



**CYCLOPHOSPHAMİDE İLE İNDÜKLENMİŞ
RATLARDA, EKG VE KALP ENZİMLERİ
ÜZERİNE NARİNGİNİN PROTEKTİF
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yavuz Selim KOLİKPİNAR

Veterinerlik Fizyolojisi Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. D. Ali ÇINAR**

Yüksek Lisans Tezi-2017

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CYCLOPHOSPHAMİDE İLE İNDÜKLENMİŞ
RATLARDA, EKG VE KALP ENZİMLERİ ÜZERİNE
NARİNGİNİN PROTEKTİF ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yavuz Selim KOLİKPİNAR

**Veterinerlik Fizyolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. D. Ali ÇINAR**

**ERZURUM
2017**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK FİZYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

CYCLOPHOSPHAMİDE İLE İNDÜKLENMİŞ
RATLARDA, EKG VE KALP ENZİMLERİ ÜZERİNE
NARİNGİNİN PROTEKTİF ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Yavuz Selim KOLİKPINAR

Tez Savunma tarihi: 03.07.2017

Tez Danışmanı : Prof. Dr. D. Ali ÇINAR

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Volkan GELEN

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Mehtap TAN

Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM-2017

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLOLAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Cyclophosphamide (CYP)	3
2.2. Naringin	4
2.3. Kalp ve Elektrokardiyografi (EKG)	5
2.4. Kalp Enzimler	12
2.4.1. Troponinler	12
2.4.2. Kreatin Kinaz (CK) ve Kreatin Kinaz MB (CK-MB)	13
3. MATERYAL VE METOT	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Hayvan Materyali.....	18
3.2. Metot.....	19
3.2.1. EKG Çekimleri.....	19
3.2.2. Biyokimyasal Prosedür	20
4. BULGULAR	21
5. TARTIŞMA	26
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	36

KAYNAKLAR	37
EKLER	488
EK 1. ÖZGEÇMİŞ.....	488
EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU	49



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim ve öğretimim süresince, gerek ders gerekse tez çalışmamın her aşamasının planlanması, yürütülmesi, kontrol ve değerlendirilmesindeki yakın ilgi ve alaka, bilimsel teşvik, engin hoşgörü ve her türlü desteklerinden dolayı tez danışmanım çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. D. Ali ÇINAR'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ'ye, Sayın Doç. Dr. Devrim Sarıpınar AKSU' ya Sayın Yrd. Doç. Dr. Emin ŞENGÜL'e, ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Leyla MİS' e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Sevgi ve özverileriyle bugünlere gelmemi sağlayan sevgili babama, anneme ve kardeşlerime destek ve teşviklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yavuz Selim KOLİKPINAR

ÖZET

Cyclophosphamide İle İndüklenmiş Ratlarda, EKG ve Kalp Enzimleri Üzerine Naringinin Protektif Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Cyclophosphamide (CYP) antineoplastik kemoterapik bir ajandır ve en sık kullanılan antikanser ve immunosuppresant bir ilaçtır. Son zamanlarda antineoplastik ilaçların sitotoksik etkilerini en aza düşürmek amacı ile bitkisel kökenli bileşiklerin kullanıldığı çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Bu amaçla kullanılan bileşiklerden birisi de Naringin'dir. Bu çalışmada CYP uygulaması yapılan ratlarda Elektrokardiyografi (EKG) ve kalp enzimleri üzerine Naringinin protektif etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Araştırmamızda yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erkek erişkin Sprague Dawley ırkı ratlar kullanıldı. Her bir grupta yeterli doku örneklerinin sağlanabilmesi için her bir grupta 8 rat kullanıldı ve 5 grup oluşturuldu.

Tüm hayvanlar standart bakım ve beslenme şartlarına tabi tutuldu. Grup 1'e 10 gün boyunca intra gastrik (i.g.) olarak serum fizyolojik (1 ml) verildi. Grup 2'ye 10 gün boyunca i.g. serum fizyolojik verildi ve 10. Gün tek doz intra peritoneal CYP (200 mg/kg) verildi. Grup 3 ve 4'e 10 gün boyunca sırasıyla serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 ve 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı ve 10. Gün Naringin enjeksiyonundan sonra tek doz i.p. CYP (200 mg/kg) uygulaması yapıldı. Grup 5' e ise 10 gün boyunca yalnızca serum fizyolojikte çözdürülmüş 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı. CYP uygulamasından 48 saat sonra yani deneyin 12. gününde deneysel uygulamalar sonunda, EKG çekimleri yapıldıktan sonra tüm hayvanlar tiopental sodyum (20 mg/kg) ile anestezi altına alınarak intra kardiyak kan örnekleri alındı ve servikal dislokasyon metodu ile sakrifiye edildi. Ratlardan alınan kan örnekleri klot faktör bulunan jelli tüplere aktarılarak +4°C'de soğutmalı santrifüjde 3500-4000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri aligotlanarak analizler yapılana dek -80°C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi. Troponin I'ya Rat Kardiyak Troponin Test Kiti (Katalog No: KT-478) ile ELISA yönteminde bakıldı. CK ve CK-MB ise Modüler pp oto analizöründe tayin edildi.

Bulgular: Cyclophosphamide' nin ratların EKG değerleri ve kalp enzimleri üzerine kardiyotoksik etki oluşturduğu görülmüştür. Gruplarda ki kalp atım sayısı (dakika) Kontrol grubunda 375±30, CYP grubunda 510±17, Naringin50+CYP grubunda 494±28, Naringin 100+CYP grubunda 475±27, Naringin 100 grubunda ise 385±26 olarak bulundu.

Sonuç: Naringinin farklı dozlarının, Cyclophosphamide' nin indüklenen in vitro ratların EKG değerleri ve kalp enzimleri üzerine uyguladığı kardiyotoksikiteyi baskılama etkisine sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: CYP, EKG, Kalp Enzimleri (TnI, CK, CK-MB), Naringin Rat.

ABSTRACT

Investigation of Protective Effects of Naringin on EKG and Cardiac Enzymes in Cyclophosphamide-Induced Rats

Aim: Cyclophosphamide (CYP) is an antineoplastic chemotherapeutic agent and a widely used anticancer and immunosuppressant drug. Recently, the number of studies using plant-based compounds has been increasing in order to minimize the cytotoxic effects of antineoplastic drugs. One of the compounds used for this purpose is Naringin. In this study, it is aimed to investigate the protective effects of Naringin on EKG and heart enzymes in CYP-induced rats.

Material and Methods: Forty male adult Sprague Dawley rats weighing approximately 200-250 g were used in our study. Eight rats were used in each group and 5 groups were formed. All animals were subjected to standard maintenance and feeding conditions. Group 1 received saline (1 ml) intragastric (i.g.) for 10 days. Group 2 received 10 days intragastric serum physiologic was given and intraperitoneal (i.p.) CYP (200 mg / kg) was given at the 10th day in a single dose. Groups 3 and 4 were treated for 10 days with 50 and 100 mg / kg, respectively, in saline solubilized Naringin was administered and a single dose of CYP (200 mg / kg, i.p.) was administered after 10 days of naringin injection. Group 5 received 100 mg / kg i.g. solubilized in saline only for 10 days Naringine was applied. Forty-eight hours after the CYP administration, on the 12th day of the experiment, after EKG recorded intracardiac blood samples were taken under anesthesia with rats thiopental sodium (20 mg / kg) and sacrificed by cervical dislocation method. Analyzes of heart enzymes were performed in blood and serum samples obtained. To troponin I, Rat Cardiac Troponin Test Kit (Cat. No: KT-478) was screened by ELISA. CK and CK-MB were assigned to the Modular pp auto analyzer.

Results: Cyclophosphamide has been shown to have cardiotoxic effects on ECG values and cardiac enzymes of rats. The number of heart beats(minute) in the groups were 375 ± 30 in the control group, 510 ± 17 in the CYP group, 494 ± 28 in the Naringin50 + CYP group, 475 ± 27 in the Naringin 100 + CYP group and 385 ± 26 in the Naringin 100 group.

Conclusion: It has been found that different doses of naringin have the inhibiting cardiotoxicity effects of cyclophosphamide induced rats on ECG values and cardiac enzymes.

Keywords: : CYP, EKG, Heart Enzeymes (TnI, CK, CK-MB) , Naringin, Rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATADEM	: Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi
ATP	: Adenozin Trifosfat
A-V	: Atriyoventriküler Düğüm
CK - BB	: CK Beyin bandı (beyinde bulunan)
CK - MB	: CK Miyokard bandı (kalp kasında bulunan)
CK - MM	: CK İskelet kası bandı (iskelet kasında bulunan)
CK	: Kreatin Kinaz
cTnI	: Kardiyak Troponin I
cTnT	: Kardiyak Troponin T
CYP	: Siklofosfamid
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EKG	: Elektrokardiyografi
FAM	: Fosforamid Mustard
i.g.	: İntra Gastrik
i.p.	: İntra Peritoneal
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
S-A	: Sinoatriyal Düğüm
Tn	: Troponin
TnC	: Troponin-C
TnI	: Troponin-I
TnT	: Troponin-T

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Siklofosfamid; 2-bis (kloroetil) amino tetrahidro-2H-1,2,3- oksazofosforin 2-oksit.....	3
Şekil 2.2. Naringin ve aktif metaboliti olan Naringenin kimyasal yapısı	5
Şekil 4.1. Kontrol Grubu ratlarda elektrokardiyografi (1 mV=10 mm, 50mm/sn)	22
Şekil 4.2. CYP grubundaki ratlarda sinüzal taşikardi (1 mV=10 mm, 50mm/sn).....	22
Şekil 4.3. CYP grubundaki ratlarda 2. derece kalp bloğu (1 mV=10 mm, 50mm/sn)	23
Şekil 4.4. CYP grubundaki ratlarda ST yükselmesi (1 mV=10 mm, 50mm/sn)	23
Şekil 4.5. Kontrol ve deneme gruplarında ki ratlarda serum Troponin düzeyleri	24
Şekil 4.6. Kontrol ve deneme gruplarında ki ratlarda serum CK düzeyleri	25
Şekil 4.7. Kontrol ve deneme gruplarında ki ratlarda serum CK-MB düzeyleri.....	25

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Deneysel gruplar ve gruplardaki deney hayvanı sayıları.....	18
Tablo 4.1. Kontrol ve deneme gruplarında Ratların Elektrokardiyogramlarında II. Derivasyona ait dalgaların amplitüd ve süreleri (n=6).	22
Tablo 4.2. Kontrol ve deneme gruplarında serum Troponin I, CK ve CK-MB düzeyleri ($X \pm SD$).....	24



1. GİRİŞ

Cyclophosphamide (CYP) antineoplastik kemoterapik bir ajan olup, en sık kullanılan antikanser ve immunosuppresant bir ilaçtır.¹ CYP ayrıca akut ve kronik lösemi, meme kanseri, multityp myeloma, lenfoma, romatid artit tedavisinde ve kemik iliği nakillerinde sıkça kullanılır.^{2,3} Antineoplastik kemoterapik ajanlar genelde bir ya da daha fazla hedef dokuda sitotoksik etki oluştururlar. CYP'nin yan etkileri ise başlıca; Renal toksisite, hematopoetik depresyon ve hemorajik sistit'tir. CYP'nin iki aktif metaboliti fosforamid ve akroleindir.⁴⁻⁷ CYP'nin toksik etkisi aktif metaboliti olan akrolein ile ilgilidir. Akrolein doku antioksidan savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest radikal oluşumuna yol açar.¹⁻⁵ Son zamanlarda antineoplastik ilaçların sitotoksik etkilerini en az düzeye indirmek amacıyla bitkisel kökenli bileşiklerin kullanıldığı çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Bu amaçla kullanılan bileşiklerden birisi de Naringin'dir. Naringin (4', 5, 7-trihidroksiflavon 7-rhamnoglukozit) bitkisel bir flavonoiddir. Naringenin antiülser, aorta distilasyonu, süperoksit süpürücü ve antioksidant aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir.⁸

