

1- GİRİŞ VE AMAÇ

3-hydroxy-3-methylglutharyl-coenzyme A(HMG-CoA) redüktaz inhibitörleri (statinler), kardiyovasküler hastalıkları önlemede yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve genellikle iyi tolere edilebilmektedirler. Buna rağmen bazı hastalarda kas dokusuna olan bir takım yan etkiler gelişebilir ve ölümcül rabdomiyoliz'in de gelişmesine neden olabilir. Miyopatinin gelişmesi, tahminen statin monoterapisi sonucu %0,1 veya %0,5 oranında değişmekteyken, rabdomiyoliz gelişme insidansıda her sene hastanede tedavi altına alınan 10.000 hastadan 0.44'ünde atorvastatin, simvastatin ve pravastatin kullanımına bağlı gelişebilmektedir (Graham ve ark. 2004, Shek ve ark. 2001)

Miyopatinin bazı hastalarda statin kullanımına bağlı olarak neden geliştiği hala anlaşılabilmiş değildir. Rabdomiyoliz'in artan oranlarda görülmesi bazı ilaçların statinlerle beraber kombine kullanılması ilaçlar arasındaki etkileşimi, farmakokinetiği sonucunda, miyopatinin gelişme riskini artırabilir. Bunun yanında hastanın vücut ölçüleri yaşı cinsiyeti renal ve hepatik fonksiyonları, hipotiroidizm ve diyabet bu riskleri belirleyici faktörler olarak gözlenmektedir (Omar ve ark. 2002, Thompson ve ark. 2003).

Statin miyotoksisitesinin hücresel gelişme mekanizması mevalonik asit türevlerinin kasta yükselmesine bağlanmaktadır. Ancak, bu durum cevaplanmayı bekleyen birçok soruyu da içermektedir (Tozawa ve ark. 2003, Bennett ve ark. 2003).

Statine bağlı miyotoksisitenin, biyokimyasal indikatöründe kreatin kinaz seviyesinin de artmasıdır. Buna rağmen, statine bağlı miyotoksisite normal kreatin kinaz düzeylerinde de gösterilmiştir (Phillips ve ark. 2002).

Dünya genelinde, atorvastatin sıklıkla kullanılan statin türevidir. Aktif lipid düşürücü asit formunda verilmektedir ve in vivo olarak organizmada lakton formuna dönüşmektedir (Kearney ve ark. 1993).

Yapılan en son çalışmalarda statinlerin aynı zamanda inme riskini de azaltabildiği kanıtlanmış bir gerçek olarak yerini almıştır (Hebert ve ark. 1997).

Aterosklerotik vasküler hastalıklar, başlıca ölüm nedenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Kanada'da tüm ölümlerin %36 sını aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar oluşturmaktadır (Health Canada, 2001). Kardiyovasküler hastalıktan hem primer hemde sekonder korunmada antilipidemik ajanların kullanım avantajları olduğu kanıtlanmıştır. Son zamanlarda hiperkolesterolemi tedavisinde kullanılan HMG-CoA redüktaz inhibitörleri (statinler), hala popüleritesini korumaktadır. Statinler hücresel bazda kolesterol sentezini inhibe etmekte, endotel fonksiyonlarını düzenlemekte ve plak oluşumunu engellemektedir

(Beyer ve ark. 1992, Rosenson ve ark. 1998).Böylece Akut koroner sendromlu hastalarda iskemi oluşma riskini azaltmaktadır (Schwartz ve ark. 2001).

Ancak, insan vücudunda kolesterol sentezini baskılayan statin türevlerinin iskelet kasında ve karaciğer hücrelerinde olumsuz etkilerinin olduğu ortaya çıkmıştır. Karaciğer kökenli serum transaminaz seviyelerinin yükselmesi hastaların % 1'inde,myotoksisite ise %0,1'inde görülmektedir (Maron ve ark. 2000). Hepatotoksisite daha fazla görülmesine rağmen, myotoksisite sonucu rabdomyoliz oluşabilir, buna bağlı olarak myoglobinuri ve akut böbrek yetmezliği gelişebilir (Dromer ve ark. 1992, Ozdemir ve ark. 2000). Miyopatilerin insidansı düşük olabilir, fakat statin kullanımı arttıkça bu belirtilerin veya hastalıkların artacağından kaygı duyulmaktadır. 2001 ağustosunda bir hastanın statin türevi olan serivastatin kullanımına bağlı olarak rabdomyoliz gelişmesi sonucu öldüğü bildirilmiştir (Maron ve ark. 2000).

Bir statin türevi olan atorvastatinin doza ve kullanım süresine bağlı iskelet kasında oluşturacağı olası yapısal değişikliklerin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

2.1 İskelet kası histolojisi

Morfolojik ve fonksiyonel özelliklerine göre memelilerde üç kas tipinden biri olan iskelet kası enine çizgilenme gösteren, çok çekirdekli, silindirik, çok uzun demetlerden oluşur. Kasılmaları, hızlı, yavaş, kuvvetli ve genellikle istemlidir. Buna, moleküler yapıların birbirleri üzerinde kaymalarına olanak veren, kalın miyozin filamanları ve ince aktin filamanlarının karşılıklı hareketi neden olur. Kayma için gerekli olan güçler aktini miyozine bağlayan köprülerdeki zayıf etkileşimlerle elde edilir. İskelet kası çok uzun (12.3 cm'nin üzerinde) silindirik, çok çekirdekli 10–100 µm çapında demetler halindeki kas liflerinden (hücrelerinden) oluşur. Çok çekirdeklilik embriyonik tek çekirdekli miyoblastların birleşmesi sonucunda meydana gelir. Oval çekirdekler genellikle periferde sarkolemmanın hemen altında bulunur. Bu karakteristik çekirdek yerleşimi iskelet kasını kalp ve düz kastan ayırmaya yarar.

2.1.1 İskelet kasının yapısal özellikleri

Kas lifi kütleleri düzenli demetler halinde dizilirler ve epimisyum adı verilen sıkı bağ dokudan bir dış kılıf ile sarılırlar. İnce bağ doku septalar epimisyumdan içeriye doğru uzanır ve bir kasın içindeki lif demetlerini sarar. Her kas lifi demetlerinin etrafındaki bağ dokusu perimisyum diye adlandırılır. Her kas lifi ise bazal lamina ve retiküler liflerden oluşmuş ince bir bağ dokusu endomisyumla sarılıdır.

Bağ dokusunun en önemli rollerinden biri ise kas lifini kasarak kuvvetin mekanik iletimini sağlamaktır. Çünkü çoğu kez kas hücreleri tek başına kasın bir ucundan diğer ucuna uzanamaz.

Kan damarları kasa bağ dokusunun oluşturduğu septalar içinde girer ve kas lifleri arasında onlara paralel olarak zengin bir kapiller ağı oluştururlar. Bu kapillerler devamlı tiptedir. Lenf damarlarında bu bağ dokusunda bulunmaktadır.

Bazı kaslar tendon bileşkesinin oluşturulduğu uçlarda ortadan kalkar. Elektron mikroskopik bulgulara göre bu geçiş bölgesinde tendonun kollajen liflerinin kas liflerinin plazmalemmasındaki karmaşık katlantıların içine gömüldükleri görülür.

2.1.2 İskelet kası liflerinin düzenlenimi:

Işık mikroskopunda gözleendiği gibi, uzamına kesiti alınan kas lifleri açık ve koyu bantlar halinde değişen enine çizgilenmeler gösterir.

Koyu olarak gözlenen bantlar A bandı Anizotropik alanlar olarak isimlendirilir. Daha açık görünen ise I bandları İzotropik alanlar olarak adlandırılır. Elektron mikroskopta her I bandının Z çizgisi denilen koyu transvers bir çizgiyle ikiye ayrıldığı gözlenir. Kasılabilir yapının kendini yenileyebilen en küçük parçası olan sarkomer bir Z çizgisinden diğerine uzanan kısımdır ve dinlenme halindeki kasta yaklaşık 2,5 µm uzunluğundadır.

Her kas lifinin sarkoplazması miyofibril denilen, uzun, silindirik, filamentöz demetler ile doludur. 1–2µm çapında olan ve kas lifinin uzun eksenine koşut olarak uzanan miyofibriller birbiri ardına zincir biçiminde düzenlenmiş sarkomerlerden oluşmuştur. Komşu miyofibrillerdeki sarkomerlerin lateral düzeni tüm kas lifinin enine çizgilenmeler gösteren karakteristik bir yapı göstermesine neden olur.

Elektronmikroskopik çalışmalar esasen sarkomerin bu düzeninin kalın ve ince 2 tip filamanın miyofibrillerin uzun eksenine paralel olarak simetrik şekilde dizilmesiyle meydana geldiğini göstermiştir.

1.6 µm uzunluğunda, 15 nm kalınlığındaki kalın filamanlar sarkomerin merkezi kısmında yer alan A bandını oluşturur. İnce filamanlar arasında bir uçları Z çizgisine tutunmuş olacak şekilde onlara paralel olarak uzanırlar. İnce filamanlar 1,0 µm uzunluğunda ve 8 nm kalınlığındadır. Bu düzenlenimin bir sonucu olarak I bandları, ince filamanların kalın filamanlar üzerine gelmeyen kısımlarından meydana gelir. A bandı ise, başlıca kalın filamanlardan ve ince filamanlarla üst üste gelen kısımlarından oluşur. A bandının ortasında H bandı denilen daha açık bir alan vardır. Burası sadece miyozin molekülünün çubuk benzeri kısımlarından oluşmuş bir alana karşılık gelir. H bandı M çizgisiyle ikiye ayrılır. Burası komşu olan filamanlar arasında lateral bağlantıların bulunduğu bölgedir. M çizgisinin esas proteini kreatin kinazdır. Kreatin kinaz, bir fosfat grubunun fosfokreatinden ADP'ye aktarımında katalizör görevi üstlenir. Böylece kasın kasılması için gerekli ATP sağlanır.

İnce ve kalın filamanlar A bandında üst üste binerler. Her kalın filamanı 6 ince filaman çevreler, bir altıgen oluşturur.

Çizgili kas filamanları birkaç protein içerir; bunlar aktin, troponin, tropomiyozin ve miyozindir. İlk üçü ince filamanları oluştururken miyozin kalın filamanları yapar. Aktin ve miyozin iskelet kasının toplam proteininin % 55'ini oluşturur.

Aktin bir çift sarmal şekilde birbiri etrafına dolanmış 5-6 nm çapında 2 sıra globüler monomerden oluşan uzun filamentöz polimerlerden ibarettir. G-aktin moleküllerinin özelliği de yapısal asimetri göstermesidir. G-aktin molekülleri F-aktini oluşturmak üzere polimerize oldukları zaman belirgin polarite gösteren filamanlar oluşturarak arkadan öne bükülürler. Her bir G-aktin monomeri miyozin için bağlanma bölgesi içerir

Z çizgisi üzerine dik açıyla yerleşen aktin filamanları çizginin her bir tarafında karşıt polarite gösterir. Z çizgisinin ana komponenti olan A-aktinin proteininin, aktin filamanlarına bu bölgede tutunduğu düşünülmektedir. A- aktinin ve desminin komşu sarkomerleri birbirine bağladığı düşünülmektedir.

Tropomiyozin, 2 polipeptid zincir içeren 40 nm uzunluğunda ince uzun bir moleküldür. Bu moleküller birbirine dolanmış iki aktin uzantısı arasındaki oluşun dış kenarları boyunca aktinin alt birimleri üzerinde filamanlar oluşturarak ilerleyen baştan sona kadar uzanan moleküllerdir.

Troponin 3 alt birimden oluşan bir komplekstir. Tropomiyozine güçlü bir şekilde tutunan TnT, kalsiyum iyonlarını bağlayan TnC ve aktin – miyozin ilişkisini bozan TnI. Bir troponin kompleksi her tropomiyozin molekülü üzerinde belirgin bir noktaya tutunur.

İnce filamanlarda, her bir tropomiyozin molekülü 7 tane G-aktin molekülüne uzanır ve bir troponin kompleksi bunun yüzeyine tutunur.

Miyozin çok daha büyük bir komplekstir. Miyozin, birbirine eşit iki ağır zincir ve iki çift hafif zincire ayrıştırılabilir. Miyozinin ağır zincirleri birbirine dolanmış iki ağır zincirden meydana gelen ince, çubuk benzeri moleküllerdir (150 nm uzunluğunda 2–3 nm kalınlığında). Her ağır zincirin bir ucundaki küçük globüler uzantılar, ATP bağlamanın yanı sıra ATP'yi hidrolize edecek enzimatik kapasiteye sahip başları oluşturur ve aktin bağlama özelliği sergiler. Bu 4 hafif zincir baş ile ilişkilidir. Her bir kalın filamandaki yüzlerce miyozin molekülü çomağa benzer kısımları üst üste gelecek ve globüler başları bir diğerinin ucuna yönelecek şekilde düzenlenim gösterir.

İskelet kasının ince kesitlerinde kas lifleri ince ve kalın filamanların arasında karşılıklı köprüler görülür. Bu köprüler myozin molekülünün baş kısmından ve çubuğa benzeyen parçasının küçük bir kısmından meydana gelir. Bu köprülerin kimyasal enerjiyi doğrudan mekanik enerjiye çevirdiği düşünülmektedir.

2.1.3 Sarkoplazma retikulumu ve transvers tübül sistemi

Sarkoplazma retikulum membranının depolarizasyonu kas hücrelerinin yüzeyindeki özelleşmiş kas – sinir bağlantısında başlar ve Ca^{+2} iyonlarının serbestleşmesi ile sonuçlanır. İçerideki sarkoplazma retikulumu sisternalarından Ca^{+2} 'un serbestleşmesini etkilemek için

depolarizasyon sinyallerinin tüm hücre boyunca dalga halinde ilerlemesi gerekir. Periferik miyofibriller merkezde yerleşen miyofibrillere göre daha önce kasılır. Düzenli bir kasılmanın sağlanması için, iskelet kası Transvers Tubüller'e sahiptir (T).

Sarkolemmmanın bu parmak benzeri girintileri kompleks bir tübül ağı meydana getirir ve miyofibriller içindeki her sarkomerin A-I bileşekelerini sarar.

Sarkoplazma retikulumunun T tübüle komşu karşılıklı iki kenarı genişleyerek Terminal Sisternalar'ını yaparlar. T tübül ile birlikte iki lateral SR parçasından oluşan bu özelleşmiş komplekse Triad denir. Triad ta sarkolemmmanın oluşturduğu depolarizasyon T tübül ile sarkoplazma retikulumu membranına aktarılır.

Yukarıda tanımlandığı gibi ortamda Ca^{+2} iyonları varsa kas kasılır, yokluğunda gevşer. Sarkoplazma retikulumu hızlı kasılma ve gevşeme için gerekli olan kalsiyum akışını düzenler. SR sistemi her bir miyofibrili çevreleyen düz endoplazma retikulumu ağının sisternalarından oluşur. SR zarının sinirler aracılığı ile depolarizasyonunu takiben SR içinde yoğunlaşmış Ca^{+2} iyonları kalın ve ince filamanların üst üste binerek troponine bağlanıp aktin ve miyozin arasında köprüleşmeye neden olduğu bu alana pasif olarak bırakılır. Zar depolarizasyonu sona erince, SR Ca^{+2} deposu olarak görev görür ve Ca^{+2} 'u aktif transportla sisternalara geri gönderir ve bu da kasılma işleminin sona ermesiyle sonuçlanır.

2.1.4 Kasılma mekanizması

Dinlenme halindeki sarkomerler kısmen üst üste binmiş kalın ve ince filamanlardan oluşmaktadır. Kasılma sırasında hem ince hemde kalın filamanlar kendine özgün uzunluklarına dönerler. Kasılma bu filamanlardaki kasılmaya bağlı olmadığı için filamanların üst üste binme miktarının artmasına bağlanabilir. Kas kasılmasında Kayan Filaman hipotezi yaygın bir biçimde benimsenmiştir.

Bunun ardından kasılma döngüsü sırasında aktin ve miyozin filamanları arasındaki davranışın kısaca tanımlanması gelmektedir. Sonuç olarak ATP miyozin başındaki ATP-az kısmına bağlanır. Ancak hidroliz hızı çok yavaştır. Miyozinin ATP'yi hızlı olarak parçalanmasıyla enerjinin ortaya çıkmasını sağlamak için bir kofaktör olarak aktinin varlığına gereksinim duyulur. Dinlenme durumundaki kasta miyozin aktin ile bağlantı kurmaz, çünkü aktin molekülleri üzerinde miyozin başlarının bağlanması için uygun olan kısımlar F-aktin filamanı üzerindeki troponin–tropomiyozin kompleksleriyle örtülmüş durumdadır. Ca^{+2} konsantrasyonu yeterince yüksek olduğunda bunlar troponin TnC alt birimine bağlanırlar. Üç troponin alt biriminin biçimleri değişir ve tropomiyozin, molekülünü aktin, sarmalının yarığı

içine doğru iter. Bu globuler aktin elemanı üzerindeki miyozin bağlayan bölgeyi açığa çıkarır, böylece aktin, miyozin molekülünün başı ile birleşmek üzere serbest kalır.

Kalsiyum iyonlarının TnC birimine bağlandığı dönem miyozin – ATP'nin aktif komplekse dönüştüğü zamana uyar. Miyozin başı ve ince filamanın G-aktin alt birimi arasındaki bağlanmanın sonucu olarak ATP, ADP ve P ye dönüşür ve enerji açığa çıkar. Bu aktivite miyozin başının ve bir parçasının çubuk benzeri bölümün bükülerek deformasyona uğramasına sebep olur. Aktinin miyozine bağlı olması nedeniyle miyozin başının hareketi aktini miyozin üzerine çeker. Sonuç olarak ince filaman A bandı içine daha fazla itilir.

Çok sayıda miyozin başının kalın filamandan uzanmasına karşın kasılma sırasında herhangi bir zamanda az sayıda baş, mevcut aktin bağlayan kısımlarla karşı karşıya gelir. Bağlı miyozin başları aktini hareket ettirirken yeni aktin-miyozin bağlantılarının düzenlenmesinde sağlar. Eski aktin-miyozin bağlantıları, yalnızca miyozin yeni bir ATP molekülü bağlandıktan sonra çözülür. Bu işlem aynı zamanda miyozin başını serbestleştirir ve onu başka bir kasılma siklusu için hazırlar. Eğer ortamda hiç ATP molekülü yoksa aktin-miyozin kompleksi stabil hale gelir. Bu ölümden sonra meydana gelen Rigor Mortis olayına sebep olur. Tek bir kas kasılması yüzlerce bağlantının yıkılması sonucu ortaya çıkar. İnce ve kalın filamanların tam olarak üst üste binmesiyle oluşan kas aktivitesi Ca^{+2} iyonlarının serbestleşmesine ve troponin-tropomiyozin kompleksinin tekrar miyozin bağlayıcı kısımları örtmesine kadar devam eder.

Kasılma sırasında ince filamanlar A bandına girdikçe I bandının boyutları kısalır. H bandının kalınlığı ince filamanlar kalın filamanlarla tamamen üst üste geldiğinde kısalır. Sonuçta her sarkomer ve tüm hücre kısalır.

2.1.5 İnnervasyon

Miyelinli motor sinirler perimisyum içinde dallanırlar ve sonlandıkları bölgede çok sayıda nice dallar içerirler. İnnervasyon alanında sinir miyelin kılıfını kaybeder ve kas hücresi yüzeyi üzerine oturan motor son plak yapısını oluşturur. Bu bölgede akson Schwann hücresinin ince sitoplazma tabakası ile sarılır. Aksonun ucunda çok sayıda mitokondri ve sinaptik veziküller vardır. Bunlar asetilkolin nörotransmitterini içerir. Akson ve kas arasında sinaptik yarık adı verilen bir boşluk bulunur. Kas sinir ilişkisinde, sarkolemma derinlere bağlantı kıvrımları şeklinde uzantılar gönderir. Sarkolemmada uzantılar altında çok sayıda çekirdek, mitokondriler, ribozomlar ve glikojen granülleri bulunur.

Motor son plak uyarıldığı zaman akson terminalinden asetilkolin serbestleştirilir, yarık boyunca dağılır ve bağlantı kıvrımlarının sarkolemmaları içindeki asetilkolin reseptörlerine

tutunurlar. Transmitterlerin bağlanması sarkolemmayı Na geçirgen hale getirir. Bu da membran depolarizasyonu ile sonuçlanır. Sinaptik yarığın bazal laminasına tutunan kolinesteraz enzimi asetilkolini hidrolize eder. Asetilkolinin parçalanması transmitterin sarkolemmada mevcut reseptörlerle uzun süre temasının önlenmesi için gereklidir.

Motor son plakta başlayan depolarizasyon kas hücresinin yüzeyi boyunca ve transvers tübül sistemi aracılığıyla lifin derinliklerine doğru yayılır. Her triadta, depolarizasyon sinyali sarkoplazma retikulumu döngüsünü başlatan Ca^{+2} 'un serbestlenmesi ile sonuçlanır. Depolarizasyon sonuçlanınca Ca^{+2} aktif olarak sarkoplazma retikulumu sisternalarına geri alınır ve kas gevşer.

Tek bir akson bir kas lifini uyarabilir ya da dallanarak daha fazla kas lifinin uyarılmasını sağlayabilir. Birden fazla uyarımın gerçekleştirildiği bir sinir lifi ve onun uyardığı tüm kaslara Motor Ünite adı verilir. İskelet kası lifleri aşamalı kasılma göstermezler. Ya boylu boyunca kasılırlar ya da hiç kasılmazlar. Kasılmanın gücünü değiştirmek için bir kas demeti içindeki liflerin aynı zamanda kasılmaları şart değildir. Kaslar motor ünitelere ayrıldıkları için tek motor aksonun uyarımı bu akson tarafından uyarılan kas liflerinin sayısı ile orantılı bir gerilme yaratır. Motor ünitelerin sayısı ve her ünitenin şekil değişikliği kasın kasılma gücünü kontrol eder. İnce bir kasın hareket oluşturma yeteneği o kasın motor ünitelerinin boyutuna bağlıdır. Örneğin göz kasları iyi kontrol edilmeye ihtiyaç duydukları için her bir lifi değişik bir sinir tarafından innerve edilir. Daha kaba hareketlere sahip geniş kaslar örneğin ekstremitelerde tek bir sinir lifi 1000 den fazla kas lifini uyarır.

2.1.6 Enerji üretim sistemi

İskelet kası hücreleri, yoğun mekanik iş ertesinde oluşan devamlı kasılmalara yüksek derecede uyum gösterirler. Gerekli enerjinin çoğu, Fosfokreatin ve ATP şeklinde depolanır. Kimyasal enerji aynı zamanda kas ağırlığının yaklaşık % 0,5-1'ini oluşturan glikojen depolarında mevcuttur. Kas dokusu fosfokreatin ve ATP şeklinde depolanan enerjiyi glikoz ve yağ asitlerini yıkarak üretir. Dinlenme halindeki kasta ya da kasılmadan sonraki toparlanmada asıl sübstrat yağ asitleridir. Yağ asitleri mitokondri matriksinde yer alan β -oksidasyon enzimleri tarafından yıkılırlar. Asetat'ın sitrik asit döngüsü yoluyla okside olmasıyla ATP şeklinde depolanan enerji ortaya çıkar. Uzun mesafe koşusu gibi dayanıklılık sporları yapan atletlerde iskelet kasları asıl enerji kaynağı olarak yağ asitlerini kullanırlar. İskelet kasına kısa sürede enerji gerekecek ise bunlar glikozu laktata metabolize ederler. Bu da toparlanma dönemi sırasında ortaya çıkan oksijen açığına neden olur. Bu tür egzersizlerde oluşan kramplara neden olan laktattır.

2.1.7 Kas liflerinin histokimyasal özellikleri

Morfolojik, histokimyasal ve fonksiyonel durumlarına göre iskelet kası lifleri Tip-1, yavaş ve Tip-2, hızlı lifler şeklinde sınıflandırılabilir. Tip-1 lifler miyoglobin içeren sarkoplazma açısından zengindir. Sürekli kasılma ile ilişkilidir ve enerjilerini yağ astlerinin oksidatif fosforilasyonundan alırlar. Tip-2 lifler hızlı, sürekli olmayan kasılmayla ilgilidir. Bunlar daha az myoglobin içerirler. Tip-2 liflerde aktivitelerine ve kimyasal özelliklerine göre Tip-2A, Tip-2B ve Tip-2C olmak üzere sınıflandırılabilirler. Bu lifler arasında en hızlı tepki gösteren lifler Tip-2B'dir ve bu lifler enerji kaynağı olarak glikolize diğer liflerden daha fazla bağımlıdır. Kas liflerinin sınıflandırması kas hastalıklarının ya da miyopatilerin tanısı açısından klinik öneme sahiptir. İnsanlarda iskelet kasları çoğu kez farklı lif tiplerinin karışımından ibarettir.

Motor ünitenin fizyolojik ve morfolojik özelliklerini kendisini innerve eden motor nöron düzenler. Bir motor ünitteki tüm kas lifleri birbirine benzer morfolojik ve fizyolojik özellikler taşırlar. Genelde glikojen ve glikolitik enzimlerden zengin olan lifler hızlı kasılırlar ve çabuk yorulurlar: mitokondri ve oksidatif enzimlerden zengin olan lifler ise yavaş kasılırlar, geç yorulurlar, tonik ve postüral aktivitelere yardım ederler. İskelet kasları strüktürel, histokimyasal ve fizyolojik özelliklerine göre 4 değişik tip kas lifine ayrılır (Tablo 1).

Histokimyasal	2B	2C	2A	1
ATPaz(pH10,4)	++	++	++	-
ATPaz(PH4,5)	+	+	-	-
ATPaz(pH4.3)	-	+	-	-
Mitokondri	Az	Orta	Çok	Çok
Glikojen ve glikolitik enzim	Çok	Yok	Çok	Az
Kontraksiyon zamanı	Hızlı	Hızlı	Hızlı	Yavaş
Yorulmaya karşı direnç	Az	Orta	Çok	Çok

Tablo.1: İskelet kası liflerinin histokimyasal ve fizyolojik özellikleri.

Kasın kırmızı, beyaz ya da ara lif tiplerine farklılaşmasını onların innervasyonu kontrol eder. Kırmızı ve beyaz liflerin sinirlerinin kesilip karşılıklı çapraz olarak uçuca getirilerek rejener olmaya bırakıldığı deneylerde kas lifleri morfolojik ve fizyolojik durumlarını onları uyarıcı sinire göre değiştirirler. Kasın denervasyonu paralize ve atrofiye yol açacaktır.

2.1.8 Sarkoplazmanın diğer elemanları

Glikojen, sarkoplazmada kaba granüller şeklinde bol olarak bulunur. Kas kasılması sırasında hareketi sağlayacak enerjiyi depolamaya yardımcı olurlar.

Sitoplazmanın diğer elemanı, bazı kaslarda koyu kırmızı rengin asıl sorumlusu hemoglobine benzer oksijen bağlı bir protein olan myoglobindir. Myoglobin bu tip liflerde yüksek düzeyde oksidatif fosforilasyon için gerekli olan oksijeni depolayan pigmenttir. Bu nedenle de okyanusta yaşıyan memelilerin kaslarında büyük miktarlarda myoglobin bulunur. Uzun süreli aktiviteye ihtiyaç duyan kaslarda kırmızı ve yüksek yoğunlukta myoglobin bulunur.

2.1.9 Kas içcikleri

İnsandaki bütün çizgili kaslar kas içciği denen kapsüllü proprioseptörler içerir. Bu yapılar içi sıvı dolu bir boşluğu saran bağ dokusu kapsülünden oluşur. Bu sıvı dolu alanın içinde az sayıda uzun ve kalın kas lifleri ile bir miktar kısa ve ince lif bulunur. Bunların tamamına intrafuzal lifler denir. Birkaç duysal sinir lifi kas içciğinin içine girer ve burada ektrafuzal liflerdeki uzunluk değişimini tespit ederek bu bilgileri omuriliğe taşır. Omurilikte değişik karmaşıklıkta refleksler aktive olarak vücut postürünü sağlar ve yürüme gibi motor aktivitelere katılan antagonist kas gruplarının aktivitesini düzenler.

2.2 İlaçların oluşturduğu miyopatiler

Miyopati iskelet kaslarında ağrı, hassasiyet, CK enziminin yükselmesiyle seyreden non fatal bir kas hastalığıdır. Pek çok tip miyopati bulunmaktadır. Bazıları genetik kökenli, inflamatuvar ve endokrin sistem hastalığına bağlı olarak oluşur. Bunun yanında çok sayıda miyotoksik etkisi olan birçok ilaç bildirilmiştir. İskelet kası toplam vücut ağırlığının %45 ini oluşturur. Yüksek metabolik hızda kan akışına sahiptir. Bundan dolayı, dolaşımda olan ilaçların %13 ila %98 ini bağlama kapasitesine sahiptir. Böylece ilaçların oluşturduğu miyotoksik vakalar görülür. Genellikle yüksek plazma düzeyindeki konsantrasyonlarda kas üzerinde toksik etkileri bilinmektedir. Bu ilaçlar ve bunların toksik etkileri motor son plak ve nöromüsküler kavşak üzerine etkileri mevcuttur. Bundan dolayı bunları sınıflandırabiliriz(Evans 2002 ve ark., Pascuzzi ve ark. 1998). Bu ilaçların toksik etkileri akut miyopati buna ilaveten kronik miyopatiye dahi neden olabilir ve hastaların yoğun bakım ünitelerinde tedavi görmelerine sebebiyet verebilir.

