Her iki tarafta kostalar sagittal olarak kesilerek toraks ön duvarı kaldırıldı. Bütün bu işlemler

mümkün olduğu kadar hızla tamamlanarak kalp çıkarıldı ve buz gibi soğuk modifiye Krebs-Henseleit solüsyonuna (mKHs) konularak durduruldu. Kalplerin vücut dışına çıkarılması ile buz gibi soğuk mKHs içine atılması arasında geçen sürede birkaç defadan daha fazla atmamalarına dikkat edildi. Kalp etrafındaki dokular çıkarıldıktan sonra aort, Langendorff sisteminin paslanmaz çelik kanülüne ipekle bağlandı. Kalpler Langendorff tekniğine göre mKHs ile retrograd olarak perfüze edildi ve kalbi terk eden mKHs ile kalp tekrar perfüze edilmedi. Ventriküllerdeki koroner drenajı kolaylaştırmak için pulmoner arter kesildi. Perfüzyon solüsyonu olarak günlük olarak hazırlanan aşağıda bileşimi verilmiş olan mKHs (mM/l): NaCl 118, KCl 4.7, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25 ve glukoz 11 kullanıldı. Bu solüsyon devamlı olarak % 95 O<sub>2</sub> ve % 5 CO<sub>2</sub> ile oksijenlendirildi. Bundan başka solüsyonun pH'sı 7.3-7.5 arasında ve sıcaklığı 37<sup>0</sup>C ta devam ettirildi. Kalpler sabit basınç altında (60 mmHg) perfüze edildi.

### **3.4.1. Hemodinamik parametrelerin ölçülmesi**

Kalplerin kasılma kuvveti He ve Downey (He, Downey, 1998) tarafından tanımlanan balon yöntemiyle ölçüldü. Bu yöntemde göre içi serum fizyolojik ile doldurulmuş bir lateks balon bir basınç transduserine (Isotec, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Almanya) bağlandıktan sonra mitral kapaktan sol ventrikül içine konuldu ve diyastolik balon basıncı 8 mmHg'da tutuldu. Sol ventriküldeki sistolik basıncın tepe değeri ve diyastol sonu basıncı ölçüldü. Bundan sonra sol ventrikülün geliştirdiği basınç (SVGB, kasılma kuvveti indeksi) sistolik ve diyastolik basınçlar arasındaki fark olarak ölçüldü ve bu basınç kasılma kuvveti olarak kabul edildi. Bundan başka sistolik basınç bir software tarafından (Isoheart Software, Version 1.5, Microsoft Windows NT/2000/XP, Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Almanya) işleme uğratarak sol ventrikül basıncında artışın maksimum hızı (+dp/dt<sub>max</sub>) belirlendi. Bu parametre diğer kasılma kuvveti indeksi olarak kabul edildi. Dakikada kalp atım sayısı sol ventrikül basınç sinyalinden hesaplandı. Koroner vasküler tonusun bir indeksi olan koroner akım bir dakika süre içinde kalbi terkeden mKHs bir mezürde toplanarak ölçüldü. Tüm hemodinamik parametreler veri toplama ve analiz sistem tarafından (Isoheart Software, Almanya) belirlendi. MAPamp ve MAP<sub>90</sub> bir MAP elektrodu (Ag/AgCl) kullanılarak kaydedildi. Bu elektrod sol ventrikülün epikardiyumuna yönlendirildi ve epikardiyum ile MAP elektrodu arasında sabit bir temas basıncı devam ettirildi.

Beta amyloid peptidler verilmeden önce kalpler 30 dakika dengelendi. SVGB'nin 60 mmHg'nın, +dp/dt<sub>max</sub>'ın 2800 mmHg<sup>-1</sup>'nin, kalp atım sayısının 200 atım/dakika'nın üzerinde olması ve normal sinüs ritminin devam etmesi kalbin dengelendiğini gösteren kriterler olarak kabul edildi. Bu kriterlere uymayan kalpler çalışmaya alınmadı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Langendorff tekniği ile izole kalp perfüzyonu

### **3.4.2. Çalışma protokolü**

Beta amyloid peptidler verilmeden hemen önce ölçülen değerler kontrol ölçümleri olarak kabul edildi. Kontrol ölçümleri kaydedildikten sonra beta amyloid peptid 1-42 (1 nM- 10 nM- 100 nM), beta amyloid peptid 22-35 (1 nM- 10 nM- 100 nM) rezervuardaki mKHS'a eklenip kalpler bu mKHS ile 30 dakika perfüze edildi. Her bir doz farklı bir kalp gurubuna verildi. Kontrol gurubu kalpler ise kalpler dengelendikten sonra herhangi bir beta amyloid peptid verilmeden 30 dakika boyunca mKHS'la perfüze edildi. Tüm deneylerde 30 dakika boyunca her 10 dakikada değerler kaydedildi.

### **3.4.3. Kullanılan ilaçlar**

Beta amyloid peptid 1-42 (H - Asp - Ala - Glu - Phe - Arg - His - Asp - Ser - Gly - Tyr - Glu - Val - His - His - Gln - Lys - Leu - Val - Phe - Phe - Ala - Glu - Asp - Val - Gly - Ser - Asn - Lys - Gly - Ala - Ile - Ile - Gly - Leu - Met - Val - Gly - Gly - Val - Val - Ile - Ala - OH) (Sigma-Aldrich, Almanya) ve beta amyloid peptid 22-35 (H - Glu - Asp - Val - Gly - Ser - Asn - Lys - Gly - Ala - Ile - Ile - Gly - Leu - Met - OH) (Abcam; Cambridge, İngiltere) kullanıldı. Beta amyloid peptidler distile su ile çözülüp stok solüsyonları elde edildi. Aynı zamanda sulandırma işleminde de distile su kullanıldı. Hazırlanan dozlar 1 ml'lik enjektörlere alınarak - 20°C'ta saklandı.

### 3.5. İzole Barsak Düz Kasın Hazırlanışı ve İzole Organ Banyosu Tekniği

Deneyler başlamadan önce sıçanlara 1000 IU heparin intraperitoneal yoldan enjekte edilerek kan pıhtılaşması önlenmiştir. Heparin verildikten 30 dakika sonra 50 mg/kg sodyum tiyopental anestezisi uygulanmıştır. Transvers insizyonla karın bölgesi açılarak ileum çıkartılmıştır. İzole ileum fizyolojik solüsyon olarak kullanılan Tyrode solüsyonu (NaCl 8, KCl 0.2, NaHCO<sub>3</sub> 1, CaCl<sub>2</sub> 0.24, MgCl<sub>2</sub> 0.01, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.05, Glukoz 1 (g/lt) içine alınmıştır. İleum ileoçekal valvüden 10-20 cm uzaklıktaki segmentlerden 2 cm olacak şekilde kesilip kullanılmıştır. İzole ileum çevre dokulardan temizlendikten sonra, izole organ banyosuna yerleştirilmiştir. Organ banyosunun sıcaklığı 37°C de sabitlendi ve izole organ banyosuna % 95 O<sub>2</sub>, % 5 CO<sub>2</sub> gaz karışımı verilerek dokuların oksijenlenmesi sağlanmıştır. İleuma 1g gerim uygulanmıştır. İzole ileum 1 saat süreyle 15 dakikada bir Tyrode solüsyonu ile yıkanarak dengeye getirilmiştir.

Deney öncesi ve sonrası 10<sup>-5</sup> M asetilkolin cevapları alınarak organın çalışması kontrol edilmiştir. Daha sonra beta amyloid peptid 1-42'nin 10<sup>-9</sup>, 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-7</sup> ve 10<sup>-6</sup> konsantrasyonları, beta amyloid 22-35'in 10<sup>-9</sup>, 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup> konsantrasyonları kümülatif olarak uygulanarak doz-cevap eğrileri çıkarılmıştır. Ölçümler izotonik transduser (FDT 10-A Biopac, ABD) aracılığı ile bilgisayara (MP 36 Biopac, ABD) kaydedilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. İzole organ banyosu

### **3.5.1. Kullanılan ilaçlar**

Beta amyloid peptid 1-42 ve beta amyloid peptid 22-35 kullanıldı. Beta amyloid peptidler distile su içinde çözülerek stok solüsyonlar elde edildi. Aynı zamanda sulandırma işleminde de distile su kullanıldı. Hazırlanan dozlar 1 ml'lik enjektörlere alınarak -20<sup>0</sup>C'ta saklandı.

### **3.6. İstatistiksel Analiz**

Langendorff çalışmalarının istatistiksel analizi SPSS (versiyon 13.0, SPSS, Sikago, ABD) paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemek için Lilliefors'un düzeltmesi ile Kolmogorov-Smirnow ve Shapiro testleri uygulandı. Değerlerin normal dağılımı görüldükten sonra tek yönlü varyans analizi ve Tukey çoklu karşılaştırmalar testi uygulandı. Değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi ve  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

İzole organ banyosu düz kas çalışması sonuçlarının istatistiksel hesaplamaları ve grafik çizimleri, R programlama dili ve ortamı (R Core Team, 2012) ve bu dil altında çalışan drc paketi kullanılarak yapılmıştır (Ritz, Streibig, 2005). Değerlere tek yönlü varyans analizi ve Tukey\_HSD çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

## 4-BULGULAR

### 4.1. Beta Amyloid Peptid 1-42'nin Kardiyovasküler Etkileri

Kontrol grubu ve beta amyloid peptid 1-42 dozları verilen kalplerde dengeleme periyodundan sonra 30 dakikalık gözlem periyodununun 0. 10. 20. 30. dakikalarında kaydedilen SVGB,  $+dP/dt_{max}$  ve dakikada kalp atım sayısı ortalama değerleri Tablo 4.1 de, koroner akım, MAPamp'ü ve MAP<sub>90</sub> ortalama değerleri Tablo 4.2 de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Kontrol grubu ve beta amyloid peptid 1-42 (1, 10 ve 100 nM) verilen kalplerde SVGB,  $+dP/dt_{max}$  ve dakikada kalp atım sayısı ortalama değerleri

| SVGB (mmHg)                                     |                |                |                |                |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|
|   | 0 Dakika       | 10 Dakika      | 20 Dakika      | 30 Dakika      |
| Kontrol (n=7)                                   | 98.85±3.58     | 100.28±4.36    | 100.8±3.76     | 94.42±4.61     |
| 1 nM (n=7)                                      | 113.14±5.45    | 105.14±5.23    | 95.57±3.75     | 87.14±4.72     |
| 10 nM (n=7)                                     | 122.71±6.45    | 105.71±3.66    | 95.14±3.15     | 88.85±3.15     |
| 100 nM (n=7)                                    | 113.71±6.93    | 100.42±4.15    | 87.28±3.6      | 80±3.75        |
| $+dP/dt_{max}$ (mmHg <sup>s<sup>-1</sup>)</sup> |                |                |                |                |
|   | 0 Dakika       | 10 Dakika      | 20 Dakika      | 30 Dakika      |
| Kontrol (n=7)                                   | 3625.43±223.46 | 3697.28±211.63 | 3725.57±165.63 | 3410.14±264.16 |
| 1 nM (n=7)                                      | 3833.71±182.52 | 3610.14±197.95 | 3338.42±113.2  | 3046.71±196.04 |
| 10 nM (n=7)                                     | 4028±190.61    | 3687.28±213.1  | 3392±194.58    | 3082.71±169.72 |
| 100 nM (n=7)                                    | 3801.71±301.48 | 3421.3±153.67  | 3034±200.85    | 2849.43±193.03 |
| Kalp atım sayısı (Atım/dk)                      |                |                |                |                |
|   | 0 Dakika       | 10 Dakika      | 20 Dakika      | 30 Dakika      |
| Kontrol (n=7)                                   | 306.7±13.7     | 301.42±12.37   | 295.71±9.93    | 294.14±8.6     |
| 1 nM (n=7)                                      | 283.14±12.89   | 273.28±12.27   | 264±15.87      | 256.14±18.3    |
| 10 nM (n=7)                                     | 316.14±7.92    | 295.57±12.15   | 295.57±13.43   | 287.57±10.93   |
| 100 nM (n=7)                                    | 296.57±13.18   | 257.28±17.93   | 238±17.96      | 234.85±17.16   |