Elektrokardiografi (EKG) kalp ve damar hastalıklarının teşhisinde ve incelenmesinde kullanılan bir muayene yöntemidir. İnsan ve Veteriner Hekimlikte elektrokardiografi kalp ve damar hastalıkların tanı ve incelemelerinin yanında; bir hayvanın değerinin saptanmasında, istenilen belirli bir işe yarayıp yaramadığının belirlenmesinde fayda sağlar. Ayrıca yeni yapılan ve çoğu kez hayvanlar üzerinde denenilen kalp ilaçlarının ya da diğer ilaçların kalbe olan etkilerinin araştırılmasında başvurur. Sığırlarda şap hastalığında olduğu gibi enfeksiyöz ve toksik hastalıklarda, kuzuların beyaz kas hastalığında, ayrıca pekçok paraziter hastalıklardan sonra komplikasyon sonu kalpte bir bozukluk oluşup oluşmadığının araştırılmasında da kullanılır.⁹

Hastalıkların veya bazı kimyasalların kalp ve dolaşım sistemi üzerine olan etkilerin araştırılmasında, EKG nin yanında kan ve dokularda bulunan bazı biyomarkır değerlerinden de yararlanılması daha iyi bir sonuç alınmasını sağlar. Bakılacak biyomarkırların ise kalp dışı dokularda olmaması, kalpte yüksek yoğunlukta olması ve herhangi bir kalp hasarında kana hızlı bir şekilde geçmesi önemlilik arz etmektedir. Bu bağlamda ise Troponin I, CK ve CK-MB enzimleri önceliklidir.¹⁰

Kanser ve CYP nin tedavi sürecinde ki etkilerini incelemek amacıyla çok sayıda araştırma yapılmıştır. Fakat CYP nin oluşturduğu yan etkileri giderebilmek amacıyla naringinin EKG ve kalp enzimleri üzerine protektif etkilerini araştıran yeterli sayıda ve doğrudan literatür bilgiye de rastlanılamamıştır.

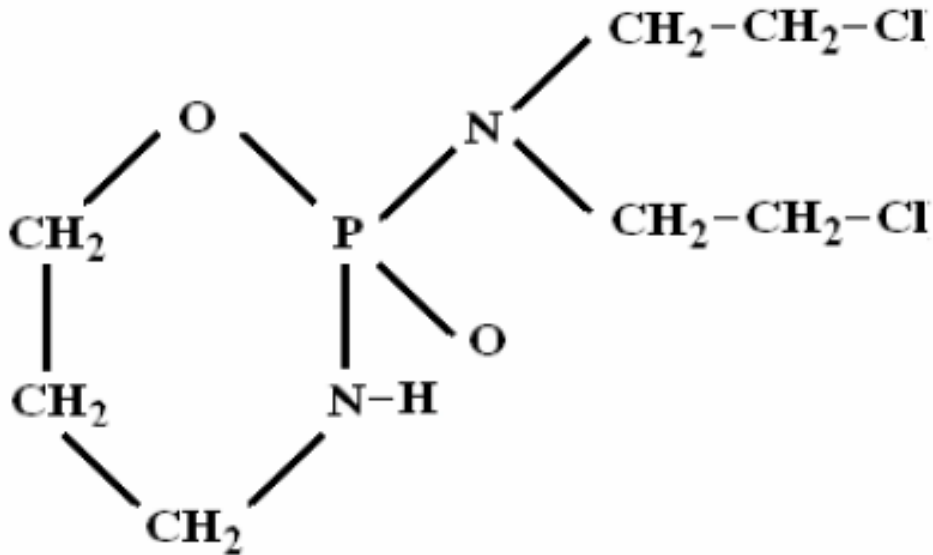
Bu çalışmada; Cyclophosphamide ile indüklenmiş ratlarda, EKG ve kalp enzimleri üzerine naringinin protektif etkilerinin araştırılması ve literatüre katkıda bulunulması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Cyclophosphamide (CYP)

CYP, alkilleyici antineoplastik olan nitrojen mustard grubundan bir ilaçtır. Genellikle Alkilleyici antineoplastik ajanlar amino, karboksil, sülfidril ve fosfat gruplarına kovalent bağlanmasıyla hücre işlevlerini bozarlar. En çok görülen bağlandıkları hücre bölgeleri hücrenin deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) ve protein kısımlarıdır. DNA tamir mekanizmaları değişiklikleri ile Glutasyon konjugasyonu ilaç rezistansında önemlidir.¹¹

CYP bir oksazofosforindir. Bağışıklık baskılayıcı ve bir antitümör ajan olan siklofosfamidin onkosidal etki gösterebilmesi için metabolik olarak aktive edilmesi gerekir. Hem humoral hem de hücrel bağışıklığın CYP ile baskılandığı bildirilmektedir. CYP'nin kanser S-V tatik aktivitesi fosforamid mustard (FAM) oluşumunu veren hepatik mikrozomal karma fonksiyon oksidaz sistemi ile metabolizmasına bağlıdır.¹¹



Şekil 2.1. Siklofosfamid; 2-bis (kloroetil) amino tetrahidro-2H-1,2,3- oksazofosforin 2-oksit.¹¹

CYP Kanser tedavilerinde (Lenfoma, akut ve kronik lösemilerde, multiple myelom gibi) çok geniş kullanımı olan ilaçtır. CYP, ayrıca hematolojik ve solid gibi tümörlerin tedavisinde başarılı bulunan ilaçtır.¹²

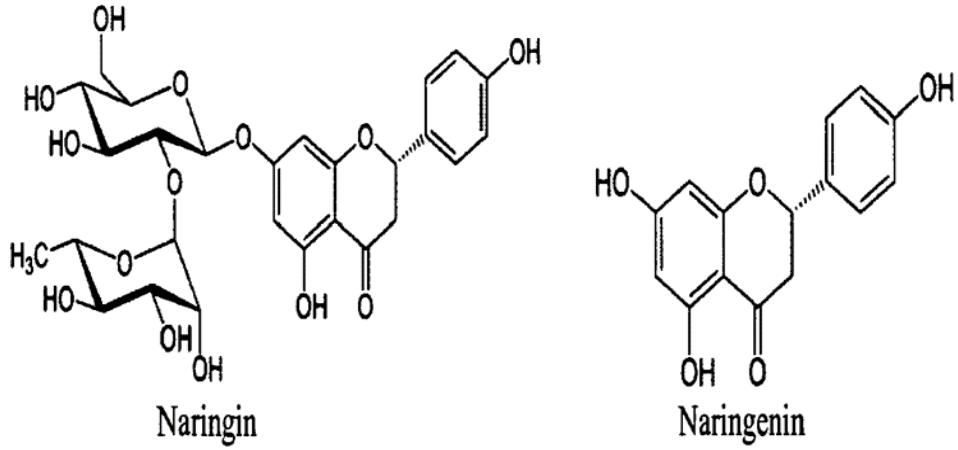
Antikanser tedavinin sonucu olarak kısa ve uzun dönem kardiyovasküler toksisitedir. Kardiyovasküler sistem üzerine etki eden kemoterapötiklerden biri olan CYP ciddi kalp yetersizliği gibi durumlara yol açan kardiyotoksisite gösterebilmektedir. Kardiyotoksisitenin akut formu EKG değişiklikleri, ritim bozuklukları ve hemen oluşan ventrikül disfonksiyonudur.¹²

2.2. Naringin

Bitkisel bir flavonoid olan naringin, greyfurt, pummelo ve diğer turuncgillerde bulunur. Naringinin meyvedeki dağılımı meyvenin kabuk ve suyuna göre değişmektedir. Naringin elde ediminden meyvenin oldunluğu arttıkça azalmaktadır.¹³

Naringinin safhali sarımsı bir toz formunda olup, Oral olarak verildiğinde intestinal mikroflora ile emilip naringin (4',5,7-trihidroksiflavon) hidrolize edilir. Naringin, aorta dilatasyonu, antiülser, süperoksit süpürücü ve antioksidant etkilere sahip olduğu görülmektedir. Dahası naringin meme kanseri ve meme tümörü gelişimini önleyici olduğu saptanmıştır.¹⁴

Flavonoidlerin Kalp damar hastalıkları, kanser ve kronik iltihaplanma gibi hastalıkların en önemli etkenlerinden olan O₂ radikalleri ve lipid peroksidasyonunun, oluşumunu engellediği ve yapısındaki bazı grupların flavonoid radikallerinin antioksidan kapasitesini artırabildiği, ayrıca bunların dışında metal iyonlarını bağlayarak önleyebildiği ve radikallerin oluşumunda görev yapan enzim sistemlerini inhibe edebildiği saptanmıştır. Naringin, lipid düşürücü, anti-enflamatuar, anti-kanserojen, serbest radikal süpürücü ve antioksidan etkileri içeren bir flavonoiddir.^{14,15}



Şekil 2.2. Naringin ve aktif metaboliti olan Naringenin kimyasal yapısı.¹⁵

2.3. Kalp ve Elektrokardiyografi (EKG)

Perikardla sarılmış göğüs kafesinde iki akciğer arasında dolaşım sisteminin merkezinde bulunan bir organımız olan kalp dakikada 60-90 kez kasılıp – gevşeme özelliği ile karıncıklarda çıkan dolaşımın başlangıç noktasıyla kulakçıklarda son bulan bitim noktaları arasında oluşturduğu basınç farkı ile kanın damarlar içinde hareketini sağlar.¹⁶

Histolojik olarak incelendiğinde dıştan içe doğru epikardium, miyokardium ve iç kesimde endokardium olmak üzere 3 katmandan oluşur. Miyokardium yani kalp kası karıncıklarda, kulakçıklara oranla daha kalındır. Sol karıncık kası ile sağ karıncık kası karşılaştırıldığında sol karıncık kası daha kuvvetlidir. Bunun sebebi ise fizyolojik fonksiyonlarının bir gereği olarak sol karıncık tüm bedene kanı dağıtırken sağ karıncık sadece akciğerlere kanı dağıtır.^{16,17}

Kalp kası histolojik yapı olarak çizgili kas tellerinden yapılmış olmasına rağmen isteğimiz dışında çalışması yönünden de düz kaslara benzemektedir. Kalp kası tellerinin yan kollarla birbirine bağlanması yönünden de diğer kas tellerinden farklıdır. Kalp kas tellerini saran sarkolem dediğimiz zar aralarında boşluk bulunan bazı maddelerin ve gazların geçişini sağlayan ve ince olan dış zar ve daha kalın olan plazma zarı olarak 2 kattan oluşur. Ayrıca kalp kası yani miyokard iskelet kaslarından 3-4 kat daha

inedir.¹⁶⁻¹⁸

Düz kaslar otonom sinirlerle harekete geçerler ve istemsiz olarak çalışırlar. Bu kaslar 0,2 mikrometre kadar kısa veya 0,5 mm kadar uzun olabilir.¹⁸ Kontraktil filament olan aktin ve miyozin filamentleri düz kaslarda olmasına rağmen kalp ve iskelet kasında olduğu gibi organize olmamışlardır. Bunun nedeni aktin ve miyozin filamentlerinin düz kaslarda sıralı olmamasıdır. Düz kaslarda sarkoplazmik retikulum ya bulunmaz ya da az sayıda bulunur. Düz kaslarda Ca²⁺ sürekli olarak hücre zarından dışarı pompalanır. Depolarizasyon oluşunca tekrar hücre içine girerek kasılmayı etkinleştirir. Depolarizasyon bittiğinde ise Ca²⁺ iyonları hücre dışına pompalanır ve kas hücresi gevşer. Kasılma ve gevşeme iskelet kasına oranla daha yavaş olmakla birlikte kasılma gücü doğum esnasında uterus kaslarının kasılması gibi son derece yüksek olabilir. Düz kaslar; sindirim sistemi, solunum sistemi ve üriner sistem gibi boşluklu organların duvarlarını oluştururlar. Düz kas hücreleri birbirine gap junction (oluklu hücre bağlantısı) ile bağlanırlar.¹⁸⁻²⁰