Pek çok ilacın nöromüsküler iletim üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. D-Penisilamin özellikle AntiAChR (Anti Asetilkolin reseptör) antikorunu oluşturur. Bu antikorlar polimiyozite, sistemik lupus eritematozis (SLE), nefrite, sklerodermaya ve iatrojenik miyastenia gravise neden olur.

Buna ilaveten yüksek dozlarda ve parenteral verildiğinde nöromüsküler iletide asetilkolin salınımını ve kalsiyumun motor son plağa geçişini bloke eder. Magnezyumun da nöromüsküler iletiyi bloke edici özelliği vardır. Bununla birlikte, botilismus toksininin kas sinir kavşağında presinaptik bölgede asetilkolin salınımını bloke edici özelliği vardır. Diğer bir faktör olarak sıtma ve romatoid hastalıkların tedavisinde kullanılan chloroquine de pek çok nörolojik komplikasyonlara neden olabilmektedir. Bu komplikasyonlar periferik nöropati, miyopati ve nöromüsküler kavşakta iletim blokuna sebebiyet vermektedir. İlaveten chloroquine kas membran eksitabilitesini azaltmakta, otoimmün bozuklukları indüklemektedir. Mekanizmasının da perisinaptik seviyede minyatür son plak potansiyelinin bozulması üzerine katkısı vardır. Aminoglikozid grubu antibiyotikler, quinine, quinidin ve yüksek doz steroid grubu ilaçların nöromüsküler iletimi bozma ve miyastenia gravis'e neden olma özellikleri vardır (Pascuzzi ve ark. 1998).

2.2.1 İlaç etkisine bağlı miyopatilerin sınıflandırması

- 1-Alkol miyopatileri
- 2-Kortikosteroid miyopatileri
- 3-Zidovidin(AZT) miyopatileri
- 4- Lipit düşürücü ajanların oluşturduğu miyopatiler

2.2.2 Lipit düşürücü ajanların oluşturduğu miyopati

(HMG-CoA) redüktaz inhibitörlerin kas üzerine oluşturduğu toksik etkileri oldukça nadir bir orandadır(%0,1) fakat çok ciddi miyotoksik yan etkileri vardır ve pek çok şiddetli semptomlarla seyrederek. En sık görülen yan etkisi miyaljidir (%25). Normal CK düzeyi ile yaygın kas ağrısı, hassasiyeti ve güçsüzlüğüne neden olur.

Kas biyopsileriyle mitokondrial disfonksiyon, artmış lipit depolanması ve ragged red lifleri görülür(Baker ve ark. 2001, Thompson ve ark. 2003).

Tipik statin miyopatileri CK düzeyinin yükselmesi kas ağrısı, hassasiyet ve güçsüzlük ile karakterizedir. Bu semptomlar genellikle proksimal kaslarla sınırlıdır.

Kas biyopsileri inflamatuvar hücre infiltrasyonunu ve immünolojik hücre aktivitesini gösterir. Statinlerin oluşturduğu miyopati normal CK düzeyi ile seyredebilir keza yüksekte olabilir. Bunun normal veya yüksek düzeyde olması klinik olarak tek başına bir şey ifade etmez (Phillips ve ark. 2002).

Benzer şekilde etanol ve steroid kullanımına bağlı miyopatilerde olduğu gibi rabdomyoliz sıklığı %2-5 tir. Şiddetli kas yıkımı, miyoglobüri tedavi edilmediği takdirde

elektrolit bozukluğuna, asidoza, akut böbrek yetersizliğine, aritmiye, kalp yetersizliğine ve ölüme neden olur. Histopatolojik bulgular kas hücresinde değişiklikleri, inflamatuvar hücre infiltrasyonu olmaksızın parsiyel rejenerasyonu, nukleusları ve çizgilenmenin kaybolmasını da gösterebilmektedir (Thompson ve ark. 2003).

Pek çok mekanizmanın statinlerin oluşturduğu kas hasarlanmasında katkısı vardır. (HMG-CoA) redüktaz ulağının inhibisyonu da bunlardan biridir. Protein sentezindeki bozulmanın da steroid ve etanolün oluşturduğu miyopatinin gelişmesinde önemli rolü vardır. Tüm bunlar statinlerin oluşturduğu miyotoksik etkiyi destekler niteliktedir. Bu etkiler: farnesyl pyrophosphate, geranylgeranyl pyrophosphate üretimini ve bunların metabolitlerini bloke eder, ancak squalenin veya kolesterol sentez ulağını inhibe edemez.

Yukarıdaki hipotezler neonatal farelerin çizgili kaslarında protein sentez inhibisyonu ve miyotübüler farklılaşmanın olduğu çalışmaları desteklemektedir. Fakat bu olay farelere farnesol ve geranylgeraniol verildiğinde tersine döner. Squalene eklendiğinde bu geriye dönüş olayı söz konusu değildir (Flint ve ark. 1997). Bu farnesol ve geranylgeraniolün düzenleyici proteinlerin üzerindeki aktive edici etkileridir. Hücrenin devamlılığını ve büyümesini ve apoptozu düzenler (Macaluso ve ark. 2002, Olson ve ark. 1995). Sonuç olarak, statinin indüklediği (HMG-CoA) redüktaz inhibisyonu kas iskelet kası hücresinin apoptozunu harekete geçirir ve miyopati gelişmesine neden olur. Doza bağlı olarak apoptozdaki artış statin tedavisine bağlıdır. Bu durum damar düz kaslarında da gözlenmiştir. Tüm bunlar statinlerin pleiotropik etkileridir (Guijarro ve ark. 1998). Böylece aynı mekanizma damar düz kaslarının proliferasyonu ve apoptotik hücre ölümlerinin inhibisyonu söz konusudur (Matzno ve ark. 1997). Ko enzim Q 10 elektron taşıma sisteminin esansiyel bir co faktörüdür aynı zamanda mitokondrilerde ve lipid membranlarında önemli bir antioksidandır. Statinlerin oluşturduğu patojenik backraundlarında da önemlidir. Statinlerin indüklediği apoptoz olaylarının Ko enzim Q 10 ile inhibe edildiği invitro çalışmalarla gösterilmiştir (Kagan ve ark. 1999). Keza statin miyopatilerinin klinik semptomları Ko enzim Q10 takviyesiyle tedavi edilir(Chariot ve ark. 1993). Bazı laboratuvar araştırmaları statin tedavisıyla serum Ko enzim Q 10 konsantrasyonunun düştüğünü göstermiştir (Baker ve ark. 2001). Diğer araştırmalar da paradoksik olarak Ko enzim Q10 un statin tedavi sonrası artışını göstermiştir (Tikkanen ve ark. 1996). Böylece uzun süreli statin tedavisi ile sekonder Ko enzim Q10 eksikliği arasındaki gerçek ilişki ileriki araştırmalarda ortaya çıkacaktır.

Statin tedavisi iskelet kası hücre mebranınınstabilitesininibozarve hücre çoğalmasının azalmasına neden olur (Morita ve ark. 1997). Etanol kolesterol derivesi olan hidroperoksit formasyonu ile oksidatif stresi indükleme eğilimi gösterir. Bu durum

kolesterol seviyesinin azalması ile ilgilidir. Statinlerin oluşturduğu miyozit kolestrolündeki azalma total miktarın % 60'ını kapsamaktadır. Keza etanole benzer şekilde statinler iskelet kası membran fizyolojisini, Na/K ATP az, Na/Ca buna ilaveten Na/Ca ATP az pompa aktivitesini bozma eğilimi gösterdiği bildirilmiştir. Bu da Miyotoksisitenin gelişimi sonucunu doğurabilir (Nakahara ve ark. 1994). Lovastatin membran kolesterol mekanizmasıyla doğrudan ilgili değildir. İskelet ve kalp kasında sarkolemmal Na/K ATP ase pompa dansitesini azaltır. Sarkoplazmik Na konsantrasyonunu artırmaya neden olur. Bu da muhtemelen Na/Ca antiport yoluyla Ca²⁺'un içeri girişini invoke eder. Böylece sarkoplazmik Ca konsantrasyonu artar (Gray ve ark. 2000). Benzer şekilde simvastatinde Na/H antiport'unu inhibe eder (Klip ve ark. 1990). Başka bir olası mekanizma, yükselmiş sarkoplazmik Ca²⁺ konsantrasyonu ve miyofibrillerin nekrozu ve apoptozu, sarkoplazmik retikulumun Ca²⁺ u serbestlemesinde veya sarkoplazmik retikulumun Ca²⁺ ATPaz aktivitesinin azalmasında oluşabilir. Buna rağmen SERCA aktivitesi ile statinlerin oluşturduğu miyopati arasındaki kesin korelasyon keşfedilememiştir. Tamtersi olarak sitosolik Ca²⁺'un belirgin bir şekilde artışı, simvastatinin etkisiyle rat iskelet kasının doza bağlı olarak dinlenme potansiyelinin değişmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Baker ve ark. 2001). İlaveten, simvastatinin klorid kondüktansını düşürmesi, membran elektriksel potansiyelinin stabilizasyonun bozulmasına ve miyotonik depolarizasyon sonrasının artışına, sitoplazmik Ca²⁺ iyonlarının konsantrasyonundaki artışa neden olduğu düşünülmektedir. Bütün yukarıda anlatılan mekanizmaların statinlerin kullanımına bağlı olarak geliştiğinin altını çizmek gerekir. Mevalonik asit ve kolestrol takviyeside bu etkileri değiştiremez. Buna rağmen ilerideki çalışmalar hücre kondüktansı ve statin kaynaklı miyopatiler arasındaki ilişkiyi belirlemek için gereklidir.

Statinlerin miyotoksik etkileri, kombine ilaç kullanımına bağlı olarak belirgin bir şekilde artabilir. Birçok ilaç etkileşimi sitokrom P-450 sistemini inhibe eder. Miyopati riskinin diğer ilaçların kullanımıyla sitokrom P-450 sisteminin CYP3A4'ünü etkileyerek artırdığı bildirilmiştir. Bütün bunlar yüksek konsantrasyonlardaki statinlerin (lovastatin, atorvastatin ve simvastatin) via izoenzime metabolize olmaları sonucudur (Hodel ve ark. 2002). İlaveten CYP3A4 mekanizmasının inhibisyonu belkide statinlerin ve diğer ilaçların birlikte kullanılması sonucu oluşan yan etkilerin sonucu olabilir. Kas hücresine geçiş statinin formasyonuna bağlıdır.

Lipofilik statinler pasif difüzyonla geçerken, hidrofilik statinler(pravastatin) ise multi drug protein 2 (MRP 2) gibi hareket eder. Bunun için, yükselmiş hidrofilik statin serum

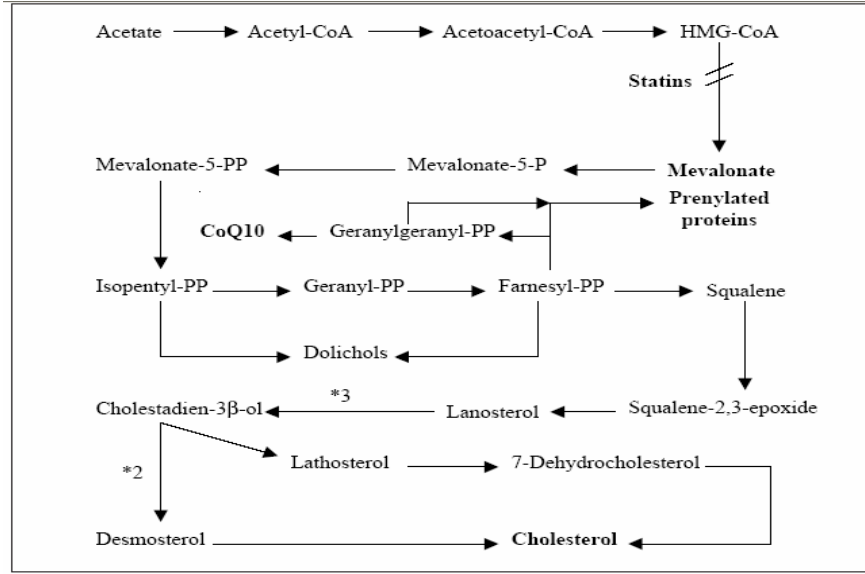
düzeylerinde yükselmiş miyopati riski, MRP 2 ile tedavinin yapılmış olabileceğini düşündürür.

Yukarıdaki mekanizma kas hasarı, CYP3A4 inhibitör siklosporin ve hidrofilik bir ajan olan P450 sistem aracılığıyla metabolize edilmeyen pravastatin arasındaki reaksiyona bağlı olarak gelişir (Bramow ve ark. 2001). Son günlerde İtraconazole, diltiazem ve mibefradil gibi diğer glikoprotein P inhibitörleri statin ile ilgili miyotoksisiteyi tetiklediği bildirilmiştir (Bogman ve ark. 2001).

Patojenik özelliği olan statin ve diğer miyopati oluşturan ilaçların glucuronidasyon yolunun inhibisyona katıldığı düşünülmektedir. Glukorinidasyon oluşumu ve statin biyotransformasyonun metabolik ulaşı aynıdır. Buna ilaveten P450 aracılı oksidasyonun veya betaoksidasyon prosedürü diğer ulakları kapsamaktadır (Prueksaritanont ve ark. 2002). Statin lokalizasyonunun iletiminde önemli bir yere sahiptir. Statin asitlerinin stabil olmayan acyl glukoronid araçlarına metabolize edildiği düşünülmektedir. Bunun hemen arkasından hızlı bir şekilde ve spontane olarak inaktif laktonlara dönüştürülür (Prueksaritanont ve ark. 2001). Bu yukarıdaki prosedür gen fibrosil ve statin arasındaki reaksiyonu değerlendirmeye alması bir şey ifade etmez. Gen fibrosilin kas hastalıklarını artırdığı düşünülmektedir. Bu da statin asitlerinin glukorinidasyon ulaşının hatta yükselmiş aktif statin asitlerinin artmasından kaynaklanmaktadır (Shek ve ark. 2001). Başka bir gen fibrosil taşıyıcı ulaşığı tüm statin konsantrasyonlarının artışına neden olmaktadır ve iskelet kasının zarar görme riskine neden olur, CYP2C8 aktivitesinin inhibisyonunu içerir (Wang ve ark. 2002). Bu izoenzim cerivastatinin metabolizmasına katılır ve gen fibrosilin indüklediği cerivastatinin konsantrasyonunun simvastatin konsantrasyonundan fazla olmasının en belirgin açıklayıcı özelliğidir. Diğer fibratlar fenofibrat ta olduğu gibi glukorinidasyon prosedüründe son derece zayıf bir etkiye sahiptir ve CYP3A4 izoenziminin inhibe etmekte zayıf bir potansiyele sahiptir (Prueksaritanont ve ark. 1997). Böylece statin ve diğer fibratlar arasındaki etkileşiminin farmakodinamik olduğu düşünülmektedir. Özellikle fibratların iskelet kası miyopatisini indüklediği bildirilmiştir. Fibratlardan kaynaklanan iskelet kası deformasyonları piruvat dehidrogenaz 4(PDK4) enziminin aktivasyonunu kapsamaktadır. Bundan dolayı bezafibrat, klofibrat ve siprofibrat piruvat dehidrogenaz kompleksini (PDC) inaktive eder. Bu kompleks geri dönüşümsüz şekilde piruvat dekarboksilasyonunu asetil ko enzim A ya dönüştürür. Bu glikozun oksidasyonunu sınırlandırır ve üç karbon molekülünü ve yağ asidi oksidasyonunu artırır. Böylece karaciğerde işaretlenmiş olan PDK 4 aktivasyonu iskelet kasında olduğu gibi yağ asidi kullanımını artırır. Fibrata bağlı trigliserit in düşmesi ve yağ asitleri aminoasitlerden oluşmuş proteinlerin yüksek düzeylerde proteinlerin enerji kaynağı olarak kullanımı ve

yükselmiş protein degradasyonu sonucudur. Bahsettiğimiz bu prosedür hemen arkasından gelişen miyopati ve rabdomiyolizden sorumludur (Warren ve ark. 2002).

2.2.3 Kolesterol biyosentezi ve izoprenoidler:



Şekil-1: Kolesterol sentezi ve statinlerin etki mekanizması.

İnsan HMG-CoA redüktaz enzimi statinler tarafından 14 basamakta ve 9 ila 10 arası enzimatik reaksiyonun uzaklaşması sonucunda kolesterol sentezi inhibe olur.

Bundan dolayı mevalonic asit HMG-CoA anında oluşan üründür. Mevalonic asit vital isoprenoidin artışına yol açan ve bunu kolesterole yönlendiren lider bir prekürsördür. Buna rağmen bu önemli biyosentetik ulağın inhibisyonu pleotropik metabolik sonuca neden olur (Bellosta ve ark. 1998, Rosenson ve ark. 1998).

Prenilasyon post transkripsiyonel proteinlerin lipid modifikasyonunun ve diğer moleküllerin hayati bir elemanıdır ve bunların fonksiyonunu etkiler. Bazı bilinen isoprenoidler;

1. İsoptiladenosin, transfer RNA sentezinde görev alır.
2. Dolikol, glikoprotein sentezinde görev alır.
3. Heme A,elektron transport zincirinin poliisoprenoit komponentidir.
- 4.Ubiquinone (Ko enzim Q), elektron transport zincirinin ko faktörüdür. Elektronları

kompleks 1 den kompleks 2 ye kabul eder (Do ve ark. 1996, Ernster ve ark.1995).

İnsanlarda Ko enzim Q nun predominant formu Koenzim Q10 dur. 10 isoprenit ünitesini kuyruğunda bulundurur. Oysaki kemirgenlerdeki predominant formu Q9 dur. 9 isoprenoit ünitesini kuyruğunda bulundurur. Ya farnesyl (15Karbon) veya geranylgeraniol (20 Karbon) isoprenoidleri regülatuar proteinlerin bütün membranlarına bağlı sistein residüvlerini ve protein etkileşimini kapsamakta yetersizdir (Zhang ve ark. 1996). %1 den fazla memelilerin hücrel proteinleri isoprenoidden oluştuğu tahmin edilmektedir (Brown ve ark.1991).

İsoprenoidli proteinler düz kas hücrelerinin göçünde proliferasyonunda ve iskelet kası hücrelerinin olgunlaşması ve farklılaşmasını kapsadığı bilinmektedir (Flint ve ark.1997, Vliet ve ark. 1996).Bu sonuçlar hücre kültürüne statin uygulanmasıyla hücre gelişimi bozulması sonucu doğmuştur, buna rağmen mevalonat veya alt metabolitlerinin (farnesol, geranylgeraniol) uygulanmasıyla statinlerin oluşturduğu hücrel defektler geri dönüştürülebilir (Matzno ve ark. 1997, Raiteri ve ark. 1997). Prenylated proteinlerin tanınması sinyal transdüksiyonuna ve hücre devir progresyonuna katılır ve mevalonat yolu üzerindeki bağımlılığı destekler.

2.3 Statinlere bağlı kas fizyolojisi değişiklikleri

2.3.1 Statinlere karşı gelişen miyotoksik reaksiyonlar:

Statin tedavisi ve miyalji, miyopati ve rabdomiyoliz ile seyreden kas fonksiyon bozukluklarının arasındaki ilişkiyi açıklayan pek çok hipotez bulunmaktadır. Bulgular birbirinden farklı bir özellik arz etmesine rağmen hala patofizyolojisi spekülatif kalmaktadır (Emmerich ve ark. 1990, Reaven ve ark. 1988).

Miyaljiler klinik olarak kas güçsüzlüğü, hassasiyeti veya ağrısıyla ya proksimal ya da bölgesel patern kombinasyonu ile tanınmaktadır. Klinik olarak hastalar kaslardaki kramp hissinden bahseder. Serum CK düzeyi normal olabileceği gibi üç misli artmış olabilir. Buna ilaveten miyaljik yakınmalar statin ilgili miyopatili hastalardaki CK düzeyi normal referans değerlerinin 10 katına (>2200 U/L erkekler için >1500 kadınlar için) çıkabilir. Statinlerin neden olduğu miyopatilerin (Waclawik ve ark. 1993) Işık ve elektron mikroskopik bulguları tablo 2’de gösterilmiştir. Nekroze olmuş miyofibriller yapılarıdaki etkileşim deneysel rodent çalışmalarında belirlenmiştir. Oysaki yüksek dozda kullanılan statinler miyotoksitenin açığa çıkmasına neden olur. İnsanlarda ise tedavi edici dozda miyotoksiteye neden olabilir (Chucrallah ve ark. 1992, Spach ve ark. 1991).

Mikroskop	Değişim
Işık mikroskopik bulgular	Lif uzunluğunda artan değişkenlik
	Miyofibrillerde kopma
	İç kısımda artmış çekirdek
	Perimisyumda fibrozis
	Miyofibriller arası membran iletişiminin bozuması
	Makrofaj invazyonlu miyofibriler nekroz
	Hiper kontraktıl fibriller
	Oksidatif fibrillerin slow-twitch tutumlu
	Erken fast-switch'i
	Glikolitik fibriller
	Elektron mikroskopik bulgular
Dejenere mitokondrial membranda miyeloid figürler.	
Sarkoplazmik retikulum sisternalarında genişleme	
Vakuoler yapılarda artış	
Miyofibriller arasında ve sarkolemma altında mitokondrial artış	
Z bandında bozulma	

Tablo-2: 30 gün süreyle 1mg/kg statin kullanımı sonucu memeli iskelet kasında oluşan histomorfolojik değişiklikler.

Rabdomiyoliz iskelet kasının akut dejenerasyonu sonucu gelişir. Böbrek tübülleri üzerinde miyoglobülinüri ve miyoglobülinemi toksik etkisini göstererek öldürücü olabilir. Nefrotoksisite FENTON ve Haber – WEISS reaksiyonları yoluyla zararlı oksijen türevlerinin oluşmasında bir katalizör görevi görür. İlginç bir şekilde reaktif oksijen türevleri kontrast ajanların indüklediği böbrek disfonksiyonunun patofizyolojisine katılır (Bakris ve ark. 1990, Yoshioka ve ark. 1992), N-asetil sisteinin supplement olarak verilmesi (600mgX 2) böbreği koruyucu özelliğe sahiptir (Mosieniak ve ark. 1997). Antioksidanların rabdomiyoliz başlangıcında akut olarak alınmasıyla böbreğin ne kadar az zarar göreceği konusu daha fazla araştırmayı gerektirmektedir.

Yüksek serum CK düzeyi değerli bir göstergedir fakat miyopatiyi rabdomiyolizden ayırmaz. Rabdomiyolizin ortaya çıkan en önemli komplikasyonları akut tübüler nekroz, hipokalsemi, hiperkalemi, metabolik asidoz, hiperürisemi, kardiyomiyopati, dissemine intravasküler koagülasyon (DİC) ve solunum yetersizliğidir.

2.3.2 Ubiquinone ve statin miyopatisinin gelişimi

Statin miyopatisinin gelişiminde ubiquinonun rolü oldukça popüler hale geldi (De Pinieux ve ark. 1996, Willis ve ark. 1990). Bu potansiyel etiyoloji Ko enzim Q10 un elektron transport zincirinin esansiyel bir kofaktor olduğu biyolojik bir gerçektir. Koenzim Q10 redoks aktif quinoidinden oluşan lipofilik bir maddedir. İlaveten hidrofilik kuyruğu fizyokimyasal olarak mitokondrianın iç membranını geçemeyen maddelerin geçişini sağlar. Ko enzim Q10 elektron transport zincirinin (ETC) birinci ve ikinci komplekslerinde bulunur. İki ardısıra gelen bir elektron redüksiyonunun flavoproteinler sayesinde altında gider. Birincisi semi ubiquinon radikaline ve sonrada Ubiquonale dönüşür. Ubiquinol sitokrom b leri ve kompleks üçüncüsünü azaltır ve yararlı elektron taşıyıcı sistemin nikotin amidin adenosin di nükleotide indirgenmesini sağlar ve flavin adenosin di nükleotidi indirgeyerek aerobik olarak ATP substratlarına bağlar. Bu da universal hücresel enerji akımıdır.

Koenzim Q 10 mitokondriyon ve lipid membranlarında önemli bir antioksidan olarak hizmet eder (Forsmark-Andree ve ark. 1997, Noack ve ark. 1994). Kültüre edilmiş miyoblastlarda statinlerle indüklenmiş apoptoz Koenzim Q 10 eklenerek inhibe edilir (Kagan ve ark. 1999). İlaveten Ko enzim Q 10 insan lenfositlerindeki oksidatif DNA hasarını düşürür. Koenzim Q10' un statin miyopatilerinde kullanımı biyokimyasal ve klinik yararından dolayı hastaların tedavisinde destekleyici olarak kullanılabilir (Artuch ve ark. 1999, Sobreira ve ark. 1997). Ko enzim Q 10 eksikliği kardiyomiyopatiye ve mitokondrial hastalıklara neden olur (Abe ve ark. 1991). Koenzim Q 10 takviyesi ubiquinon eksikliği olan hastalara vermektense statin tedavisi sonucu sekonder olarak eksikliği bulunan hastalara verilmesi daha uygundur.

HMG-Co A redüktazın deneysel olarak selektif inhibisyon gelişiminden kısa bir süre sonra çeşitli hücre tiplerinde ubiquinon sentezinin bozulduğu gösterilmiştir (Mortensen ve ark. 1997, Nambudiri ve ark. 1980). Klinik bilgiler ko enzim Q10 eksikliğinin statin miyopatisi sonrasında desteklemek amacıyla verilmektedir (Chariot ve ark. 1993, Walravens ve ark. 1989). İlk vaka, fiziksel olarak aktif 48 yaşında bir doktora 20 mg lovastatin kullanımından sonra serum CK düzeyinin 1400 U/L yükseldiği ve proksimal miyalji ve güçsüzlüğü gösteren bir hastadır. İlacın kesilmesine rağmen semptomları 6 ay kadar devam

etmiştir. Bunun üzerine günde 30 mg ko enzim Q 10 almaya başlamıştır. Birkaç günde semptomları azalmış günlük çelmeksizin kas aktivitesi artmıştır (Walravens ve ark. 1989).

İkinci vaka 63 yaşında bir kadın hasta 20 mg simvastatini 8 ay kullandıktan sonra hastaneye yatırılmış semptomları ve laboratuvar bulguları MELAS (Mitokondrial ensefalomiyopati, laktik asidozis ve stroke benzeyen epizodlar) seyreden bir tabloya benzemektedir. Klinik bulgularında bilateral diffüz kas güçsüzlüğü, bilateral ptoz, eksternal oftalmopleji, kognitif disfonksiyon ve hafif afazi vardı.

Laboratuvar bulgularında CK>20 000 U/L hiperlaktikacidemia (5,1 m mol/L: Normal 2,2 mmol/L) rabdomiyolizi gösteriyordu. Kas biyopsisinde plemorfik mitokondriyel ragged red lifleri ve kas ko enzim Q 10 konsantrasyonu azalmıştı (13,1 mg/g; normali 15,5–21,7 mg/g). Üç aylık oral koenzim Q 10 alınmasından sonra (250 mg günlük) güçsüzlük, oftalmopleji, kas koenzim Q 10 seviyesi normale döndü ve ragged red lifleri elimine oldu. Enteresan bir şekilde etofibrate ve clofibrate tedavisi mitokondrial miyopati oluşumunu provoke ettiği, anti epileptik bir ajan olan, mitokondrial yağ asidi oksidasyonunu inhibe eden valproat'ın, bir kadında MELAS sendromunu tetiklediği ve bunuda A3243G geçiş yolunu etkileyerek yaptığı bildirilmiştir. Buna rağmen 63 yaşındaki bu hastada A'dan G'ye 3243 nükleotid tutulumu tespit edilmedi. Bu da diğer mutasyonların (> 50) kadın hastada bundan farklı bir nükleotid tutulumunun olduğunu göstermektedir. Bütün bu bulgular mitokondrial metabolizmanın farmakolojik inhibitörlerinin, latent mitokondrial disfonksiyonun maskeleyici olmayan bu ihtimallerini belkide yükseltmektedir.

Koenzim Q10, mitokondrial miyopati bazı hastalarda laktat ve piruvat oranını düzeltmekte ve MELAS lı hastalarda oksijen tüketimini artırmaktadır (Abe ve ark.1999, Chan ve ark. 1998). Bununla ilişkili, normal kolesterollü ve hiper kolesterollü hastaları statin kullanan hastalarla kıyasladığında statin kullanan hastaların laktat/piruvat oranlarının arttığını tespit etmiştir. Statin tedavilerinde, kan laktat düzeyleri artmadan, ko enzim Q10 takviyesi yapılmamalıdır. Yüksek laktat düzeylerindeki ubiquinon biyosentezinin ve ETC fonksiyonlarındaki değişiklikler sekonder olarak statinlerin etkisiyle oluştuğu tahmin edilmektedir. Belirgin bir şekilde serum ubiquinon seviyesi hiperkolesterolemik kontrol grubuna göre statin grubunda daha düşüktür, fakat normal olan L/P oranlarına sahip kontrol grubunda değişiklik görülmemiştir. Bununla beraber ubiquinonun etiyolojik önemi tam anlaşılmamıştır.