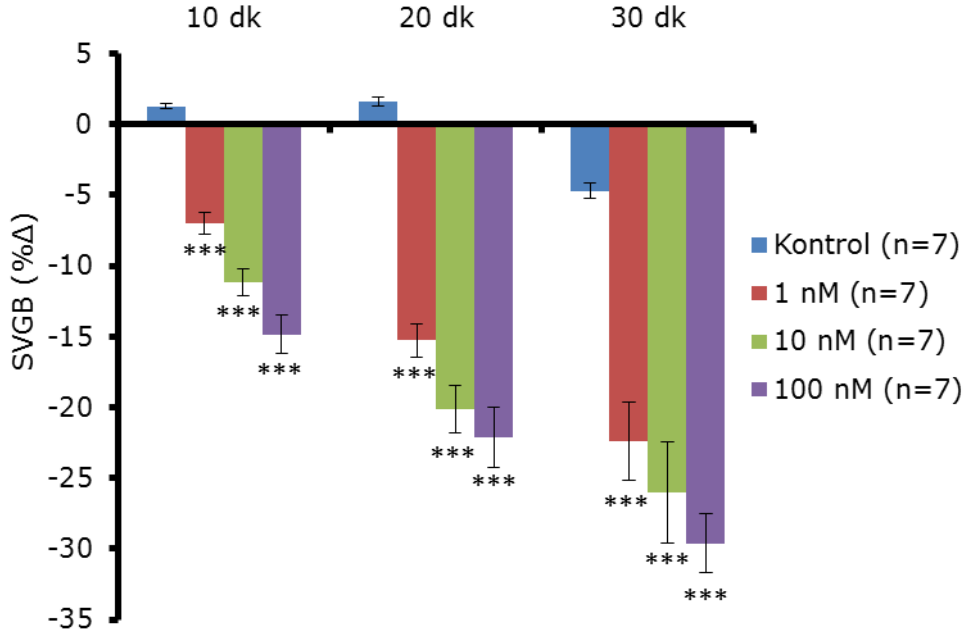
Tablo 4.2. Kontrol grubu ve beta amyloid peptid 1-42 dozları verilen kalplerde koroner akım, MAPamp'ü ve MAP<sub>90</sub> ortalama değerleri

| Koroner akım (ml/dk)   |              |             |              |              |
|------------------------|--------------|-------------|--------------|--------------|
|                        | 0 Dakika     | 10 Dakika   | 20 Dakika    | 30 Dakika    |
| Kontrol (n=7)          | 14±1.41      | 13.31±1.1   | 13.28±1.49   | 13±1.41      |
| 1 nM (n=7)             | 16.14±1.05   | 15.4±0.89   | 14.85±1.01   | 14±1.03      |
| 10 nM (n=7)            | 14.28±1.06   | 13.2±0.88   | 12.27±0.94   | 11.5±0.8     |
| 100 nM (n=7)           | 14.42±0.6    | 13.1±1.11   | 12.28±1.37   | 11.4±1.23    |
| MAP amp (mV)           |              |             |              |              |
|                        | 0 Dakika     | 10 Dakika   | 20 Dakika    | 30 Dakika    |
| Kontrol (n=7)          | 8.64±0.64    | 7.04±0.62   | 6.04±0.52    | 5.24±0.54    |
| 1 nM (n=7)             | 9.16±1.06    | 7.06±0.7    | 5.52±0.62    | 4.8±0.5      |
| 10 nM (n=7)            | 10.42±0.88   | 7.98±0.68   | 6.28±0.48    | 5.18±0.38    |
| 100 nM (n=7)           | 9.3±0.5      | 6.88±0.66   | 5.24±0.62    | 4.36±0.44    |
| MAP <sub>90</sub> (ms) |              |             |              |              |
|                        | 0 Dakika     | 10 Dakika   | 20 Dakika    | 30 Dakika    |
| Kontrol (n=7)          | 186.28±9.7   | 193±9.79    | 193.71±6.14  | 194±6.98     |
| 1 nM (n=7)             | 225.71±21.46 | 233.6±20.66 | 238±24.6     | 245.71±19.54 |
| 10 nM (n=7)            | 211.86±18.39 | 220.3±11.05 | 227.86±12.63 | 236.3±16.29  |
| 100 nM (n=7)           | 247.71±17.64 | 266±23.81   | 268.43±24.91 | 279.86±20.06 |

Kontrol grubunda dengeleme periyodundan sonra bütün parametrelerin 10. 20. 30. dakikalarda ölçülen değerlerinin dengeleme periyodunun bitiminde (0. dakika) ölçülen değerlere göre % değişimi (%  $\Delta$  değerleri) hesaplanmıştır. Dengeleme döneminden sonra beta amyloid peptid 1-42 verilmesinin 10. 20. 30. dakikalarında ölçülen bütün parametrelerin değerlerinin de bu peptid verilmesinden önceki (0. dakika) değerlerine göre % değişimi (%  $\Delta$  değerleri) hesaplanmıştır. Beta amyloid peptid 1-42 dozlarının verilmesinden sonra 10. 20. 30. dakikalardaki %  $\Delta$  değerleri kontrol grubunda 10. 20. 30. dakikalardaki %  $\Delta$  değerleri ile karşılaştırılmıştır.

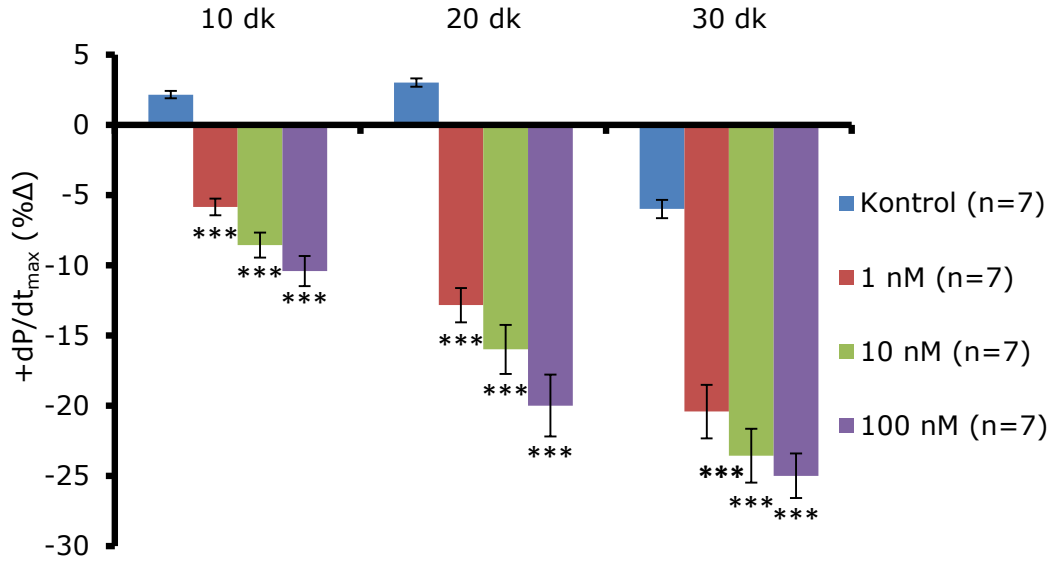
Kalplere 1, 10 ve 100 nM beta amyloid peptid 1-42 verilmesinin 10., 20. ve 30. dakikalarında kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında

SVGB, beta amyloid 1-42 nin bütün dozlarında doza bağlı şekilde anlamlı olarak ( $p<0.001$ ) azalmıştır ve maksimal azalma bütün dozlarda 30. dakikada görülmüştür. Ayrıca SVGB değerleri 30 dakikalık gözlem periyodu sırasında kontrol değerlerinin altında kalmıştır (Şekil 4.1).



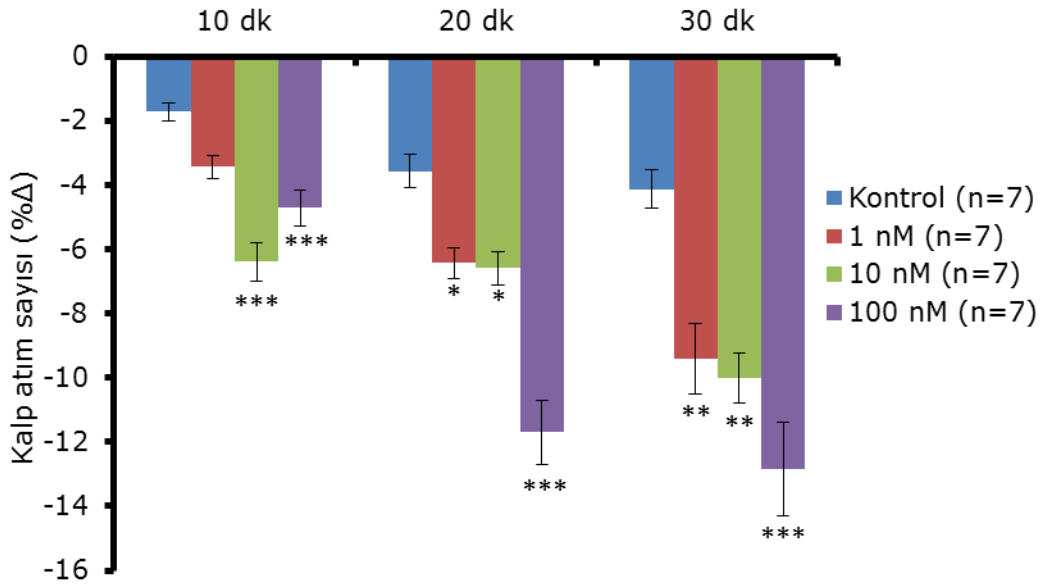
Şekil 4.1. Beta amyloid peptid 1-42'nin SVGB üzerinde etkisi.  
\_ Azalmayı gösterir, \*\*\*  $p<0.001$ , Değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir

Kalplere 1, 10 ve 100 nM beta amyloid peptid 1-42 verilmesinin 10., 20. ve 30. dakikalarında  $+dP/dt_{max}$ , bütün dozlarda doza bağlı şekilde anlamlı olarak ( $p<0.001$ ) azalmıştır. Bu peptidin bütün dozlarında maksimal azalmalar 30. dakikada görülmüş olup  $+dP/dt_{max}$  değerleri, SVGB değerleri gibi 30 dakikalık sürede kontrol değerlerinin altında kalmıştır (Şekil 4.2).