Miyokardın incelenebilecek en küçük alt birimi miyokard hücrelerinin yaklaşık %30 unu oluşturan mitokondrilerdir. Ayrıca bir iç tampon görevinde bulunan kalsiyumun depolanmasında mitokondri membranı görev yapar.¹⁶⁻¹⁹

Fizyolojik koşullarda kalbin enerji kaynakları glikoz, laktat, pürivat, albümine bağlı esterleşmiş ve esterleşmemiş serbest yağ asitleri, asetat, keton cisimcikleri ve amino asitlerdir. İskelet kasına göre kalbin kasılması daha az ATP kullanmasından dolayı kan şekeri düzeyi değişimlerine karşı duyarlı değildir. Gereken ATP yi ise asetoasat, yağ asitleri ve laktad oksidasyonu ile elde eder. Kan yoluyla gelen laktik asitlerinin büyük bir kısmını kalp kullanabilir. Ağır egzersizlerde iskelet kaslarında meydana gelen ve kana geçen çok miktarlardaki laktat kalp tarafından enerji kaynağı olarak kullanılır.¹⁶⁻²⁰

Kalp O₂ Kullanımı bakımından vücuttaki diğer dokulara istinaden kalbin metabolizması aerobik olduğundan daha önde gelir. Kalp aneorobik ortamda kasılma veya ortamdaki O₂ eksiliğini giderme bakımından zayıf kalır. Kalbin mekanik iş yükü artarsa O₂ kullanımı da artar.¹⁶⁻¹⁸

Kontraksiyon olarak adlandırılan yani hiç durmaksızın birbirini izleyen dönemler içerisinde ki kalp belirli bir elektriksel potansiyel üreten ve mekanik işi yapan organdır. Kalp kasının kasılması için ilk koşul hücre zarının elektriksel anlamda uyarılmasıdır ki buna eksitasyon adı verilir.¹⁹

Depolarizasyon ve repolarizasyon olarak iki aşamadan oluşan Aksiyon potansiyeli, miyokard hücresinin dinlenme halinde ki belirli bir elektrokimyasal içerikli etkinliğine denir. Depolarizasyon ile sodyum sarkoplazma içerisine hızlı bir şekilde girmesi ve potasyumun hücre dışına çıkmasıdır. Bunu takiben hücre içinde ki ve hücre dışındaki elektrolit dengenin istirahat potansiyeli haline dönmesi ise repolarizasyon dur. Bu iki işlemde ATP enerjisine ihtiyaç duymaz ve elektrokardiyografi için önemli bir yer kaplar.²⁰⁻²⁵

İstirahat halinde ki kalp kası hücresinde, hücre içi negatif, dış kısmı ise pozitif iyonlarla yüklüdür. Polarizasyon durumunda zar potansiyelide dediğimiz iç ve dış yüzeylerin arasında yaklaşık olarak 90 mV elektriksel bir fark mevcuttur. Sodyum ve klor iyonlarını hücre dışında, protein anyonları ile potasyum iyonlarını dışarda tutan dinlenme halindeki polarize hücrelerdir.¹⁸

Şiddetli bir akım ile uyarılan hücrenin zarındaki sodyum iyonunu dışarda tutan etkisi kaybolur ve sodyum iyonu hızlı bir şekilde hücre içine girer, hücrenin iç kısmının negatifliği kaybolması ile pozitifleşmeye başlar (0 +/- 15 mv) yani miyokardın polar ve depolar kısımları arasında elektriksel bir akım doğan depolarizasyon haline geçer.¹⁷⁻²²

Depolarizasyonun ardından, hücre zarı porları sodyuma karşı tekrardan

geçirimsiz hale geçer ve hücre zarı seçici geçirgenlik özelliğini geri kazanır. Potasyum iyonları için geçirgenlik arttığından hücre içinde yüksek derişimde bulunan bu iyonlar dışarıya çıkarak depolarizasyon noktasında -90 mV potansiyel farklılığı oluşur ki bu olaya repolarizasyon denir. Bu döngüye depolarizasyon-repolarizasyon döngüsü adı verilir. Repolarizasyonun gerçekleşmesinde elektriksel potansiyel farklılığın sağlanılmasına rağmen potasyum iyonun içeriye alınması gerekir ki buda, etkin Na-K+ vasıtasıyla pompası gerçekleşir. Bu durum sonunda ortaya çıkan potansiyel farklılıklara ve elde edilen her bir eğriye derivasyon denir.^{16,18,20}

EKG değerlerini ölçen aletin ismine Elektrokardiyograf, yapılan ölçümlerin özel bir kağıta kaydedilmesine Elektrokardiyografi ve elde edilen grafiksel anlamdaki çıktılara ise Elektrokardiyogram denir. Elektrokardiyografi kalp ve damar hastalıkları teşhisinde ve incelenmesinde kullanılan bir muayene yöntemidir. Aynı zamanda Kalbin çalışması sırasında ortaya çıkan akımların kaydedilmesi ve yorumlanmasıdır.^{14,23,25,26} EKG ile kalp ve damar hastalıklarının tespitinde, kalp ritm bozukluğu teşhisinde, bradikardide, taşikardide ve kardiyak sinkopun belirlenmesinde , endokart – myokart bozuklarının saptanmasında, kalbin göğüs boşluğu içindeki konumunun saptanmasında ve diğer kalp hastalıklarının belirlenmemektedir. Ayrıca EKG den, hayvanlar üzerinde denen yeni üretilen ilaçların kalbe olan etkilerinin araştırılmasında da yararlanılmaktadır.^{17,19}

İyi bir EKG kaydında hayvanların sakin olması ve kaslarını gevşek tutmaları önemlilik arz etmektedir. Bu bağlamda EKG kaydında belirlenmiş iyi pozisyon ön ve arka ayaklarının vücudunu uzun eksenine dikey ve birbirine paralel bir şekilde tutularak sağ lateral rekumbent pozisyonda yerleştirilmesidir. EKG yorumlamaları klinik muayene bulguları ile birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Çünkü EKG'yi ilaçlar, canlının stresi gibi dış faktörlerde etkileyebilir.^{19,21-23}

Günümüzde kullanılan EKG cihazlarının tümü 1903 yılında Einthoven tarafından bulunan telli galvanometreye dayanmaktadır. EKG, tüm vücuda yayılan aksiyon akımının vücudun çeşitli bölgelerine yerleştirilmiş olan elektrotlar yardımıyla kaydedilmesiyle kalbin ritmik ve elektriksel aktivitesi hakkında bilgi edinmemizi sağlar.^{16,20}

Belirlenmiş noktalara yerleştirildikten sonra 1 milivoltluk akım verilir ve EKG 10 mm'lik bir defleksiyon karşılık verecek biçimde ayarlanır. Elektrokardiyogram ise 25 mm/sn hızında kaydedilmesiyle standart hale geldiğinden herhangi bir canlı türünden alınan kayıtların incelenmesinde kolaylık sağlar. Ratlarda olduğu gibi kalp atım sayısı yüksek olan canlılarda ise 50 mm/sn hızında kayıt yapılır. Elektrotlar prekordiyal ve ekstremitte derivasyonları şeklinde vücuda bağlanır. Prekordiyal elektrotlar emici ve araştırmacı yapıda, ekstremitte ise oval – dikdörtgen şeklinde bazen hayvanlarda ise timsah ağızlı olarak kullanıma uygun şekilde özelleşebiliyorlar. Elektrot ile deri arasında ki direnci düşürüp iyi bir bağlantı kurabilmek için elektrot jeli kullanılır. Vücudun iki noktasının elektrotla bağlı kablolarla EKG ye aktarılmasına derivasyon denir. Derivasyonlar ekstremitte (kol ve bacaklar) ve göğüs (prekordiyal) derivasyonları olmak üzere iki grupta toplanırlar. Veteriner Elektrokardiyografide yaygın olarak Bailey'in Hexaxial derivasyon sistemi kullanılır. Bu sisteme göre I, II, III bipolar, aVR, aVL, aVF artırılmış unipolar ekstremitte derivasyonlarıdır.^{16,23-27}

Kalbin düzenli ve otomatik olarak çalışmasını sağlayan iki düğüm ve özel bir iletim sistemi vardır. Sinoatriyal düğüm (S-A) alt ve üst ana toplardamarların sağ kulakçığa bağlandıkları kısımda, Atriyoventriküler düğüm (A-V) sağ kulakçığın alt kısımda ve kulakçıklarla karıncıklar arasındaki kısımlarda yer alırlar. Sinüs koronaryusun bağlandığı yere yakın bir yerde His demeti yer alır ve bundan his demetinin sağ ve sol kolları ayrılır. Purkinje iplikçikleri vasıtasıyla endokardiyum

altından tüm kalbe özel ileti sistemi yayılmış olur. S-A düğümü spontan impulslar oluşturur. Oluşan depolarizasyon dalgası bütün kalp kaslarına yayılır bu sebepten ötürü S-A düğümü için kalbin peysmeykeri denir. Sağlıklı bireylerde kalp S-A düğümün etkisi altında çalışmaktadır. İkinci bir kasılma için S-A düğümde tekrar depolarizasyon başlaması ve kas hücrelerine yayılması gerekir. Ritmik şekilde impuls doğuran hücreler değişken bir zar potansiyeline sahiptirler. İstirahat potansiyeline ulaştıktan sonra ve impuls sona erdiğinde zar potansiyeli istirahat düzeyinde durmaz, yavaş yavaş zar potansiyeli değişerek uyarılma eşik değerine erişir ve zarı depolarize eder. Böylece istirahat potansiyelinde durmayıp kendiliğinden zarı depolarize edecek düzeye erişen potansiyele prepotansiyel ya da peysmeyker potansiyeli denir.¹⁶⁻²⁰

Sadece tek bir kalp kası hücresini bulunduğu ortamdan ayırıp canlılığını sürdürebileceği ettirebileceği bir ortama konsa yine aynı şekilde ritmik kasılmalara aynen devam eder. Burdan anlayabileceğimiz kalp kası hücrelerinde kendiliğinden impuls üretme yetenekleri mevcuttur. Buna rağmen kalpte yine en hızlı impuls üreten kısım S-A düğümüdür.^{16,18,20}

Herhangi bir sebeple S-A düğümünden impuls üretilemez ya da bloke edilirse, A-V düğüm veya kalbin diğer bölgelerinin bir kısmı ya da kalp kasının kendisi peysmeyker durumuna geçebilir. S-A düğümünden başka bir kısımda oluşan bu peysmeyker duruma ektopik peysmeyker adı verilir. S-A düğümde ortaya çıkan depolarizasyon dalgası, hızlı bir şekilde (saniyede 0,3 metre) her iki kulakçık kasma da yayılır. S-A düğüm ile A-V düğüm arasında ve S-A düğüm ile sol kulakçık arasında özel iletim yollarının varlığı tespit edilmiştir.^{19,20,23-25}