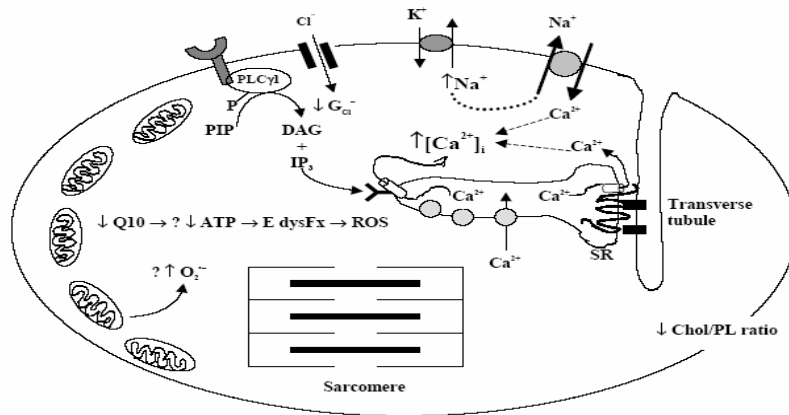
Çok sayıda araştırma da statinlerin serum ubiquinon konsantrasyonlarını azalttığı

Doğrulanmıştır (Ghirlanda ve ark. 1993, Thibault ve ark. 1996, Laaksonen ve ark. 1996, Ponchaut ve ark. 1995). Gerek insanlar ve gerekse hayvanlar da dolaşımdaki lipoproteinler ubiquinon için birincil protein taşıyıcısı gibi görünmektedir (Elmberger ve ark. 1989, Johansen ve ark. 1991, Laaksonen ve ark. 1994). Laaksonen ve arkadaşları (Laaksonen ve ark. 1995) 4 hafta boyunca statin tedavisi boyunca serum LDL kolesterol düzeylerinin ve LDL Ubiquinon serum düzeylerinin birbirine paralel şekilde azaldıklarını tesbit etmiştir. Bunun tam tersi olarak başka bir çalışmada 4 haftalık statin tedavisinde serum ubiquinon ve LDL oranlarının değişmediği, 12 haftalık tedavide ise serum LDL düzeyinde belirgin bir şekilde azalma(-25%) buna karşılık serum koenzim(-52%) Q10 seviyesinin de düşme tesbit etmiştir. Bunlara karşın uzun süreli statin tedavisinin sekonder ubiquinon eksikliğine neden olduğu tam olarak açık değildir. Bunun hemen arkasından başka bir çalışmada serum ubiquinon ve LDL oranlarının 6 haftalık simvastatin tedavisi sonrası değişiklik olmadığını göstermiştir (Laaksonen ve ark. 1996). Diğer bir çalışmada serum ubiquinon ve LDL oranlarının statin tedavisi sonrasında yükseldiği bildirilmiştir (Mosieniak ve ark. 1997).

2.3.3 Statinlerin membran fonksiyonları ve kalsiyum regülasyonu üzerine etkileri

Statinlerin sadece kolesterol seviyelerindeki değişiklikleri etkilemediği, aynı zamanda iskelet kası membran fizyolojisinde etkilediği bildirilmiştir (Caliskan ve ark. 2000). Burada membran akışkanlığını değiştirerek yapar. Ayrıca:

- 1- Membranın elektriksel elemanlarını değiştirerek (*Lancet* 1994, Pierno 1992, Pierno 1995)
- 2- Sodyum potasyum pompası yoğunluğunu değiştirerek (Gray ve ark. 2000)
- 3- Eksitasyon ve kontraksiyonu birleştirerek (Pierno ve ark. 1999)
- 4- Hücre yüzey reseptör sinyal transdüksiyon kaskadını değiştirerek yapar (Mutoh 1999)



Şekil -2 Statinlerin oluşturduğu miyotoksisiteyi, multifaktöryel etiyopatogenezini özetlemektedir.

Kolesterolün membran klorad iletimindeki rolü ilk kez klofibrat ile tedavi edilen bir hastada kas krampları, güçsüzlük, sertlik ve miyopatik değişiklikler ile kendini gösteren akut musküler sendrom ile tanımlanmıştır (Katsilambros ve ark. 1972, Sekowski ve ark. 1972). Klofibrat farelerde elektrofizyolojik miyotoni oluşturmuştur. Bu da tamamen ilacın oluşturduğu membran kloraid iletimindeki azalmaya bir örnek olarak gösterilmiştir. Pierno ve arkadaşlarının deneysel çalışmalarında provastatinin elektromiyografik aktivite üzerine etkisinin olmadığı veya membran kloraid iletiminde bir etkisi olmadığı oysaki simvastatinin doza bağlı mebran kloraid üzerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında simvastatin ile tedavi edilen farelerde aksiyon potansiyel amplitüdlerinde azalma rapor edilmiştir. Bu da sodyum kanal fonksiyonunda bir azalmayı göstermektedir ve glybenclamide potasyum kanal iletimini artırdığını göstermiş buda potasyum kanal sensitif ATP yoluyla akımı azalttığını doğrulamaktadır. Bu ikinci bulgu kas ubiquinon ve ATP sini azalttığına atıfta bulunabilecek bir hipotezdir. Bu da kanal açılmasına bağlıdır. Ancak, yukarıda tartışıldığı gibi sonuca bağlanamaz.

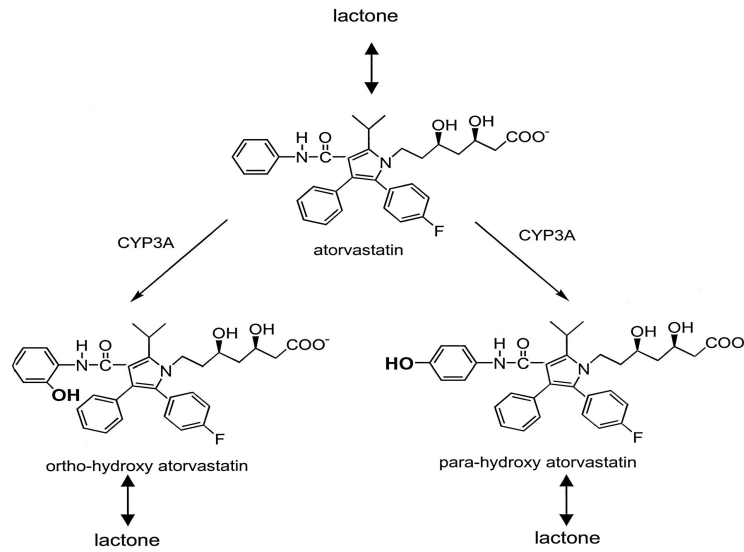
Sarkolemmal sodyum potasyum ATP az aktivitesi kısmen kolesterol döngüsü tarafından belirlenir (Cornelius ve ark. 1991, Yeagle ve ark. 1991). Membran kolesterol pompa fonksiyonu bozular. Oysaki yükselmiş kolesterol seviyelerinde pompa fonksiyonu artmıştır. Lovastatin, bu mekanizma yoluyla membran kolesterol değişiklikleri ile ilgili değildir. Sarkolemmal sodyum potasyum ATP az yoğunluğu, iskelet ve kalp kası pompa akımını azaltır. Bu da sarkoplazmik sodyum konsantrasyonundaki koordineli artış ile birlikte gitmektedir. Parenteral mevolonate eklenmesiyle bu etkiler tersine döner. Buna rağmen artmış intrasellüler sodyum hücreye kalsiyum girişini sağlar sodyum ve kalsiyum antiportu yoluyla intrasellüler sodyumun artması kalsiyumun hücre girişine neden olur. Bu da miyofibrillerin nekrozuna ve apopitozuna neden olur.

Eksitasyon ve kontraksiyon eşleşmesi sarkolemmal aksiyon potansiyelinin tarnsvers tübüllerde çoğalmasını azaltır ve kalsiyum sinyal iletiminin L tipi kalsiyum kanal dihidropridin reseptörlerinin arasındaki etkileşimi ve sarkoplazmik retikulum rıyanodin reseptörlerinin triattaki etkilerini tersine çevirir (Shepherd J ve ark. 1995).

İnositolden ikincil haberci sinyali olan 1, 4, 5-trifosfat (IP3) sarkoplazmik retikulum kalsiyumunun iskelet kasında serbestlenmesiyle etkilenir (Chu ve ark. 1991 , Tarnopolsky 1996). Simvastatin belirleyici bir şekilde mekanik eşiği sıçan iskelet kasında doza bağlı tarzda artırır (Chello ve ark. 1994). Kontraksiyon için voltaj eşiği fizyolojik veya farmakolojik herhangi bir işlem aracılığıyla hücre kalsiyum konsantrasyonu artarak daha fazla negatif (istirahat potansiyeline yaklaşır) olur. İster SR kalsiyum salınımı artsın isterse SR kalsiyum

ATP ase aktivitesi azalsın hücre içi kalsiyumun artışından sorumludur. Rat L6 miyoblastlarında yüksek simvastatin konsantrasyonunun hücre içi kalsiyum geçici artışına neden olduğu, bununda sonuçta membranolyziz oluşturduğu bildirilmiştir. Buna benzer bulgular fare iskelet kası kültüründeki perifer hücreler, simvastatin ile superfüze edilmiştir (Veerkamp ve ark. 1996). Simvastatin kardiyomiyozitte benzeri bir şekilde hücre içi kalsiyum artışına neden olur. Günümüzde, fosfolipaz C nin bir alt birimi olan gama 1'in trozinin fosforilasyonu ile L6 miyoblast hücrelerinin ölüm sinyalizasyonunda kritik bir öneme sahip olduğu bildirilmektedir. PLC-gama 1 in fosforilasyonu katalitik aktiviteyi stimüle eder, IP3' te koordine edilmiş artışa neden olur ve intrasellüler kalsiyum konsantrasyonu artışına neden olur. İlginç bir şekilde, düşük SERCA aktivitesiyle yaşlanma birbirine paralellik gösterir (Margreth ve ark. 1999, Yamaguchi ve ark. 1999). Yaşlanma mitokondrial DNA mutasyonuyla akümüle olarak eşleşir, buda ETC fonksiyonunun bozulmasına neden olur ve reaktif oksijen, nitrojen türevlerinin oluşmasına neden olur (Beal ve ark. 1995). SERCA 2 izoformu oksidatif hasara benzeri bir şekilde rezistans gösterir, oysaki fast-switch izoformu SERCA 1, oksidatif modikasyonun hedefteki sistein rezidülerine kısmen kırılığandır. Eğer statinler, iskelet kasında oksidatif yükü arttırırsa, SERCA 1 proteini eğilimli olabilir, böylece Ca⁺² hemostazının bozulmasına neden olur. Oksidatif faktörler eğer, statinin aracılığıyla erken iletilirse mitokondrial seçicilik ve tip 2 liflerde nekroz artar.

2.4 Atorvastatinin kimyasal yapısı, metabolik ulakları ve metabolitleri



Şekil-3: Atorvastatinin metabolik yapısı, ulakları ve metabolitleri.

Bütün dünyada atorvastatin sıklıkla kullanılan statindir (Graham ve ark. 2004, Kearney ve ark. 1993). Aktif lipit düşürücü asit formunda kabul edilir ve invivo olarak lakton formuna dönüştürülür (Şekil 3). Gerek dihidroksi hepatonik asit zincirinin beta oksidasyonu ve gerekse atorvastatinin üridin difosfat (UDP)-glikoronosil transferaz 1 A1(UGT1A1) ve UGT1A3 glikoronidasyonu atorvastatin'in asit formundan lakton formuna dönüştürülmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Esterazların laktonun hidrolizi için açık asit formuna dönüştürdüğü görülür (Prueksaritanont ve ark. 2001, Billecke ve ark. 2000). 2 hidroksile edilmiş metabolitler sitokrom P450 3A(CYP3A) yoluyla metabolizmasına yönlendirilir, O-hidroksi atorvastatin ve P-hidroksi atorvastatin her iki aktif asit olarak görülür ve buna benzer invivo olarak lakton formunda görülür (Kantola ve ark. 1998, Pfizer Ireland Pharmaceuticals; 2005). Bu ilacın esas olarak lakton formudur. CYP 3A metabolizmasında bulunur. Çünkü CYP 3A ya belirgin bir afinitesi vardır, bunun nedenide asit formunda olmasından kaynaklanır (Jacobsen ve ark. 2000). Atorvastatin P-Glikoproteininin akışı için bir substrat olarak gösterilmiştir. Aynı zamanda organik anyon transport polipeptidi OATP1B1 için, OATP1B1'in atorvastatinin hepatik alınımında ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Chen ve ark. 2005, Wu ve ark. 2000). P-glikoproteini atorvastatinin safrayla birlikte atılımını sağlar ve barsaklardan absorpsiyonunu da sınırlandırır (Hsiang ve ark. 1999).

2.5 Kas biyopsisi nasıl yapılmalıdır

Kas biyopsisi açık veya deri altı yapılan bir prosedürdür (Kruize ve ark. 2005). Açık kas biyopsisi fazla doku alınabilmesinden dolayı daha avantajlıdır, kasın gelişmiş bölgesinden biyopsi materyalinin alınması fazla kas dokusunun alınması yönünden önemlidir. Derialtı prosedürler, iğne biyopsisi ve konkoton biyopsisi gibi rahat uygulanabilme olanağına sahiptir ve hastaya fazla bir hasar ve rahatsızlık vermez.

Klinik olarak hafif etkilenmiş kaslar mikroskobik olarak fazla bir değişiklik göstermeyebilir. Bununla birlikte, fazla etkilenmiş kaslar sadece son devreye ait değişiklikleri gösterebilir.

Bu nedenlerden dolayı orta derecede etkilenmiş kaslar her zaman en iyisidir. Birçok nedenlerden dolayı en iyi kas biyopsisi kuadriseps femoris kasından yapılır. Proksimal kas olması, birçok ortak bozukluktan etkilenmeleri, sonuç verebilecek ölçüde biyopsi yapılabilme şansı verdiğinden Operatörler ve patolojistler tarafından tercih edilen bir kastır. Histolojik görüntü noktasında, kuadriseps aşağı yukarı eşit oranlarda Tip -1, Tip-2A ve Tip-2B liflerini ihtiva etmektedir. Kas hastalıklarının bu bölgedeki meydana getirdiği değişiklikleri kuadriseps kasında tesbit etmek mümkündür. Tibialis anterior bazen biyopsinin yapıldığı,

%70 Tip-1 liflerden oluşan başka bir kastır ve fibril profilinin değişikliklerini analiz etmek daha zordur (Kruize ve ark. 2005). Kas biyopsisi tercihen EMG yapılmamış kastan yapılmalıdır.

2.6 Kas biyopsisi nasıl değerlendirilir

Kas biyopsisi klinik bilgiler ışığı altında nöropatolojist veya histopatolojist tarafından değerlendirilir. Biyopsiden maksimum kazanç hekim ve histopatolog arasındaki diyalogla elde edilir. En ideali çok başlıklı mikroskopa yapılmasıdır. Histokimyasal ve immünohistokimyasal boyamalar önemli olmasına rağmen biyopsiden %50 kazanç Hemotoksilen –Eozin boyamasından elde edilir. Bir boyamayla fibrillerin ölçüsü, nekrozu, fagositozu, rejenerasyonu, vakuelleri, inklüzyonları, sentral nükleolizasyonları, fibrozisi vasküler anomalileri ve inflamasyonu belirlenebilir (Kruize ve ark. 2005).

Her bir kimyasal boyama ayrı bir öneme sahiptir. Fosforilazla boyama McArdle hastalığında yoktur. Oksidatif boyalar(NADH-tetrazolium redüktaz ve süksinik dehidrogenaz) intermiyofibriller yapıyı gösterir. Gomori Trichrom boyası mitokondrial miyopatinin ragged red liflerini gösterir. Miyozin ATP az boyası Tip-1,Tip-2A liflerini ve bunların oranlarını, ölçülerini birçok hastalıkta ortaya çıkarır. Normal olmayan yapıdaki pattern liflerini deinnervasyonu ve reinnervasyonu gösterir (Kruize ve ark. 2005).

3- GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışmada kullanılan deney hayvanları:

Bu çalışma, deney hayvanları etik kurulu onayı alındıktan sonra çalışmaya başlandı. 6 haftalık 40 adet erişkin erkek Wistar albino türü sıçan kullanıldı. Hayvanlar her bir grupta 4 adet olacak şekilde bir kontrol ve dokuz deney grubuna(D1-D9) ayrıldı. Deney süresince hayvanlar standart rat yemi ve musluk suyu ile 20 ± 2 °C de 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda paslanmaz çelik kafeslerde beslendi.

3.2 Çalışma grupları:

Gruplar	Doz	Süre
Kontrol	% 0,5 lik metil Selüloz	5,10,15 gün
D1	0,1mg/kg Atorvastatin	5 gün
D2	0,1mg/kg Atorvastatin	10 gün
D3	0,1mg/kg Atorvastatin	15 gün
D4	0,5 mg/kg Atorvastatin	5 gün
D5	0,5 mg/kg Atorvastatin	10 gün
D6	0,5 mg/kg Atorvastatin	15 gün
D7	1 mg/kg Atorvastatin	5 gün
D8	1 mg/kg Atorvastatin	10 gün
D9	1 mg/kg Atorvastatin	15 gün

Tablo-3: Çalışma grupları, uygulanan atorvastatinin doz ve süresi.

Atorvastatin %0,5 lik metilselüloz içinde çözüldü ve dozajlar herbir rat'ın vücut ağırlığının kg başına 5 ml olacak şekilde ayarlanarak oral yoldan verildi. Atorvastatin uygulamaları bittikten 24 saat sonra sıçanlar hafif eter anestezisi ile uyutuldu, arka bacağı ön yüzü femur hizasında traş edildi, asepsi ve antisepsisi yapıldı. Daha sonra kuadriseps femoris kasları histopatolojik inceleme için çıkarılarak %10 nötral formalin solusyonu içine bırakıldı.

3.3 Işık mikroskobunda incelenmek üzere doku hazırlanması:

%10 nötral formalin solusyonu içinde 12 saat tespit edilen kas dokusu, 1 gece çeşme suyunda bekletildi. Daha sonra %70, %80, %90, %96 ve %100 olmak üzere dereceli alkol serilerinden geçirildi. Üç kez 15 er dakikadan Xylol serisinden geçirilerek doku şeffaflaştırıldı.

Etüvde 58 °C 'de eritilmiş parafine bırakılarak 2 kez etüvde 1 er saat süre ile bekletildi. Daha sonra parafin bloklara gömüldü. Mikrotomda 4–6 mikrometre kalınlıkta kesitler alınıp

Hematoksilen-Eozin, Azan, Weigert'in metakromatik demirli hematoksileni, Toluidin mavisi ile boyanıp ışık mikroskopik olarak değerlendirildi.

3.4 Elektron mikroskobunda incelenmek üzere doku hazırlanması:

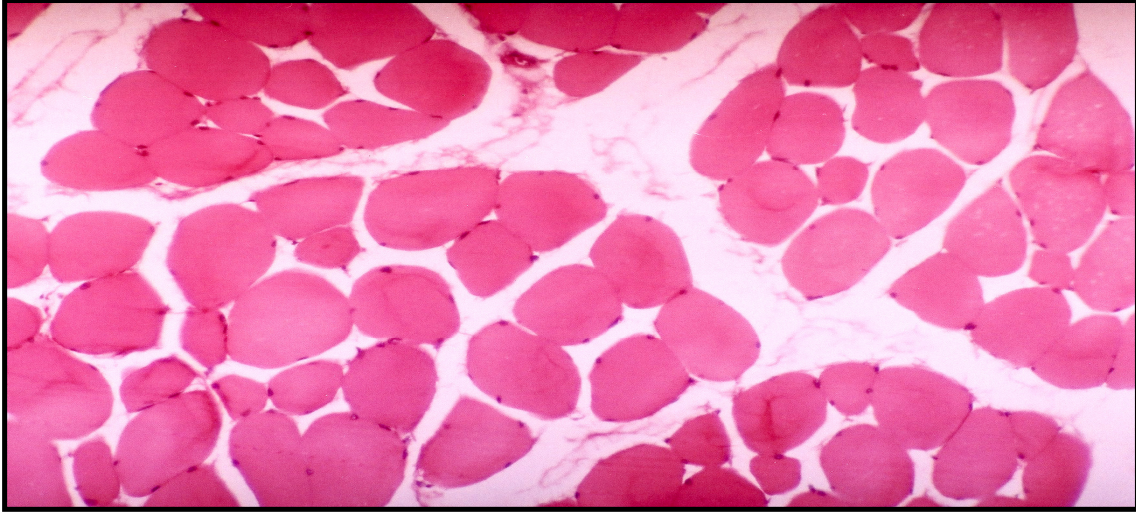
Kas dokusu %2,5'lük fosfat tamponlu glüteraldehit içinde tespit edildi. 24 saat sonra fosfat tamponlu solüsyonda yıkandıktan sonra %1 lik Osmium Tetroksit içine alındı ve tampon solüsyonu içinde yıkandıktan sonra osmiumu uzaklaştırmak için %30, %50, %75 dereceli alkollerden 15'er dakikalık süreyle geçirildi. %70 lik alkolde 24 saat bekletildi. Kas dokusuna uranil-asetat boyaması uygulandı. Boyamadan hemen sonra yükselen alkol serilerinden geçirildi. Dokular araldit ve propilenoksit (1,1) karışımında bir gece süreyle bekletildi.

Blok yapmak için yeniden taze hazırlanmış araldit karışımında oda ısısında iki saat süreyle bekletildikten sonra kas dokuları bloklandı. Daha sonra ultramikrotom ile yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı. Işık mikroskobunda bakılarak değerlendirme yapıldı. İnce kesitler alınarak bakır gridlere alındı. Kurşun asetat ve uranil sitrat ile kontrast boyanıp transmission elektron mikroskobunda (TEM) kas dokusu değerlendirildi.

4- BULGULAR

4.1 Işık Mikroskopik Bulgular

4.1.1 Kontrol grubu: Kontrol gruplarından elde edilen kuadriseps femoris kas kesitlerinin incelenmesinde normal histolojik yapılar izlendi.(Resim-1,2).



Resim-1: Kontrol grubu: İskelet kasının enine kesiti, kas demetlerinde perifasiküler yerleşimin ve intersiyel bağ doku alanının normal görünümü (H&E, Orijinal büyütme X 82).



Resim-2: Kontrol grubu: İskelet kasının enine kesiti, kas demetlerinin ve intersiyel bağ doku alanının normal görünümü (Toluidin mavisi, Orijinal büyütme X 164).

4.1.2 5 Günlük Deney Grupları:

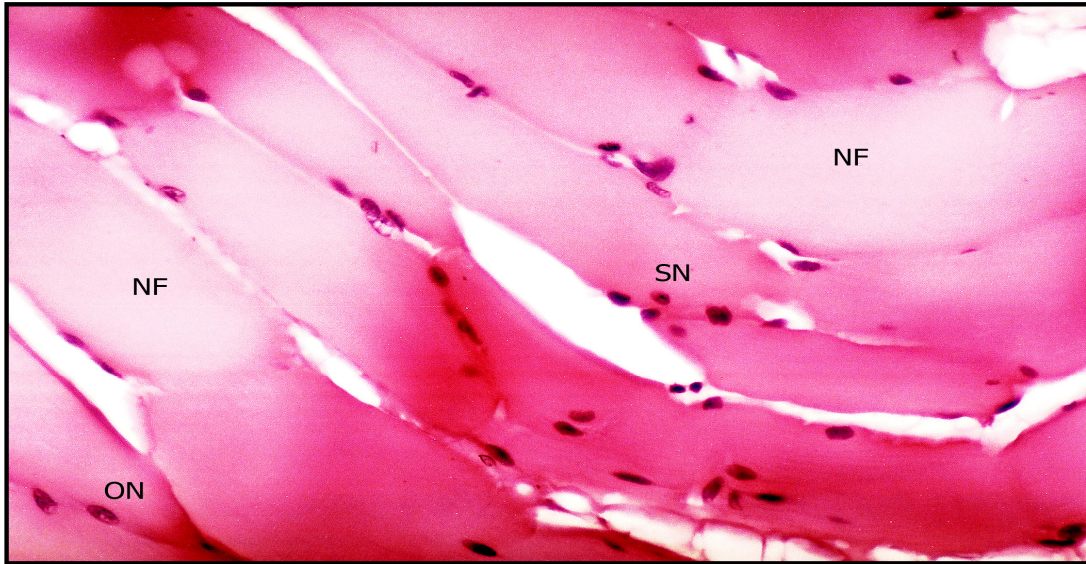
D1: 5gün 0,1 mg/kg/gün Atorvastatin

D4: 5 gün 0,5 mg/kg/gün Atorvastatin

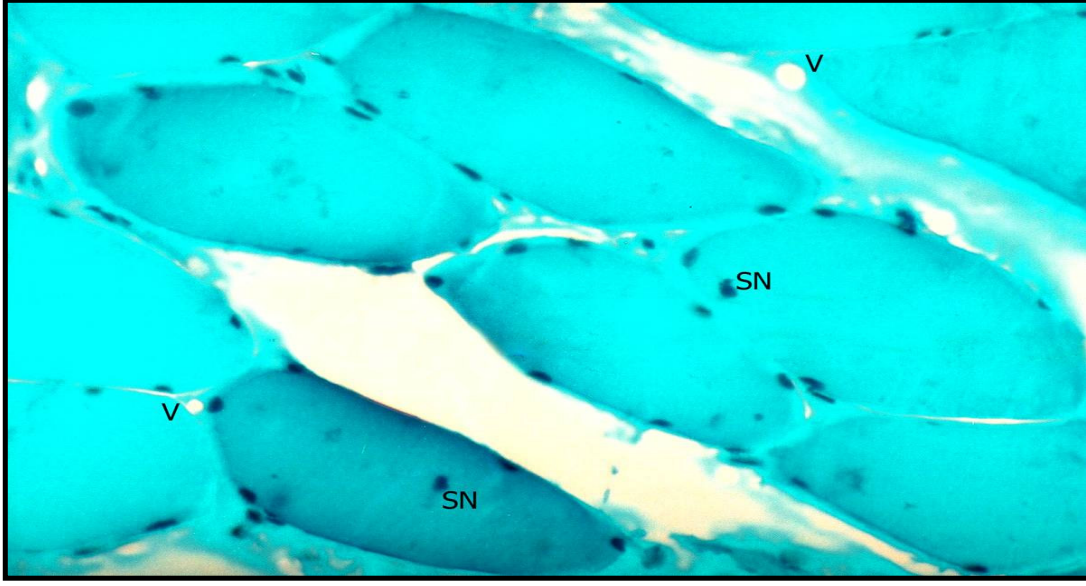
D7: 5gün 1 mg/kg/ gün Atorvastatin

D1 Grubu

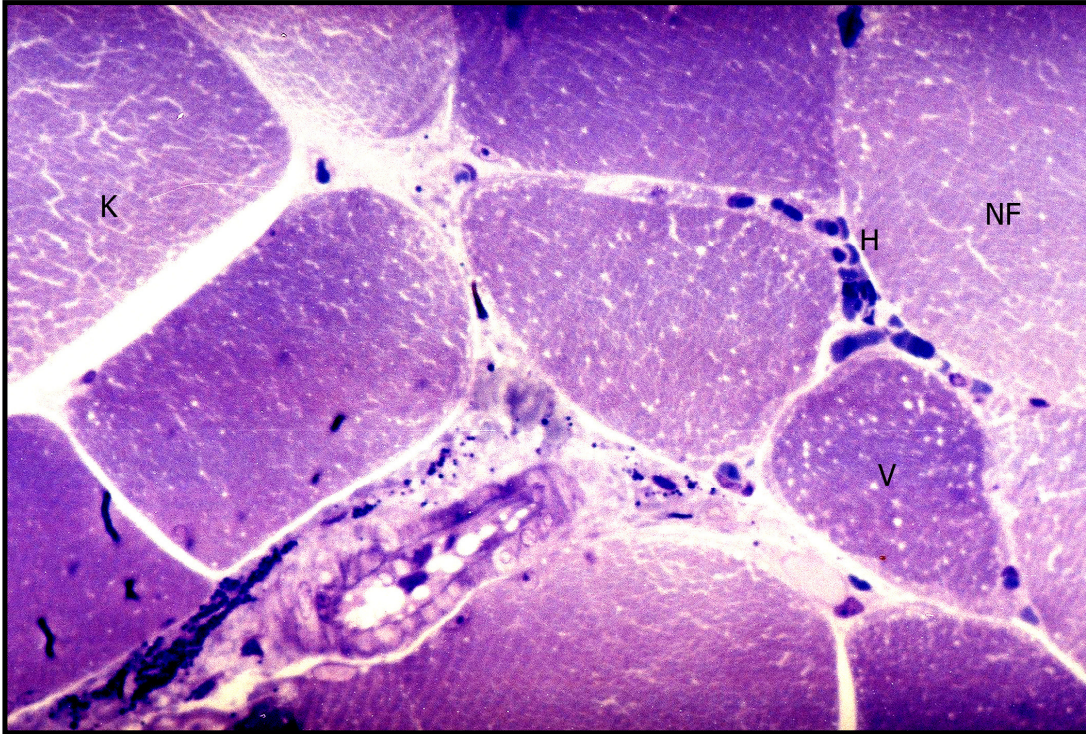
5 gün boyunca 0,1 mg/kg Atorvastatin verilen ve Hematoksilen-Eozin ile boyanan doku örneklerinin histopatolojik incelenmesinde, çizgili kas liflerinin düzenli bir yerleşim gösterdiği ancak bazı kas liflerinde minimal düzeyde nekrotik alanlar gözlemlendi. Aynı kesitin intersiyel bağ dokusu incelendiğinde hem bağ dokusu hücrelerinde hem de bağ dokusu liflerinin dağılımında herhangi bir değişiklik gözlenmemekteydi (Resim 3). Weigert'in metakromatik demirli hematoksileni ile boyanan kesitlerde, kas demetlerinin nükleusları periferde normal yerleşim gösterirken, kas liflerinde yer yer sitoplazmik vakuoller gözlemlendi. Ayrıca bazı kas liflerinde sentrale yerleşik nükleuslar dikkat çekmekteydi (Resim 4). Toluidin Mavisini ile boyadığımız kesitlerde farklı olarak, bazı kas demetlerinde kontraktıl görünüm, kas liflerinde hafif derecede nekroz, vakuolleşme ile çok az oranda hemorajik odaklar belirlendi (Resim 5).