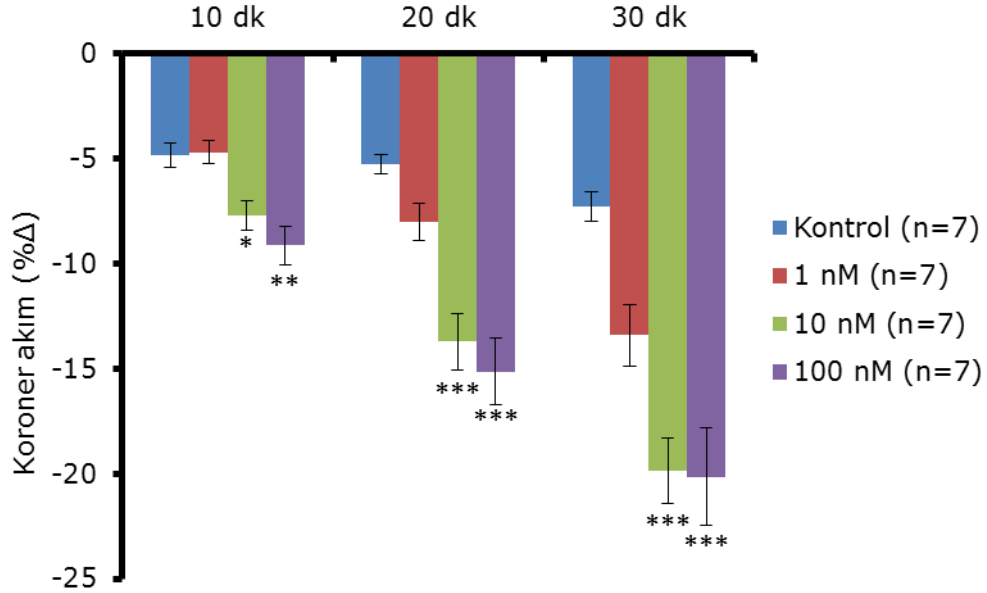
Şekil 4.2. Beta amyloid peptid 1-42'nin +dP/dt<sub>max</sub> üzerinde etkisi

Kalp atım sayısı beta amyloid peptid 1-42 nin 1 nM dozunda 20. ve 30. dakikalarda  $p < 0.05$  ve  $p < 0.01$  düzeylerinde azalmıştır. 10 ve 100 nM dozlarında kalp atım sayısı 10. dakikada  $p < 0.001$  düzeyinde, 20. dakikada 10 nM için  $p < 0.05$ , 100nM için  $p < 0.001$  düzeyinde azalmıştır. Kalp atım sayısı 30. dakikada 1, 10 ve 100 nM dozları için sırası ile  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  ve  $p < 0.001$  düzeylerinde azalmıştır. Kalp atım sayısındaki maksimal azalmalar bütün dozlarda 30. dakikada kaydedilmiştir (Şekil 4.3).



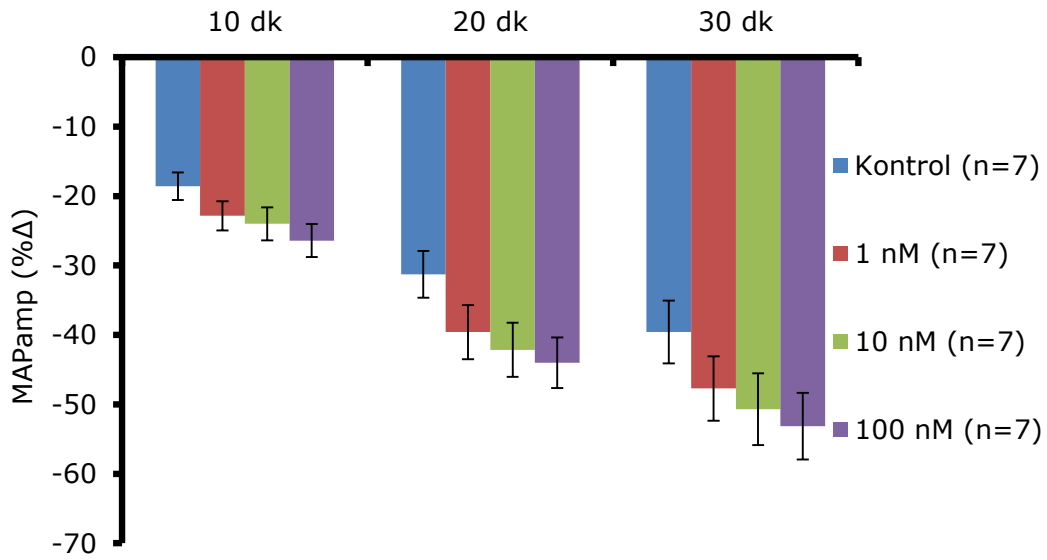
Şekil 4.3. Beta amyloid peptid 1-42'nin kalp atım sayısı üzerinde etkisi. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$

Beta amyloid peptidin 1 nM dozu, 10., 20. ve 30. dakikalarda koroner akımı değiştirmemiştir. Buna karşılık peptidin 10 nM ve 100 nM dozları koroner akımı 10.dakikada sırası ile  $p<0.05$  ve  $p<0.01$  düzeylerinde belirgin şekilde azaltmıştır. Bundan başka 10 nM ve 100 nM dozları 20. ve 30. dakikalarda  $p<0.001$  düzeyinde koroner akımda belirgin azalmaya neden olmuştur. Koroner akımdaki maksimal azalma bütün dozlarda 30. dakikada görülmüştür (şekil 4.4).



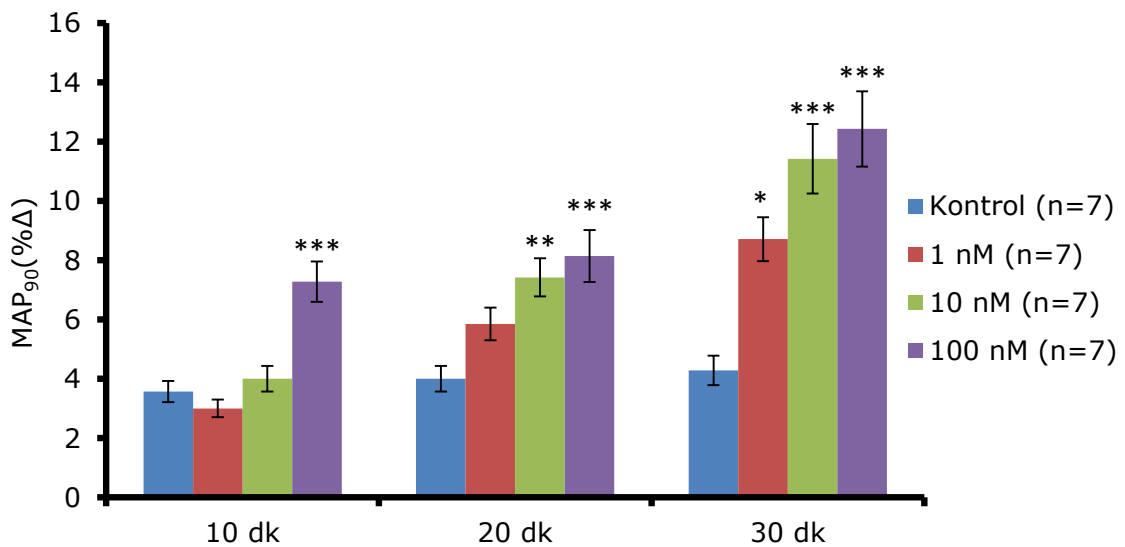
şekil 4.4. Beta amyloid peptid 1-42'nin koroner akım üzerinde etkisi

Beta amyloid peptid 1-42 nin çalıştığımız dozları 10., 20. ve 30. dakikalarda MAPamp'n etkilememiştir. Beta amyloid peptid dozları kalplere uygulandığında kontrol değerlerine göre MAPamp'nde azalma eğilimi görülmekle beraber bu azalmalar istatistiksel bakımdan anlamlılığa ulaşmamıştır (şekil 4.5).



Şekil 4.5. Beta amyloid peptid 1-42'nin MAPamp üzerinde etkisi

Kalplere 1 nM beta amyloid peptid 1-42 verilmesinin 30. dakikasinda kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında MAP<sub>90</sub> artmıştır (p<0.05). Peptidin 10 nM dozunda MAP<sub>90</sub>'daki artma 20. ve 30. dakikalarda görülmüştür (sırası ile p<0.01 ve p<0.001) ve 100 nM dozunda ise 10., 20. ve 30.dakikalarda MAP<sub>90</sub> da artma kaydedilmiştir (p<0.001). Ayrıca maksimal artış bütün dozlarda 30. dakikada görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Beta amyloid peptid 1-42'nin MAP<sub>90</sub> üzerinde etkisi

## 4.2. Beta Amyloid Peptid 22-35'in Kardiyovasküler

### Etkileri

Dengeleme periyodundan sonra kontrol grubu ve beta amyloid peptid 22-35 dozları verilen gruplarda gözlem periyodunun 0. 10. 20. 30. dakikalarında kaydedilen SVGB,  $+dP/dt_{max}$  ve dakikada kalp atım sayısı ortalama değerleri Tablo 4.3 de, koroner akım, MAPamp'ü ve MAP<sub>90</sub> ortalama değerleri Tablo 4.4 de verilmiştir.

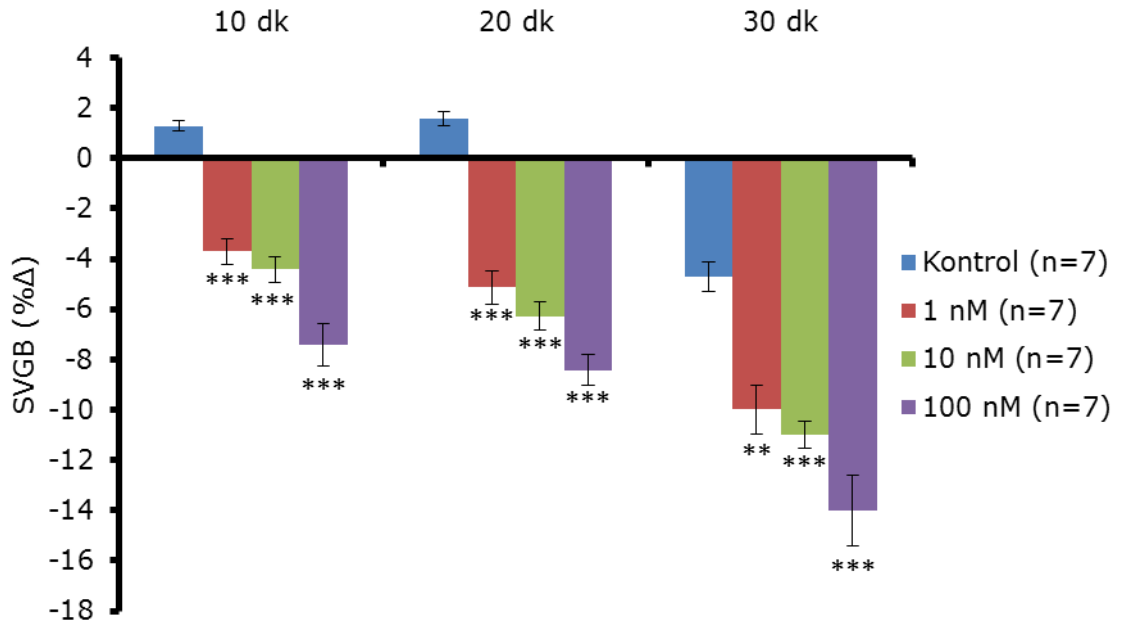
Tablo 4.3. Kontrol grubu ve beta amyloid peptid 22-35 (1,10,100 nM) verilen kalplerde SVGB,  $+dP/dt_{max}$  ve dakikada kalp atım sayısı ortalama değerleri