A-V düğüm aracılığı ile kulakçıkların elektriksel aktivitesi karıncıklara geçer. A-V düğüm uyarılınca, impulsları His demeti ile sağ ve sol kollar aracılığıyla purkinje iplikçiklerine ve karıncık kaslarına iletilir. A-V düğümün impuls iletim hizi 0.1m/sn

kadar yavaştır. His demeti saniyede 1.5-2.5 metre kadar impuls iletimi hızına sahiptir. Depolarizasyon dalgasının hızla karıncık kaslarının tamamına yayılması bu hızlı iletim sayesinde olur ve iki karıncığın aynı anda kasılmasını sağlar. His demeti sağ ve sol kollarının miyokardiyum içine giren ince uzantılarına Purkinje sistemi denir. Purkinje sisteminin önemli işlevi, her iki karıncığın birden ve hızlı bir şekilde kasılmalarını sağlamaktır.^{16, 22-26}

Veteriner Hekimlikte miyokardiyal hasarlara endomiyokarditis, miyokarditis ve/veya perimiyokarditis ile seyreden enfeksiyöz hastalıklarda rastlanır. Vücudun herhangi bir yerindeki supuratif odaktan köken alan *Listeria monocytogenes* ve *Actinobacillus equuli* gibi bakteriler miyokarditise neden olur.²⁷⁻³⁰

Yaşlı köpeklerde kalbi besleyen koroner arterlerde değışien derecede hiyalinleşmeye sık sık rastlanılmaktadır. Yine sekonder hastalıklara bağlı olarak kardiyovasküler hastalıklar şekillenmektedir.³¹⁻³⁶ Bu hastalarda sıklıkta sol ventrikül hipertrofisi gözlenmektedir.^{31,36-39} Şap hastalığında da myokarditis meydana gelmekte ve EKG de ekstrasistolik bir aritmi ve III. derivasyonda ters dönmüş bir T dalgası görülmektedir. E vitamini ve selenyum yetersizliğinin yol açtığı beyaz kas hastalığında ise bazen ölümlle sonuçlanabilen şiddetli miyokard nekrozları şekillenir *Trichinella spiralis* gibi paraziter enfeksiyonlarda da kalp kasında şiddetli interstisyel miyokarditis neden olur ve yangı bölgelerinde ise histopatolojik muayenede bazofilik dejenerasyon ve nekroz görülür.^{20,28,29,37-39}

Ratlarda ve kobaylarda bazı arařtırmacılar³²⁻³⁷ EKG üzerine çalışmalar yapmışlardır. Simonin ve Pierron³⁶ kobaylarda florozisın etkisini araştırmışlardır. Sambhi ve White³² normal ve hipertensif ratlarda EKG kayıtlarını saptamıştır. Yılmaz²⁴ 1988 yılında yaptığı bir araştırmasında sağlıklı ratlarda EKG kayıtlarını yapmıştır. Pişkin ve Emre³⁷ yaptıkları bir çalışmalarında kobaylarda akut florozisın EKG üzerine

etkilerini incelemişlerdir. Bulduk ve Kılıçalp Kılınç³⁸ günlük *Crataegus oxyacantha* uygulamasının ratlarda EKG değerlerine etkisini araştırmışlardır.

2.4. Kalp Enzimler

2.4.1. Troponinler

Troponinler iskelet ve kalp kaslarının bir bileşeni olarak kasların ince filamanlardır. Troponinler Troponin (Tn) kompleksi üç farklı yapısal protein içerir ve düz kas kasılmasında kalsiyum duyarlı moleküler kilit olarak rol alır. Tn'nin üç anahtar alt ünitesi TnC, TnI ve TnT'dir. TnC hücre içi kalsiyumu bağlar. Bu kalsiyum bağlı sinyal kasın ince filamanına diğer iki Tn alt ünitesi ile aktarılır ve kasılmayı uyarır.⁴⁰⁻⁴⁵

Troponin C, 18-kD, kalsiyum bağlayıcı alt ünite

Troponin I, 23-kD, aktin bağlayıcı inhibitör alt ünite,

Troponin T, 35-kD, tropomyozin bağlayıcı alt ünite

İskelet ve kalp kası TnC izoformunu kodlayan gen aynıdır. Dolayısıyla aralarında herhangi bir yapısal fark bulunmamaktadır. TnT ve TnI iskelet kası ve kalp kasında farklı genler tarafından kodlandıkları için farklı aminoasit dizilimine sahiptirler. Kalp kası formları; kardiyak troponin T (cTn-T) ve kardiyak troponin I (cTn-I) şeklindedir. Troponin I aktini bağlamakla ve istirahat sırasında aktin miyozin etkileşimini inhibe etmekle görevlidir. Molekül ağırlığı 24.000 dalton olan Kardiyak Troponin I kalp kasında bulunur. Litaratür bilgilerin ışığında göğüs ağrısının başlamasını takiben (3 ile 4 saat) plazmada Troponin I seviyesi artar.^{16,20} Kalbe özgü TnI ve TnT miyokartta açığa çıkmakta, bu izoformlar kardiyak TnI (cTnI) ve kardiyak TnT (cTnT) olarak anılırlar. Hem cTnI, hem de cTnT miyosit içinde küçük sitozolik kutup içerecek şekilde (%4-6) iki kompartmanda dağılmış halde bulunurlar. Kalan Tn'nin çoğu kontraktıl aparatıta yer almaktadır.⁴⁶⁻⁵¹

Kardiyak orjinli troponinler, kardiyak nekrozun bir göstergesidir. Kardiyak

troponinler üzerinde birçok çalışma akut koroner sendromda ölüm riskinin troponin değerlerine bağlı olduğunu göstermekte olup, diğer kardiyak biyomarkırlar gibi sağlıklı bireylerde görülemezler. Bu sebeple herhangi bir artış bile miyokard hasarını göstermesinden önemlidir. Pozitif sonuç göğüs ağrısının bir göstergesi olmasına rağmen diğer hastalıklara bağlı kardiyotoksistide de değerler yükselir.^{45,47}

Troponinlerin kan dolaşımına nasıl hakkında net bir bilgi yoktur. Ancak bazı olasılıklar vardır.^{43,44,48}

Miyokart hücrelerinin normal döngüsü,

Apopitoz,

cTn yıkım ürünlerinin hücresel artışı,

Artmış hücre duvarı geçirgenliği,

Membran bleblerinin oluşumu ve serbest kalması,

Nekroz,

Günümüzde, Tn'nin dolaşımında değişen oranlarda serbest, ikili (cTnI), üçlü kompleksler (cTnT) ya da proteolitik fragmanlar halinde buldukları kabul edilmektedir. Her ikisinin de serumdaki düzeyi AME'den 4 ile 9 saat sonra artmaktadır.^{44,46,47,52}

2.4.2. Kreatin Kinaz (CK) ve Kreatin Kinaz MB (CK-MB)

Kreatin fosfokinaz olarak da bilinir. CK iskelet kası, kalp kası ve beyinde bulunur. Dimer yapıya sahip bir enzimdir ve izoenzimleri klinikte önemlilik arz etmektedir. CK enziminin orjinine göre 3 izoenzimi vardır. Bunlar kalp (CK-MB), beyin (CK-BB) ve iskelet kası (CK-MM) kökenli izoenzimleridir.⁴⁶ Kreatin kinaz enzim aktiviteleri çizgili kas, beyin ve kalp dokusunda fazla olup diyafram, böbrek gibi diğer dokularda azdır. İzoenzim kalıpları dokularda farklılık gösterir. Bu altbirimlerin genleri farklı kromozomlarda bulunur. İskelet kası CK-MM (% 98) ve düşük CK-MB

seviyelerini (% 1) ifade eder. Buna karşılık miyokard (kalp kası), CK-MM'yi % 70 ve CK-MB'yi % 25-30 seviyesinde ifade eder. CK-BB ağırlıklı olarak vasküler ve uterus dokusu da dahil olmak üzere beyin ve düz kasta bulunur. Kas faaliyetleri CK-MB ve CK-MM aktivitesini artırır. Ancak CK-MM de bu artış % 5 ten azdır.^{44,47,52}

Miyokard infarktüsün ardından (4 ile 6 saat) serum total CK aktivitesi yükselmeye baslar. Belli bir süre sonunda (18 ile 30 saat) yüksek değere ulaşır ve daha sonra hızlı bir şekilde normale döner (3. Gün). Total serum CK aktivitesi göğüs ağrısı başladıktan yaklaşık 10-20 saat sonra serum CK-MB aktivitesinin artması ile beraber maksimum seviyeye ulaşır. Kalp yetmezliği, taşikardi gibi kalp hastalıklarında yükselmiş olan total serum CK ve CK-MB artışları olan olaylarda, kalp hasarının miyositlerin hücre zarlarında ağır değişimlere sebep olacağından ve interselüler CK'nın ekstrasellüler boşluğa diffüze olmasına imkân verdiğiinden şüphelenmek yararlı olacaktır. Total CK ve CK-MB kalp ameliyatlarından sonraki kardiyak travma sonrası yükselebilir.⁴⁶⁻⁵¹ Bununla birlikte Comba ve ark.⁵³ tarafından CK-MB izoenzimlerinin böbrek yetersizliğinde aktivitesinin arttığı bildirilmektedir. Comba ve ark.⁵³ ratlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyon testlerine, elektrolitlere ve hematolojik parametreler üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında CK ve CK-MB düzeylerine de bakmışlardır. Comba ve ark.⁵³ 2016 yılında yaptıkları bu çalışmalarında sağlıklı ratlarda ki CK düzeylerini 165.16 ± 50.78 U/L; CK-MB düzeylerini ise 265.00 ± 76.02 U/L, ACTH verilerek stres oluşturulan ratlarda ki CK düzeylerini 256.00 ± 61.22 U/L; CK-MB düzeylerini de 411.50 ± 81.20 U/L olarak saptamışlardır.