Resim-3:D1 Grubu,5 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriseps femoris kasının ışık mikroskopik görünümünde: Sentral ve oval nükleuslar, yer yer nekrotik fibriler alan tespit edildi. SN: Sentral nükleus ve ON: oval nükleuslar, NF: nekrotik fibriler alan (H&E boyama, Orijinal büyütme X 164).



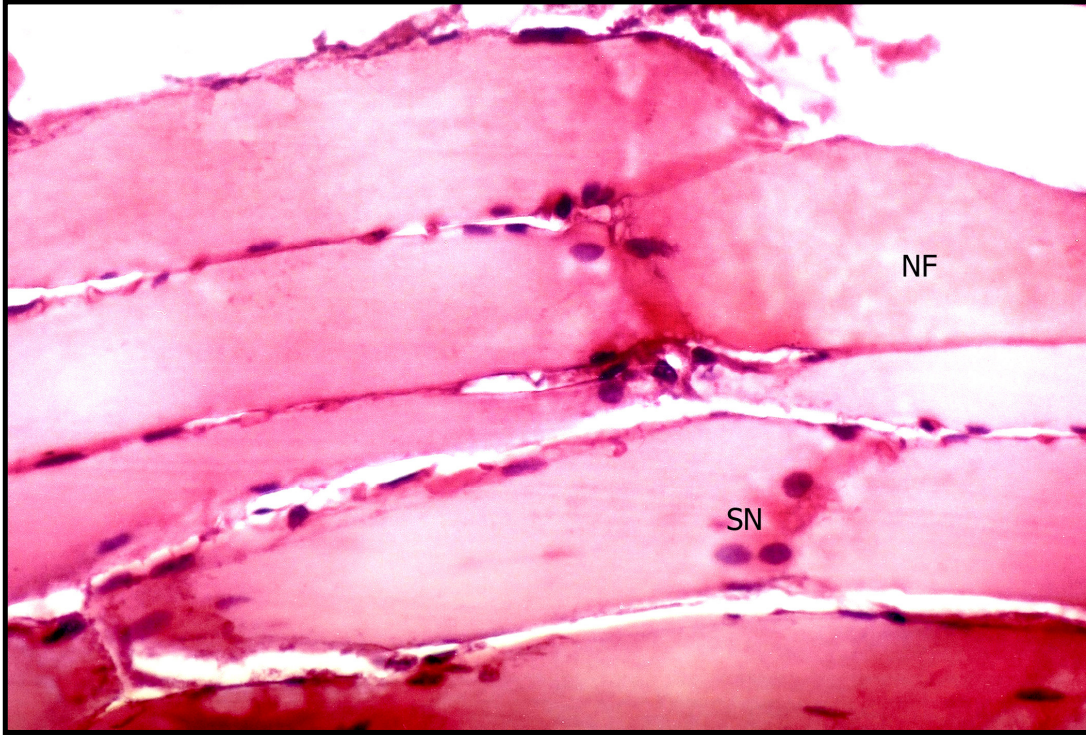
Resim-4:D1 Grubu, 5 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; vakuoler yapıların ve sentral nükleusların olduğu tespit edildi. V: vakuol, SN: Sentral nükleus, (Weigert'ın metakromatik demirli hematoxileni, orijinal büyütme X 164).



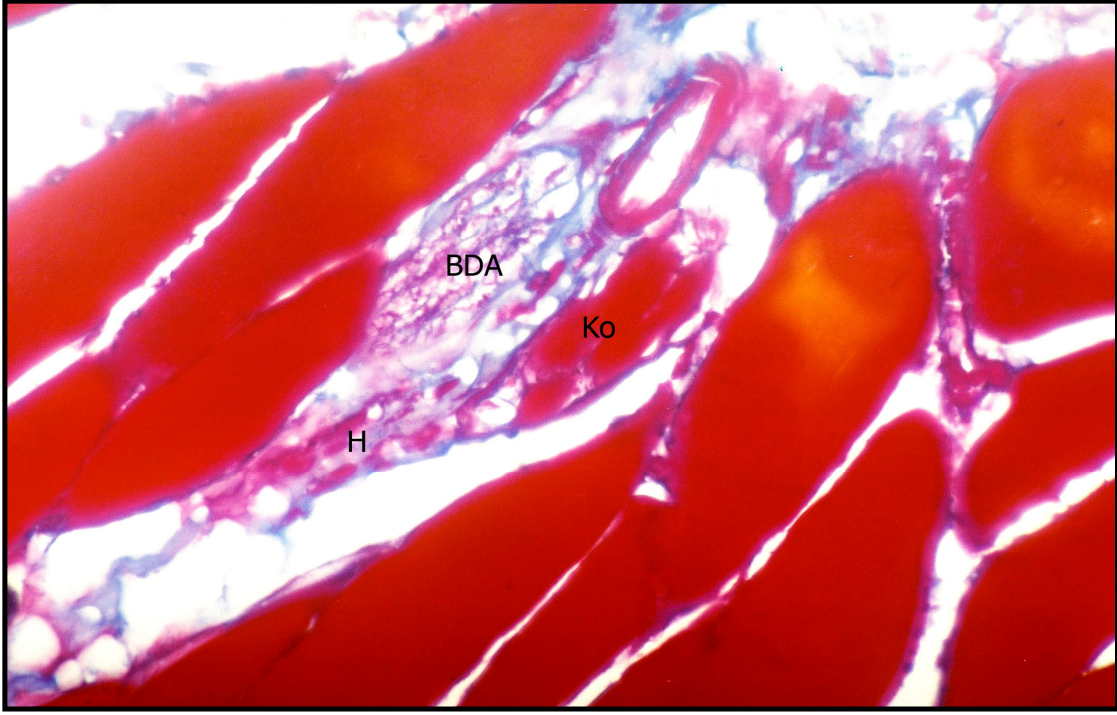
Resim-5:D1 Grubu, 5 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; kas liflerinde kontraksiyon, vakuolleşme, nekrotik fibriller ve yer yer hemoraji gözlemlendi. K: Kontraktıl görünüm, NF: Nekrotik fibril alanları, H: hemoraji, V: vakuol, (Toluidin mavisi, orijinal büyütme X 164).

D4 grubu

5 gün boyunca 0,5 mg/kg Atorvastatin verilen ve Hematoksilin-Eozin ile boyanan doku örneklerinin histopatolojik incelenmesinde, kas liflerinin sentral bölgesindeki nükleusların arttığı, kas liflerinde nekrotik fibriller alanlar izlendi (Resim 6). Azan boyası ile boyanmış kesitlerde, intersisyonel bağ dokusunun hücresel ve lifsel yapısının arttığı ve bu alanda yer alan damarlarda hemoraji ve konjesyon izlendi (Resim 7).



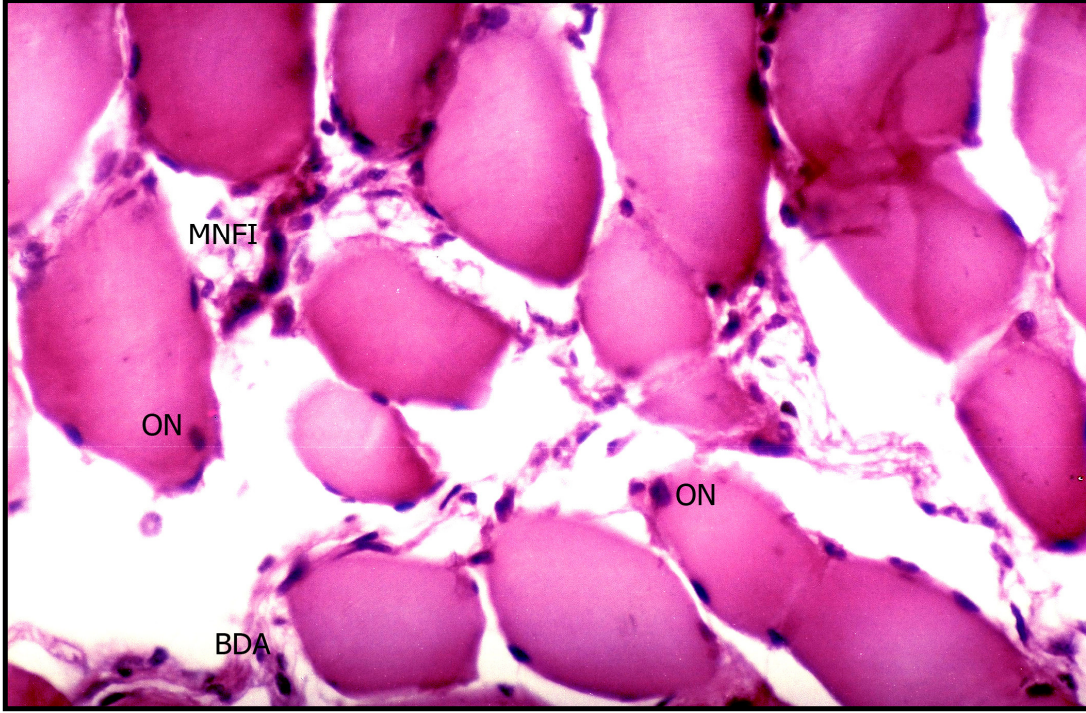
Resim-6: D4 Grubu, 5 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; yer yer nekrotik fibriller ve sentral nükleus tespit edildi. NF: Nekrotik fibriller alan, SN: Sentral nükleus, (H&E, Orijinal büyütme X 164).



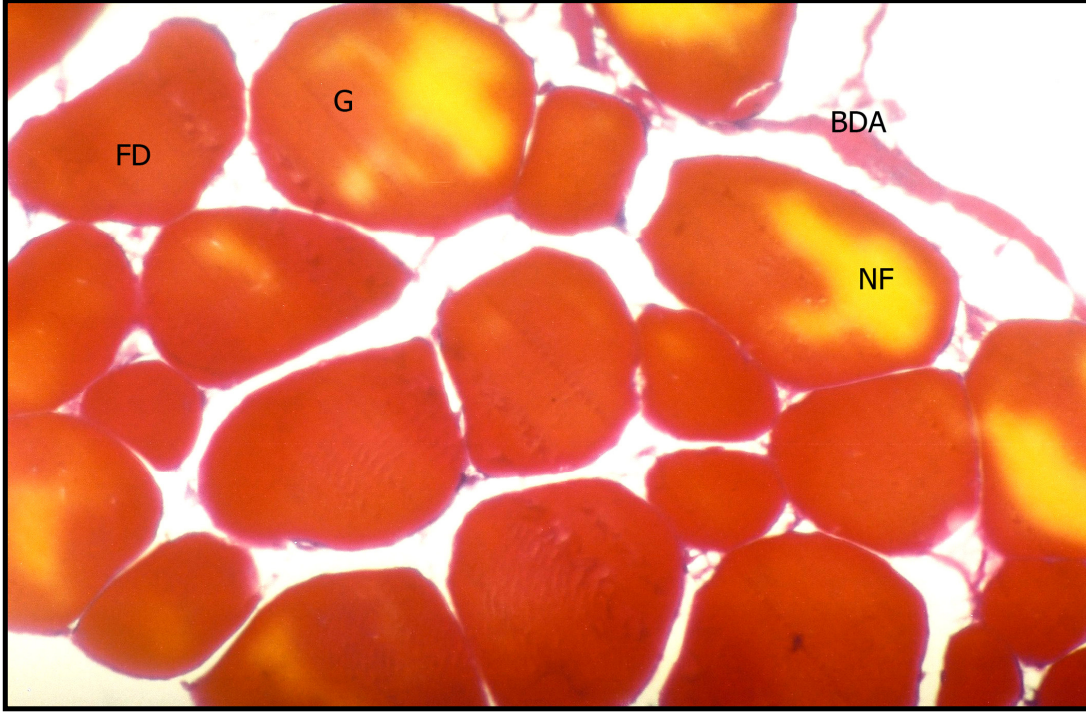
Resim-7:D4 Grubu, 5 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriseps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; perifasiküler alanda bağ doku artışı, konjesyon ve hemoraji gözlemlendi. BDA: Bağdoku artışı, Ko: Konjesyon, H: Hemoraji, (Heidenhein'in Azan Modifikasyonu, Orijinal büyütme X 164)

D7 Grubu

5 gün boyunca 1 mg/kg Atorvastatin verilen ve Hematoksilen-Eozin ile boyanan doku örneklerinin histopatolojik incelenmesinde, kas liflerinin nükleus yapısının ovalleştiği, intersiyel bağ dokusunda artış ve mononükleer hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 8). Azan Modifikasyon boyası ile boyanmış kesitlerimizde bazı kas liflerinde nekroz ile birlikte formasyon değişikliği, kas liflerinin çapının arttığı ve intersiyel bağ dokusunun da buna eşlik ettiği izlendi (Resim 9).



Resim-8:D7 Grubu, 5 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; oval nükleusların ve mononükleer hücre infiltrasyonunun olduğu tespit edildi. ON: Oval nükleus, MNFI: Mononükleer hücre infiltrasyonu (H&E, Orijinal büyütme X 164).



Resim-9:D7 grubu, 5 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; Kas liflerinde çapça genişleme, formasyon değişikliği ve perifasiküler alanda bağ doku artışı gözlemlendi. FD: Formasyon değişikliği, G: Kas liflerinde hipertrofi, BDA: Bağ doku artışı (Heidenhein'in Azan Modifikasyonu, orijinal büyütme X 164).

4.1.3 10 Günlük Deney Grupları

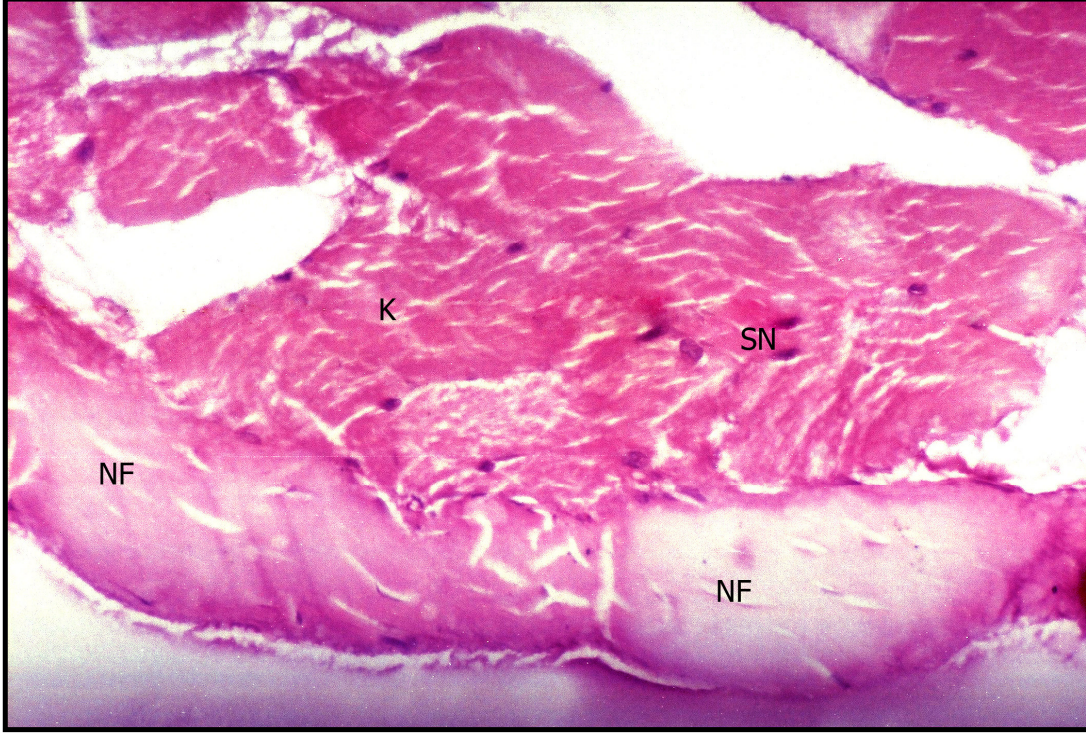
D2: 10 Gün 0,1 mg/kg/gün Atorvastatin

D5: 10 Gün 0,5 mg/kg/gün Atorvastatin

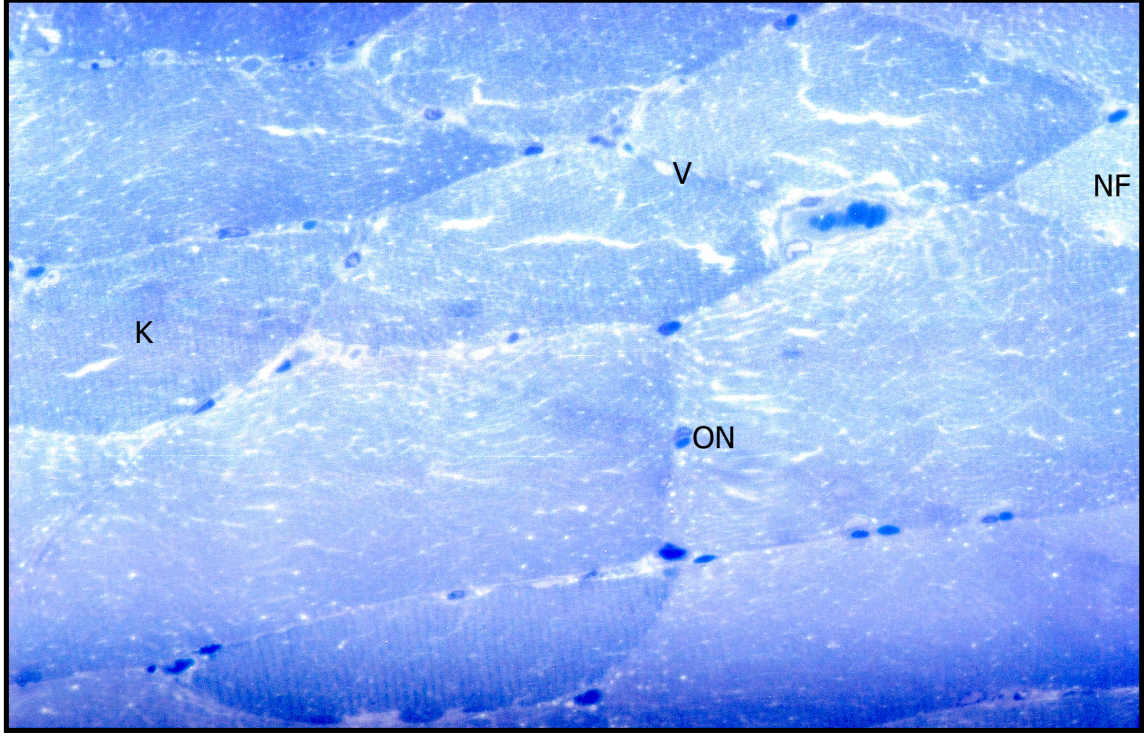
D8: 10 gün 1 mg/kg/gün Atorvastatin

D2 Grubu

10 gün boyunca 0,1mg/kg Atorvastatin verilen ve Hematoksilen-Eozin ile boyanan doku örneklerinin histopatolojik incelenmesinde, kas liflerindeki kontraksiyona bağlı olarak bazı bölümlerde ayrılma, çatallanma, nekrotik alanlar ve sentral nükleusta artış gözlemlendi (Resim 10). Toluidin mavisi ile boyadığımız kesitlerde farklı olarak, kas liflerinde yer yer vakuolleşme ve nükleuslarda ovalleşme ile kas liflerinin bazı alanlarında nekrotik fibriller ve kontraksiyona bağlı olarak bazik boyanma farklılığı izlendi (Resim 11).



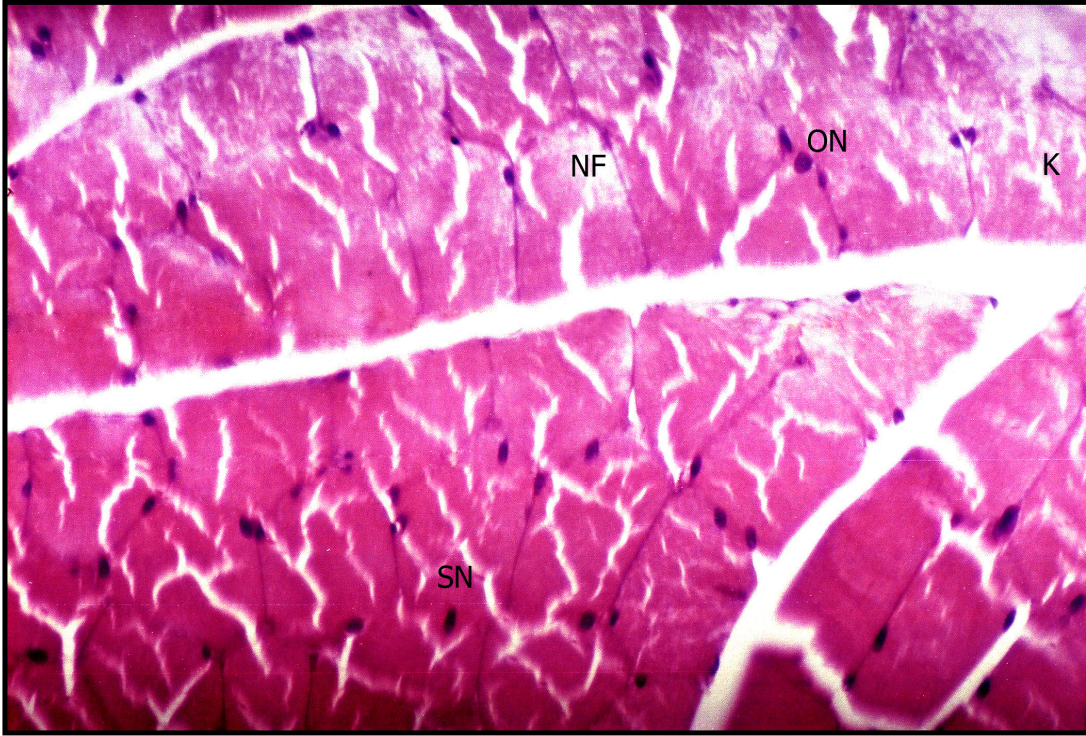
Resim-10: D2 Grubu, 10 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; sentral nükleuslar gözlemlenirken, kas liflerinde kontraksiyon ve nekrotik alanlar tespit edildi. SN: Sentral nükleus, NF:Nekrotik fibril, K:Kontraktıl alan (H&E ,Orijinal büyütme X 164)



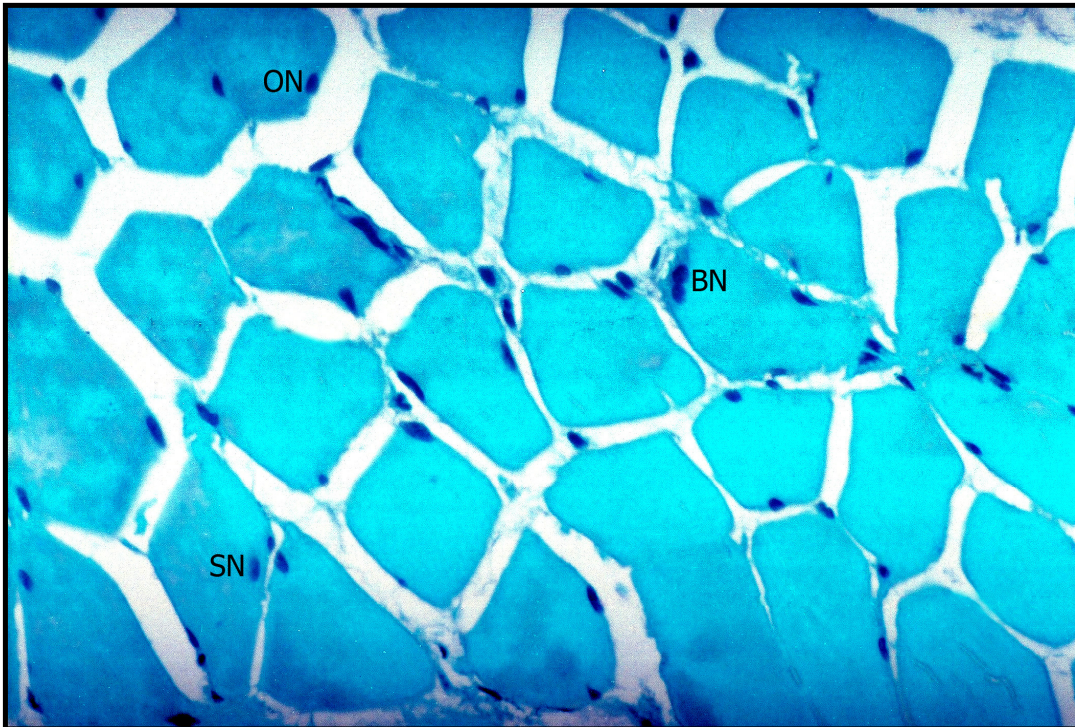
Resim-11:D2 Grubu, 10 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; nükleuslarda ovalleşme, kas liflerinde yer yer nekrotik, kontraktıl alanlar ve vakuolleşme, ON: Oval nükleus NF: Nekrotik fibriler alan K:Kontraktıl alan, V:Vakuol (Toluidin mavisi, orijinal büyütme X 164).

D5 grubu

10 gün boyunca 0,5mg/kg/ Atorvastatin verilen ve Hematoksilen-Eozin ile boyanan doku örneklerinin histopatolojik incelenmesinde kas liflerindeki nükleusların formasyon değişikliğine bağlı olarak ovalleşme ve sentralde yer almaları dikkat çekiciydi. Ayrıca kas liflerinin kontraksiyonu sonucu yer yer nekrotik fibriller alan izlenmekteydi(Resim 12). Weigert'ın metakromatik demirli hematoksileni ile boyanan kesitte, sentral nükleuslarda artış, çift nükleus ve intersiyel bağ dokuda hafif derecede ödem izlendi (Resim 13).



Resim-12:D5 Grubu, 10 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; sentral ve oval nükleuslar gözlenirken, kas liflerinde nekrotik ve kontraktıl alanlar belirlendi. SN: sentral nükleus ON: oval nükleus, NF: nekrotik fibriler alan, K:kontraktıl alan (H&E Orijinal büyütme X 164)



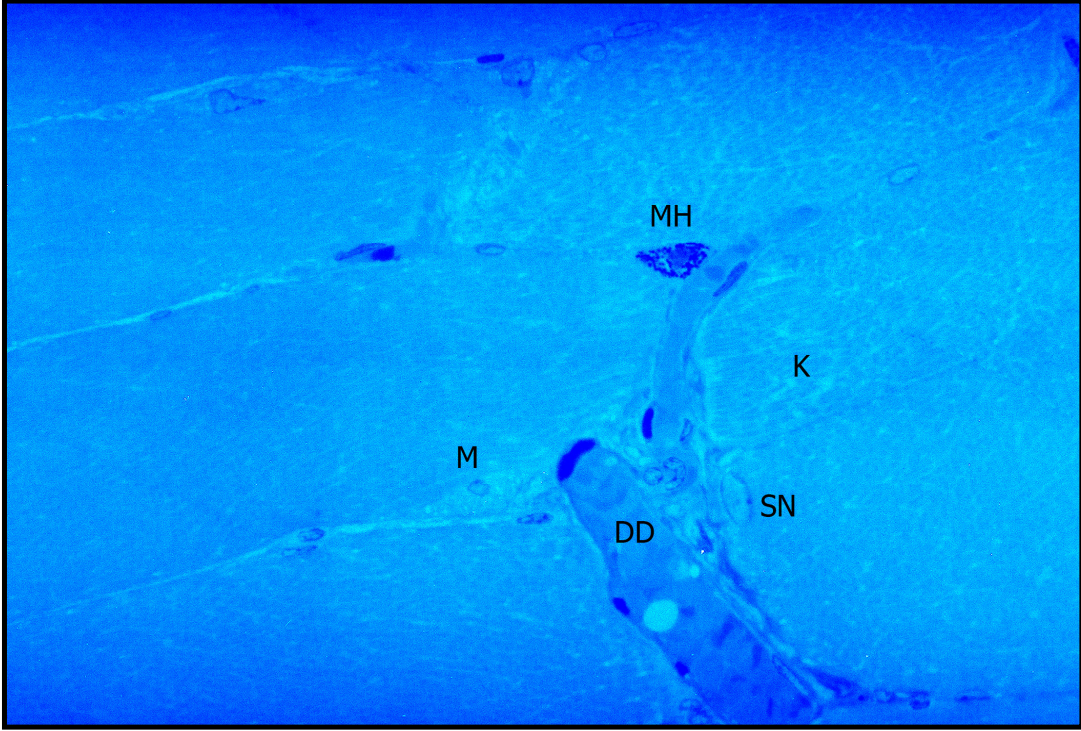
Resim-13:D5 Grubu, 10 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; sentral nükleus artışı gözlenirken, bazı kas demetlerinde bitişik nükleuslar tespit edildi. SN: Sentral nükleus, BN: Bitişik nükleus, ON: Oval nükleus (Weigert'ın metakromatik demirli hematoksileni, orijinal büyütme X 164).