| SVGB (mmHg)                                     |                |                |                |                |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|
|   | 0 Dakika       | 10 Dakika      | 20 Dakika      | 30 Dakika      |
| Kontrol (n=7)                                   | 98.85±4.78     | 100.28±5.39    | 100.57±4       | 94.42±4.61     |
| 1 nM (n=7)                                      | 112.71±7.66    | 108.71±6.54    | 106.42±5.87    | 100.57±6.21    |
| 10 nM (n=7)                                     | 105.28±7.9     | 100.42±7.53    | 98.42±6.38     | 93.85±5.22     |
| 100 nM (n=7)                                    | 99.71±6.12     | 92.71±6.86     | 91.14±4.9      | 85.57±5.05     |
| $+dP/dt_{max}$ (mmHg <sup>s<sup>-1</sup>)</sup> |                |                |                |                |
|   | 0 Dakika       | 10 Dakika      | 20 Dakika      | 30 Dakika      |
| Kontrol (n=7)                                   | 3625.42±223.46 | 3700.6±211.61  | 3724.43±202.26 | 3410.14±264.16 |
| 1 nM (n=7)                                      | 4194±283.32    | 4063.14±292.5  | 4025±290.38    | 3777.14±260.6  |
| 10 nM (n=7)                                     | 4134±185.9     | 3955±172.69    | 3925.43±194.76 | 3723.71±167.97 |
| 100 nM (n=7)                                    | 3713.14±199.44 | 3487.43±211.94 | 3438.71±189.67 | 3301±195.1     |
| Kalp atım sayısı (Atım/dk)                      |                |                |                |                |
|   | 0 Dakika       | 10 Dakika      | 20 Dakika      | 30 Dakika      |
| Kontrol (n=7)                                   | 306.71±21.15   | 301.42±18.05   | 295.71±15.35   | 294.14±14.13   |
| 1 nM (n=7)                                      | 312.42±18.74   | 307.85±20.03   | 303.81±19.77   | 303.71±19.76   |
| 10 nM (n=7)                                     | 293.85±18.45   | 287.42±12.45   | 284.7±15.52    | 280.9±13.84    |
| 100 nM (n=7)                                    | 286±15.13      | 279.14±14.96   | 276.57±14.31   | 271.42±14.32   |

Tablo 4.4. Kontrol grubu ve beta amyloid peptid 22-35 (1,10,100 nM) verilen kalplerde koroner akım, MAPamp'ü ve MAP<sub>90</sub> ortalama değerleri

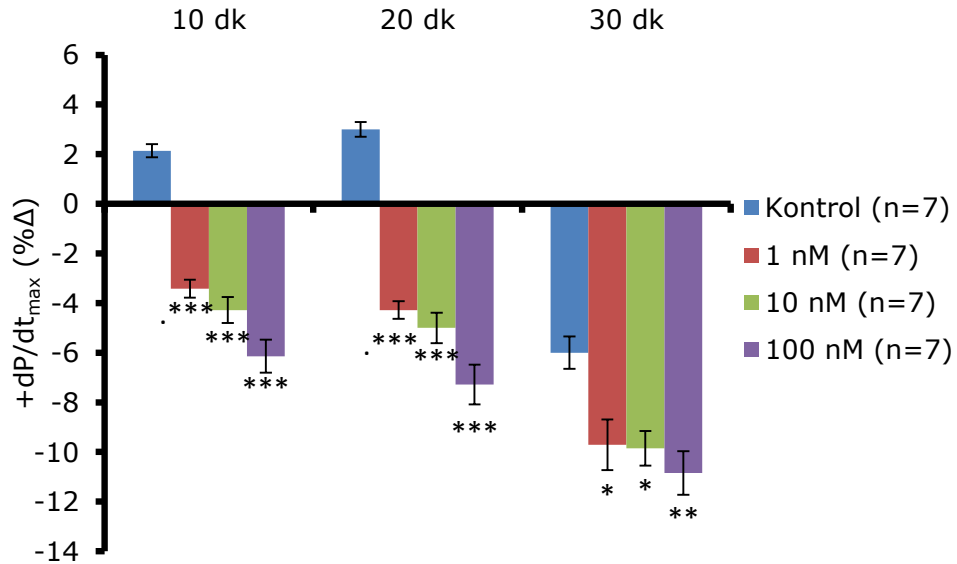
| Koroner akım (ml/dk)   |              |              |              |              |
|------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                        | 0 Dakika     | 10 Dakika    | 20 Dakika    | 30 Dakika    |
| Kontrol (n=7)          | 14±1.02      | 13.3±1.14    | 13.28±0.96   | 13±0.78      |
| 1 nM (n=7)             | 13±0.84      | 12.42±0.78   | 12.3±0.81    | 12.14±0.79   |
| 10 nM (n=7)            | 15±1.43      | 14.14±1.18   | 14±1.17      | 13.71±1.06   |
| 100 nM (n=7)           | 14.57±1.11   | 13.85±0.76   | 13.57±0.89   | 13.3±0.99    |
| MAP amp (mV)           |              |              |              |              |
|                        | 0 Dakika     | 10 Dakika    | 20 Dakika    | 30 Dakika    |
| Kontrol (n=7)          | 8.64±0.66    | 7.04±0.7     | 6.04±0.56    | 5.24±0.5     |
| 1 nM (n=7)             | 9.88±0.52    | 7.96±0.54    | 7.08±0.58    | 6.48±0.48    |
| 10 nM (n=7)            | 8.52±0.74    | 6.68±0.74    | 6.04±0.58    | 5.5±0.56     |
| 100 nM (n=7)           | 9.52±0.7     | 7.1±0.44     | 5.98±0.38    | 5.58±0.36    |
| MAP <sub>90</sub> (ms) |              |              |              |              |
|                        | 0 Dakika     | 10 Dakika    | 20 Dakika    | 30 Dakika    |
| Kontrol (n=7)          | 186.42±13.97 | 193±12.79    | 193.71±13.6  | 194±13.79    |
| 1 nM (n=7)             | 194.14±13.23 | 200.14±15.05 | 201±15.64    | 202.57±16.04 |
| 10 nM (n=7)            | 219±13.83    | 226.43±15.91 | 229±15.35    | 230±14.17    |
| 100 nM (n=7)           | 234±10.93    | 244±13.68    | 245.14±12.85 | 246.14±13.04 |

SVGB, beta amyloid peptid 22-35'in 1 nM dozunun 10. ve 20. dakikalarında  $p<0.001$ , düzeyinde ve 30. dakikada  $p<0.01$  düzeyinde belirgin şekilde azalmıştır. Beta amyloid peptid 22-35'in 10 ve 100 dozlarında SVGB, gözlem periyodunun 10., 20. ve 30. dakikalarında ise  $p<0.001$  düzeyinde anlamlı şekilde azalmıştır. Maksimal azalmalar 30. dakikada bulunmuştur (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Beta amyloid peptid 22-35'in SVGB üzerinde etkisi. \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001

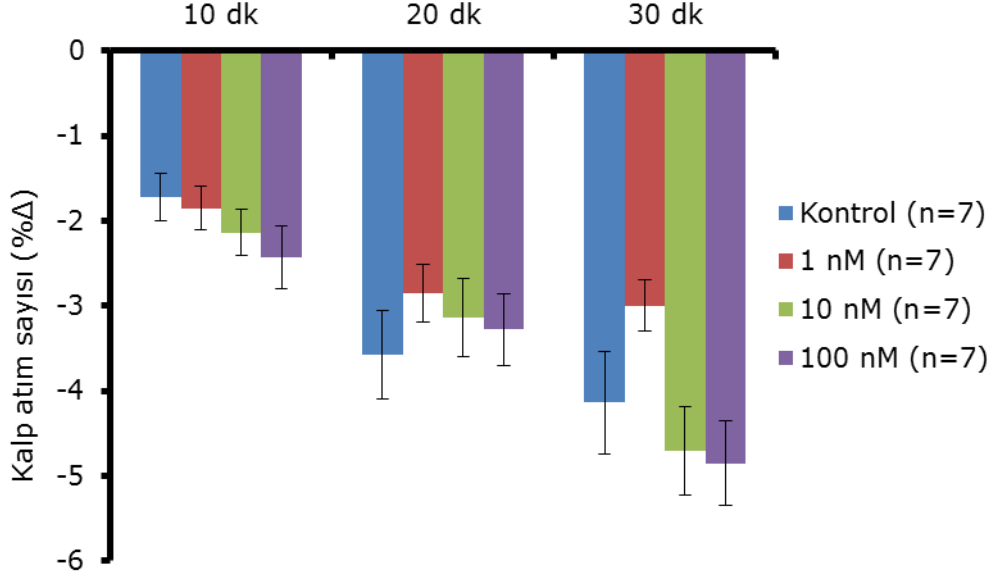
Beta amyloid peptid 22-35'in 1, 10 nM dozları 10. ve 20. dakikalarda  $+dP/dt_{max}$  da p<0.001 düzeyinde ve 30. dakikada ise p<0.05 düzeyinde azalmaya neden olmuştur. 100 nM dozu 10. ve 20. dakikalarda p<0.001 ve 30. dakikada p<0.01 düzeyinde anlamlı olarak  $+dP/dt_{max}$ , ı azaltmıştır. En fazla azalma 30. dakikada bulunmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Beta amyloid peptid 22-35'in  $+dP/dt_{max}$  üzerinde etkisi

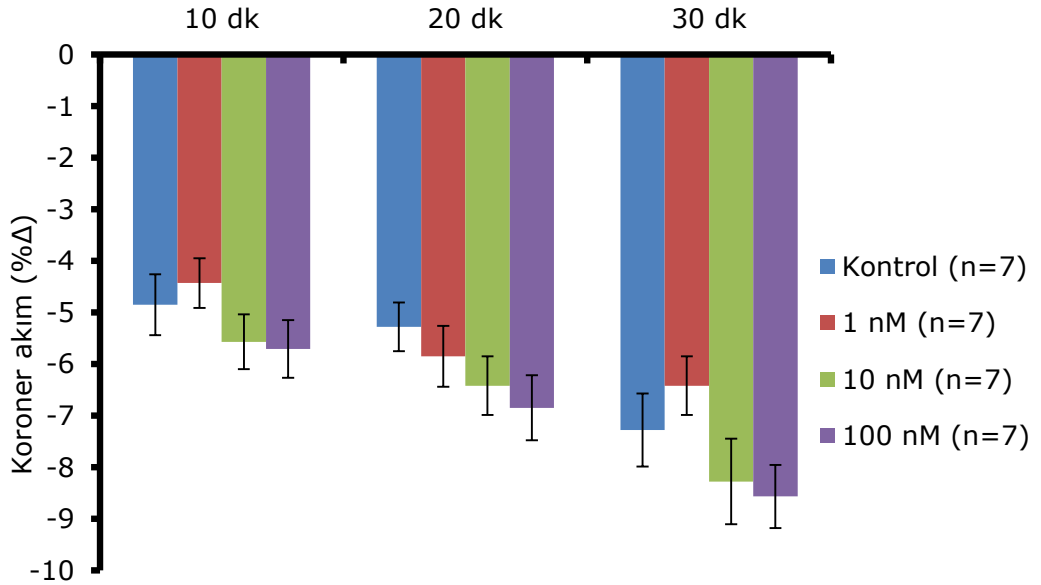
Beta amyloid peptid 22-35 dozları 10., 20. ve 30. dakikalarında kalp atım sayısını etkilememiştir (Şekil 4.9).