Ayrıca Kalp hastalıkların teşhisinde kullanılan, miyogloblin, LDH, CK ve AST nin kandaki seviyelerinin tespiti makul bir teşhis yöntemi olmasına rağmen bu tetkikler, kalp hastalıklarının yanı sıra böbrek hastalıkları, iskelet kası hastalıkları ve karaciğer hastalıklarında da kandaki düzeyleri artmaktadır.^{49,50} CK' nın kandan hızlı elemine

edilmesi ve LDH' nin CK ya oranla daha yavaş salınımı, kas hasarlarından sonra bu enzimlerin sınırlı süre zarfında kullanışlı olması, insanda bulunan hepatic LDH1 ve LDH2 aktivitelerinin, domuzda, atta ve sığırdaki yüksek olması ve bu türlerde mevcut olabilecek hepatoselüler yetmezliğin kalp yetmezliği için hatalı LDH izoenzim test sonucuna neden olabileceği ifade edilmektedir.^{31,40-43,50}

Bununla birlikte CK-MB aktivitesi, domuzlarda, tavşanlarda ve atlarda tanımlanmamıştır veya düşüktür. Aynı zamanda iskelet kası hasarları ile kardiyak hasarların hayvanlardaki komplikasyonları insanlara oranla daha çok benzerdir.^{50,51} Kandaki CK-MB seviyesinin, kronik böbrek yetmezliğine bağlı bozukluklar ile iskelet kaslarının yenilenmesi esnasında myocardial infarktüs olmadan da artışı gözlenmekte ve bu nedenle böbrek bozukluğu olan hastalarda aynı zamanda myocardial infarktüsün olup olmadığının biyokimyasal diagnozu her zaman problem olmaktadır. Hayvanlarda kalp hasarının tespiti için CK, CK-MB ve LDH' in kullanıldığı fakat orta veya hafif kas yaralanmaları, yakalama, temas, bir arada barındırma, enjeksiyon veya çabalama (çarpınma) durumlarında bu enzimlerin salınımını arttırabildiği bundan dolayı bu testlerin güvenilirliğinin azalabileceği ifade edilmektedir.^{50,51} Bu nedenle bilim adamları kalp hastalıklarının teşhisi ve tanısında daha spesifik bir tanı yönteminin araştırılmasına yönelmişler ve son zamanlarda veteriner sahada da yeni yeni yaygınlaşan ve kalp kökenli protein olan kardiyak Troponinlerin (cTn) kan seviyelerindeki artışın, kalp hastalıkları için spesifik bir teşhis yöntemi olabileceğini ifade etmektedirler.^{44,48-52} Kardiyak troponin I hayvanlarda kardiyak belirteç olarak kuvvetli bir adaydır. Çünkü cTn I kardiyak bozukluklu insanlarda yüksek hassasiyete sahip bir belirleyici olduğu ileri sürülmektedir.^{40,41,43,46,51}

Köpeklerde myokardiyal hasarın tanısında cTn I' nin yüksek hassasiyete sahip bir tanı yöntemi olduğu, benzer şekilde koyunlarda da infarktüsünden 2 gün sonra serum

cTn I' nin arttığı rapor edilmektedir. Kalp operasyon sonrası 1., 2. ve 3. günlerde serum cTn I seviyesinin artışıyla, miyokardial bozukluk tespit edilmektedir. Hipertrofik Kardio Miyopatili kedilerde, göğüs traumalarının takibinde, gastrik dilatasyon volvulusta ve babesialı köpeklerde kalp hasarı belirteci olarak cTn I' nin bakılmakta olduğunu ifade etmektedir.^{44,51,52} Kedilerde göğüs bölgesinin küt travmalarında serum cTn I seviyesinin 60–72 saatler arasında bir pikten sonra düştüğü bildirilmektedir.^{51,52} Ayrıca hipertrofik kardiyomiyopati' nin ekokardiografik belirtilerine sahip kedilerde ki cTn I' nin önemli derece yükseldiği de belirtilmektedir.^{49, 52}

Tek tırnaklı hayvanların miyokardındaki cTn I' nin konsantrasyonunun, insan kalp kasındakine eşit ve cTn I' nin tek tırnaklı hayvanların iskelet kası aktivitesinin kardiak reaktivite seviyesinin % 0,05 -% 0,1 arasında olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden cTn I' nin atlarda kalp dejenerasyonlarının identifikasyonunda kullanışlı potansiyel bir test olabileceği belirtilmektedir. cTn I konsantrasyonunun deneysel olarak oluşturulan miyokardial infarktüsülü köpeklerde, gastrik dilatasyon volvulusta sekonder aritmi oluşan köpeklerde, yaralanma sonucu oluşan miyokardial hücre bozukluğu oluşan tavşanlarda arttığı rapor edilmektedir.^{45,49,51}

Hayvanlarda miyokardial bozukluğun hızlı ve doğru olarak tanımlanması gereklidir. Çeşitli kardio toksik bileşenler, digitalis purpurea (yüksük otu) asclepias spp. nerium, oleander (zakkum) gibi bitkilerde kardiak glikozitlerin bulunması ve gossipol, ionofor yem katkılarının artması sığırlarda mortalite ve morbiditeye neden olur. Toksik ve nontoksik etiyolojilerle ilişkili kalp bozukluklarının yayılışı ve görünümünün değerlendirilmesinde miyokardial hücre bozukluklarının tanısı spesifik bir kardiak biyomarkırının kullanımı ile olabilecektir. Böyle bir belirteci aynı zamanda prognostik öneri için de kullanılabilirliği ifade edilmektedir.^{40,45,49-52}

AST ve ALT ruminantlarda miyokardial infarktüsün tanısında daha çok

belirleyici olduğu düşünölmektedir. Ancak son çalışmalar kardiac troponinlerin ölçümüyle Akut Miyokardial İnfarktüsün tanısında daha çok kullanışlı olabileceği belirtilmektedir. Subakut ve kronik perikarditis, pleürotis, pneomonia, hepatitis, splenitis ve peritonitis gibi hastalıkların büyük ekonomik kayıplara yol açtığı düşünölr. Subakut ve kronik pericarditis, Travmatik Retikulo Peritonitis (Trp)'nin en önemli komplikasyonlarıdır. Miyokarditis ya pericard kesesine yerleşen yabancı maddelerden oluşabilir veya septiseminin bir sebebi olarak gelişebilir. Travmatik retikulo peritonitisli sığırların %10' dan fazlasına miyokarditisin etkilediği rapor edilmektedir.^{20,29,52}

Sığırlarda perikarditis' in antemortem tanısı zordur ve genellikle klinik septomlara dayalı olarak yapılır veya bazen deneysel rumenotomi ile rumeno peritonitis traumatika olarak düşünölen olgularda yabancı cismi çıkarma sırasında tanısı konur. Radyografi ve ekokardiografi ek olarak kullanışlı test olabilir. Fakat sığırlarda yaygın kullanımı yoktur, pratik değildir ve çoğunlukla pahalı olduğu bildirilmektedir.^{20,26,54}

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan Materyali

Bu çalışmanın hayvan materyali Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edildi. Hayvanlara çalışma süresince uygun koşullarda bu merkezde bakıldı ve canlı materyal üzerinde ki işlemlerin tamamı bu merkezde gerçekleştirildi. Çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyle Yel Etik Kurulu'nun 30.06.2016 tarih ve 75296309-050.01.04-E.16001158911 sayılı yazısında belirtilen Etik Kurul Raporunun 125 nolu kararı ile onaylandı.

Araştırmada deney hayvanı olarak yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erişkin Sprague Dawley ırkı erkek ratlar kullanıldı. Gruplarda yeterli örneğin sağlanabilmesi için her bir grupta 8 rat kullanıldı ve 5 grup oluşturuldu (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deneysel gruplar ve gruplardaki deney hayvanı sayıları

Gruplar sayısı	Grup isimleri	Hayvan sayısı
Grup 1	Sağlıklı (Kontrol)	8
Grup 2	CYP (200 mg/kg)	8
Grup 3	Naringin (50 mg/kg) +CYP	8
Grup 4	Naringin (100 mg/kg) +CYP	8
Grup 5	Naringin (100 mg/kg)	8

Tüm hayvanlar standart bakım ve besleme şartlarına tabi tutuldu. Grup 1'e 10 gün boyunca intra gastrik (i.g.) olarak serum fizyolojik (1ml) verildi. Grup 2'ye 10 gün boyunca i.g. serum fizyolojik verildi ve 10.gün tek doz intra peritoneal (i.p.) CYP (200 mg/kg) verildi. Grup 3 ve 4'e 10 gün boyunca sırasıyla serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 ve 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı ve 10. gün Naringin enjeksiyonundan

sonra tek doz CYP (200 mg/kg, i.p.) uygulaması yapıldı. Grup 5'e ise 10 gün boyunca yalnızca serum fizyolojikte çözdürülmüş 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı. CYP uygulamasından 48 saat sonra yani deneyin 12. gününde tüm ratların Elektrokardiyografi (EKG)'si çekildi.

3.2. Metot

3.2.1. EKG Çekimleri

EKG çekimleri için ratlar yüzükoyun yatırılıp tespit edildikten sonra sakinleşmeleri beklendi ve ortama alışmaları sağlandı. Ratların ön ve arka bacaklarında elektrotların yerleştirileceği yerler olan dirsek ve diz ekleminin üst kısmının kılları kırpıldı ve alkollü ile temizlendi. Akım geçişini kolaylaştırmak amacıyla elektrotların yerleştirileceği bölgelere (dirsek ve diz ekleminin üst kısmına) elektrot jeli sürüldü. Daha sonra timsah ağızlı elektrotlar ön bacaklarda dirsek ekleminin üzerine, arka bacaklarda diz ekleminin üzerine yerleştirildi.^{24,26,33,55-57} EKG, bipolar ekstremite derivasyonları (I, II ve III) ile artırılmış ünipolar ekstremite derivasyonları (aVR, aVL ve aVF) şeklinde altı derivasyon olarak kaydedildi. EKG cihazı 1 mV=10 mm ve yazdırma hızı 50 mm/sn olacak şekilde ayarlandı. EKG parametreleri için kayıt işlemlerinde Cardiyofax 6851 (Nihon 98 Kohden, Tokyo, Jopon) marka elektrokardiyograf kullanıldı.^{24,37,55-58}

Ratlardan elde edilen EKG traselerinin her birinde II. derivasyonda P ve T dalgaları ile QRS kompleksinin süre ve amplitüdüleri, PR ve QT aralıklarının süreleri saptandı. Altı derivasyonda P ve T dalgaları ile QRS kompleksinin şekilleri değerlendirildi. Ayrıca kalbin ortalama elektriksel ekseni ve dakikadaki kalp atım sayıları tespit edildi.^{24,37,38,58}

3.2.2. Biyokimyasal Prosedür

EKG çekimleri sonunda tüm hayvanlar tiopental sodyum (20 mg/kg) ile anestezi

altına alındı. İntra kardiyak kan örnekleri alındıktan sonra servikal dislokasyon metodu ile sakrifiye edildi. Ratların kalplerinden alınan kan, temiz kan tüplerine hemoliz oluşturmamak için yavaşça konuldu. Pıhtılaşılan kanlardan serum ayrılarak ependorf tüplerine paylaştırıldı ve daha sonra bu serumlar Troponin I, Kreatin Kinaz (CK) ve Kreatin Kinaz MB (CK-MB) analizleri yapılana kadar -20°C'da muhafaza edildi.

Troponin I'ya Rat Kardiyak Troponin Test Kiti (Katalog No: KT-478) ile ELISA yönteminde bakıldı. CK ve CK-MB ise Modüler pp oto analizöründe tayin edildi.

3.2.3. İstatiksel Analiz

Çalışmalar sonunda elde edilen kantitatif değerler SPSS 20.00 istatistik veri programında ikiden fazla bağımsız grupların istatistiksel analizinde kullanılan one-way ANOVA sonrası Duncan testi uygulanarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Bu araştırmada CYP ile kardiyotoksisite indüklenmiş ratlarda, EKG ve kalp enzimleri üzerine naringinin protektif etkileri araştırıldı. Ayrıca serum Troponin I, CK ve CK-MB düzeyleri ile elektrokardiyogram arasındaki bağlantılar değerlendirildi.

Kontrol ve deney gruplarındaki ratlara ait EKG değerleri Tablo 4.1'de, EKG örnekleri ise Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de verildi. Tablo 4.1'de de görüldüğü gibi ratlarda kaydedilen EKG parametrelerinde Kontrol grubundaki ratların kalp atım sayıları ortalama 375 ± 30 olarak belirlendi. CYP grubunda kalp atım sayısının 510 ± 17 olduğu ve CYP'nin sinüzal taşıkardiye neden olduğu tespit edildi. CYP uygulanan ratların EKG'lerinde aritmi, sinüzal taşıkardi, miyokard enfarktüsü ile karakterize (sekonder kardiyomiyopati) ST yükselmeleri görüldü (Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7). CYP grubundaki kalp enzimlerin (Troponin I, CK ve CK-MB) seviyelerinin yükselmesi de bu bulguları destekler niteliktedir (Tablo 4.2, Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7). Ayrıca bazı ratlarda ise 2. derecede kalp blokları tespit edildi (Şekil 4.3.) Naringinin 50 ve 100 mg dozlarının CYP'nin neden olduğu sinüzal taşıkardiyi azalttığı fakat tam olarak önleyemediği görülmektedir (Tablo 4.1), Naringin100 grubundaki değerler ise Kontrol grubu değerleri ile paralellik göstermektedir.