D8 Grubu

10 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ve Hematoksilen-Eozin ile boyanan doku örneklerinin histopatolojik incelenmesinde kas liflerinin nükleuslarında ovalleşme ve nekrotik fibriller alanlar izlendi. (Resim 14). Toluidin mavisi ile boyadığımız kesitlerde farklı olarak, kan damarlarında dilatasyon, makrofajlar ve mast hücrelerinin gözlenmesi dikkat çekiciydi (Resim 15).



Resim-14:D8 Grubu, 10 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; kas liflerinde hipertrofi, nekrotik ve kontraktıl alanlar gözlenirken, nükleuslarda ovalleşme tespit edildi. G:Kas liflerinde hipertrofi, NF: Nekrotik fibriller alan, ON: oval nükleus K:kontraktıl alan (H&E, orijinal büyütme X 164).



Resim-15:D8Grubu, 10 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; kas liflerinde sentral nükleuslar ve kontraktıl alanlar tespit edilirken, makrofaj ve mast hücreleri gözlemlendi. Bununla birlikte damarlarda vazodilatasyon tespit edildi. M: Makrofaj hücresi, DD: Vazodilatasyon, MH: Mast hücresi, SN: Sentral nükleus, K:Kontraktıl alan (Toluidin mavisi, orijinal büyütme X 164).

4.1.4 15 Günlük Deney Grupları

D3: 15 gün 0,1 mg/kğ/gün Atorvastatin

D6: 15 gün 0,5 mg/kğ/gün Atorvastatin

D9: 15 gün 1 mg/kğ/gün Atorvastatin

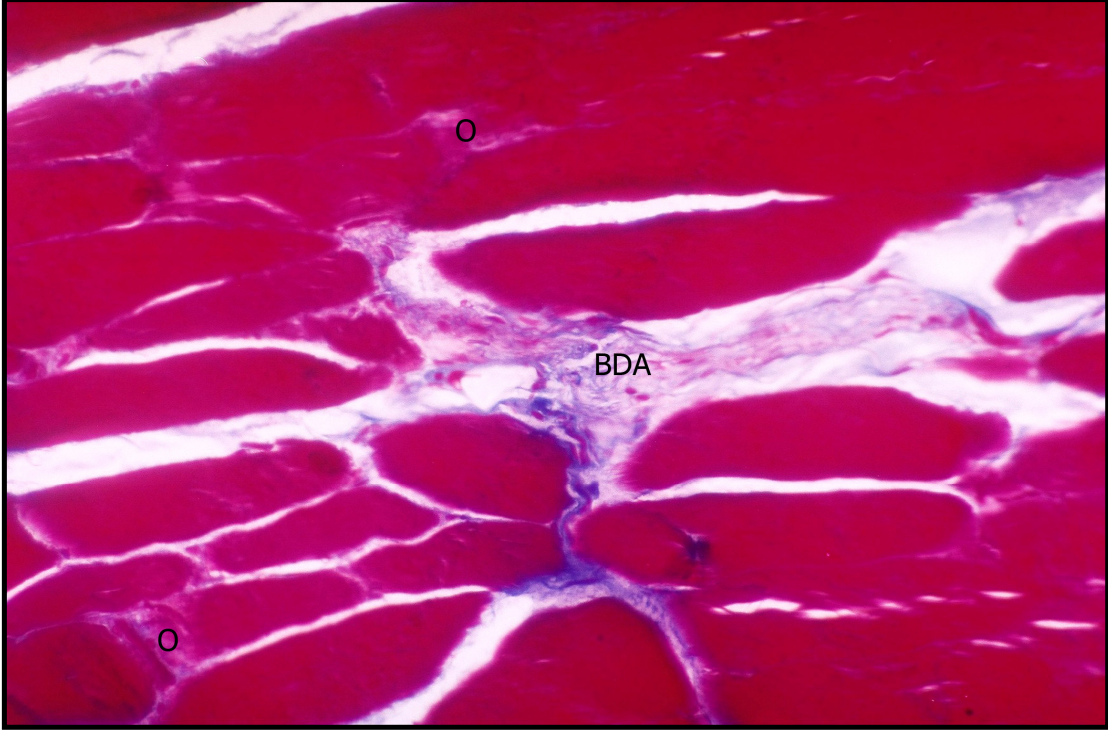
D3 Grubu

15 gün boyunca 0,1mg/kg Atorvastatin verilen ve Hematoksilen-Eozin ile boyanan doku örneklerinin histopatolojik incelenmesinde kas liflerindeki kontraksiyonun artmasına bağlı olarak nekrotik alanlardaki artışın yanı sıra vakuoller yapıda izlendi. İntersisyel bağ dokusunda ise hafif derecede ödem ve damarlarda dilatasyon izlendi (Resim 16).Bir bağ doku boyası olan Azan Modifikasyon ile boyanmış kesitlerde, bağ dokusundaki kollajen liflerde

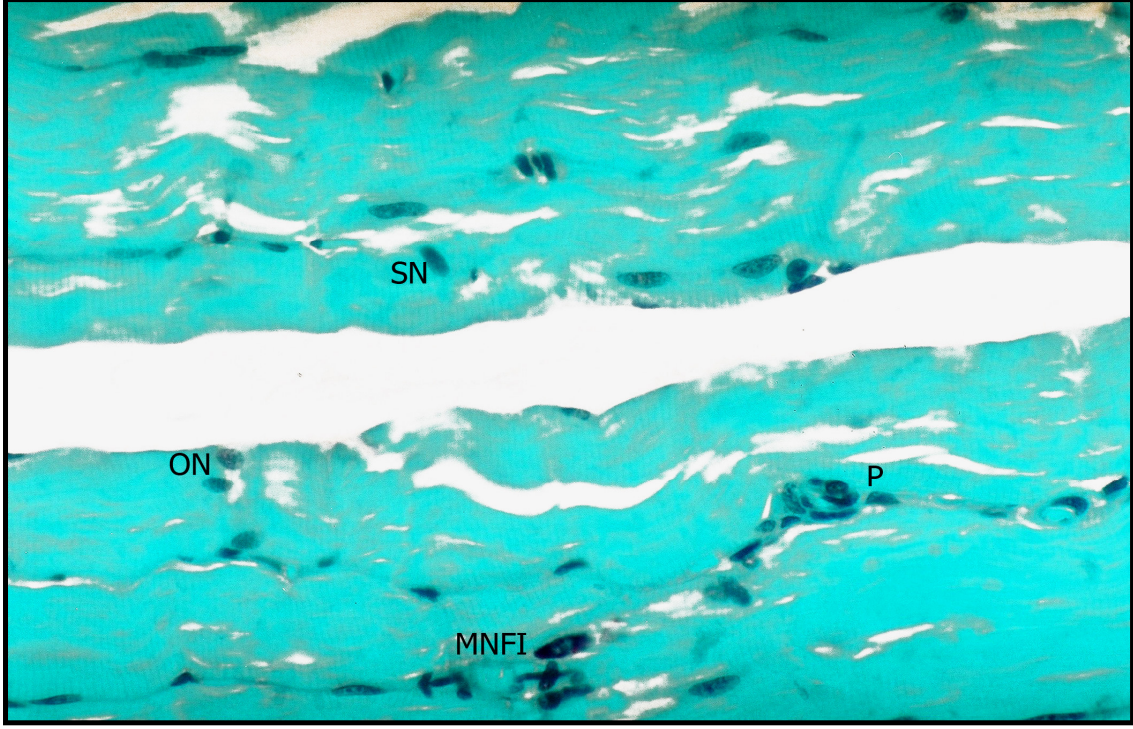
artış ve ödemin varlığı bariz bir şekilde izlenmekteydi. (Resim 17). Weigert'ın metakromatik demirli hematoksileni ile boyanan kesitte sentral nükleuslarda artış yer yer nükleuslarda ovalleşme, piknoz ve mononükleer hücre infiltrasyonu izlendi (Resim 18).



Resim-16:D3 Grubu, 15 gün boyunca 0,1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; kas liflerinde kontraksiyon, nekroz, vakuoler yapılar ve ödem tespit edilirken, damarlarda vazodilatasyon gözlemlendi. O: Ödem, V: Vakuol, NF: Nekrotik fibriler alan, K:Kontraksiyon, DD: Vazodilatasyon (H&E,orijinal büyütme X 164).



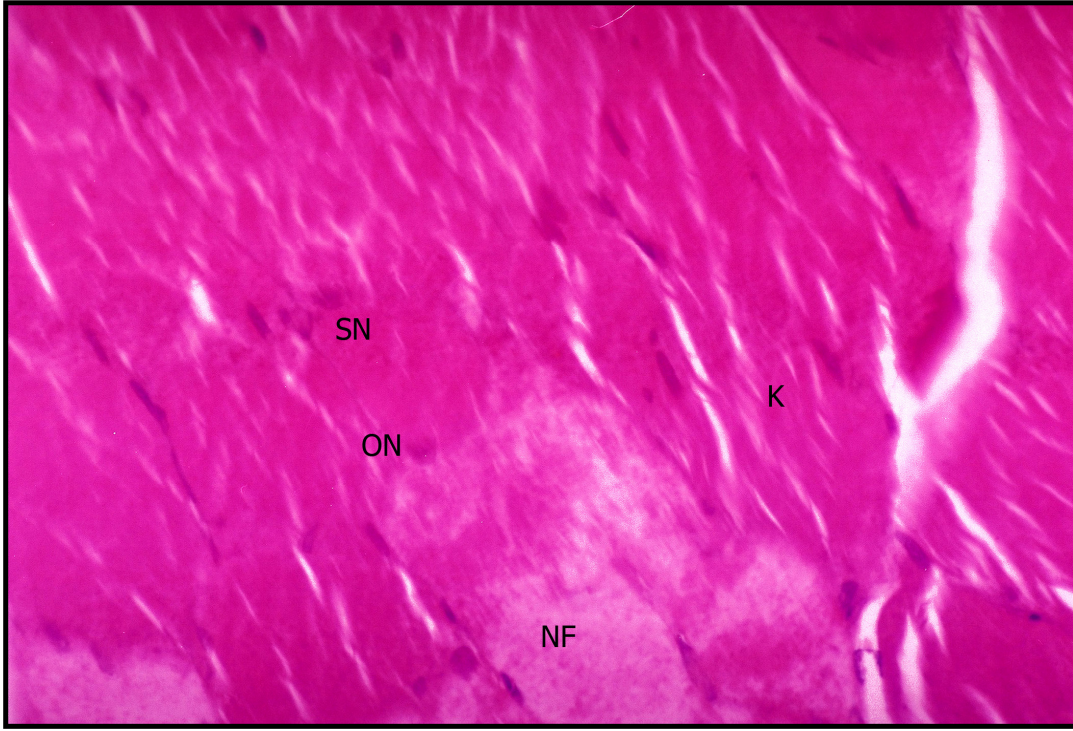
Resim-17:D3 Grubu, 15 gün boyunca 0,1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; perifasiküler alanda bağ doku artışı ve ödem tespit edildi. O: ödem BDA: Bağdoku artışı (Heidenhein Azan Modifikasyonu, orijinal büyütme X 164).



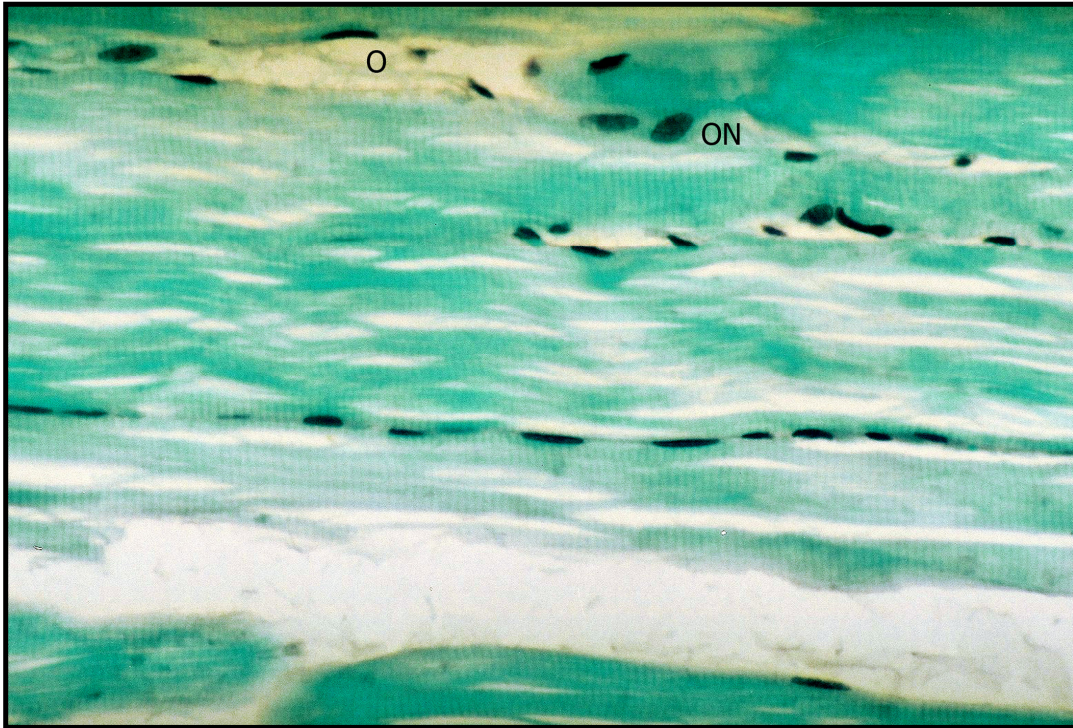
Resim-18:D3 Grubu, 15 gün boyunca 0,1mg/kg Atorvastatin verilen ratların musculus quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; nükleuslarda ovalleşme ve piknozis tespit edildi. ON: Oval nükleus, P:Piknozis (Weigert'ın metakromatik demirli hematoksileni, orijinal büyütme X 164).

D6 grubu

15 gün boyunca 0,5mg/kg Atorvastatin verilen ve Hematoksilen-Eozin ile boyanan doku örneklerinin histopatolojik incelenmesinde kas liflerinde kontraksiyona bağlı olarak yer yer nekrotik fibriler alan, nükleuslarda ovalleşme ve sentral nükleus izlendi (Resim 19).Weigert'ın metakromatik demirli hematoksileni ile boyanan kesitte kas liflerinde yer alan bazı nükleuslarda formasyon değişiklikleri gözlenirken, intersisyel bağ dokudaki ödeme bağlı olarak kas liflerinde düzensizlikler izlendi.(Resim 20).



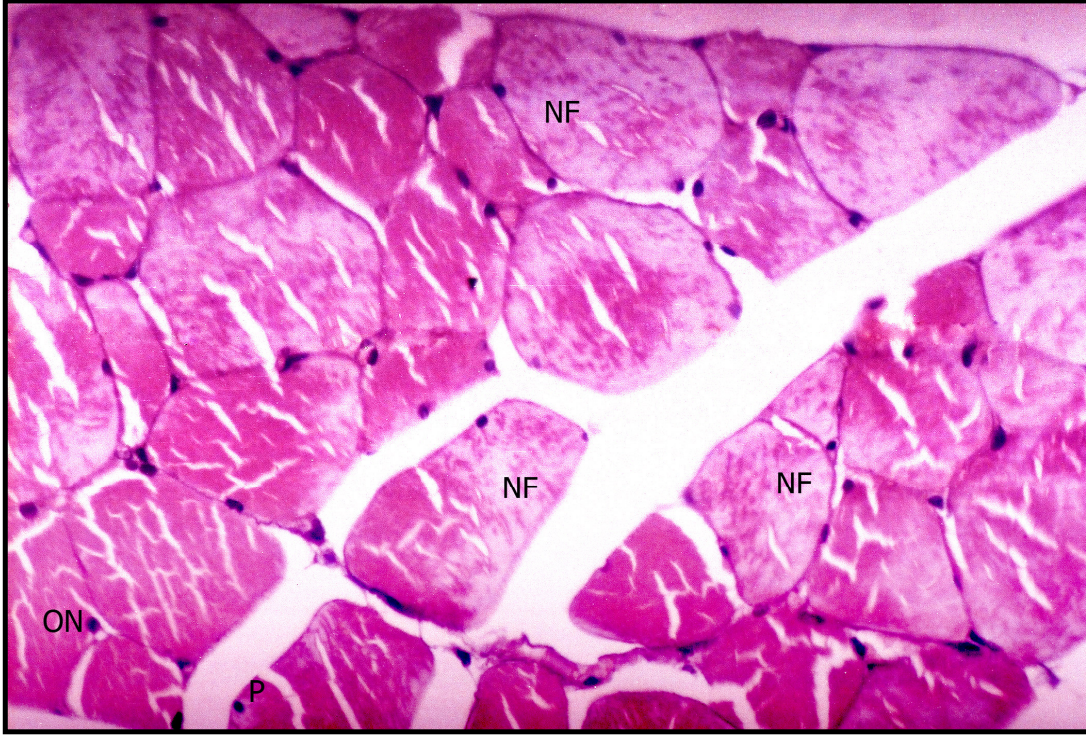
Resim-19:D6 Grubu,15 gün boyunca 0,5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; sentral ve oval nükleuslar tespit edilirken, kas liflerinde nekrotik ve kontraktil alanlar izlendi. NF: nekrotik fibriler alan, ON: Oval nükleus SN: Sentral nükleus, K: Kontraksiyon (H&E,Orijinal büyütme X 164).



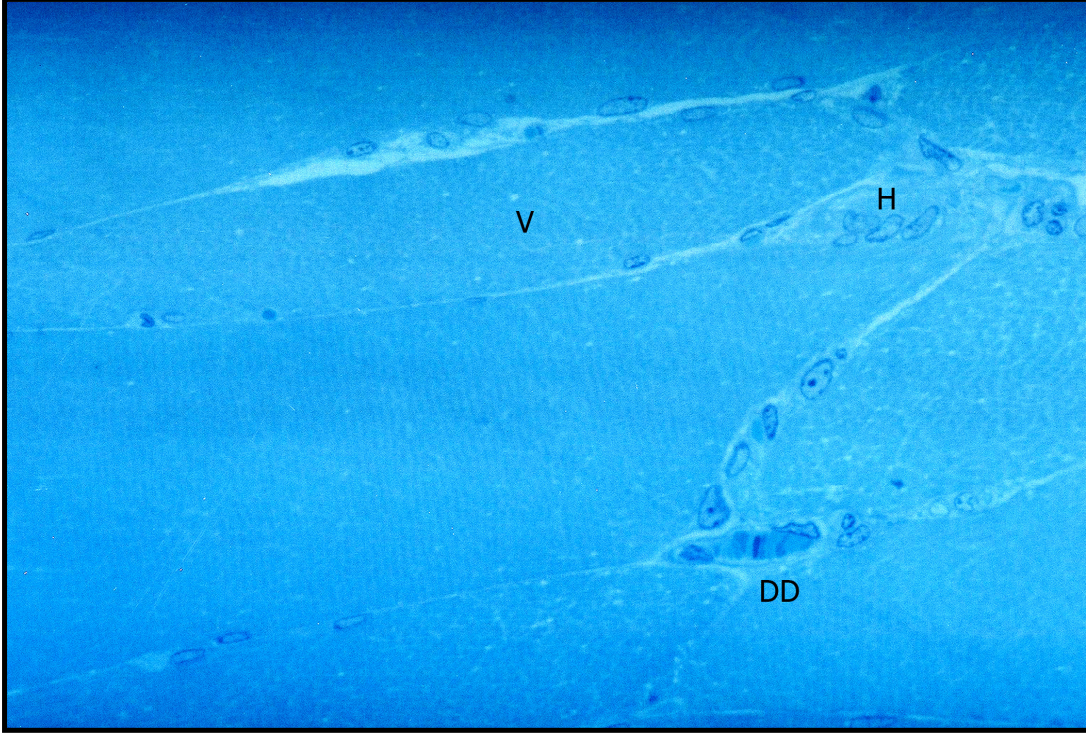
Resim-20: D6 Grubu, 15 gün boyunca 0,5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; nükleuslarda ovalleşme ve kas liflerinde ödem tespit edildi. ON: Oval nükleus, O:Ödem (Weigert'ın metakromatik demirli hematoksileni orijinal büyütme X 164).

D9 Grubu

15 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ve Hematoksilen-Eozin ile boyanan doku örneklerinin histopatolojik incelenmesinde kas liflerinde ileri derecede nekrotik alanlar oval nükleuslar ile yer yer nükleuslarda piknoz izlendi (Resim 21). Toluidin mavisi ile boyadığımız kesitlerde kas liflerinde vakuoler yapılar ve özellikle intersisyel bağ doku alanlarındaki damarlarda dilatasyon ve hemoraji dikkat çekmekteydi (Resim 22).



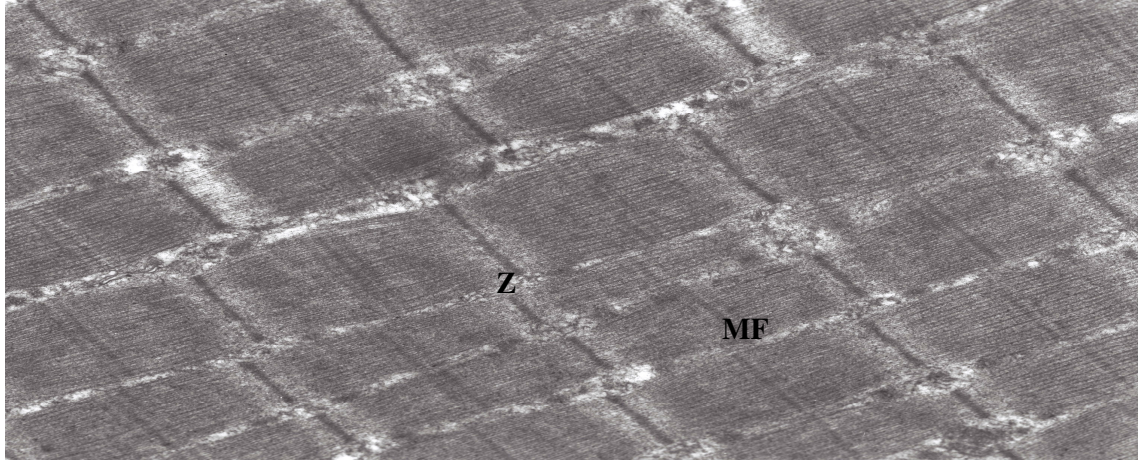
Resim-21:D9 Grubu, 15 gün boyunca 1 mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; kas liflerinde nekroz görülürken, nükleuslarda ovalleşme ve piknoziz. NF: Nekrotik fibriller alan, P:Piknoz, ON: Oval nükleus (H&E,orijinal büyütme X 164).



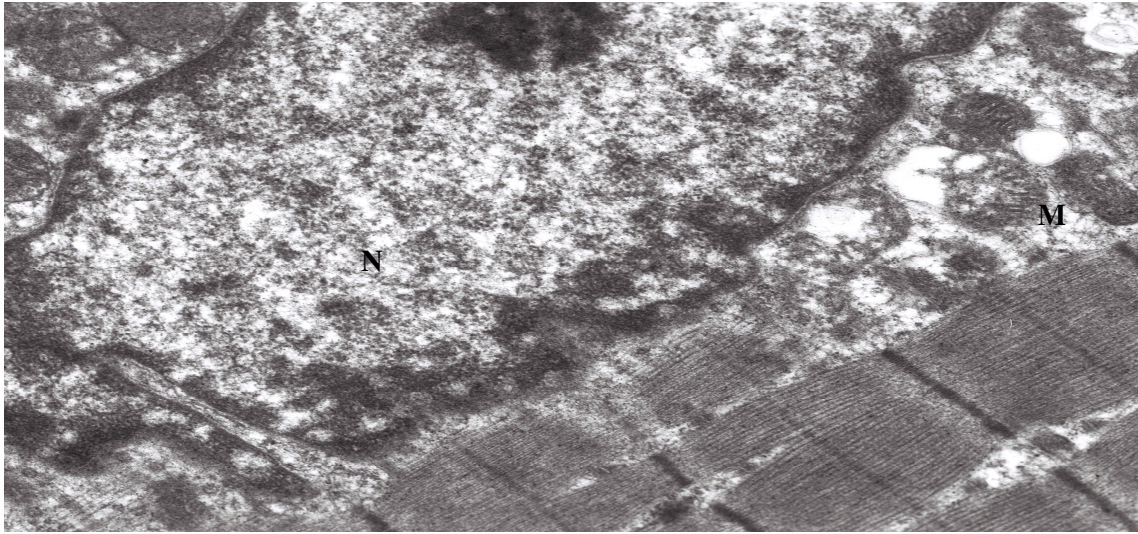
Resim-22:D9 Grubu, 15 gün boyunca 1 mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının ışık mikroskopik görünümü; damarlarda vazodilatasyon ve hemoraji gözlenirken, kas liflerinde vakuolleşme. DD: Vazodilatasyon, H: Hemoraji,(Toluidin mavisi, Orijinal büyütme X 164).

4.2 Elektron Mikroskopik Bulgular

4.2.1 Kontrol grubu: Kontrol gruplarından elde edilen quadriceps femoris kas kesitlerinin incelenmesinde normal histolojik yapılar izlendi (Resim–23,24).



Resim–23: Kontrol grubunun kas kesitlerinin ultrastrüktürel görünümünde bantlaşmanın normal olduğu(Z), myofibrillerde (MF) herhangi bir değişikliğin olmadığı normal yapıda olduğu belirlendi. (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000)



Resim–24: Kontrol grubunun kas kesitlerinin ultrastrüktürel görünümünde nükleus normal heterokromatin görünümünde(N) ve mitokondrionlar normal yapı ve görünümünde(M) izlenmektedir (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

4.2.2 5 Günlük Deney Grupları

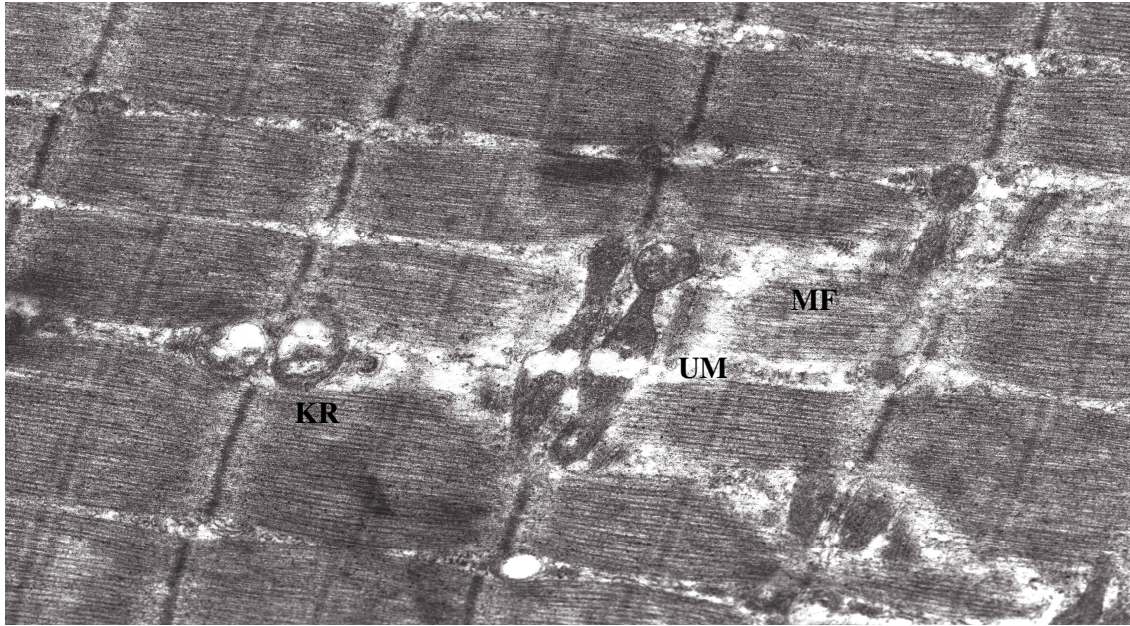
D1: 5gün 0,1 mg/kg/gün Atorvastatin

D4: 5 gün 0,5 mg/kg/gün Atorvastatin

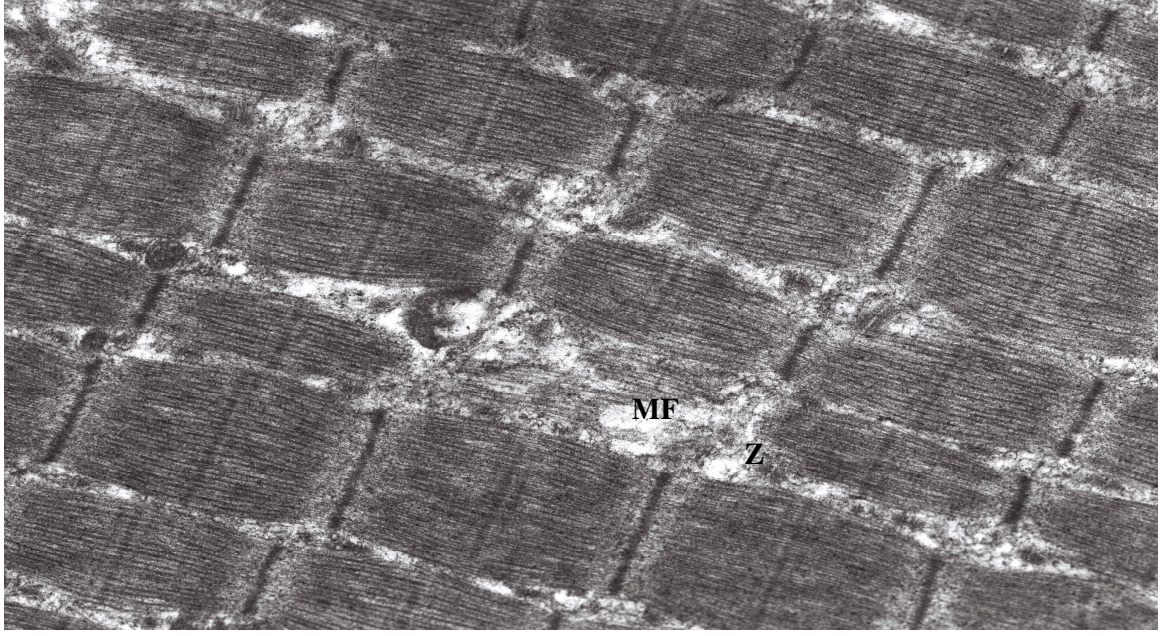
D7: 5gün 1 mg/kg/ gün Atorvastatin

D1 grubunun TEM bulguları

5 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Sitoplazmada yer alan mitokondrionların bazıları normal görünümdeyken, bazı mitokondrionların kristalarında şişme ve açılma, kristalizis, Z bandında yer yer dejenerasyon ve mitokondrion göçü yaşanırken, mitokondrionlar uzamış görünümdeydi, miyoflaman kaybı gözlemlendi (Resim-25,26).