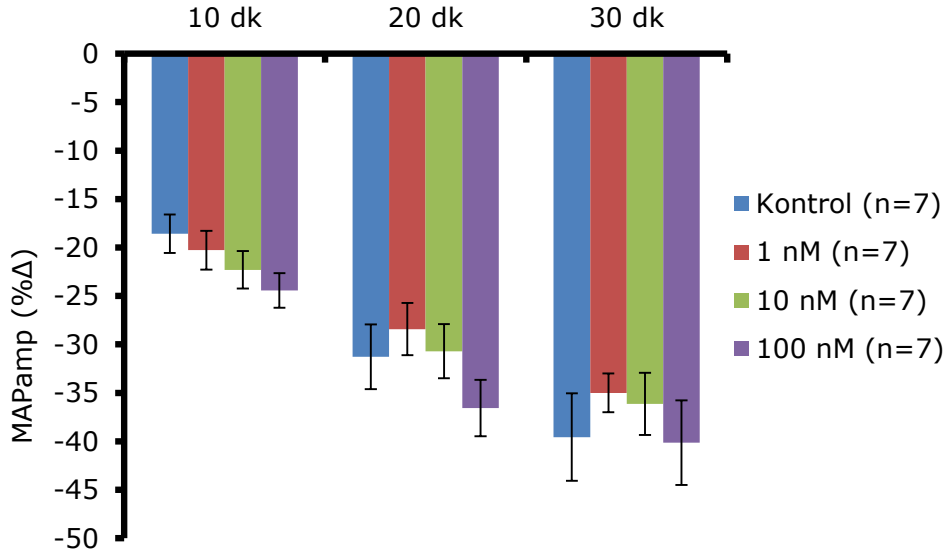
Şekil 4.9. Beta amyloid peptid 22-35'in kalp atım sayısı üzerinde etkisi

Kalplere 1, 10 ve 100 nM beta amyloid peptid 22-35 verilmesinin 10. 20. 30. dakikalarında koroner akımda anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (Şekil 4.10).



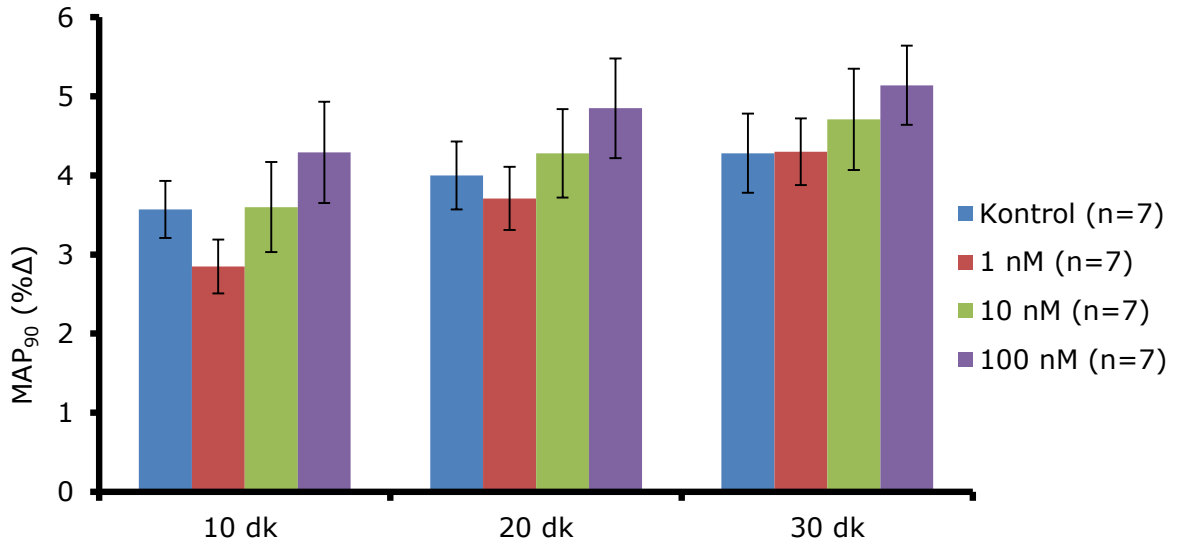
Şekil 4.10. Beta amyloid peptid 22-35'in koroner akım üzerinde etkisi

Beta amyloid peptid 22-35'in bütün dozları 10., 20. ve 30. dakikalarda kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında MAPamp'ünü azaltsa da bu azalma istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Beta amyloid peptid 22-35'in MAPamp üzerinde etkisi

Şekil 4.12 de gösterildiği gibi kalplere 1, 10 ve 100 nM beta amyloid peptid 22-35 verilmesinin 10. 20. 30. dakikalarında kontrol grubu değerlerine göre MAP<sub>90</sub> değerlerinde anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır.



Şekil 4.12. Beta amyloid peptid 22-35'in MAP<sub>90</sub>' a etkisi

### 4.3. Beta Amyloid Peptid 1-42'nin ve 22-35'in İleum Düz Kası Üzerindeki Etkileri

İleum segmentlerine sırasıyla  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M'lık artan ve kümülatif olarak uygulanan beta amyloid peptid 1-42 ve 22-35 dozları sonrasında elde edilen yanıtların istatistiksel değerlendirmesine ait veriler tablo 4.5 ve 4.6 da gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Beta amyloid peptid 1-42'nin  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M'lık dozlarına ait yanıtların istatistiksel değerlerinden elde edilen veriler.

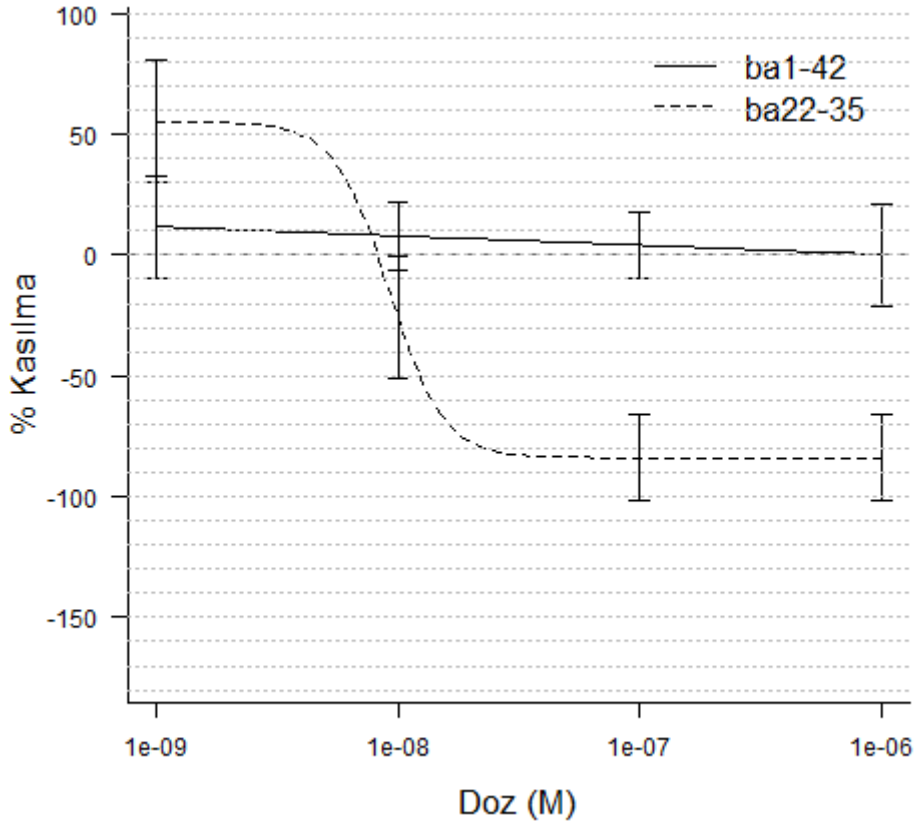
|              | $10^{-9}$ | $10^{-8}$  | $10^{-7}$ | $10^{-6}$  |
|--------------|-----------|------------|-----------|------------|
| median       | 0.000000  | -0.2853519 | 1.490171  | 0.6024096  |
| mean         | 1.028676  | 0.4121750  | 7.824280  | 6.2777425  |
| SE.mean      | 3.417387  | 3.4490096  | 6.903247  | 6.6747424  |
| CI.mean.0.95 | 7.880509  | 7.9534305  | 15.918916 | 15.3919837 |
| std.dev      | 10.252162 | 10.3470289 | 20.709741 | 20.0242273 |

Tablo 4.6. Beta amyloid peptid 22-35'in  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  M'lık dozlarına ait yanıtların istatistiksel değerlerinden elde edilen veriler.

|              | $10^{-9}$  | $10^{-8}$  | $10^{-7}$  | $10^{-6}$  |
|--------------|------------|------------|------------|------------|
| median       | -22.784810 | -31.223629 | -39.029536 | -84.599156 |
| mean         | -17.088608 | -20.253165 | -31.909283 | -69.040084 |
| SE.mean      | 20.354941  | 28.918239  | 25.484416  | 29.388998  |
| CI.mean.0.95 | 48.131786  | 68.380769  | 60.261068  | 69.493937  |
| std.dev      | 57.572466  | 81.793131  | 72.080813  | 83.124639  |

Tablo 4.7. Beta amyloid peptid 1-42'nin ve beta amyloid peptid 22-35'in ED50 Değerleri

|                    | Estimate   | Std. Error | Lower       | Upper |
|--------------------|------------|------------|-------------|-------|
| Beta amyloid 1-42  | 2.5841e-09 | 1.2722e-07 | -2.5228e-07 | 0     |
| Beta amyloid 22-35 | 9.1957e-09 | 3.8836e-09 | 1.4159e-09  | 0     |



Şekil 4.13. Beta-Amyloid 1-42 ve Beta-Amyloid 22-35 'in izole sıçan ileumu üzerindeki etkisi (n=9). Doz cevap eğrileri, non-lineer regresyon analizi ile elde edilen düzeltilmiş değerleri ve hata barları standart sapmayı (SD) ifade etmektedir

Her iki beta amyloid peptidin ileum düz kası peristaltik kasılmaları üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunamamıştır. 22-35' in grafiğine ve median değerlerine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da gözle görülen doza bağımlı bir inhibisyon görülmektedir.

## 5- TARTIŞMA

Çalışmamızda beta amyloid peptid 1-42'nin ve beta amyloid peptid 22-35'in 1, 10, 100 nM dozları izole perfüze sıçan kalplerinde doza bağlı şekilde SVGB ve  $+dP/dt_{max}$ 'ı anlamlı olarak azaltmıştır. Beta amyloid peptid 1-42'nin ve beta amyloid peptid 22-35'in 1, 10 ve 100 nM dozlarının kalp kasılma gücü üzerindeki etkileri şimdiye kadar çalışılmamıştır. Ancak bulgularımız çalıştığımız bu peptidlerin kalp kasılma gücünü azalttığını göstermektedir. Tsao ve ark. (Tsao vd., 2012) tavşan pulmoner ven kardiyomiyositlerinde beta amyloid peptid 25-35'in 100 nM dozunun fosforile fosfolamban düzeyini ve SERCA2a aktivitesini azaltarak SR'da kalsiyum depolanmasının azalmasına neden olduğunu bulmuşlardır. Bu araştırmacılar beta amyloid peptid 25-35'in voltaja bağımlı L-tipi kalsiyum kanallarından kalsiyumun hücre içine geçişini de azalttığını bildirmişlerdir (Tsao vd., 2012). Çalışmamızda gözlediğimiz beta amyloid peptid 1-42 ve beta amyloid peptid 22-35'in negatif inotropik etkisi SR'da kalsiyum depolanmasının azalmasına ve L-tipi kalsiyum kanallarından kalsiyumun hücre içine girişinin azalmasına bağlı olabilir.