Gruplardan elde edilen EKG traselerinde P dalgasının, T dalgasının, PQ aralığının, QT aralığının ve QRS kompleksinin süresi ve amplitüdü CYP li gruplarda Kontrol ve Naringin 100 grubuna göre daha kısa ve bu süre kısalması istatistikî bağlamda $P<0.05$ düzeyinde anlamlı bulundu. Kalbin ortalama elektriksel eksenini kontrol ve deneme grubundaki ratlarda 52° ile 55° arasında değiştiği ve istatistiki bağlamda gruplar arasında herhangi bir farkın bulunmadığı ($p>0.05$) görüldü.

Tablo 4.1. Kontrol ve deneme gruplarında Ratların Elektrokardiyogramlarında II. Derivasyona ait dalgaların amplitüd ve süreleri (n=6).

EKG Parametreleri	Gruplar				
	Kontrol	CYP	Naringin 50+CYP	Naringin 100+CYP	Naringin 100
P (s)	0.024± 0,00 ^a	0.019± 0,00 ^b	0.019± 0,00 ^b	0.020± 0,00 ^b	0.024±0,00 ^a
P (mV)	0.1± 0,00	0.1± 0,00	0.1± 0,00	0.1± 0,00	0.1± 0,00
P-Q (s)	0.04± 0,00 ^a	0.03± 0,00 ^b	0.03± 0,00 ^b	0.03± 0,00 ^b	0.04± 0,00 ^a
QRS (s)	0.042± 0,00 ^a	0.027± 0,00 ^b	0.029± 0,00 ^b	0.029± 0,00 ^b	0.042± 0,00 ^a
QRS (mV)	0.5± 0,00 ^a	0.4± 0,00 ^b	0.4± 0,00 ^b	0.5± 0,00 ^a	0.5± 0,00 ^a
QT (s)	0.053± 0,00 ^a	0.042± 0,00 ^b	0.042± 0,00 ^b	0.043± 0,00 ^b	0.053± 0,00 ^a
T (s)	0.044± 0,00 ^a	0.033± 0,00 ^b	0.034± 0,00 ^b	0.035± 0,00 ^b	0.044± 0,00 ^a
T (mV)	0.1± 0,00	0.1± 0,00	0.1± 0,00	0.1± 0,00	0.1± 0,00
Kalp atım sayısı (dakika)	375±30 ^a	510±17 ^b	494±28 ^{ab}	475±27 ^{ab}	385±26 ^a
Kalbin Elektriksel Ekseni (derece)	54±11 ^a	53±9 ^a	55±9 ^a	52±10 ^a	54±8 ^a

^{a,b} ; Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistik olarak önemlidir (P<0.05)



Şekil 4.1. Kontrol Grubu ratlarda elektrokardiyografi (1 mV=10 mm, 50mm/sn)



Şekil 4.2. CYP grubundaki ratlarda sinüzal taşikardi (1 mV=10 mm, 50mm/sn)



Şekil 4.3. CYP grubundaki ratlarda 2. derece kalp bloğu (1 mV=10 mm, 50mm/sn)



Şekil 4.4. CYP grubundaki ratlarda ST yükselmesi (1 mV=10 mm, 50mm/sn)

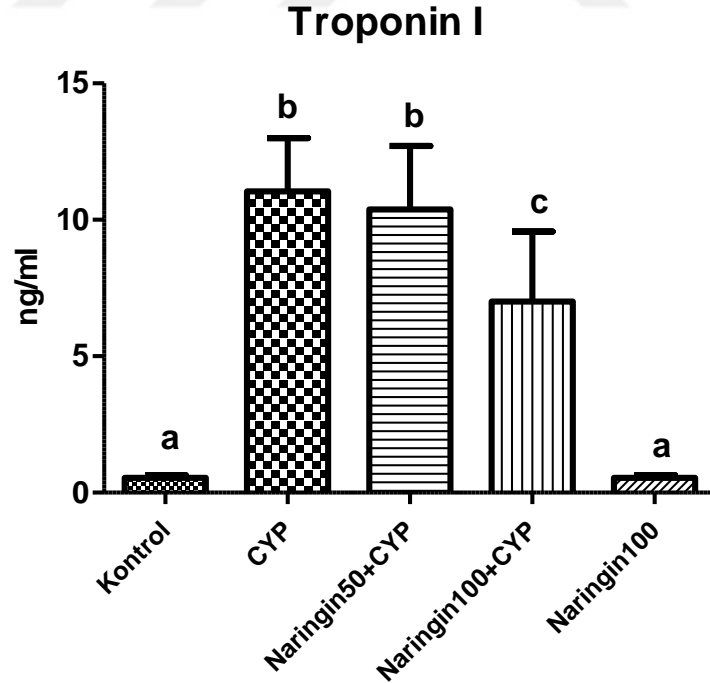
Kalp kası hasarlarında Troponin I ve CK-MB'nin seviyelerinin yükselmesi daha da önemlilik arz etmektedir. CK kalp ve tüm iskelet kası hasarlarında yükselirken, Troponin I ve CK-MB özellikle kalp kası hasarlarında yükselmekte ve bu yükselme önemlilik göstermektedir. Total CK'nın, CK-MB'ye oranı % 2.5-3'den fazlaysa kalbin hasarlanma olasılığı yüksektir. Yüksek CK ile birlikte bu değerin altındaki bir rölatif indeks ise iskelet kaslarının hasarlanmış olduğunu düşündürür. Kontrol grubu ratlarda serum Troponin I, CK ve CK-MB düzeyleri Tablo 4.2, Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7'de verildi. Tablo 4.2'de de görüldüğü gibi Kontrol, CYP, Naringin50+CYP, Naringin 100+CYP ve Naringin 100 grubunda Troponin I (ng/ml) 0.5 ± 0.1 , 11 ± 2 , 10.3 ± 2.3 , 7 ± 2.5 , 0.5 ± 0.1 ng/ml; CK 156 ± 16 , 368 ± 64 , 358 ± 42 , 207 ± 15 , 153 ± 19 U/L; CK-MB 284 ± 54 , 1574 ± 166 , 1362 ± 107 , 1040 ± 147 , 278 ± 47 U/L olarak bulundu. Yine Tablo 4.2 ve Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7'de görüldüğü gibi Troponin I, CK ve CK-MB Kontrol grubu ile CYP grubu arasında istatistiki bağlamda $p<0.001$ düzeyinde farklı ve anlamlı çıkmıştır. Bu parametreler Naringin 100+CYP grubunda Naringin50+CYP grubuna göre daha düşük çıkmıştır. Bu düşüş her iki grup arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubu değerleri ile Naringin100 grubu değerleri arasında ise istatistiki açıdan

her hangi bir fark tespit edilememiş ve değerler bir birlerine oldukça yakın çıkmıştır (p>0.05).

Tablo 4.2. Kontrol ve deneme gruplarında serum Troponin I, CK ve CK-MB düzeyleri (X±SD).

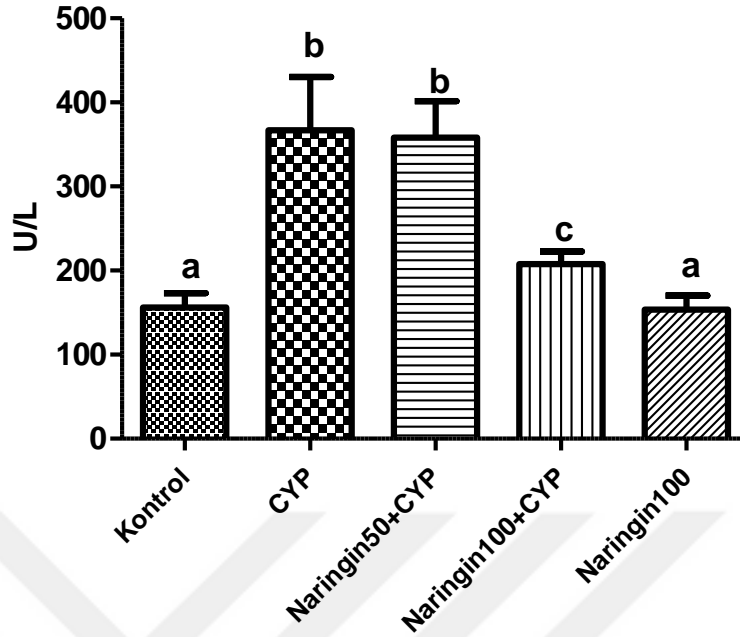
Deney Grupları	Troponin I (ng/ml)	CK (U/L)	CK-MB (U/L)
	Ortalama±St. Sapma	Ortalama ± St. Sapma	Ortalama±St. Sapma
Kontrol	0.5±0.1 ^a	156±16 ^a	284± 54 ^a
CYP	11±2 ^b	368±64 ^b	1574± 166 ^b
Naringin50+CYP	10.3±2.3 ^b	358±42 ^b	1362±107 ^b
Naringin 100+CYP	7±2.5 ^c	207±15 ^c	1040± 147 ^c
Naringin 100	0.5±0.1 ^a	153±19 ^a	278± 47 ^a

Aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark istatistiksel olarak önemlidir ab: p<0.001, bc: p<0.05, ac: p<0.001



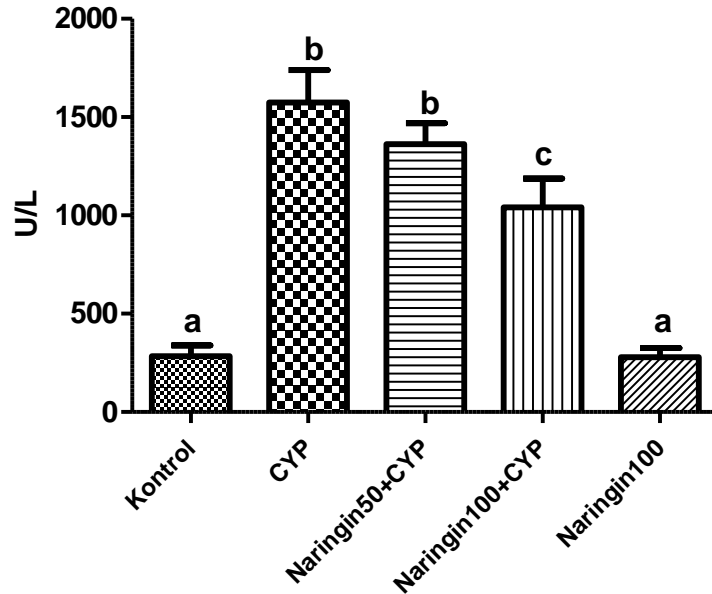
Şekil 4.5. Kontrol ve deneme gruplarında ki ratlarda serum Troponin düzeyleri (Farklı harflerle belirtilen gruplar arasında istatistiksel farklılık vardır, ab: p<0.001, bc: p<0.05, ac: p<0.001).

Kreatin Kinaz (CK)



Şekil 4.6. Kontrol ve deneme gruplarında ki ratlarda serum CK düzeyleri (Farklı harflerle belirtilen gruplar arasında istatistiksel farklılık vardır, ab: $p<0.001$, bc: $p<0.05$, ac: $p<0.001$).