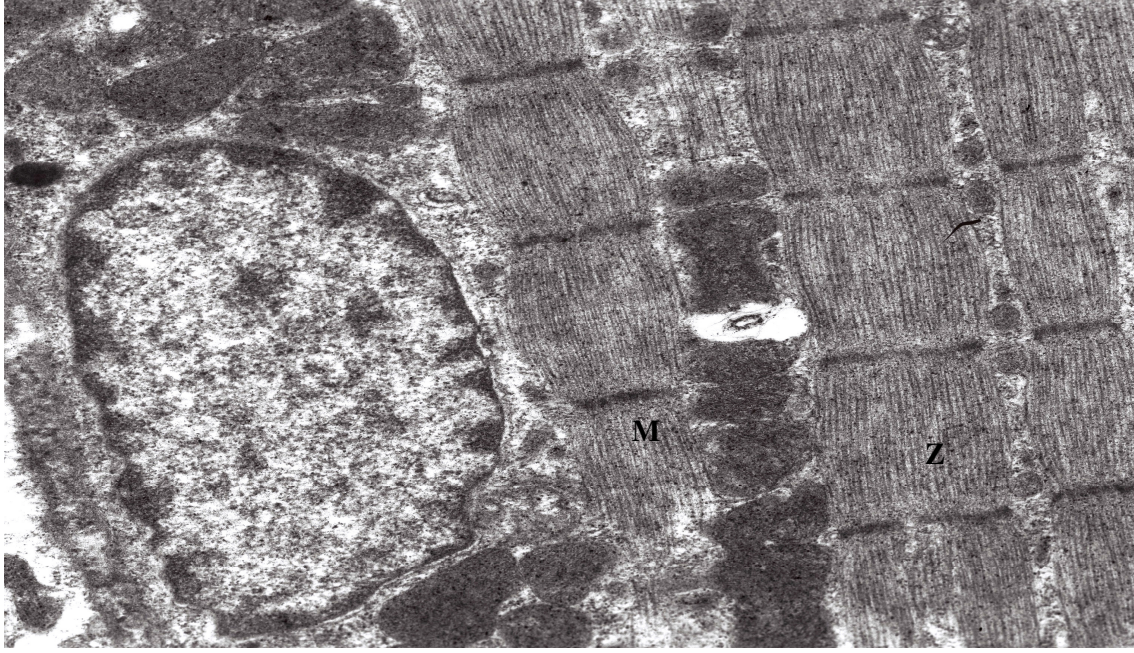
Resim-25: D1 Grubu, 5 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Sitoplazmada yer alan mitokondrionlarda bazıları normal görünümdeyken, bazı mitokondrionların kristalarında şişme ve açılma ayrıca kristalizis (KR), Z bandında yer yer dejenerasyon ve mitokondrion göçü yaşanırken mitokondrionlar uzamış (UM) görünümdeydi. Miyoflaman (MF) kaybı gözlemlendi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).



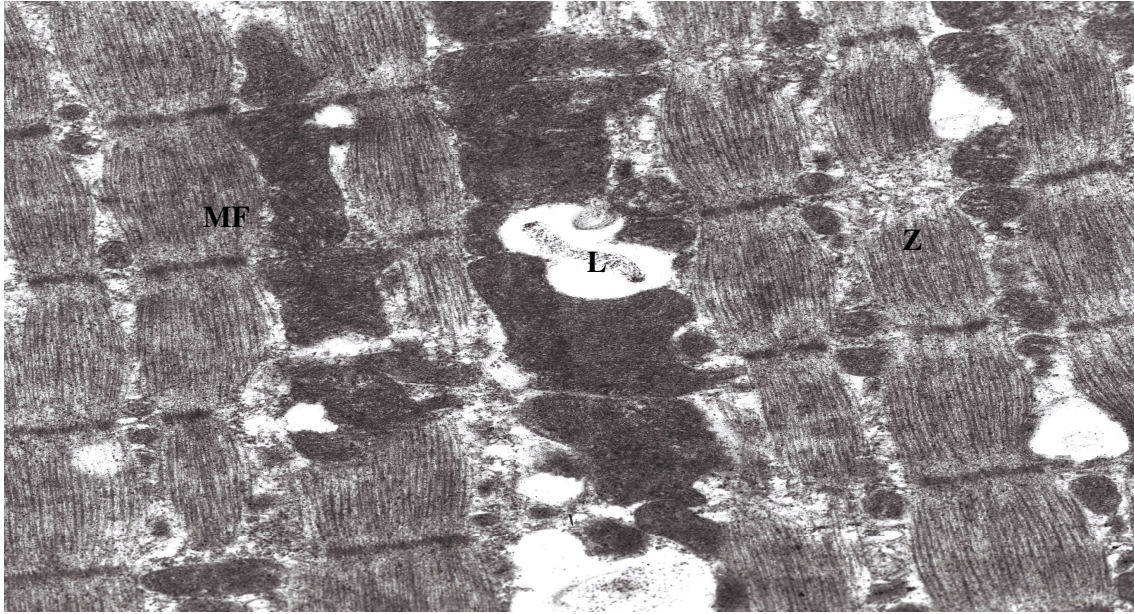
Resim-26: D1 Grubu, 5 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Miyoflaman kaybı(MF) ve Z bandında (Z) bozulmalar tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

D4 Grubunun TEM Bulguları

5 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus lokalizasyonu sarkoplazmanın altında yerleşik, sitoplazmada mitokondrion sayısında artış, Z bandında silikleşme gözlemlendi (Resim-27). Miyofibriller arasında uzunlamasına yerleşmiş belirgin mitokondrial füzyon, yer yer miyoflamanlarda organizasyon bozukluğu ve çapları geniş lipid damlacıkları gözlemlendi (Resim-28).



Resim-27: D4 Grubu, 5 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Nükleus lokalizasyonu sarkoplazmanın altında yerleşik, sitoplazmada mitokondrion (M) sayısında artış, Z bandında silikleşme(Z) gözlemlendi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

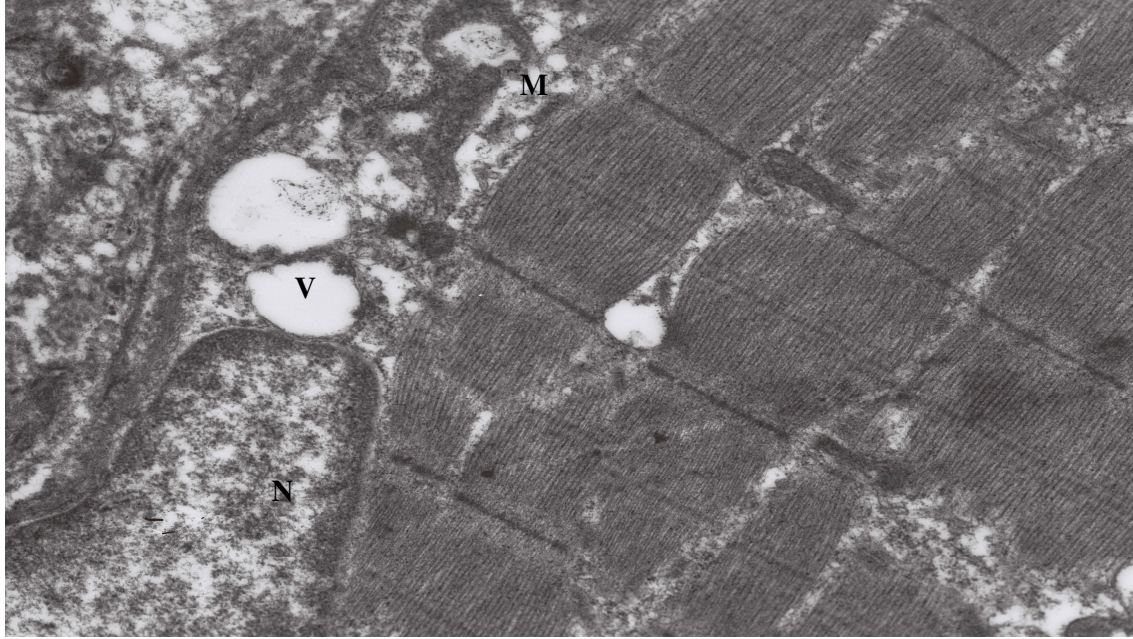


Resim-28: D4 Grubu, 5 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriseps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Miyofibriller arasında uzunlamasına

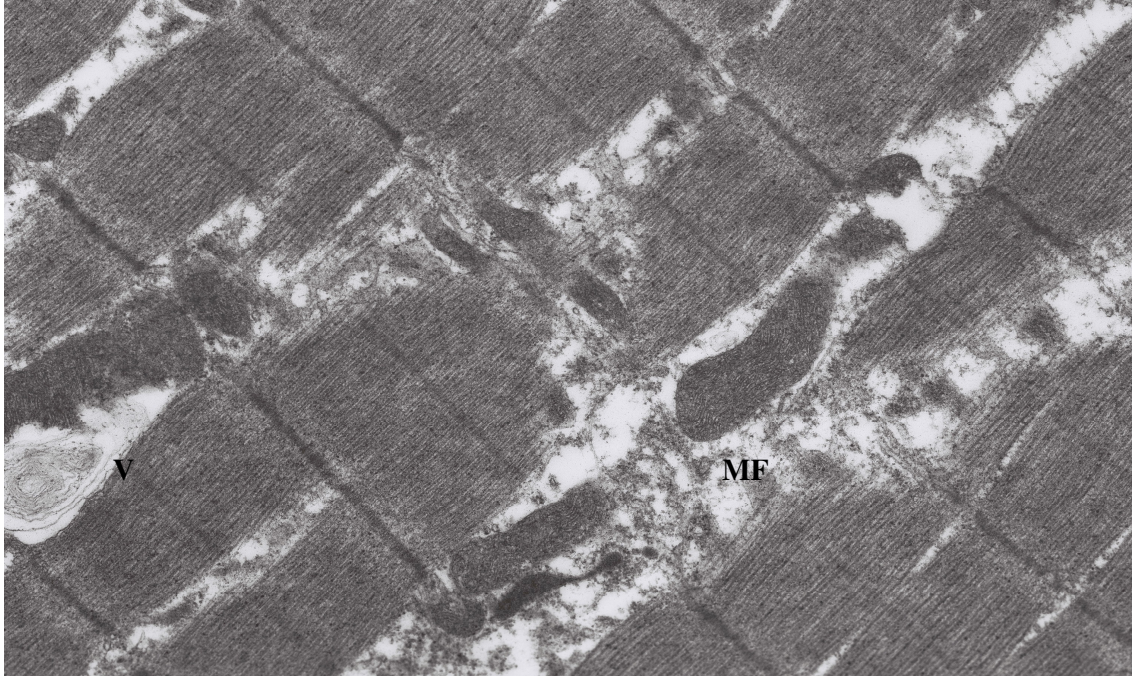
yerleşmiş belirgin mitokondrial füzyon(MF) ve yer yer miyoflamanlarda organizasyon bozukluğu ve çapları geniş lipit damlacıkları (L), Z bandında silikleşme(Z) tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

D7 Grubunun TEM Bulguları

5 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus çevresine dağılmış kromatin içeriği sentrale doğru dağılma, sitoplazmada bazı mitokondrionlar normal görünürken bazılarında dejenerasyon gözlemlendi, sitoplazmada vakuoler yapılar izlendi (resim-29). Bazı alanlarda miyoflaman kaybının çok olduğu ve bölgenin sitoplazmik içerikle dolu olduğu, Vakuoler yapılar lameller cisimciklerin varlığı tespit edildi (Resim-30).



Resim-29: D7 Grubu 5 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus çevresine dağılmış kromatin içeriği sentrale doğru dağılmaya başlamış(N), sitoplazmada bazı mitokondrionlar normal görünürken bazılarında dejenerasyon (M), sitoplazmada vakuoler (V) yapılar izlendi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).



Resim-30: D7 Grubu 5 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Bazı alanlarda miyoflaman kaybının çok olduğu ve bölgenin sitoplazmik içerikle dolu olduğu gözlemlendi (MF). Vakuoler (V) yapılar da lameller cisimcikler tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

4.2.3 10 Günlük Deney Grupları

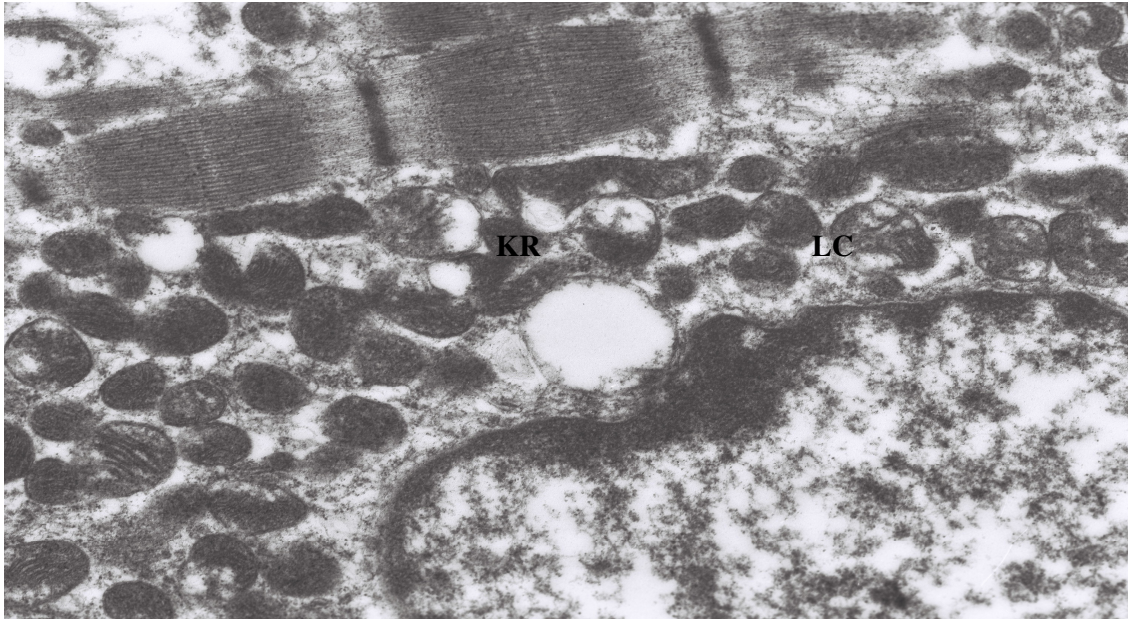
D2: 10 Gün 0,1 mg/kg/gün Atorvastatin

D5: 10 Gün 0,5 mg/kg/gün Atorvastatin

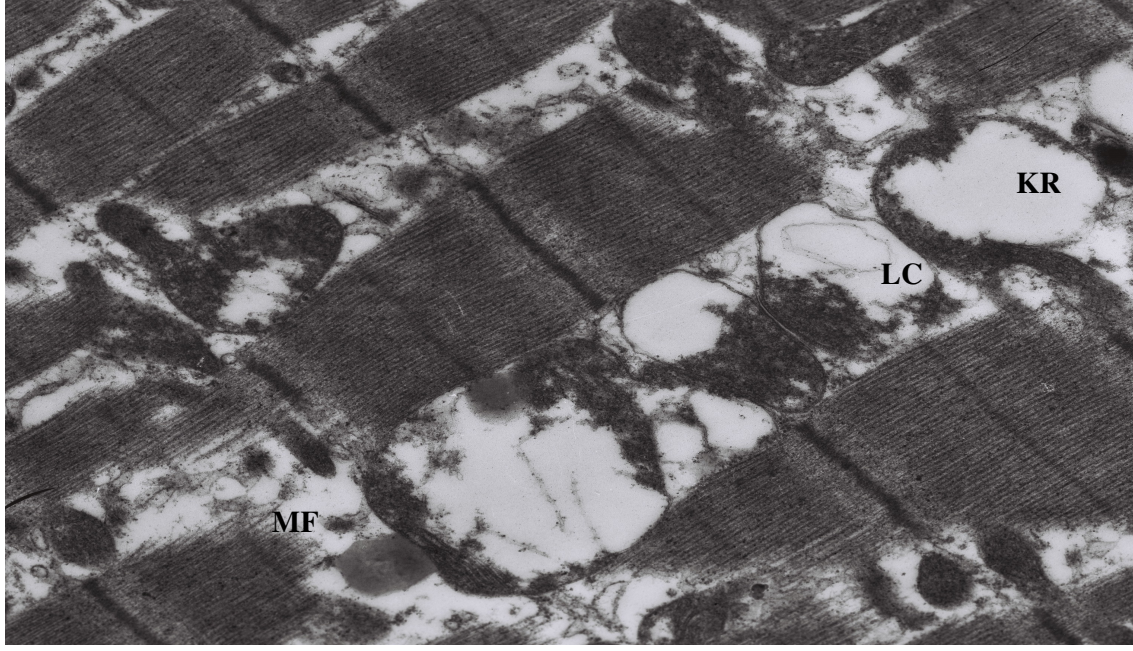
D8: 10 gün 1 mg/kg/gün Atorvastatin

D2 Grubunun TEM Bulguları

10 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus etrafında yer alan mitokondrilerde sayıca artış gözlemlendi. Bazı alanlardaki mitokondrilerde kristalizis şekillenirken lameller cisimciklere rastlandı (Resim-31). Çok belirgin miyofibril kaybı görüldü. Miyofibril kaybı olan bölgelere mitokondri göçü gözlenirken, mitokondrilerin kristalizise uğradığı tespit edildi. Ayrıca mitokondrionlar vakuoler tarzda ve içinde lameller cisimciklere rastlanıldı. Miyofilamanlar Z bandına ulaşmadan kesintiye uğradığı tespit edildi (Resim-32).



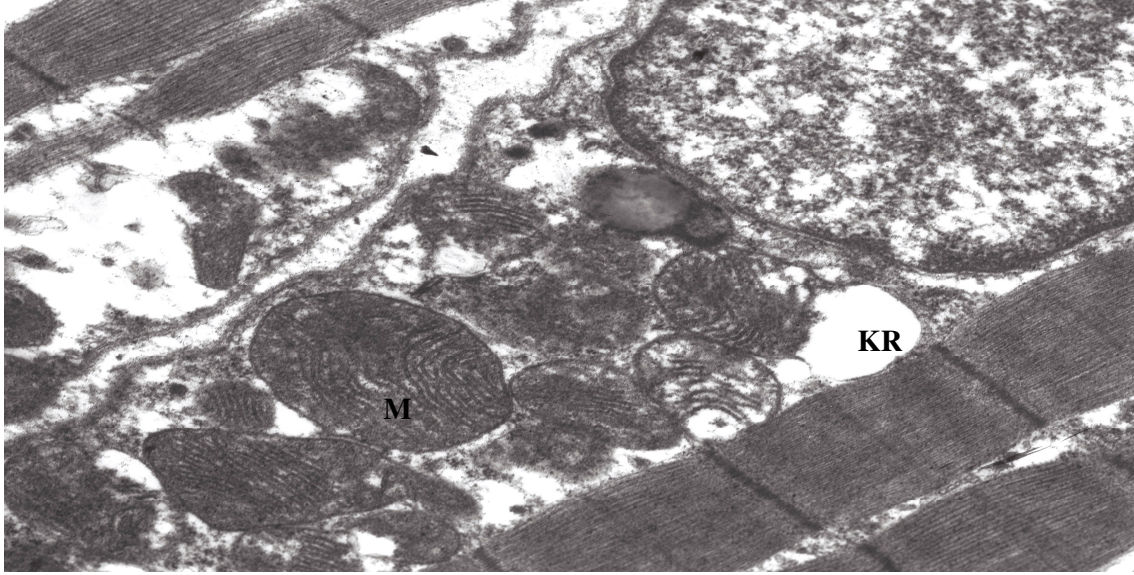
Resim-31: D2 Grubu, 10 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Nükleus etrafında yer alan mitokondrionlarda sayıca artış gözlemlendi. Bazı alanlardaki mitokondrionlarda kristalizis (KR) şekillenirken lameller cisimciklere (LC) rastlandı (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).



Resim-32: D2 Grubu, 10 gün boyunca 0.1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Çok belirgin miyofibril (MF) kaybı görüldü. Miyofibril kaybı olan bölgelere mitokondrion göçü gözlenirken, mitokondrionların kristalizise (KR) uğradığı tespit edildi. Ayrıca mitokondrionlar vakuoler tarzda ve içinde lameller cisimciklere (LC) rastlanıldı. Miyofilamanlar Z bandına ulaşmadan kesintiye uğramıştı (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

D5 Grubunun TEM Bulguları

10 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus etrafındaki mitokondrionlarda şişme ve yer yer kristalizis tespit edildi (Resim-33). Miyoflamanlarda Z bandına doğru bozulma ve miyoflamanlarda yer yer silinme görülmekle birlikte bu alanlarda ödem tespit edildi (Resim-34).



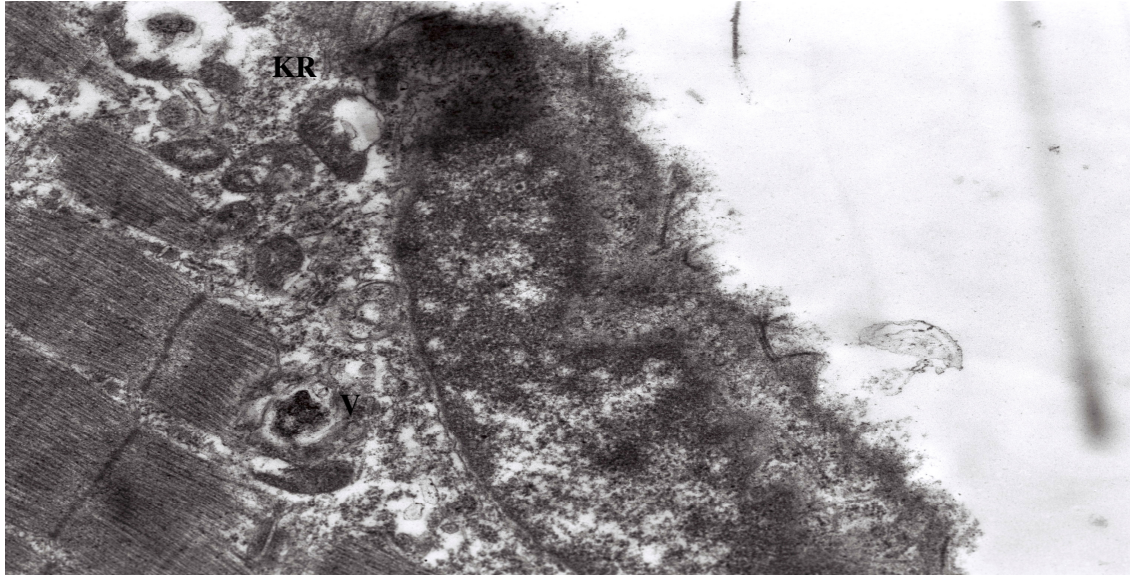
Resim-33: D5 Grubu, 10 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Nükleus etrafındaki mitokondrionlarda (M) şişme ve yer yer kristalizis (KR) tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).



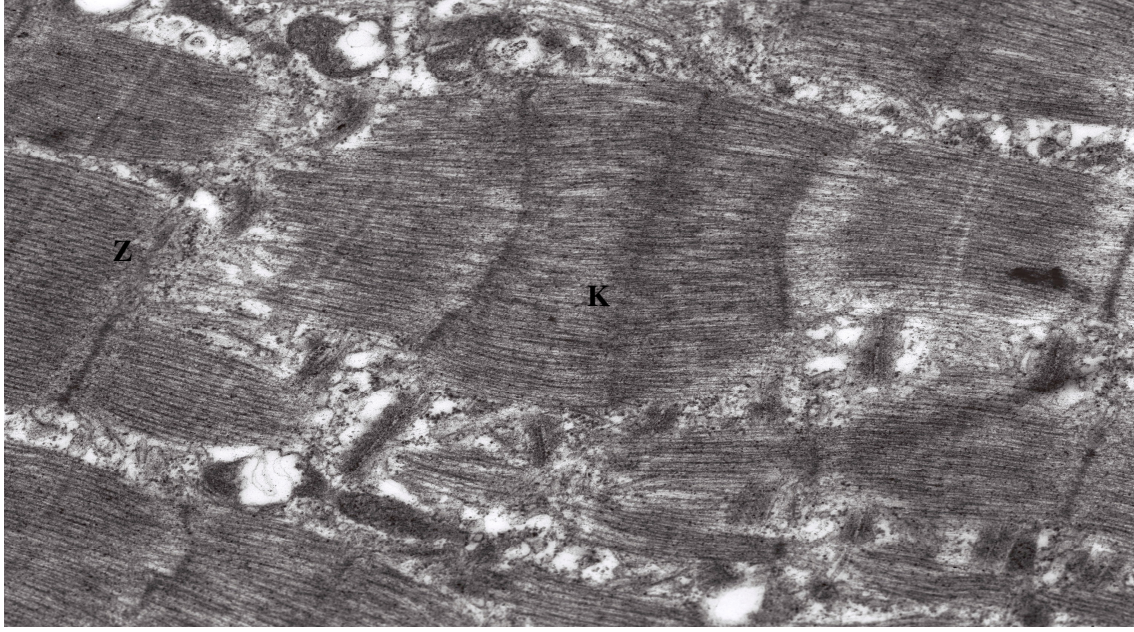
Resim-34: D5 Grubu, 10 gün boyunca 0.5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Miyoflamanlarda (MF) Z bandına doğru bozulma ve miyoflamanlarda yer yer silinme görülmeyle birlikte bu alanlarda ödem (O) tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

D8 Grubunun TEM Bulguları

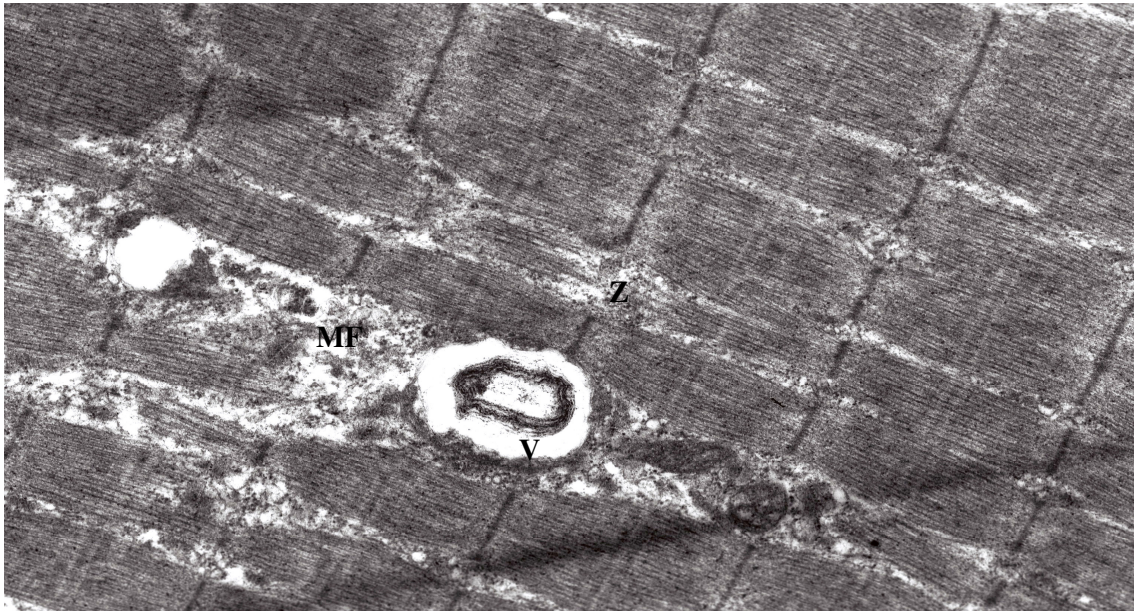
10 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleusta kromatin artışı, çevre sitoplazmadaki mitokondrionlarda şişme ve kristalizis gözlemlendi. Miyofibriller arasında miyeloid figürler içeren vakuoller belirgindi (Resim-35). Bazı alanlarda kontraksiyonun arttığı ve bu bölgelerde miyofibril çapının arttığı, Z bantlarının kaybolduğu belirlendi (Resim-36). Bazı alanlarda miyofibriller arası sitoplazmik bölgede bir zarla çevrili olmayan vakuollerin şekillendiği ve bunların içinde miyeloid figürlerin varlığı dikkati çekti. Miyofibrillerde dejenerasyon ve miyoflaman kaybı tespit edildi (Resim 37).