Çalışmamızda beta amyloid peptid 1-42'nin dozları kalp atım sayısını belirgin şekilde azaltmıştır fakat beta amyloid peptid 22-35'in dozları kalp atım sayısını etkilememiştir. Tsao ve ark. (Tsao vd., 2012) beta amyloid peptid 25-35'in 100 nM dozunun pacemaker aktivitesine sahip pulmoner ven kardiyomiyositlerinde L-tipi kalsiyum kanallarından hücre içine kalsiyum geçişini azaltarak kalp atım sayısını azaltabileceğini bildirmişlerdir. Böylece beta amyloid peptid 1-42'nin kalp atım sayısını azaltması L-tipi kalsiyum kanallarından kalsiyumun hücre içine geçişindeki azalmadan kaynaklanabilir. Bulgularımızın tersine Haase ve ark. (Haase vd., 2013) ise beta amyloid peptid 25-35'in 100nM dozunun yeni doğan sıçanların kardiyomiyositlerinde  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörler aracılığıyla pozitif kronotropik etki gösterdiğini gözlemişlerdir. Ayrıca bu araştırmacılar bulgularımızı destekler şekilde beta amyloid peptid 1-42'nin kalp atım sayısını azalttığını göstermişlerdir. Beta amyloid peptid 1-42 ve beta amyloid peptid 22-35'in kalp atım sayısına etkisini açıklamak için başka çalışmaların yapılması gereklidir.

Beta amyloid peptid 1-42'nin 1 nM dozunun koroner akımı değiştirmediğini buna karşılık peptidin 10 nM ve 100 nM dozlarının koroner akımda belirgin azalmaya neden olduğunu gözledik. Niwa ve ark. (Niwa vd., 2001) beta amyloid peptid 1-40'in (10nM-10 $\mu$ M) doza bağılı şekilde serebral kan akımını azalttığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılar bu peptidin serebral arterlere etki yaparak vazokonstriksiyona neden olduğunu ve vazokonstriksiyonda ROS'ların rol oynayabileceğini bildirmişlerdir. Vazokonstriksiyonun koroner akımda azalmaya neden olduğu bilinmektedir (Niwa vd., 2001, Mattson, 1997). Dietrich ve ark. (Dietrich vd., 2010) beta amyloid peptid 1-42'nin (100 ve 1000 nM) sıçan serebral arteriyollerinde vazokonstriksiyona neden olduğunu göstermişlerdir. Bu

bulgular bizim bulgularımızı desteklemektedir. Bundan başka beta amyloid peptid 1-40'ın serebral damar tonusunu arttırdığı (Dietrich vd., 2010), kan akımını azalttığı ve endotelin-1 (Paris vd., 2000) ve serotonin (Thomas vd., 1997) gibi ajanların damarlara etkisini güçlendirdiği gösterilmiştir. Damar düz kas hücrelerinde beta amyloid peptid 1-40 birikimi sonucunda, vazokonstriktör ajanı olan PGF<sub>2α</sub> yapımının arttığı bildirilmiştir (Townsend vd., 2002). Bu peptid sıçan aortunda asetilkolinden kaynaklanan gevşemeyi azaltmıştır. Ayrıca beta amyloid peptid 1-40 damar endotelinde endoplazmik retikulumun inozitol tri fosfat reseptörlerinden kalsiyumun sızmasına, sitozolde kalsiyum konsantrasyonunun artmasına, PKC enziminin aktifleşmesine ve eNOS'un inhibisyonuna neden olmuştur. Böylece NO üretimi azalarak damar gevşemesi de azalmıştır (Bölükbaşı Hatip & Hatip-Al-Khatib, 2013).

Beta amyloid peptid 25-35'in (100 nM) α1-adrenerjik reseptörleri aktive ederek fare aortunda ve koroner arterlerinde vazokonstriksiyona yol açtığı görülmüştür (Haase vd., 2013). Böylece çalışmamızda da beta amyloid peptid 1-42'nin koroner damarlarda vazokonstriksiyona neden olarak koroner akımı azalttığı kabul edilebilir. Ayrıca kasılma kuvvetinde azalma koroner arterlerin daralmasına ve böylece koroner akımın azalmasına götürür. Örneğin vagal stimülasyon kalbin kasılmasını azaltır ve koroner damarlarda daralma ile koroner akım azalır (Guyton, Hall, 2006, s. 251). Çalışmamızda gözlediğimiz beta amyloid peptid 1-42'in neden olduğu kalp kasılmasındaki azalma koroner akımın azalmasında rol oynayabilir.

Diğer taraftan çalışmamızda kalplere beta amyloid peptid 22-35 verildikten sonra koroner akımda anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Peptidlerin aminoasit sayısı ve dizilişinin onların etkisinde değişikliklere neden olabileceği bildirilmiştir (Shimohigashi vd., 1993). Bulgularımız beta amyloid peptid 22-35'in çalıştığımız dozlarda (1, 10 ve 100 nM) koroner akıma etkili olmadığını göstermektedir. Bu durum beta amyloid peptid 22-35'in aminoasit sayısının ve amino asit sırasının beta amyloid peptid 1-42'ninkinden farklı olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca biz beta amyloid peptid 22-35'in 100 nM'den yüksek dozlarını çalışmadık. Bu peptid 100 nM'den yüksek dozlarda koroner akıma etkili olabilir.

Beta amyloid peptid 1-42 ve beta amyloid peptid 22-35 kalplere uygulandığında MAPamp'ünde azalma eğilimi görülmekle beraber bu azalmalar istatistiksel bakımdan anlamlılığa ulaşmamıştır. MAP kaydı uzun bir süre içinde tek bir bölgeden yapıldığında MAPamp azalır (Moore, Franz, 2007). MAPamp'ü MAP'ın Faz 0 döneminde (başlangıçtaki hızlı depolarizasyon ve aşma fazı) hücre içine sodyum akımına bağlıdır (Xia, Li, Dong, Tu & Zeng, 2002).

Beta amyloid peptid 1-42'nin 1, 10 ve 100 nM dozlarının MAP<sub>90</sub>'ı arttırdığını gözledik. Potasyum iyonlarının hücre dışına difüzyonu MAP'ın final repolarizasyon aşamasının ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Pinnell

vd., 2007). Dolayısıyla bu iyonların hücre dışına akımındaki gecikme, MAP süresinin uzamasına yol açar (Charpentier, Mérot, Loussouarn & Baró, 2010). Beta amyloid peptid 1-42'nin dozlarının MAP<sub>90</sub>'ı arttırması kalp atım sayısı ile ilişkili olabilir. MAP süresinin kalp frekansına göre değiştiği, kalp atım sayısı azaldığında MAP süresinin arttığı bildirilmiştir (Wang vd., 2014). Böylece bu çalışmada gözlediğimiz MAP<sub>90</sub>'daki artma, beta amyloid peptid 1-42'nin kalp atım sayısını azaltmasına bağlı olabilir. Çalışmamızda beta amyloid peptid 22-35 MAP<sub>90</sub> değerlerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Beta amyloid peptid 22-35'in dozları çalışmamızda beta amyloid peptid 1-42'ye göre kalp atım sayısını daha az azaltmıştır. Böylece beta amyloid peptid 22-35'in MAP<sub>90</sub>'da anlamlı artışa yol açmamasının nedeni bu peptidin beta amyloid peptid 1-42'ye göre kalp atım sayısını daha az azaltmasına bağlı olabilir. Beta amyloid peptid 1-42'nin ve beta amyloid peptid 22-35'in MAP<sub>90</sub> üzerindeki etkilerini açıklamak için başka çalışmaların yapılması gereklidir.

Bulgularımız beta amyloid peptid 1-42 ve beta amyloid peptid 22-35'in ileum düz kaslarının kasılmasını etkileyemeyeceğini gösterdi. Beta amyloid peptid 22-35'in grafiğine ve median değerlerine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da gözle görülen doza bağımlı bir inhibisyon görülmektedir. Buna karşılık Shimohigashi ve ark. (Shimohigashi vd., 1993) beta amyloid peptid 21-35'in (10 nM- 100 µM) domuz ileum düz kasında P maddesi reseptörlerinin agonisti olarak davranıp kasılmaya neden olduğunu bulmuşlardır. Bu araştırmacılar beta amyloid peptid 25-35'in en yüksek dozunun bile (100 µM) bu etkiyi göstermediğini gözlemişlerdir ve peptidlerin aminoasit sayısında ve amino asitlerin diziliş sırasındaki farklılığın farklı etkilere neden olduğunu bildirmişlerdir (Shimohigashi vd., 1993). Çalıştığımız peptidlerin ileum düz kasının kasılmalarını etkilememiş olması bu peptidlerin aminoasit sayısının ve amino asit sırasının beta amyloid peptid 21-35'inkinden farklı olmasından kaynaklanabilir. Beta amyloid peptid 1-42 ve beta amyloid peptid 22-35'in barsak düz kasi üzerindeki etkisi araştırılmadığından bu konuda daha fazla çalışmanın yapılması gereklidir.

## **6- SONUÇ VE ÖNERİLER**

Bulgularımız beta amyloid 1-42'nin negatif inotropik ve negatif kronotropik etkilerle birlikte MAP süresini arttırabileceğini göstermektedir. Bu peptidin yüksek dozları koroner akımı azaltabilir. Bulgular beta amyloid peptid 22-35'in negatif inotropik etkiler yapabileceğini de göstermektedir. Ayrıca bulgular her iki peptidin ileum düz kasının kasılmasını etkilemeyeceğini gösterir. Beta amyloid peptid 1-42 ve beta amyloid 22-35 Alzheimer hastalığında kalp kasılma kuvvetini azaltabilir.



## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Antzelevitch, C., Moe, G.K. (1981). *Electrotonically mediated delayed conduction and reentry in relation to "slow responses" in mammalian ventricular conducting tissue*. *Circ Res*. 49(5):1129-39.
- Barrett, K.E., Barman, S.M., ... & Brooks, H.L. (2010). *Ganong's Review of Medical Physiology*. (23rd ed.). New York: McGraw-Hill Medical.
- Baskin, D.S., Browning, J.L., Pirozzolo, F.J., Korporaal, S., Baskin, J.A., Appel, S.H. (1999). *Brain choline acetyltransferase and mental function in Alzheimer disease*. *Arch Neurol*. 56(9):1121-3.
- Bell, R.M., Mocanu, M.M., & Yellon, D.M. (2011). *Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion*. *J Mol Cell Cardiol*. 50(6):940-50.
- Blanc, E.M., Toborek, M., Mark, R.J., Hennig, B., & Mattson, M.P. (1997). *Amyloid beta-peptide induces cell monolayer albumin permeability, impairs glucose transport, and induces apoptosis in vascular endothelial cells*. *J Neurochem*. 68(5):1870-81.
- Blennow, K., de Leon, M.J., & Zetterberg, H. (2006). *Alzheimer's disease*. *Lancet*. 368(9533):387-403.
- Boron, W.F., Boulpaep, E.L. (2012). *Medical Physiology, 2e Updated Edition with Student Consult Online Access*. (2nd updated ed.). London: Elsevier Health Sciences.
- Bölükbaşı, Hatip, FF., & Hatip-Al-Khatib, I. (2013). *Effects of  $\beta$ -sheet breaker peptides on altered responses of thoracic aorta in rats' Alzheimer's disease model induced by intraamygdaloid A $\beta$ 40*. *Life Sci*. 92(3):228-36.
- Butterfield, D.A., Reed, T., Newman, S.F., & Sultana R. (2007). *Roles of amyloid beta-peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment*. *Free Radic Biol Med*. 43(5):658-77.
- Castellani, R.J., Rolston, R.K., & Smith, M.A. (2010). *Alzheimer disease*. *Dis Mon*. 56(9):484-546.
- Charpentier, F., Mérot, J., Loussouarn, G., Baró, I. (2010). *Delayed rectifier K(+) currents and cardiac repolarization*. *J Mol Cell Cardiol*. 48(1):37-44.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Crouch, P.J., Harding, S.M., White, A.R., Camakaris, J., Bush, A.I., & Masters, C.L. (2007). *Mechanisms of A beta mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease*. Int J Biochem Cell Biol. 40(2):181-98.
- Darcy, P. (Ed.). (2004). *The massage connection anatomy and physiology*. (2th Ed.). Philadelphia, US: Lippincott Williams & Wilkins.
- Davis, K.L., Mohs , R.C., Marin, D., Purohit, D.P., Perl, D.P., Lantz, M., Austin, G., & Haroutunian, V. (1999). *Cholinergic markers in elderly patients with early signs of Alzheimer disease*. JAMA. 281(15):1401-6.
- Di Carlo, M., Giacomazza, D., & San Biagio, P.L. (2012). *Alzheimer's disease: biological aspects, therapeutic perspectives and diagnostic tools*. J Phys Condens Matter. 24(24):244102.
- Dietrich, H.H., Xiang, C., Han, B.H., Zipfel, G.J., & Holtzman, D.M. (2010). *Soluble amyloid-beta, effect on cerebral arteriolar regulation and vascular cells*. Mol Neurodegener. 5:15.
- Dubrey, S.W., Falk, R.H. (2010). *Amyloid heart disease*. Br J Hosp Med (Lond). 71(2):76-82.
- Fidziańska, A., Walczak, E., Bekta, P., & Chojnowska, L. (2011). *Are cardiomyocytes able to generate pre-amyloid peptides?*. Folia Neuropathol. 49(1):64-70.
- Franz, M.R., Swerdlow, C.D., Liem, L.B., & Schaefer, J. (1988). *Cycle length dependence of human action potential duration in vivo. Effects of single extrastimuli, sudden sustained rate acceleration and deceleration, and different steady-state frequencies*. J Clin Invest. 82(3):972-9.
- Franz. M.R. (1994). *Bridging the gap between basic and clinical electrophysiology: what can be learned from monophasic action potential recordings?* J Cardiovasc Electrophysiol. 5(8):699-710.
- Franz, M.R. (1999). *Current status of monophasic action potential recording: theories, measurements and interpretations*. Cardiovasc Res. 41(1):25-40.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Gleason, W.L., Braunwald, E. (1962). *Studies on the first derivative of the ventricular pressure pulse in man*. J Clin Invest. 41:80-91.
- Glenner, G.G., Wong, C.W. (2012). *Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. 1984*. Biochem Biophys Res Commun. 425(3):534-9.
- Green, D., Hutton, P. (1999). *Coronary circulation*. Current Anaesthesia and Critical Care. 10. 70-76.
- Grutzendler, J., Morris, J.C. (2001). *Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease*. Drugs. 61(1):41-52.
- Guerchet, M., Prina, M., & Prince, M. (2014). *What are dementia and cognitive impairment?* In Guerchet, M., Prina, M., Prince, M., & Albanese, E. (Eds.), *Nutrition and dementia* (p. 19). London: Alzheimer's Disease International.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. (2006). *Textbook of Medical Physiology*. (11th ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Haase, N., Herse, F., Spallek, B., Haase, H., Morano, I., Qadri, F., Szijártó, I.A., Rohm, I., Yilmaz, A., Warrington, J.P., Ryan, M.J., Gollasch, M., Müller, D.N., Dechend, R., & Wallukat, G. (2013). *Amyloid- $\beta$  peptides activate  $\alpha$ 1-adrenergic cardiovascular receptors*. Hypertension. 62(5):966-72.
- Hall, S.K., Fry, C.H. (1992). *Magnesium affects excitation, conduction, and contraction of isolated mammalian cardiac muscle*. Am J Physiol. 263(2 Pt 2):H622-33.
- Hamlin, R.L., del Rio, C. (2012). *dP/dt(max)--a measure of 'baroinometry'*. J Pharmacol Toxicol Methods. 66(2):63-5.
- Harrison, D.G., Simonetti, I. (1991). *Neurohumoral regulation of collateral perfusion*. Circulation. 83(5 Suppl):III62-7.
- Headley, J.M. (2002). *Invasive hemodynamic monitoring: physiological principles and clinical applications*. Irvine, CA: Edwards Lifesciences.
- He, M.X., Downey, H.F. (1998). *Downregulation of ventricular contractile function during early ischemia is flow but not pressure dependent*. Am J Physiol. 275(5 Pt 2):H1520-3.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Hood, W.B J.r. (1968). *Regional venous drainage of the human heart*. Br Heart J. 30(1):105-9.
- Klein, W.L., Krafft, G.A., & Finch, C.E. (2001). *Targeting small Abeta oligomers: the solution to an Alzheimer's disease conundrum*. Trends Neurosci. 24(4):219-24.
- Koudinov, A.R., Berezov, T.T. (2004). *Alzheimer's amyloid-beta (A beta) is an essential synaptic protein, not neurotoxic junk*. Acta Neurobiol Exp (Wars). 64(1):71-9.
- Kourie, J.I. (2001). *Mechanisms of amyloid beta protein-induced modification in ion transport systems: implications for neurodegenerative diseases*. Cell Mol Neurobiol. 21(3):173-213.
- Kumar, S., Walter, J. (2011). *Phosphorylation of amyloid beta (A $\beta$ ) peptides - a trigger for formation of toxic aggregates in Alzheimer's disease*. Aging (Albany N.Y). 3(8):803-12.
- Little, W.C. (1985). *The left ventricular dP/dtmax-end-diastolic volume relation in closed-chest dogs*. Circ Res. 56(6):808-15.
- Lorton, D., Kocsis, J.M., King, L., Madden, K., & Brunden, K.R. (1996). *Beta-Amyloid induces increased release of interleukin-1 beta from lipopolysaccharide-activated human monocytes*. J Neuroimmunol. 67(1):21-9.
- Lovren, F., Triggle, C. (2000). *Nitric oxide and sodium nitroprusside-induced relaxation of the human umbilical artery*. Br J Pharmacol. 131(3):521-9.
- Markert, M., Trautmann, T., Groß, M., Ege, A., Mayer, K., & Guth, B. (2012). *Evaluation of a method to correct the contractility index LVdP/dt(max) for changes in heart rate*. J Pharmacol Toxicol Methods. 66(2):98-105.
- Mattson, M.P. (1997). *Cellular actions of beta-amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives*. Physiol Rev. 77(4):1081-132.
- Mehta, P.D., Pirttilä, T., Mehta, S.P., Sersen, E.A., Aisen, P.S., & Wisniewski, H.M. (2000). *Plasma and cerebrospinal fluid levels of amyloid beta proteins 1-40 and 1-42 in Alzheimer disease*. Arch Neurol. 57(1):100-5.

## “KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”

- Moore, H.J., Franz, M.R. (2007). *Monophasic action potential recordings in humans*. J Cardiovasc Electrophysiol. 18(7):787-90.
- Mubagwa, K., Mullane, K., & Flameng, W. (1996). *Role of adenosine in the heart and circulation*. Cardiovasc Res. 32(5):797-813.
- Mukhamedyarov, M.A., Teplov, A.Y., Grishin, S.N., Leushina, A.V., Zefirov, A.L., & Palotás, A. (2011). *Extraneuronal toxicity of Alzheimer's  $\beta$ -amyloid peptide: comparative study on vertebrate skeletal muscles*. Muscle Nerve. 43(6):872-7.
- Niwa, K., Porter, V.A., Kazama, K., Cornfield, D., Carlson, G.A., & Iadecola, C. (2001). *A beta-peptides enhance vasoconstriction in cerebral circulation*. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 281(6):H2417-24.
- Palotás, A., Kálmán, J., Laskay, G., Juhász, A., Janka, Z., Penke, B. (2001). *Comparative studies on  $[Ca^{2+}]_i$ -level of fibroblasts from Alzheimer patients and control individuals*. Neurochem Res. 26(7):817-20.
- Paris, D., Town, T., Mori, T., Parker, T.A., Humphrey, J., & Mullan, M. (2000). *Soluble beta-amyloid peptides mediate vasoactivity via activation of a pro-inflammatory pathway*. Neurobiol Aging. 21(2):183-97.
- Pinnell, J., Turner, S., & Howell, S. (2007). *Cardiac muscle physiology*. Contin Educ Anaesth Crit Care Pain. 7(3): 85-88.
- Poehlman, E.T., Dvorak, R.V. (2000). *Energy expenditure, energy intake, and weight loss in Alzheimer disease*. Am J Clin Nutr. 71(2):650S-655S.
- R Core Team: *A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2012. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Ritz, C., Streibig, J. C.: *Bioassay Analysis using R*. J. Statist. Software, 12: 1-22, 2005.
- Roher, A.E., Esh, C.L., Kokjohn, T.A., Castaño, E.M., Van Vickle, G.D., Kalback, W.M., Patton, R.L., Luehrs, D.C., Dausgs, I.D., Kuo, Y.M., Emmerling, M.R., Soares, H., Quinn, J.F., Kaye, J., Connor, D.J., Silverberg, N.B., Adler, C.H., Seward, J.D., Beach, T.G., Sabbagh, M.N. (2009). *Amyloid beta peptides in human plasma and tissues and*

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- their significance for Alzheimer's disease.* Alzheimers Dement. 5(1):18-29.
- Röcken, C., Peters, B., Juenemann, G., Saeger, W., Klein, H.U., Huth, C., Roessner, A., & Goette, A. (2002). *Atrial amyloidosis: an arrhythmogenic substrate for persistent atrial fibrillation.* Circulation. 106(16):2091-7.
- Saido, T.C. (2013). *Metabolism of amyloid  $\beta$  peptide and pathogenesis of Alzheimer's disease.* Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 89(7):321-39.
- Selkoe, D.J., Podlisny, M.B., Joachim, C.L., Vickers, E.A., Lee, G., Fritz, L.C., Oltersdorf, T. (1988). *Beta-amyloid precursor protein of Alzheimer disease occurs as 110- to 135-kilodalton membrane-associated proteins in neural and nonneural tissues.* Proc Natl Acad Sci U S A. 85(19):7341-5.
- Shah, K.B., Inoue, Y., Mehra, M.R. (2006). *Amyloidosis and the heart: a comprehensive review.* Arch Intern Med. 166(17):1805-13.
- Shimohigashi, Y., Matsumoto, H., Takano, Y., Saito, R., Iwata, T., Kamiya, H., & Ohno, M. (1993). *Receptor-mediated specific biological activity of a beta-amyloid protein fragment for NK-1 substance P receptors.* Biochem Biophys Res Commun. 193(2):624-30.
- Shtifman, A., Ward, C.W., Laver, D.R., Bannister, M.L., Lopez, J.R., Kitazawa, M., LaFerla, F.M., Ikemoto, N., & Querfurth, H.W. (2010). *Amyloid- $\beta$  protein impairs  $Ca^{2+}$  release and contractility in skeletal muscle.* Neurobiol Aging. 31(12):2080-90.
- Skrzypiec-Spring, M., Grothaus, B., Szelag, A., & Schulz, R. (2007). *Isolated heart perfusion according to Langendorff---still viable in the new millennium.* J Pharmacol Toxicol Methods. 55(2):113-26.
- Soininen, H., Syrjänen, S., Heinonen, O., Neittaanmäki, H., Miettinen, R., Paljärvi, L., Syrjänen, K., Beyreuther, K., & Riekkinen, P. (1992). *Amyloid beta-protein deposition in skin of patients with dementia.* Lancet. 339(8787):245.
- Solaro, R.J. (2011). *Regulation of cardiac contractility.* In Granger, J.P., & Granger, D.N. (Eds.), *Integrated systems physiology: from molecule to function to disease* (Book #18). San Rafael, CA: Morgan & claypool life sciences.