Kreatin Kinaz-MB (CK-MB)



Şekil 4.7. Kontrol ve deneme gruplarında ki ratlarda serum CK-MB düzeyleri (Farklı harflerle belirtilen gruplar arasında istatistiksel farklılık vardır, ab: $p<0.001$, bc: $p<0.05$, ac: $p<0.001$).

5. TARTIŞMA

Cyclophosphamide (CYP) kemoterapide yaygın olarak kullanılan bir antikanser ajandır.⁵⁹ CYP aynı zamanda iyi bir mutajen ve klastojendir.⁶⁰ Bu antikanserojen ajan bir ön ilaç olduğundan in vitro şartlarda etkili değildir. Ancak karaciğerde mikrozomal oksidaz sisteminin etkisiyle (sitokrom P-450) 4-hydroxycyclophosphamide dönüşür ve sonrasında periferik doku ve tümör hücrelerinde aldophosphamide ve daha sonra da acrolein ile phosphamide hardalına dönüşmektedir.⁶¹ Bu metabolitlerin son ikisi ve CYP'nin antikanserojen etkili olmayan diğer metabolitleri oldukça sitotoksiktir.⁶² Acrolein hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve nitrik oksitin üretimini aktive etmektedir. Bu iki bileşiğin oluşması da peroksinitrit oluşumuna neden olmaktadır. Peroksinitrit ise hücredeki DNA, proteinler ve lipitler için son derece hasar verici bir bileşiktir.^{63,64} CYP ayrıca RNA'lar arasındaki bağı yıkılmayarak DNA yapımını başarısızlığa uğratar ve protein sentezini inhibe eder.⁶⁴

CYP nin kullanım alanları artrit, sistemik lupus eritematoz, skleroderma, glomerulonefrit, kronik interstisyel pnömoni, multiple sklerozis ve organ nakli gibi diğer nonmalignant hastalıklardır. CYP aynı zamanda multiple myeloma ve nefritik sendromun tedavisinde de kullanılır.⁶⁵ CYP'nin kusma, bulantı, deride lezyonlar, ağız yaraları, sistit, adet siklusunun olmaması gibi yan etkileri bulunmaktadır.⁶⁶ CYP ayrıca gonadal toksisiteye neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar neticesinde CYP ile tedavi edilen hastalarda oligospermi ve azospermi insidensinde artma olduğu görülmüştür.⁶⁷ CYP'nin karaciğer üzerine de olumsuz etkileri bulunmakta olup son yapılan çalışmalarda CYP'nin 100mg/kg dozunun Swiss farelerinin karaciğer dokularında malondialdehyde (MDA) seviyelerini artırarak ve antioksidan savunmasını azaltarak karaciğerde oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.⁶⁸

CYP toksikasyonu kan tablosunda da değişimlere neden olup, CYP toksikasyonu

neticesinde anemi ve nötropeni tablosu görülmektedir.^{69,70} Yüksek dozlarda CYP ölümcül kardiyomiyopati ile birlikte kardiyak dekompenzasyon gibi akut kardiyotoksisiteye neden olmaktadır. Ayrıca, CYP'nin kemoterapi ve kök hücre naklinden sonra kullanımının kardiyak ve vasküler toksisiteye neden olduğu belirtilmiştir.⁷⁰⁻⁷⁴ Yüksek dozlarda ölümcül kardiyomopatilere neden olmaktadır. Antikanser ilaçların olası yan etkilerini ve oluşabilecek oksidatif stresi azaltmak için bazı antioksidan bileşikler kullanılmaktadır. Turunçgillerde bol miktarda bulunan ve güçlü antioksidan etkili bileşiklerden birisi de Naringin'dir. Naringin antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanser etkili flavonoidlerden birisidir. Çelebi ve ark.⁷⁴ idrar kesesi üzerine CYP nin etkilerini araştırmışlardır. Şengül ve ark.⁷⁵ ise CYP ile akciğer toksisitesi oluşturmuş ve quercitinin protektif etkilerini incelemişlerdir. Benzer bir çalışmada ise Gelen ve ark.⁷⁶ CYP ile oluşturulan kardiyotoksisite üzerine quercitinin koruyucu etkilerine bakmışlardır. Ayrıca EKG ve kalp enzimleri üzerine Naringinin etkileri ile alakalı yeterli sayıda literatür bilgiye rastlanılmamıştır. Tüm bu literatür bilgileri ışığında CYP ile kardiyotoksisite indüklenmiş ratlarda, kardiyovasküler sistem üzerine naringinin protektif etkilerini araştırmak ve ratlarda EKG değerleri ve kalp enzimleri üzerine naringinin olası protektif etkilerinin belirlenmesi ve bu doğrultuda literatüre katkıda bulunulması büyük önemlilik arz etmektedir.

EKG ve kalp enzimleri (Troponin I, CK ve CK-MB) kalp ritim ve miyokart bozukluklarında uyarım merkezleri ile uyarı iletiminin aksaklıklarının tespitinde, koroner damar rahatsızlıklarında ve kalp hipertrofilerinin tanısında önemli katkılar sağlar. Çalışmamızda kullanılan ratlara anestezi uygulanmamıştır. Bunun yerine hayvanlar sessiz, sakin, kalabalık olmayan ortama ve yapılan işlemlere alıştırdıktan sonra elektrokardiyogramları yazdırılmıştır. Ratlarda kalp atım sayısının yüksek olması nedeniyle elektrokardiyogramlar 50 mm/sn hızda kaydedilmiştir.^{24,37,38,55,58} Bu

hayvanlarda altı derivasyondan yazdırılan elektrokardiyogramlar incelemeye alınmış, dalgaların amplitüd ve sürelerinin değerlendirilmesi II. Derivasyonda yapılmıştır.^{57,77-81} Kalbin ortalama elektriksel ekseninin bulunmasında ise I. ve III derivasyonlardan faydalanılmıştır.^{24,38,57,79-81}

P dalgasının süresi ve amplitüdü ile PQ aralığı için Kontrol ve Naringin100 grubunda bulunan değerler literatür ile uyumludur.^{24,37,38,57} Sambhi ve White³² ın 1960 yılında yaptıkları çalışmada P dalgasının ve PR aralığının süresinin yaklaşık 1/3'ü veya 1/2'si kadar olması gerektiği konusundaki bildirimini bu araştırmadaki bulgular ile uyumluluk göstermektedir.

Ventriküllerin depolarizasyonunun göstergesi olan QRS kompleksinin süresi incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edildi (p<0.05; Tablo 4.1). CYP grubundaki ratların QRS değerinin, Kontrol ve Naringin100 gruplarındaki QRS değerinden düşük olduğu saptandı. Bu da CYP grubunda kalp atım sayısının yüksek olmasından, sinüzal taşikardi görülmesinden kaynaklandı (Şekil 4.2). CYP uygulanan ratların EKG'lerinde literatürlerle^{21,24,82-85} uyumlu olarak aritmi, sinüzal taşikardi, miyokard enfarktüsü ile karakterize (sekonder kardiyomiyopati) ST yükselmeleri görüldü (Şekil 4.2, 4.3 ve 4.4). CYP grubundaki kalp enzimlerinin (troponin I, CK ve CK-MB) seviyelerinin yükselmesi de bu bulguları ve literatürü⁸⁴⁻⁸⁶ destekler niteliktedir (Tablo 4.2 ve Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7).

Kalp kası hasarlarında Troponin I ve CK-MB'nin seviyelerinin yükselmesi daha da önemlilik arz etmektedir. CK kalp ve tüm iskelet kası hasarlarında yükselirken, Troponin I ve CK-MB özellikle kalp kası hasarlarında yükselmekte ve bu yükselme önemlilik göstermektedir. Total CK'nın CK-MB'ye oranı %2.5-3'den fazlaysa kalbin hasarlanma olasılığı yüksektir. Yüksek CK ile birlikte bu değer altındaki bir rölatif indeks ise iskelet kaslarının hasarlanmış olduğunu hatırlatmaktadır. Bununla birlikte

Comba ve ark.⁵³ tarafından CK-MB izoenzimlerinin böbrek yetersizliğinde aktivitesinin arttığı bildirilmektedir. Comba ve ark.⁵³ ratlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyonlarına, elektrolit dengeye ve kan değerleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında CK ve CK-MB düzeylerine de bakmışlardır. Comba ve ark.⁵³ yaptıkları bu çalışmalarında sağlıklı ratlarda ki CK düzeylerini 165.16±50.78 U/L; CK-MB düzeylerini ise 265.00±76.02 U/L, ACTH verilerek stres oluşturulan ratlarda ki CK düzeylerini 256.00±61.22 U/L; CK-MB düzeylerini de 411.50±81.20 U/L olarak saptamışlardır.

Bizim araştırmamızda ise Tablo 4.2’de de görüldüğü gibi Kontrol, CYP, Naringin50+CYP, Naringin 100+CYP ve Naringin 100 grubunda Troponin I (ng/ml) 0.5±0.1, 11±2, 10.3±2.3, 7±2.5, 0.5±0.1 ng/ml; CK 156±16, 368±64, 358±42, 207±15, 153±19 U/L; CK-MB 284± 54, 1574± 166, 1362±107, 1040± 147, 278± 47 U/L olarak bulundu. Araştırmamızdaki Kontrol ve Naringin 100 grubunda bulunan CK ve CK-MB değerleri Comba ve ark.⁵³ nın saptadıkları değerlerle benzerlik göstermektedir. Tablo 4.2 ve Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7’de görüldüğü gibi Troponin I, CK ve CK-MB Kontrol grubu ile CYP grubu arasında istatistiki bağlamda p<0.001 düzeyinde anlamlı çıkmıştır. Bu parametreler Naringin 100+CYP grubunda Naringin50+CYP grubuna göre biraz daha düşük çıkmıştır. Bu düşüş her iki grup arasında p<0.05 düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubu değerleri ile Naringin100 grubu değerleri arasında ise istatistiki açıdan her hangi bir fark tespit edilememiş ve değerler bir birlerine oldukça yakın çıkmıştır (p>0.05). Bu verilerden de anlaşılacağı üzere CYP nin olumsuz etkilerinin azaltılması bağlamında Naringinin protektif etkileri önemlilik göstermektedir.

CYP grubundaki kalp enzimlerin yükselişi ve ST yükselmeleri sekonder kardiyomiyopati olgusunu göstermekte ve bu durum literatürle uyumluluk arz etmektedir.^{25,87-90} Ayrıca bazı ratlarda 2. derecede kalp blokları tespit edildi (Şekil 4.3).

CYP'nin kardiyotoksik etkisinin olası sonuçları, myokardiyal kapillerlerin endotelyumunda hasar ve damar permeabilitesinde artışa bağlı olarak plazma ve eritrositlere geçirgenliğin olmasından kaynaklanmış olabilir.