Resim-35: D8 Grubu, 10 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Nükleusta kromatin artışı, çevre sitoplazmadaki mitokondrionlarda şişme ve krista kaybı (KR) gözlemlendi. Miyofibriller arasında miyeloid figürler içeren vakuoller (V) tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).



Resim-36: D8 Grubu, 10 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Bazı alanlarda kontraksiyonun arttığı ve bu bölgelerde miyofibril çapının arttığı gözlenirken (K), Z bantlarının (Z) kaybolduğu belirlendi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).



Resim-37: D8 Grubu, 10 gün boyunca 1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Bazı alanlarda miyofibriller arası

sitoplazmik bölgede bir zarla çevrili olmayan vakuollerin (V) şekillendiği ve bunların içinde miyeloid figürlerin varlığı dikkati çekti. Miyofibrillerde dejenerasyon ve miyoflaman kaybı (MF) tespit edildi. Z bantlarının (Z) kaybolduğu belirlendi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

4.2.4 15 Günlük Deney Grupları

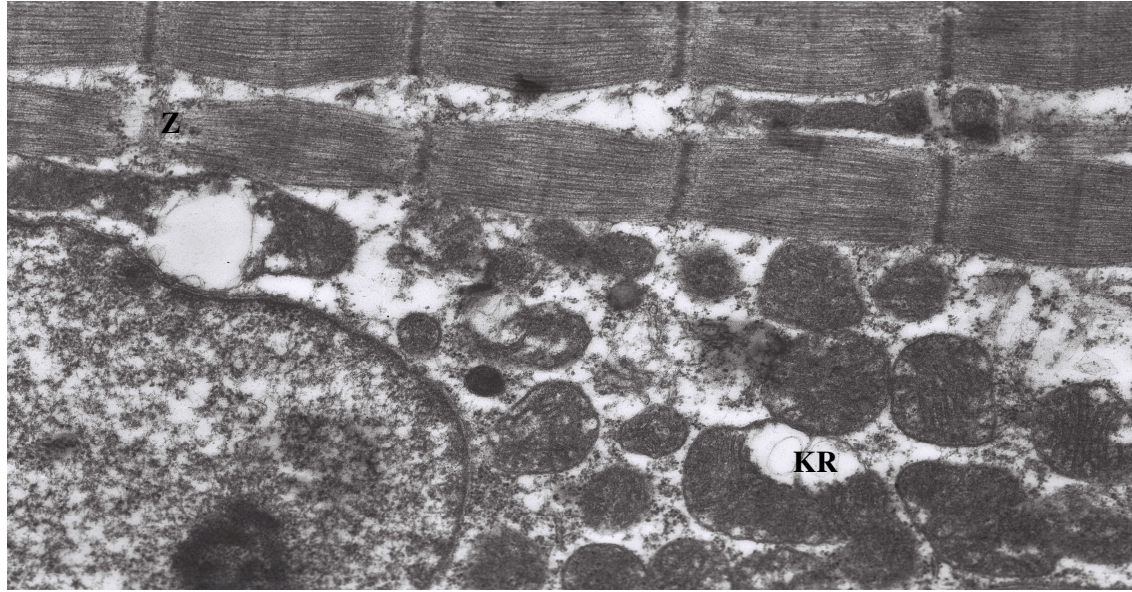
D3: 15 gün 0,1 mg/kg/gün Atorvastatin

D6: 15 gün 0,5 mg/kg/gün Atorvastatin

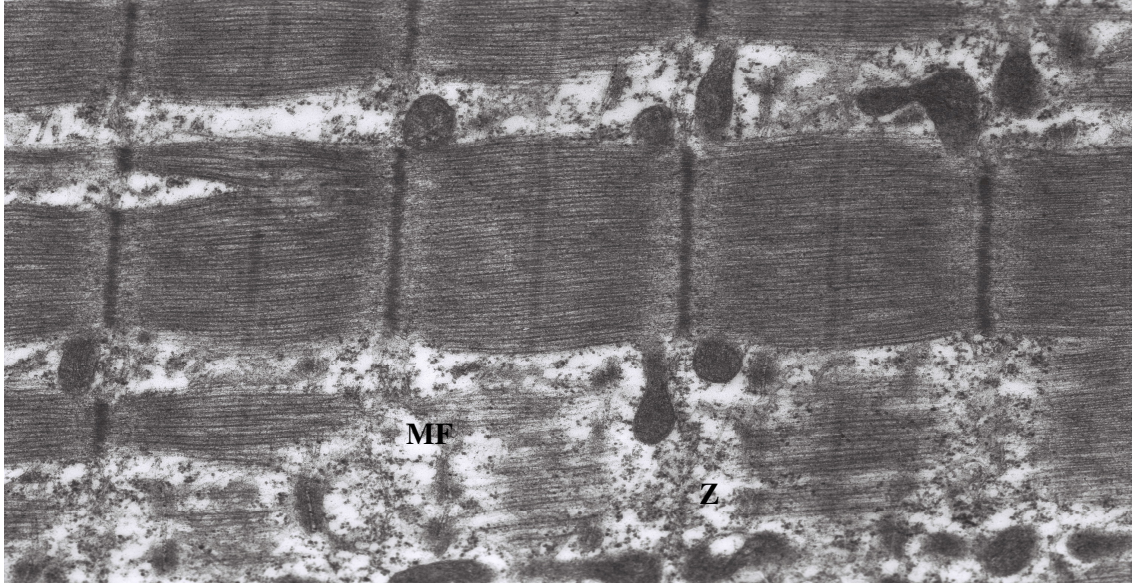
D9: 15 gün 1 mg/kg/gün Atorvastatin

D3 Grubunun TEM Bulguları

0,1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus etrafında kümelenmiş mitokondrionlar bulunurken, bunların bazılarında kristalizis, Z bandında bozulmalar (Resim-38) ve miyoflaman kaybı tespit edildi (Resim-39).



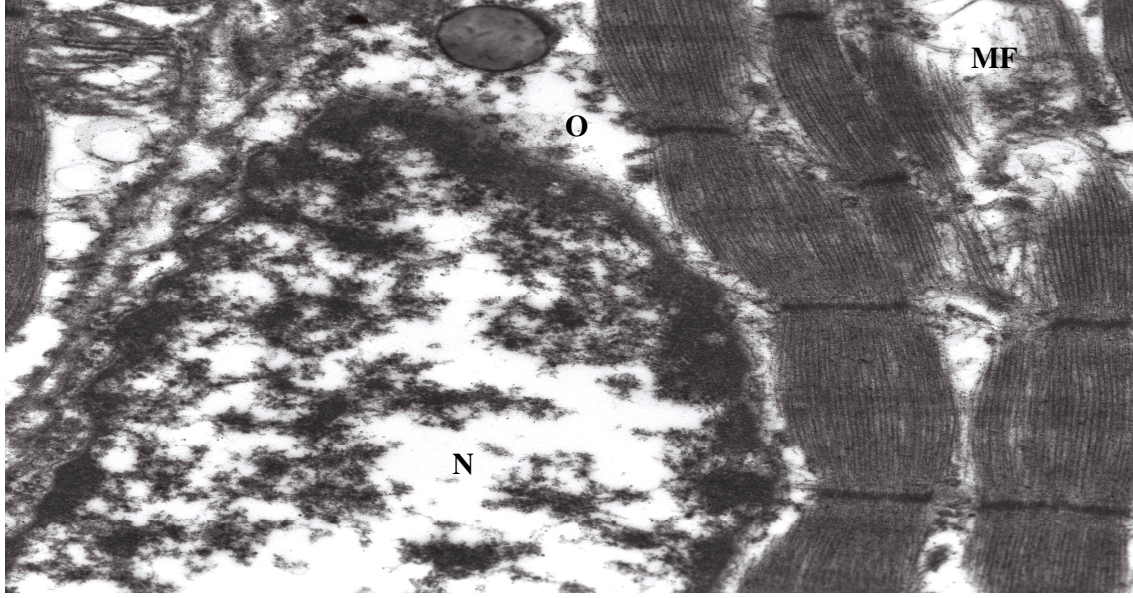
Resim-38: D3 Grubu, 15 gün boyunca 0,1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Nükleus etrafında kümelenmiş mitokondrionlarda kristalizis (KR) gözlemlendi. Z bandında bozulmalar (Z) tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).



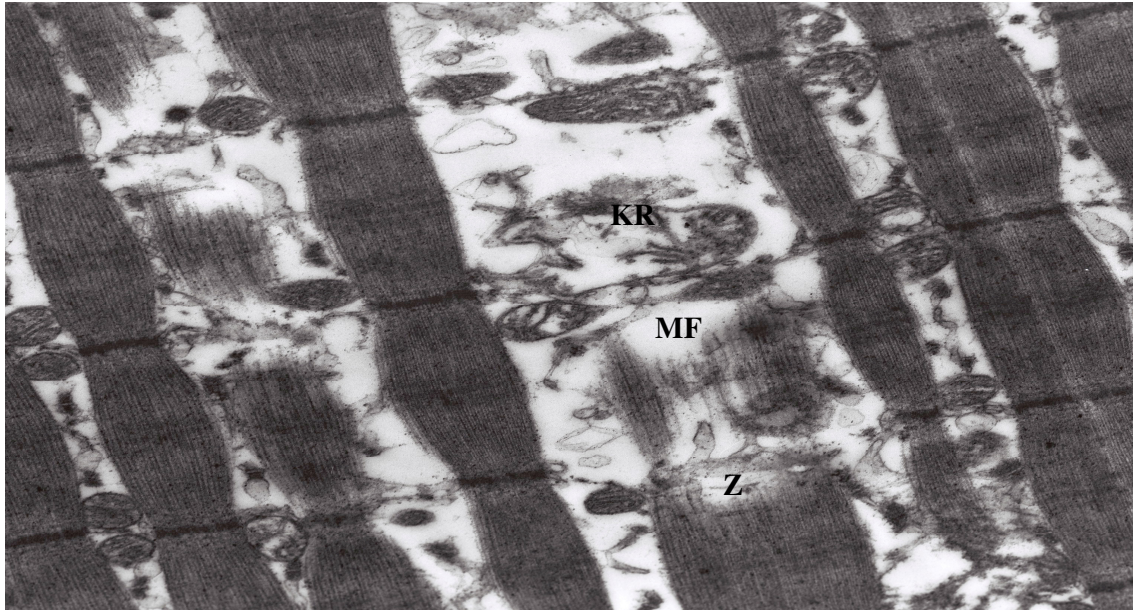
Resim-39: D3 Grubu, 15 gün boyunca 0,1mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Miyoflaman kaybı (MF) ve Z bandında (Z) bozulmalar tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

D6 Grubunun TEM Bulguları

15 gün boyunca 0,5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Nükleus kromatin dağılımında düzensizlik, perinükleer alanlarda yer yer ödem ve miyoflaman kaybı tespit edildi (Resim-40,41).



Resim-40: D6 Grubu,15 gün boyunca 0,5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Nükleus kromatin (N) dağılımında düzensizlik, perinükleer alanlarda yer yer ödem(O) ve miyoflaman kaybı (MF) tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

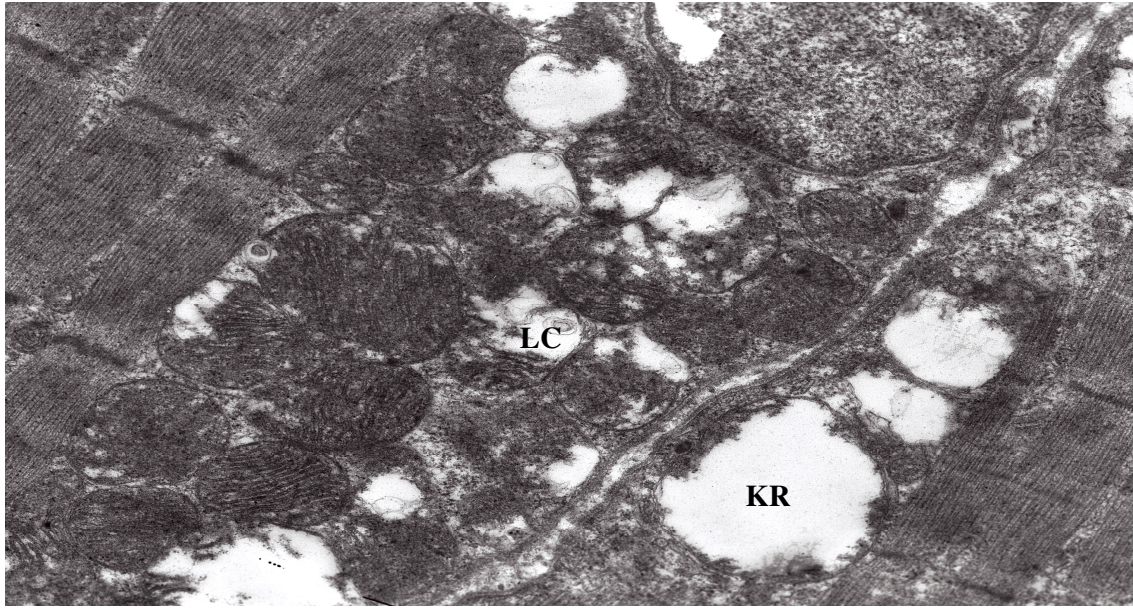


Resim-41: D6 Grubu,15 gün boyunca 0,5mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Ciddi miyoflaman (MF) kaybı, mitokondrial

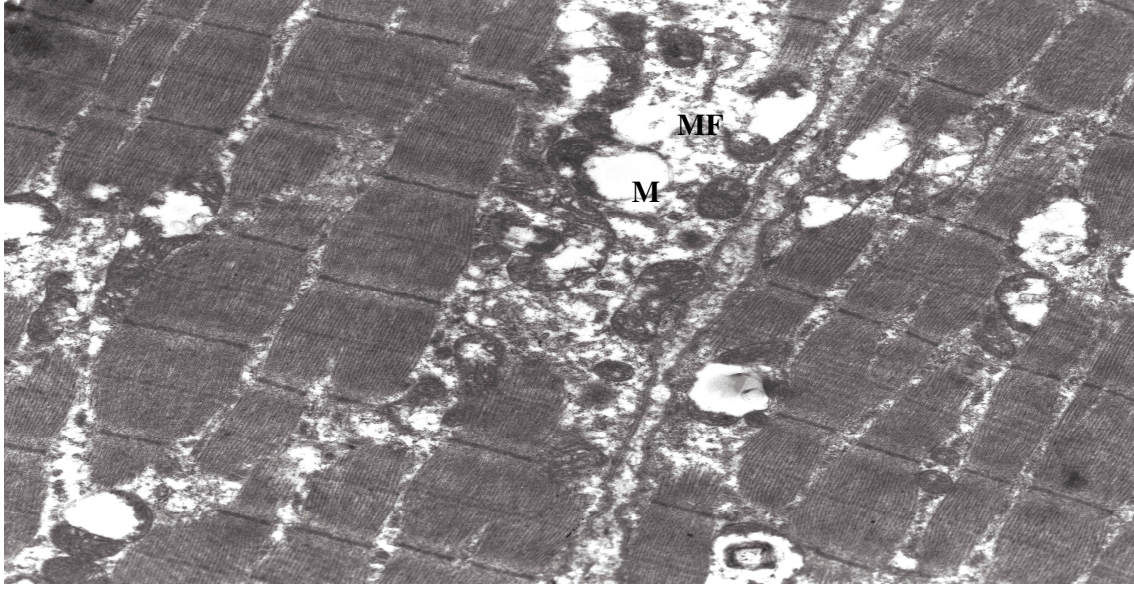
kristalizis (KR) ve Z bantlarında (Z) bozulmalar tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

D9 Grubunun TEM Bulguları

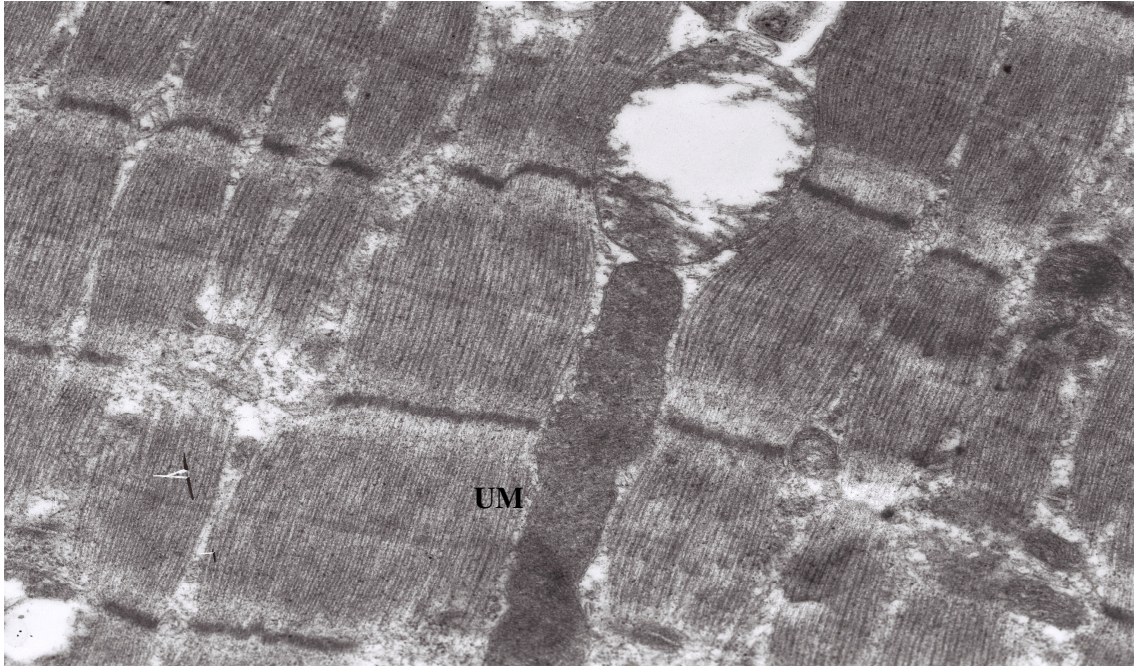
1 mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümünde; Vakuol tarzındaki mitokondrionlarda aşırı genişleme, kristalizis ve ayrıca lameller cisimcikler gözlemlendi (Resim-42). Miyofibrillerde son derece belirgin silinme ve fibrillerin çoğunda sarkomer bölgesinin ortadan kalktığı ve bölgenin mitokondrionlardan zengin sitoplazma ile dolduğu gözlemlendi (Resim-43). Mitokondrionlarda belirgin bir şekilde uzama tespit edildi, bununda enerji metabolizmasındaki ihtiyaç artışından kaynaklandığı düşünüldü (Resim-44). Miyofibriller arasında vakuoller içinde miyeloid figürlerin arttığı, bazı mitokondrialarda krista kaybı ve lameller cisimcikler tespit edildi (Resim-45).



Resim-42: D9 Grubu, 15 gün boyunca 1 mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Vakuol tarzındaki mitokondrionlarda aşırı genişleme, kristalizis(KR) ve lameller cisimcikler (LC) gözlemlendi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).



Resim-43: D9 Grubu, 15 gün boyunca 1 mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Miyofibrillerde son derece belirgin silinme (MF) ve fibrillerin çoğunda sarkomer bölgesinin ortadan kalktığı, bölgenin mitokondrionlardan (M) zengin sitoplazma ile dolduğu gözlemlendi (Kurşun asetat uranil sitrat X 7000).



Resim-44: D9 Grubu, 15 gün boyunca 1 mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; Mitokondrionlarda belirgin bir şekilde uzama (UM) izlenmektedir (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).



Resim-45: D9 Grubu, 15 gün boyunca 1 mg/kg Atorvastatin verilen ratların quadriceps femoris kasının elektron mikroskopik görünümü; miyofibriller arasında vakuoller (V) içinde miyeloid figürlerin arttığı, mitokondrionlarda uzama, bazı mitokondrialarda krista kaybı ve lameller cisimcikler (LC) tespit edildi (Kurşun asetat uranil sitrat X 12000).

5- TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsanlarda ve bazı deney hayvanlarında statin kullanımına bağlı olarak gelişen kas miyopatisi ile ilgili histopatolojik değişiklikler pek çok araştırmacı tarafından tanımlanmıştır(Baker ve ark. 2001, Rousseau ve ark. 1998, Thelin ve ark. 1992). Sıçanlarda statinlerle ilgili yapılan çalışmalarda genel anlamda iskelet kaslarında inflamasyon ve nekroz önemli sayılan bulgular içinde yer almıştır (von-Keutz ve ark. 1998, Manfredi ve ark. 2001, Smith ve ark. 1991).

William H Schafer ve arkadaşları (William ve ark. 2004) bir statin türevi olan cerivastatini 10 gün süreyle sıçanlara uygulayıp, ışık mikroskobu ile değerlendirdiklerinde quadriceps femoris kasında herhangi bir değişiklik olmadığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda 10 gün süre ile 0,1–0,5 mg/kg/gün atorvastatin verdiğimiz rat quadriceps femoris kasının ışık mikroskobik bulgularında, kas liflerinde dejeneratif değişiklikler ve nekrozda artış tespit ettik. Bu bulgularımız William H Schafer ve arkadaşlarının (William 2004) ortaya koydukları bulgularla farklılık göstermekteydi. Oysa William H Schafer ve arkadaşları bir statin türevi olan cerivastatini yüksek dozlarda 12 ve 15 gün süre ile verdiklerinde ise quadriceps femoris kasında dejenerasyon ve birtakım biyokimyasal değişikliklere neden olduğunu, 0,5 – 1mg/kg 15 gün süre ile uyguladıkları cerivastatinin etkisine bağlı olarak ise, kas liflerinde nekroz, kas lifleri arasında makrofaj infiltrasyonu, yer yer fibroblast proliferasyonu ve endomisyal kılıfta bağdoku artışının olduğunu gözlemişlerdir. William H Schafer ve arkadaşlarının (William ve ark. 2004) yüksek dozda cerivastatin verdikleri bulgular ile bizim 0,5-1mg/kg 10–15 gün süre ile atorvastatin verdiğimiz ratların quadriceps femoris kaslarındaki bulgular ile bizim bulgularımız paralellik göstermekteydi. Aynı kaynak 10 ve 15 günlük yüksek dozda sıçanlara uyguladıkları cerivastatinin etkisine bağlı olarak quadriceps kasında ultrastrüktürel düzeyde 10. günde etki gözlemezken 15. günde sarkomerlerde organizasyon bozukluğu, miyofibrillerde dejeneratif değişiklikler, mitokondrionlarda yassılaşıma ve mitokondriyal kristalizis saptamışlardır. William H Schafer ve arkadaşlarının 10 ve 15 günlük yüksek dozda sıçanlara uyguladıkları cerivastatinin etkisine bağlı olarak quadriceps femoris kasında ultrastrüktürel düzeyde 10. günde etki gözlemezken, çalışmamızda 10 gün boyunca atorvastatin verdiğimiz ratların quadriceps femoris kaslarının ultrastrüktürel yapısında mitokondrilerde artış ve mitokondriyal kristalizis tespit ettik. William H Schafer ve arkadaşlarının(William ve ark. 2004) bulgularıyla bizim bulgularımız büyük oranda paralellik göstermemektedir. Ancak; mitokondrilerdeki vakuoler görünüm ve yer yer lameller cisimciklerin varlığı, kas liflerindeki miyofilaman kaybı gibi bulgularımız William H

Schafer ve arkadaşlarının (William ve ark. 2004) yapmış oldukları çalışmada bahsetmedikleri bulgular olarak saptandı.

Waclawik ve arkadaşları (Waclawik ve ark. 1993) 10 gün süre ile bir statin türevi olan lovastatin uyguladıkları ratların gastrocnemius kasında, ışık mikroskopik düzende değerlendirdiklerinde miyopatik değişiklikler gözlemişlerdir. Waclawik ve arkadaşları 10 gün süre ile lovastatin uyguladıkları ratların gastrocnemius kaslarını ayrıca değerlendirdiklerinde kas fibrillerinde nekroz ve makrofaj infiltrasyonuna rastlamışlardır. Bu bulgular ile, bizim çalışmamızdaki 10 gün süreli atorvastatinin grubundaki hem ilaç dozu uygulaması hemde süre bakımından değerlendirildiğinde, ışık mikroskopik ve ultrastrüktürel bulgularımız ile benzerlik göstermektedir. Waclawik ve arkadaşlarının yaptığı ultrastrüktürel gözlemlerde ise gastrocnemius kasında sarkoplazmik retikulum ve mitokondrilerde değişikliklerden bahsetmektedirler. Ortaya koydukları bu bulgular, bizim bulgularımızla büyük oranda paralellik göstermektedir, ayrıca ultrastrüktürel düzeyde kas liflerinde görülen dejenerasyon, bizim çalışmamızda ekstra bulgu olarak saptandı. Ayrıca Waclawik ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada lovastatin uygulamasında 10.-12. günlerde gastrocnemius ve soleus kaslarında ultrastrüktürel bakıda; anormal şekilli mitokondriler, sarkoplazmik retikulumda dilatasyon, mitokondrilerde lameller cisimciklerin oluştuğu bildirimleri bizim bulgularımızla büyük oranda paralellik göstermektedir.

SONUÇ:

- a-** Atorvastatin iskelet kası üzerindeki histopatolojik etkisinin düşük dozdan başlayarak yüksek doza, doğru orantılı olarak artış gösterdiği,
- b-** Özellikle ultrastrüktürel düzeyde miyofilaman kaybının Z bandına doğru olduğu, bunun kas dejenerasyonunun en belirgin özelliklerinden biri olabileceği,
- c-** Mitokondrionların, özellikle anormal şekiller kazanarak kristalizise uğraması, vakuoler görünüm kazanması ile birlikte lameller cisimciklere rastlanması,
- d-** Ayrıca bozulan enerji metabolizmasını kompanse etmek amaçlı; mitokondrilerin boylarının uzadığı, füzyona uğradıkları ve sayıca çoğaldıkları,
- e-** Nükleuslardaki ovalleşmenin ve kromatin dağılımındaki düzensizliğin nedeninin; kas liflerindeki protein sentezini ve kas liflerindeki rejenerasyon hadisesini gösterdiği, bu araştırmanın sonuçları olarak ortaya çıkmaktadır.
- f-** Bu nedenlerle; atorvastatinin iskelet kaslarında göstermiş olduğu toksik etki ile birlikte, doz ve zaman baz alınarak, klinik açıdan hasta tedavilerinde daha dikkatli davranılması gerektiği kanaatine varıldı.