## **"KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)"**

- Thomas, T., McLendon, C., Sutton, E.T., & Thomas, G. (1997). *Beta-Amyloid-induced cerebrovascular endothelial dysfunction*. Ann N Y Acad Sci. 826:447-51.
- Toyama, B.H., Weissman, J.S. (2011). *Amyloid structure: conformational diversity and consequences*. Annu Rev Biochem. 80:557-85.
- Townsend, K.P., Obregon, D., Quadros, A., Patel, N., Volmar, C.h., Paris, D., & Mullan, M. (2002). *Proinflammatory and vasoactive effects of Abeta in the cerebrovasculature*. Ann N Y Acad Sci. 977:65-76.
- Tsao, H.M., Weerateerangkul, P., Chen, Y.C., Kao, Y.H., Lin, Y.K., Huang, J.H., Chen, S.A., & Chen, Y.J. (2012). *Amyloid peptide regulates calcium homeostasis and arrhythmogenesis in pulmonary vein cardiomyocytes*. Eur J Clin Invest. 42(6):589-98.
- Van Der Velden, J., Klein, L.J., Zaremba, R., Boontje, N.M., Huybregts, M.A., Stoker, W., Eijnsman, L., de Jong, J.W., Visser, C.A., Visser, F.C., Stienen, G.J. (2001). *Effects of calcium, inorganic phosphate, and pH on isometric force in single skinned cardiomyocytes from donor and failing human hearts*. Circulation. 104(10):1140-6.
- Walsh, D.M., Tseng, B.P., Rydel, R.E., Podlisny, M.B., & Selkoe, D.J. (2000). *The oligomerization of amyloid beta-protein begins intracellularly in cells derived from human brain*. Biochemistry. 39(35):10831-9.
- Wang, Y., Chen, M.S., Liu, H.C., Xiao, J.H., & Wang, J.L. (2014). *The relationship between frequency dependence of action potential duration and the expression of TRPC3 in rabbit ventricular myocardium*. Cell Physiol Biochem. 33(3):646-56.
- Wilson, D.P, Sutherland, C, Walsh, M.P. (2002). *Ca<sup>2+</sup> activation of smooth muscle contraction: evidence for the involvement of calmodulin that is bound to the triton insoluble fraction even in the absence of Ca<sup>2+</sup>* . J Biol Chem. 277(3):2186-92.
- Wirhth, O., Bayer, T.A. (2008). *Motor impairment in Alzheimer's disease and transgenic Alzheimer's disease mouse models*. Genes Brain Behav. Suppl 1:1-5.
- Xia, J.S., Li, Z., Dong, J.W., Tu, H., Zeng, F.D. (2002). *Dauricine-induced changes in monophasic action potentials and effective refractory period of rabbit left ventricle in situ*. Acta Pharmacol Sin. 23(4):371-5.

## **“KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)”**

Zimmer, H.G. (1998). *The Isolated Perfused Heart and Its Pioneers*. News Physiol Sci. 13:203-210.

(<http://www.oytunerbas.com.tr/tip-fizyoloji-ders-notu/14/>)

([http://higheredbcs.wiley.com/legacy/college/tortora/0470565101/hearthisill/pap13e\\_ch10\\_illustr\\_audio\\_mp3\\_am/simulations/hear/contraction\\_cycle.html](http://higheredbcs.wiley.com/legacy/college/tortora/0470565101/hearthisill/pap13e_ch10_illustr_audio_mp3_am/simulations/hear/contraction_cycle.html))

(<http://www.oytunerbas.com.tr/tip-fizyoloji-ders-notu/21/>)

(<http://tube.medchrome.com/2011/04/coronary-circulation-anatomy.html>)



**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI**

**TOPLANTI TARİHİ** : 05. 06. 2014  
**TOPLANTI SAYISI** : 71  
**DOSYA KAYIT NUMARASI** : 378-1  
**KARAR NUMARASI** : 378-1  
**ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ** : Prof. Dr. Ziya KAYGISIZ  
**YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR** : Yük. Lis. Öğr. Neda YOUSEFİRAD  
**HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI** : Wistar veya Sprague Dawley (80 adet dişi )

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi **Prof. Dr. Ziya KAYGISIZ**'ın araştırma yürütücüsü olduğu 378-1//2014 kayıt numaralı ve " **Beta amyloid peptidlerin izole rat kalp kasına ve barsak düz kasına etkileri** " konulu çalışma; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması kabul edilerek onaylanmasına karar verilmiştir.

Prof. Dr. Kevser EROL (Başkan)

Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)

Prof. Dr. Hasan W. GÜNEŞ (Üye)

Prof. Dr. Emel ULUPINAR. (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS (Üye)

Doç. Dr. Engin YILDIRIM (Üye)

Yrd.Doç.Dr.Nurdan KIRIMLIOĞLU (Üye)

Vet.Hek .Yrd.Doç.Dr.Oya ERALP İNAN (Üye)

Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)

Avukat Şükrü KIRDEMİR (Üye)

Adres: Meşelik Kampüsü 26480 Eskişehir  
Telefon: 0 222 239 29 79 / (45 63)

## GEREKÇE

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Ziya KAYGISIZ'ın araştırma yürütücüsü olduğu 378-1//2014 kayıt numaralı ve " Beta amyloid peptidlerin izole rat kalp kasına ve barsak düz kasına etkileri " konulu çalışma; tarafımızdan değerlendirilmiştir.

Çalışmada 300–400 g ağırlığında Wistar veya Sprague Dawley (80 adet dişi) kullanılacaktır. Heparin (1000 IU, intrapertoneal) verildikten 30 dakika sonra sodyum tiyopental anestezisi uygulanacaktır. Kalp izole edildikten sonra buz gibi soğuk Krebs solüsyonuna konulup durdurulacaktır.

Kalbin durduğu gözlemlenildikten sonra kalp çevre dokularından temizlenip ortadan perfüzyon sistemine paslanmaz çelik bir kanül vasıtasıyla bağlanarak Langerdorff sistemi ile perfüze edilecektir. Kalpler noncirculating Langendorff tekniğine göre retrograd olarak perfüze edilecektir. Koroner drenajı kolaylaştırmak için pulmoner arter kesilecektir. Perfüzyon solüsyonu olarak bileşimi aşağıda verilmiş ve günlük olarak hazırlanmış modifiye Krebs-Henseleit solüsyonu kullanılacaktır. Bu solüsyonun bileşimi (mM olarak): NaCl 118, KCl 4.7, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25 and glukoz 11 şeklindedir. Bu solüsyon devamlı olarak % 95 O<sub>2</sub> ve % 5 CO<sub>2</sub> ile oksijenlendirilecektir ve solüsyonun pH'ı 7.3-7.5 arasında ve sıcaklığı 37derece santigrad olarak devam ettirilecektir. Kalpler sabit basınç altında (70 mmHg) perfüze edilecektir.

Hemodinamik parametrelerin ölçülmesi Kalplerin kasılma kuvveti balon ile ölçülecektir. Bir sıvı ile dolu lateks balon bir basınç transduserine (Isotec, Hugo Sachs Electronic, March-Hugstetten, Germany) bağlandıktan sonra mitral kapaktan sol ventrikül içine konulacaktır ve peak sistolik basınç ve sol ventrikülün diyastol sonu basıncı ölçülecektir. Diyastolik balon basıncı 8 mmHg da tutulacaktır. Sol ventrikülün geliştirdiği basınç (kalp kasılma kuvvetinin bir indeksi) sistolik ve diyastolik basınçlar arasında fark olarak ölçülecektir ve bu basınç kasılma kuvveti olarak kabul edilecektir. Bundan başka sistolik basınç bir software tarafından (Isoheart Software, Version 1.5 for Microsoft Windows NT/2000/XP,Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Germany) işleme uğratarak +dP/dtmax and -dP/dtmin belirlenecektir. +dP/dtmax, (sol ventrikül basıncında artışın maksimum hızı) diğer kasılma kuvveti indeksi olarak kabul edilecektir. Dakikada kalp atım sayısı sol ventrikül basınç sinyalinin hesaplanacaktır. Koroner akım (koroner vasküler tonusun bir indeksi) bir dakika süre içinde bir mezurde kalbi terkeden sıvı toplanarak ölçülecektir. -dP/dtmin, (sol ventrikülde basınç azalmasının maksimum hızı) kalbin bir gevşeme indeksi olarak kullanılacaktır.

Beta amyloid peptid verilmeden önce kalpler 30 dakika dengelenecektir. Stabilizasyon döneminden sonra 42 amino asit içeren beta amyloid peptid 42 ve beta amyloid peptid 12-28 (1, 10 and 100 nM) bir infüzyon pompası (Graseby Medical, Model 3400, Watford Herts) kullanılarak kalplere 30 dakika infüze edilecektir ve infüzyon hızı bütün deneyler için 0.2 ml/dakika olacaktır. Her bir doz farklı bir kalp grubuna verilecektir. Bundan başka kolesterol'un beyinde beta amyloid peptid yapımını artırması nedeni ile kolesterol metil beta siklodekstrin ve metil beta dekstrin (1 mikro M) un izole rat kalbine etkileri çalışılacaktır.

**300-400 g ağırlığında sıçan bulmak güç olabilir. Anestezi yöntemi net olarak belirtilmelidir (eter?/tiyopental?)**

Kullanılan yöntemler uluslararası standardı olan yöntemlerdir. Gerekli literatürler verilmiştir. Çalışmanın yapılmasında, Komisyonumuzun olumsuz görüşü bulunmamaktadır.

Adres: Meşelik Kampüsü 26480 Eskişehir  
Telefon: 0 222 239 29 79 / (45 63)

## Özgeçmiş

### Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Neda Yousefirad  
Doğum tarihi ve yeri : 24/07/1987  
Uyruğu : İran  
Medeni durumu : Evli  
İletişim adresleri : Büyükdere Mah. Türkmenel Sok. Uysal  
Apt. No 8/2. Eskişehir.

### Eğitim Durumu

(Tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru ilköğretim, lise, üniversite, yabancı dil / diller)

- : Kosar İlkokulu 1994, Orumieh, İran
- : Kosar Ortaokulu 2002, Orumieh, İran
- : Niyayeş Lisesi 2006, Orumieh, İran
- : Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Olum Tahghighat Üniversitesi 2007, Tehran, İran.
- : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi 2012, Fizyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisansa başladım ve halen bu öğrenime devam etmekteyim (Tez aşamasında).

Yabancı diller: Farsça, Arapça, İngilizce, Azerice, Türkçe.

### Bilimsel Etkinlikler

Kurslar ve Eğitim Programları :

TICAM- Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Deney Hayvanları Kullanımı kursu, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir/Türkiye,

Diyetetik kursu, Shariati Hastanesi, Tehran/İran, 2011.