6- KAYNAKLAR:

- ABE K, FUJIMURA H, NISHIKAWA Y, YORIFUJİ S, MEZAKİ T, HIRONO N, et al. (1991). Marked reduction in CSF lactate and pyruvate levels after CoQ therapy in a patient with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS). *Acta Neurol Scand*; **83**:356-9.
- ABE K, MATSUO Y, KADEKAWA J, INOUE S, YANAGIHARA T. (1999). Effect of coenzyme Q10 in patients with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS): evaluation by noninvasive tissue oximetry. *J Neurol Sci*; **162**:65-8.
- ARTUCH R, COLOME C, VILASECA MA, PİNEDA M, CAMPİSTOL J. (1999); [Ubiquinone: metabolism and functions. Ubiquinone deficiency and its implication in mitochondrial encephalopathies. Treatment with ubiquinone]. *Rev Neurol* 29:59-63.
- BAKER, S.K., TARNOPOLSKY, M.A. (2001) Statin myopathies: pathophysiologic and clinical perspectives. *Clin. Invest. Med.*; **24**, 258– 272.
- BAKRİS GL, LASS N, GABER AO, JONES JD, BURNETT JC JR. (1990). Radiocontrast medium-induced declines in renal function: a role for oxygen free radicals. *Am J Physiol*; **258**:F115–20.
- BEAL MF. (1995). Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann Neurol* **38**:357-66.
- BELLOSTA S, BERNİNİ F, FERRİ N, QUARATO P, CANAVESİ M, ARNABOLDİ L, et al. (1998). Direct vascular effects of HMGCoA reductase inhibitors [review]. *Atherosclerosis*; **137**Suppl:S101–9.
- BENNETT, W. E., DRAKE, A. J. 3RD AND SHAKIR, K. M. (2003). Reversible myopathy after statin therapy in patients with normal creatine kinase levels. *Ann Intern Med* **138**: 436–7.
- BEYER RE. (1992). An analysis of the role of coenzyme Q in free radical generation and as an antioxidant. *Biochem Cell Biol*; **70**.390–403.
- BİLLECKE S, DRAGANOV D, COUNSELL R, STETSON P, WATSON C, et al. (2000). Human serum paraoxanase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze Lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos*; **28**:1335-42.
- BOGMAN K, PEYER AK, TOROK M, KUSTERS E, DREWE J:(2001) HMG-CoA reductase inhibitors and P-glycoprotein modulation. *Br J Pharmacol*, **132**, 1183–1192.

- BRAMOW S, OTT P, THOMSEN NIELSEN F, BANGERT K, TYGSTRUP N, DALHOFF K: (2001). Cholestasis and regulation of genes related to drug metabolism and biliary transport in rat liver following treatment with cyclosporine A and sirolimus (Rapamycin). *Pharmacol Toxicol*, **89**, 133–139.
- BROWN MS, GOLDSTEIN JL. Drugs used in the treatment of hyperlipoproteinemias. In: Gilman AG, Rall TW, Nies AL, Taylor P, editors. (1991). *The pharmacologic basis of therapeutics*. Oxford: Pergamon Press;. p.874–96.
- CALISKAN S, CALISKAN M, KURALAY F, ONVURAL B. (2000). Effect of simvastatin therapy on blood and tissue ATP levels and erythrocyte membrane lipid composition. *Res Exp Med (Berl)*; **199**:189-94.
- CHAN A, REICHMANN H, KOGEL A, BECK A, GOLD R. (1998); Metabolic changes in patients with mitochondrial myopathies and effects of coenzyme Q10 therapy. *J Neurol* **245**:681-5.
- CHARIOT P, ABADIA R, AGNUS D, DANAN C, CHARPENTIER C, GHERARDI RK. (1993). Simvastatin-induced rhabdomyolysis followed by a MELAS syndrome. *Am J Med*; **94**: 109-10.
- CHELLO M, MASTROROBERTO P, ROMANO R, BEVACQUA E, PANTALEO D, ASCIONE R, et al. (1994). Protection by coenzyme Q10 from myocardial reperfusion injury during coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg*; **58**: 1427-32.
- CHEN C, MIRELES RJ, CAMPBELL SD, LIN J, MILLS JB, XU JJ, et al. (2005). Differential interaction of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors with ABCB1, ABCC2, and OATP1B1. *Drug Metab Dispos*; **33**:537-46.
- CHERINGTON M: (1998). Clinical spectrum of botulism. *Muscle Nerve*, **21**, 701–710.
- CHU A, STEFANI E. (1991). Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate- induced Ca^{+2} release from skeletal muscle sarcoplasmic reticulum terminal cisternal membranes. Ca^{+2} flux and single channel studies. *J Biol Chem*; **266**:7699-705.
- CHUCRALLAH A, DE GIROLAMI U, FREEMAN R, FEDERMAN M.(1992). Lovastatin/gemfibrozil myopathy: a clinical, histochemical, and ultrastructural study. *Eur Neurol*; **32**.293–6.
- CORNELIUS F. (1991). Functional reconstitution of the sodium pump. Kinetics of Exchange reactions performed by reconstituted Na/K-ATPase. *Biochim Biophys Acta*; **1071**:19-66.
- DE PINIEUX G, CHARIOT P, AMMI-SAID M, LOUARN F, LEJONC JL, ASTIER A, et al. (1996). Lipid-lowering drugs and mitochondrial function: effects of HMG-CoA

- reductase inhibitors on serum ubiquinone and blood lactate/pyruvate ratio. *Br J Clin Pharmacol*; **42**:333-7.
- DO TQ, SCHULTZ JR, CLARKE CF. (1996). Enhanced sensitivity of ubiquinone-deficient mutants of *Saccharomyces cerevisiae* to products of autoxidized polyunsaturated fatty acids. *Proc Natl Acad Sci U S A*; **93**:7534-9.
- DROMER C, VEDRENNE C, BILLEY T, PAGES M, FOURNIÉ B, FOURNIÉ A. (1992). [Rhabdomyolysis due to simvastatin. Apropos of a case with review of the literature]. *Rev Rhum Mal Osteoartic*; **59**:281-3.
- ELMBERGER PG, KALEN A, BRUNK UT, DALLNER G. (1989). Discharge of newly-synthesized dolichol and ubiquinone with lipoproteins to rat liver perfusate and to the bile. *Lipids*; **24**:919-3
- EMMERICH J, AUBERT I, BAUDUCEAU B, DACHET C, CHANU B, ERLICH D, et al. (1990). Efficacy and safety of simvastatin (alone or in association with cholestyramine). A 1- year study in 66 patients with type II hyperlipoproteinaemia. *Eur Heart J*; **11**:149-55.
- ERNSTER L, DALLNER G. (1995). Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta*; **1271**:195-204.
- EVANS M, REES A: (2002). Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on skeletal muscle: are all statins the same? *Drug Saf*, , **25**, 649-663.
- FLINT OP, MASTERS BA, GREGG RE, DURHAM SK: (1997). Inhibition of cholesterol synthesis by squalene synthase inhibitors does not induce myotoxicity in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol*, , **145**, 91-98.
- FLINT OP, MASTERS BA, GREGG RE, DURHAM SK. (1997). HMG CoA reductase inhibitor-induced myotoxicity: pravastatin and lovastatin inhibit the geranylgeranylation of low-molecular-weight proteins in neonatal rat muscle cell culture. *Toxicol Appl Pharmacol* **145**:99-110.
- FORSMARK-ANDREE P, LEE CP, DALLNER G, ERNSTER L. (1997). Lipid peroxidation and changes in the ubiquinone content and the respiratory chain enzymes of submitochondrial particles. *Free Radic Biol Med*; **22**:391-400.
- GHIRLANDA G, ORADEI A, MANTO A, LIPPA S, UCCIOLI L, CAPUTO S, et al. (1993). Evidence of plasma CoQ10-lowering effect by HMG-CoA reductase inhibitors: a doubleblind, placebo-controlled study. *J Clin Pharmacol*; **33**:226-9.

- GRAY DF, BUNDGAARD H, HANSEN PS, BUHAGIAR KA, MIHAILIDOU AS, JESSUP W, KJELDSSEN K et al. (2000). HMG CoA reductase inhibition reduces sarcolemmal Na(+)-K(+) pump density. *Cardiovasc Res*, , **47**, 329–335.
- GRAHAM DJ, STAFFA JA, SHATIN D, ANDRADE SE, SCHECH SD, LA GRENADE L, et al. (2004). Incidence of hospitalized rhabdomyolysis in Patients treated with lipid-lowering drugs. *JAMA*;**292**:2585-90.
- GRAHAM DJ,STAFFA JA,SHATIN D,ANDRADE SE,SCHECH SD,LA GRENADE L,GURWITZ JH,CHAN KA,GOODMAN MJ,PLATT R. (2004). Incidence of hospitalized rhabdomyolysis in patients treated with lipid-lowering drugs. *JAMA.*;**292**:2585-90.
- GUIJARRO C, BLANCO-COLIO LM, ORTEGO M, ALONSO C, ORTIZ A, PLAZA JJ, DIAZ C et al. (1998). 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and isoprenylation inhibitors induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture. *Circ Res*, **83**, 490–500.
- HEBERT PR, GAZIANO JM, CHAN KS, HENNEKENS CH. (1997). Cholesterol lowering with statin drugs: risk of stroke and total mortality. *JAMA.*; 278:313-321.
- The changing face of heart disease and stroke in Canada 2000. Executive summary. Ottawa: HEALTH CANADA. Available: www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/bcrdd/hdsc2000/index.html. Accessed Aug. 31, 2001.
- HSIANG B, ZHU Y, WANG Z, WU Y, SASSEVILLE V, YANG WP, Et al. (1999). A novel human hepatic organic anion transporting polypeptide (OATP2). Identification of a liver-specific human organic anion Transporting polypeptide and identification of rat and human Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitors transporters. *J Biol Chem*;**274**:37161-8.
- HODEL C: (2002). Myopathy and rhabdomyolysis with lipidlowering drugs. *Toxicol Lett*, , **128**, 159–168
- JACOBSEN W, KUHN B, SOLDNER A, KIRCHNER G, SEWING KF, KOLLMAN PA, et al. (2000). Lactonization is the critical first step in the Disposition of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitor of atorvastatin.*Drug Metab Dispos*;**28**:1369-78.
- JOHANSEN K, THEORELL H, KARLSSON J, DIAMANT B, FOLKERS K. (1991) Coenzyme Q10, alpha-tocopherol and free cholesterol in HDL and LDL fractions. *Ann Med*;**23**: 649-56.

- KAGAN T, DAVIS C, LIN L, ZAKERI Z: (1999). Coenzyme Q10 can in some circumstances block apoptosis, and this effect is mediated through mitochondria. *Ann N Y Acad Sci*, , **887**, 31–47.
- KANTOLA T, KIVISTO K, NEUVONEN P. (1998). Effect of itraconazole On the pharmacokinetics of atorvastatin. *Clin Pharmacol Ther*;**64**:58-65.
- KATSILAMBROS NJ, BRAATEN J, FERGUSON B, BRADLEY R. (1972). Muscular syndrome after clofibrate. *N Engl J Med*;**286**:1110-1.
- KEARNEY, A., CRAWFORD, L., MEHTA, S. AND RADEBAUGH, G. (1993). The interconversion kinetics, equilibrium, and solubilities of the lactone and hydroxyacid forms of the HMG-CoA reductase inhibitor, CI-981. *Pharm Res* 1993;**10**: 1461–5.
- KLIP A, HILL M, RAMLAL T: (1990). Halothane increases cytosolic, Ca₂₊ and inhibits Na₂/H₂ exchange in L6 muscle cells. *J Pharmacol Exp Ther*, , **254**, 552–559.
- LAAKSONEN R, OJALA JP, TIKKANEN MJ, HIMBERG JJ. (1994). Serum ubiquinone concentrations after short- and long-term treatment with HMG-CoA reductase inhibitors. *Eur J Clin Pharmacol*;**46**:313-7.
- LAAKSONEN R, JOKELAINEN K, SAHI T, TIKKANEN MJ, HIMBERG JJ. (1995) Decreases in serum ubiquinone concentrations do not result in reduced levels in muscle tissue during short-term simvastatin treatment in humans. *Clin Pharmacol Ther*;**57**:62-6
- LAAKSONEN R, JOKELAINEN K, LAAKSO J, SAHI T, HARKONEN M, TIKKANEN MJ, et al. (1995). The effect of simvastatin treatment on natural antioxidants in low-density lipoproteins and high-energy phosphates and ubiquinone in skeletal muscle. *Am J Cardiol* 1996; **77**:851-4.
- LAM CW, LAU CH, WILLIAMS JC, CHAN YW, WONG LJ. (1997). Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS) triggered by valproate therapy. *Eur J Pediatr*;**156**:562-4.
- Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). (1994) *LANCET*;**344**: 1383-9.
- MACALUSO M, RUSSO G, CINTI C, BAZAN V, GEBBIA N, RUSSO A: (2002). Ras family genes: an interesting link between cell cycle and cancer. *J Cell Physiol*, , **192**, 125–130.
- MANFREDI, G., SPINAZZOLA, A., CHECCARELLI, N., NAINI, A. (2001). Assay of mitochondrial ATP synthesis in animal cells. *Methods Cell Biol.*; **65**, 139– 141.

- MARGRETH A, DAMIANI E, BORTOLOSO E. (1999). Sarcoplasmic reticulum in aged skeletal muscle. *Acta Physiol Scand*; **167**:331-8.
- MARON DJ, FAZIO S, LINTON MF. (2000). Current perspectives On statins. *Circulation*; **101**:207-13.
- MATZNO S, YAMAUCHI T, GOHDA M, ISHIDA N, KATSUURA K, HANASAKI Y, TOKUNAGA T et al. (1997). Inhibition of cholesterol biosynthesis by squalene epoxidase inhibitor avoids apoptotic cell death in L6 myoblasts. *J Lipid Res*, **38**, 1639-1648
- MORTENSEN SA, LETH A, AGNER E, ROHDE M. (1997). Dose-related decrease of serum coenzyme Q10 during treatment with HMG-CoA reductase inhibitors. *Mol Aspects Med*; **18**Suppl:S137-44.
- MOSIENIAK G, FIGIEL I, KAMINSKA B. (1997). Cyclosporin A, an immunosuppressive drug, induces programmed cell death in rat C6 glioma cells by a mechanism that involves the AP-1 transcription factor. *J Neurochem*; **8**:1142-9.
- MUTOH T, KUMANO T, NAKAGAWA H, KURIYAMA M. (1999). Involvement of tyrosine phosphorylation in HMG-CoA reductase inhibitor-induced cell death in L6 myoblasts. *FEBS Lett*; **444**:85-9.
- MUTOH T, KUMANO T, NAKAGAWA H, KURIYAMA M. (1999). Role of tyrosine phosphorylation of phospholipase C gamma1 in the signaling pathway of HMG-CoA reductase inhibitor-induced cell death of L6 myoblasts. *FEBS Lett*; **446**:91-4.
- NAKAHARA K, YADA T, KURIYAMA M, OSAME M: (1994). Cytosolic Ca²⁺ increase and cell damage in L6 rat myoblasts by HMG-CoA reductase inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun*, **202**, 1579-1585.
- NAMBUDIRI AM, RANGANATHAN S, RUDNEY H. (1980). The role of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in the regulation of ubiquinone synthesis in human fibroblasts. *J Biol Chem*; **255**:5894-9.
- NOACK H, KUBE U, AUGUSTIN W. (1994). Relations between tocopherol depletion and coenzyme Q during lipid peroxidation in rat liver mitochondria. *Free Radic Res*; **20**:375-86.
- OMAR MA, WILSON JP. (2002). FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis. *Ann Pharmacother*; **36**:288-95.
- OLSON MF, ASHWORTH A, HALL A: (1995). An essential role for Rho, Rac, and Cdc42 GTPases in cell cycle progression through G1. *Science*, **269**, 1270-1272.

- OZDEMİR O, BORAN M, GOKCE V, UZUN Y, KOCAK B, KORKMAZ S. (2000). A case with severe rhabdomyolysis and renal failure associated with cerivastatin-gemfibrozil combination therapy — a case report. *Angiology*; **51**:695–7.
- PASCUZZI RM: (1998). Drugs and toxins associated with myopathies. *Curr Opin Rheumatol*, **10**, 511–520.
- PHILLIPS PS, HAAS RH, BANNYKH S, HATHAWAY S, GRAY NL, KIMURA BJ, et al (2002). Statin-Associated Myopathy with Normal Creatine Kinase Levels *Ann Intern Med*; **137**:581-5
- PIERNO S, DE LUCA A, TRICARICO D, FERRANNINI E, CONTE T, D'ALO G, et al. (1992). Experimental evaluation of the effects of pravastatin on electrophysiological parameters of rat skeletal muscle. *Pharmacol Toxicol*; **71**:325-9.
- PIERNO S, DE LUCA A, TRICARICO D, ROSELLI A, NATUZZI F, FERRANNINI E, et al. (1995). Potential risk of myopathy by HMG-CoA reductase inhibitors: a comparison of pravastatin and simvastatin effects on membrane electrical properties of rat skeletal muscle fibers. *J Pharmacol Exp Ther*; **275**:1490-6.
- PIERNO S, DE LUCA A, LIANTONIO A, CAMERINO C, CONTE CAMERINO D. (1999) Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on excitation-contraction coupling of rat skeletal muscle. *Eur J Pharmacol*; **364**:43-8.
- PONCHAUT S, VAN HOOFF F, VEITCH K. (1995). Valproate and cytochrome c oxidase deficiency. *Eur J Pediatr*; **154**:79.
- PRUEKSARITANONT T, GORHAM LM, MA B, LIU L, YU X, ZHAO JJ, SLAUGHTER DE et al. (1997). In vitro metabolism of simvastatin in humans [SBT]identification of metabolizing enzymes and effect of the drug on hepatic P450s. *Drug Metab Dispos*, , **25**, 1191–1199.
- PRUEKSARITANONT T, MA B, FANG X, SUBRAMANIAN R, YU J, LIN JH: (2001). Beta-oxidation of simvastatin in mouse liver preparations. *Drug Metab Dispos*, **29**, 1251–1255.
- PRUEKSARITANONT T, TANG C, QIU Y, MU L, SUBRAMANIAN R, LIN JH: (2002) Effects of fibrates on metabolism of statins in human hepatocytes. *Drug Metab Dispos*, **30**, 1280–1287.
- SPC. Summary of product characteristics (Lipitor, Parke-Davis and Pfizer). Dublin (Ireland): PFIZER IRELAND PHARMACEUTICALS; 2005 Sept. Available from: [URL:www.fda.gov/medwatch/SAFETY/2005/Sep_PI/Lipitor_PI.pdf](http://www.fda.gov/medwatch/SAFETY/2005/Sep_PI/Lipitor_PI.pdf). Accessed May 5, 2006.

- PRUEKSARĪTANONT T, MA B, FANG X, SUBRAMANĪAN R, YU J, LĪN JH, (2001). Beta oxidation of simvastatin in Mouse liver preparations. *Drug Metab Dispos*; **29**:1251-5.
- RAĪTERĪ M, ARNABOLDĪ L, MCGEADY P, GELB MH, VERĪ D, TAGLIABUE C, et al (1997). Pharmacological control of the mevalonate pathway: effect on arterial smooth muscle cell proliferation. *J Pharmacol Exp Ther*; **281**: 1144–53.
- REAVEN P, WĪTZTUM JL. (1988). Lovastatin, nicotinic acid, and rhabdomyolysis. *Ann Intern Med*; **109**:597–8.
- ROSENSEN RS, LOWE GD. (1998). Effects of lipids and lipoproteins On thrombosis and rheology. *Atherosclerosis*; **140**:271–80.
- ROSENSEN RS, TANGNEY CC.(1998). Antiatherothrombotic properties of statins: implications for cardiovascular event reduction. *JAMA*; **279**:1643–50.
- SCHWARTZ GG, OLSSON AG, EZEKOWĪTZ MD, GANZ P, OLĪVER MF, WATERS D, et al. (2001). Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA*; **285**:1711–8.
- SHEK A AND MJ FERRĪLL: (2001) Statin-fibrate combination therapy. *Ann Pharmacother*; **35**:908-17
- SHEPHERD J, COBBE SM, FORD I, ISLES CG, LORĪMER AR, MACFARLANE PW, et al. (1995). Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med*; **333**:1301-7.
- SMĪTH, P.F., EYDELLOTH, R.S., GROSSMAN, S.J., STUBBS, R.J., SCHWARTZ, M.S., Germershausen, J.I., Vyas, K.P., Kari, P.H., MacDonald, J.S. (1991). HMG-CoA reductase inhibitor-induced myopathy in the rat: cyclosporine A interaction and mechanism studies. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*; **257**, 1225– 1235.
- SOBREĪRA C, HĪRANO M, SHANSKE S, KELLER RK, HALLER RG, DAVIDSON E, et al.(1997). Mitochondrial encephalomyopathy with coenzyme Q10 deficiency. *Neurology*; **48**:1238-43.
- SPACH DH, BAUWENS JE, CLARK CD, BURKE WG. (1991). Rhabdomyolysis associated with lovastatin and erythromycin use. *West J Med*; **154**:213-5.
- SEKOWSKĪ I, SAMUEL P. (1972). Clofibrate-induced acute muscular syndrome. *Am J Cardiol*; **30**:572-4.

- TARNOPOLSKY MA, HICKS A, WINEGARD K. (1996). The effects of lithium on muscle contractile function in humans. *Muscle Nerve*; **19**:311-8.
- THIBAULT A, SAMID D, TOMPKINS AC, FIGG WD, COOPER MR, HOHL RJ, et al (1996). Phase I study of lovastatin, an inhibitor of the mevalonate pathway, in patients with cancer. *Clin Cancer Res*; **2**:483-91.
- THELIN, A., SCHEDIN, S., DALLNER, G. (1992). Half-life of ubiquinone-9 in rat tissues. *FEBS Lett.*; **313**, 118–1
- THOMPSON PD, CLARKSON P, KARAS RH. (2003). Statin-associated myopathy. *JAMA.*; **289**:1681-90
- TIKKANEN MJ, HIMBERG JJ: (1996). The effect of simvastatin? treatment on natural antioxidants in low-density lipoproteins and high-energy phosphates and ubiquinone in skeletal muscle. *Am J Cardiol*, **77**, 851–854.
- TOZAWA R.; AMANO Y.; WADA T.; IMURA Y.; SUGIYAMA Y. (2003). Comparing myotoxic effects of squalene synthase inhibitor, T-91485, and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors in human myocytes. *Biochem Pharmacol*; **66**:2133-9
- VAN VLIET AK, NEGRE-AMINOU P, VAN THIEL GC, BOLHUIS PA, COHEN LH (1996). Action of lovastatin, simvastatin, and pravastatin on sterol synthesis and their antiproliferative effect in cultured myoblasts from human striated muscle. *Biochem Pharmacol*; **52**:1387–92.
- VEERKAMP JH, SMIT JW, BENDERS AA, OOSTERHOF A. (1996). Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on growth and differentiation of cultured rat skeletal muscle cells. *Biochim Biophys Acta*; **1315**:217-22.
- VON-KEUTZ, E., SCHLUTER, G. (1998). Preclinical safety evaluation of cerivastatin, a novel HMG-CoA reductase inhibitor. *Am. J. Cardiol.*; **82**, 11J – 17J.
- WACLAWIK ANDREW J, M.D., SIGURD L, M.D., ANDREW G; M.D. (1993). Experimental lovastatin myopathy. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* .; 542-549.
- WANG JS, WEN X, BACKMAN JT, NEUVONEN PJ: (2002) Effect of albumin and cytosol on enzyme kinetics of tolbutamide hydroxylation and on inhibition of CYP2C9 by gemfibrozil in human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* , **302**, 43–49.
- WARREN JD, BLUMBERGS PC, THOMPSON PD: (2002). Rhabdomyolysis: a review. *Muscle Nerve* , **25**, 332–347.

- WILLIAM H, JEFFERY W, AMY F, DANA A, LORI A, DENNIS C, CONRAD E, NATHAN X, GEORGE R, CLAY B, (2004). Evaluation of ubiquinone Concentration and mitochondrial function relative to cerivastatin- Induced skeletal myopathy in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*; **194** 10-23.
- WILLIS RA, FOLKERS K, TUCKER JL, YE CQ, XIA LJ, TAMAGAWA H (1990). Lovastatin decreases coenzyme Q levels in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*; **87**:8928-30.
- WACLAWIK AJ, LINDAL S, ENGEL AG. (1993). Experimental lovastatin myopathy. *J Neuropathol Exp Neurol*; **52**:542-9.
- WALRAVENS PA, GREENE C, FRERMAN FE. (1989). Lovastatin, isoprenes, and myopathy. *Lancet*; **2**:1097-8.
- YAMAGUCHI M, HANAHISA Y, MURATA T. (1999). Expression of calcium-binding protein regucalcin and microsomal Ca²⁺-ATPase regulation in rat brain: attenuation with increasing age. *Mol Cell Biochem*; **200**:43-9.
- YEAGLE PL. (1991). Modulation of membrane function by cholesterol. *Biochimie*; **73**:1303-10.
- YOSHIOKA T, FOGO A, BECKMAN JK. (1992). Reduced activity of antioxidant enzymes underlies contrast media-induced renal injury in volume depletion. *Kidney Int*; **41**:1008-15.
- ZHANG FL, CASEY PJ. (1996). Protein prenylation: molecular mechanisms and functional consequences. *Annu Rev Biochem*; **65**:241-69.

7- ÖZ GEÇMİŞ

1991 yılında İstanbul Üniversitesi veteriner fakültesine öğrenci olarak başladım ve 1997 yılında mezun oldum. Mezuniyet sonrasında 1998 yılında Dicle Üniversitesi Veteriner fakültesinde Araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen aynı fakültede Veteriner hekim olarak görev yapmaktayım.

2002 yılının eylül ayında Dicle üniversitesi tıp fakültesi Histoloji ve Embriyoloji anabilim dalında doktora programına başladım ve 14.09.2007 tarihinde doktora programını bitirdim.

ÖZET

Çalışmamızda, bir statin türevi olan atorvastatinin sıçan iskelet kasında oluşturduğu yapısal değişikliklerin ışık ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) düzeyinde incelenmesi ve değerlendirilmesi amaçlandı. 40 adet erişkin erkek wistar albino rat; biri kontrol ve dokuzu deney grupları olmak üzere 10 eşit gruba bölündü. Deneyin başlamasından sonra 5. 10. ve 15. günlerde kurban edilen ratların quadriceps femoris kasları ışık ve elektron mikroskobunda incelendi. Kontrol grubundan elde edilen kasların histopatolojik incelemelerinde herhangi bir yapısal değişikliğe rastlanmazken, diğer 9 deney grubundan elde edilen kas örneklerinde değişen derecelerde histopatolojik bulgular elde edildi. Genel olarak kaslarda dejenerasyon, kontraksiyon, nekroz, bağdoku artışı, mononükleer hücre infiltrasyonu, kas lifleri arasında vakuoler yapılar ve sentral nükleus belirgin artış göstermekteydi. Burada da histopatolojik bulgularımız, doz ve zaman arttıkça buna paralel olarak artış gösterdi. Ultrastrüktürel düzeyde; Miyoflaman ve miyofibril kaybı, mitokondrionlarda kristalizis, sayıca ve hacimce artış, nükleus etrafında yada miyoflaman kaybının olduğu bölgelerde kümelenmiş durumdaydılar. Özellikle Z bandındaki deformasyon ve silinme belirgin bulgulardandı. Bu bulguların derecesi, atorvastatinin verilme dozu ve verilme zamanı arttıkça buna paralel olarak artış gösterdi. Sonuç olarak atorvastatin etkisinin iskelet kası üzerinde düşük dozdan başlayarak yüksek doza doğru, histopatolojik etkinin doğru orantılı olarak arttığı, özellikle ultrastrüktürel düzeyde miyofilaman kaybının Z bandına doğru olduğu kas dejenerasyonunun en belirgin özelliklerinden biri olarak tespit edilmiştir. Mitokondrial değişikliklerin özellikle anormal şekiller kazanarak kristalize uğraması ve vakuoler görünüm kazanması bununla birlikte lameller cisimciklere rastlanması, mitokondrial hasarın atorvastatin etkisine bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Bunun yanında bozulan oksidatif enerji metabolizmasını kompanse etmek amaçlı mitokondrionların boylarının uzadığı, füzyona uğradıkları ve sayıca çoğaldıkları tespit edilmiştir. Atorvastatinin iskelet kaslarında göstermiş olduğu toksik etki ile birlikte, klinikte doz ve zaman baz alınarak, hasta tedavilerine ışık tutacağı kanaatine varıldı.

Anahtar sözcükler: Atorvastatin, sıçan, kas nekrozu, histopatoloji, ultrastrüktürel yapı

SUMMARY

In this study we evaluated toxic effects of atorvastatin on the development of muscle necrosis in rats at the transmission electron microscopy (TEM) and light microscopic level. Male, adult 40 Wistar- albino rat used in this study. Rats divided into 10 equal groups as one control, 9 treatment groups. All rats were sacrificed after 5th 10th and 15th days of the study. And their quadriceps femoris muscle tissues were examined in light and electron microscopy. In control group there was no histopathologic changes determined on their muscle tissue samples. But on the other hand, in the treatment groups, some histopathologic changes were determined in different degrees. Generally our findings were degeneration, contraction, necrosis, fibrosis in the perimysial area, central nucleus on the muscle tissues. These findings were increased due to the high treatment dose and the long treatment time. Electron microscopic changes or findings were parallel or similar to the light microscopic findings. Histopathologic changes were increased due to the high treatment dose and the long treatment time. Electron microscopic findings; destruction of myoflamans and myofibrils, cristallization of mitochondria, their volumes and numbers were increased, mitochondria combine together at perinuclear area or at the myofibrils destructive areas in the sarcoplasm. One of the major finding was the destruction of the Z bands. In conclusion; the toxic effect of atorvastatin was increased due to the high treatment dose and the long treatment time. Myofibrils destruction or necrosis were seen especially at the Z band areas. Mitochondrial cristallization, abnormal shaped, size and abnormal increased mitochondria were the reason of the atorvastatin treatment. Mitochondria goes on fusion to compensate for the oxidative energy metabolism which is out of order. Because of all these reasons, medical doctors will take care about the treatment dose and the long treatment time of the atorvastatin.

Key words: Atorvastatin, rat, muscle necrosis, histopathology, ultrastructure structure