Yapılan bir çalışmada CYP'nin köpeklerde sinüs ritmi ile birlikte sol dal bloğuna neden olduğu belirlenmiştir.⁹¹ Bir başka çalışmada ise CYP'nin doza bağımlı olarak fetal kardiyomiyopatiye kadar varabilen kardiyotoksisitelere neden olduğu rapor edilmiştir.⁸⁷ CYP ile indüklenen kardiyotoksisite semptomları çoğunlukla 1 veya 3 hafta içinde ortaya çıkmaktadır. Daha önceden anthracycline grubu ilaçla tedavi görmek ve radyasyon almak, 50 yaşın üstünde olmak ve sol karıncık disfonksiyonunun olması CYP ile indüklenen kardiyotoksisitenin risk faktörlerindedir.^{72,89-93} Çalışmamızda CYP'nin kardiyotoksik yan etkilerini giderebilmek amacıyla naringin kullanılmıştır. Naringinin 50 ve 100 mg/kg dozlarının CYP'nin neden olduğu sinüzal taşikardiyi, kalp bloklarını ve ST yükselmelerini azalttığı fakat tam olarak önleyemediği görülmektedir (Tablo 4.1), Naringin100 grubundaki değerlerin ise Kontrol grubu değerleri ile paralellik göstermektedir.⁵⁷

Kobaylarda 1994 yılında yapılan bir çalışmada Pişkin ve Emre³⁷ beden ağırlığına 250 mg/kg dozda sodyum florür derialtı uygulanarak akut flor zehirlenmesi oluşturulmuş ve bunu izleyen 8-12. saatler arasında elektrkardiyogramları çekilmiştir. Akut flor zehirlenmesi sonucunda, P dalgasının amplitüdünün 0.132 mV'den 0.86'ya düştüğünü, QRS kompleksi süresinin 0.031 sn'den 0.036 sn'ye uzadığı (p<0.05), T dalgasının süresinin 0.046 sn'den 0.040 sn'ye düştüğü (p<0.05), QT aralığının süresinin 0.146 sn'den 0.182 sn'ye uzadığı (p<0.001) ve dakika kalp atım sayısının ortalama 255'den 220'ye düştüğü (p<0.01) belirlemiştir. Buna karşın P dalgasının süresinde, QRS kompleksinin elektriksel ekseninde, R, S ve T dalgalarının amplitüdüleri ile P ve T dalgalarının ve QRS kompleksinin şekillerinde bir farklılık gözlemlememişlerdir.

Deney grubu kobayların elektrokardiyogramlarının %40'ında ikinci derece kalp bloğu tespit etmişlerdir. Pişkin ve Emre³⁷, nin 2. derece kalp bloğu bulguları bu çalışmayla paralellik göstermektedir. Yine kobaylarda yapılan benzer bir çalışmada Simonin ve Pierron³⁶, nun, 250 mg/kg dozda derialtı sodyum florür uygulanması neticesinde akut flor zehirlenmesi oluşturulmuş ve NaF toksikasyonunun elektrokardiyogram üzerine etkilerini incelemiştir.

Diğer hayvanlar üzerinde de benzer çalışmalar yapılmıştır.^{56,57,92,93} Kılıçalp ve ark.⁹² köpeklerde kronik florozisin EKG üzerine etkilerini araştırmıştır. Tavşanlarda akut ve kronik CCl₄ intoksikasyonun EKG üzerine etkileri, Çınar ve ark.²¹ tarafından incelenmiştir. Yine tavşanlarda monensinin EKG üzerine etkileri ise Meral ve ark.⁵⁶ tarafından saptanmıştır. Van kedilerinde yaş, cinsiyet ve mevsim etkilerinin EKG ve kalp radyogarfileri ile bağlantıları, Kılıçalp ve Çınar⁹⁴ tarafından tespit edilmiştir. Aynı araştırmacılar bir başka çalışmalarında ise hipertrofi ve ventriküler aritmili bir Van kedisinde EKG değerleri tespit etmişlerdir.⁹⁵ Kılıçalp ve ark.⁵⁷ yaptıkları bir başka çalışmalarında ise elektromanyetik alana maruz kalan kobaylarda yeşil çayın etkilerini incelemişlerdir.

EKG'de dalgaların amplitüdü, süresi ve şekli üzerine elektrolitler önemli etki yapmaktadır. Deneysel olarak oluşturulan hiperkalemi olgularında QRS kompleksinin süresinde bir miktar uzama olduğu pek çok araştırmacı tarafından ifade edilmektedir.^{33,77} Pişkin ve Emre³⁷ kobaylarda akut flor zehirlenmesi sırasında ortaya çıkan hiperkalemide QRS kompleksinin süresinin uzadığını belirtmektedir. Baltazar ve ark.³⁵ T dalgasının sivrileşmesinin hiperkalemiyi akla getirdiğini, daha sonra köpekler üzerinde yapılan deneysel araştırmalarında T dalgasının sivrileşmesi yanında ST parçasında çökme görülmesinin oluşan hiperkalemiye bağlı olduğu araştırmacılar^{37,96,97} tarafından ifade etmektedir. Ayrıca benzer ifadeler diğer araştırmacılar tarafından da

açıklanmıştır.²⁵ Hipokalsemi olgularında ise T dalgasının süresinde uzamanın olduğu Bronsky ve ark.³³ tarafından bildirilmesine rağmen Pişkin ve Emre³⁷ ise T dalgası süresinin anlamlı düzeyde azaldığını ($p<0.05$), elektrokardiyogramda T dalgası üzerine hiperkaleminin etkisinin daha baskın olduğunu belirtmektedir.^{33,37} Bronsky ve ark.³³ hipokalsemi olgularında PR aralığının uzadığını bildirmişlerdir. Akut flor zehirlenmelerinde flor iyonlarının dolaşımındaki kalsiyumu bağlayarak hipokalsemi oluşturduğu ve bunun da elektrokardiyogramda QT aralığının uzamasına neden olduğu çeşitli yazarlarca belirtilmiştir.^{35,39} Deneysel olarak hipokalsemi oluşturulan sığırlarda da QT aralığının uzadığı açıklanmaktadır. Elektrokardiyogramda QT aralığının uzama veya kısalmasının hipokalsemi ve hiperkalsemilerin değerlendirilmesinde kullanılabilceği bildirilmiştir.^{25,37,39,96,97} Kan kalsiyum düzeyinin kalsiyum bağlayıcı maddeler kullanılarak düşürülmesiyle veya kalsiyum kanal blokörleri tarafından hafif düzeyde engellenmesiyle aritmilerin oluştuğu, hiperkalemilerde ise artmış ekstraselüler potasyumun hem Peysmeykir hem de iletimi sağlayan dokuların baskılanması ile miyokardın uyarılabilirliğini azalttığı bildirilmektedir.^{20,25,97,98}

Bulduk ve Kılıçalp³⁸ 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada, günlük *Crataegus oxyacantha* uygulamasının ratlarda EKG değerlerine etkisini belirlemek için 16'sı dişi, 16'sı erkek olmak üzere toplam 32 sağlıklı rat kullanmışlardır. Dişi ve erkek sayıları eşit olan rastgele seçilmiş 4 grup oluşturmuşlardır.⁴² 1. grup kontrol grubu, 2. grup 25 mg/kg, 3. grup 50 mg/kg, 4. grup 100 mg/kg *Crataegus oxyacantha* ekstraktı verilen grup olarak belirlemişlerdir. Bir ay boyunca oral olarak *Crataegus oxyacantha* ekstraktı verilen bu ratlarda EKG değerlerine bakmışlardır. Araştırmalarında QT (sn) ve QTc (sn) değerleri arasındaki farkı gruplar açısından, QRS (sn), R-R (sn) ve kalp atım sayısı (atım/dk) değerleri arasındaki fark ise hem gruplar hem de cinsiyetler açısından anlamlı bulmuşlardır.

EKG' de P-Q aralığının süresi, sino-oriküler düğümünden çıkan uyarı dalgasının kulakçık kası, orikülo-ventriküler düğüme geçerek his demetinde duraklama ve karıncık kasına kadar gelmesi için geçen süredir. QT aralığı karıncıkların elektriksel sistolü için geçen süreyi yani ventriküler aktivasyon zamanını temsil eder. PQ ve QT değerleri CYP grubunda Kontrol ve Naringin100 grubundan daha düşük bulundu ve gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edildi (Tablo 4.1). Naringinin PQ ve QT aralığında kısaltmaları önlediği görüldü. Senkop ve ani kardiyak ölümlerle birlikte gözlenen uzun QT sendromu, ölümcül ventriküler aritmiler için bir risk faktörüdür. Taşikardi de QT aralığının kısaltması, bradikardi, elektrolit dengesizlikleri (hipopotasemi, hipomagnezemi) durumlarında QT aralığını uzaması "torsade de pointes" tipi ventriküler aritmilere neden olabilir.³⁹

Elektrokardiyogramda R-R aralığı dakikada ki kalp atım sayısını elde etmemizi sağlamaktadır. Bu çalışmada Kontrol grubundaki dakika kalp atım sayısı 375, CYP grubunda 510, Naringin 50+CYP grubunda 494, Naringin100+CYP grubunda 475 ve Naringin100 grubundaki kalp atım sayısı 385 olarak tespit edildi. CYP grubundaki kalp atım sayıları Kontrol grubu ile Naringin100 grubuna göre istatistiki bağlamda $p < 0.05$ düzeyinde önemlilik arz etmektedir. Araştırmamızdan elde ettiğimiz bu değerler Bulduk ve Kılıçalp³⁸, in belirttiği 410 değerleri ile uyumluluk göstermektedir. Bazı araştırmacılar EKG çekimlerini anestezi altında yapmışlardır. Anestezinin solunum sistemi, kalp ve dolaşım sistemi ile boşaltım ve sinir sistemi üzerine etkilerinin olduğu bilinmektedir.^{25,58,97,98} Bulduk ve Kılıçalp³⁸ kalp atım sayısı açısından gruplar ve cinsiyetler arasındaki farkı anlamlı bulmuşlardır. Bu farklılığı erkek ratların kalp atım sayısı (410.679 ± 67.314 atım/dk), dişi ratların kalp atım sayısından (356.441 ± 62.302 atım/dk) olarak tespit etmiştir. Bulduk ve Kılıçalp³⁸ özellikle 25 mg/kg ve 50 mg/kg *Crataegus oxyacantha* ekstraktı verilen gruplardaki ratlarda kalp atım sayısının

yükseldiğini belirtmektedir. Ayrıca *Crataegus oxyacantha* ekstraktının R-R aralıklarının kışalmasına ve buna paralel olarak kalp atım sayısında bir artışın olduğunu belirtmesi doz miktarına bağlı aritmilerin olabileceğini ifade etmektedir. 25 mg/kg ve 50 mg/kg *Crataegus oxyacantha* ekstraktı verilen grupların kalp atım sayısının istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yükseltmesi, 100 mg/kg verilen grupta ise artışın anlamlı olmaması doz miktarının önemli olduğu yönündeki düşüncüyü ön plana çıkardığını açıklamaktadır. 100 mg/kg *Crataegus oxyacantha* verilen gruptaki RR aralığı değeri literatürle paralellik gösterdiği belirtmektedir.^{39,79,80} Nasa ve ark.⁹⁹ iskemi tedavisinde yüksek konsantrasyonlu alıç ekstraktının kardiyoprotektif etkili olduğu fakat düşük konsantrasyonlu alıç ekstraktının kalbi güçlendirmede pek etkili olmadığını açıklamaktadır. Birman ve ark.¹⁰⁰ nin yaptıkları bir çalışmada uzun süreli *Crataegus* uygulamasının daha etkili olacağını açıklamaları da göz önüne alınarak, daha sonraki yapılacak çalışmalarda farklı doz ve uzun uygulama süreleri ile daha kesin sonuçlara ulaşılabileceği belirtmektedir. Bu nedenle kardiyoprotektif etkili bitkisel kökenli ajanların kullanımında tüketilen miktarın ve sürenin önemli olduğu düşünülmektedir.

T dalgası ventriküler repolarizasyonu temsil eder, her QRS kompleksinden sonraki pozitif sapmadır. Fakat QRS'in negatif olduğu durumlarda T dalgasının da negatif olması beklenir. Bu çalışmada T dalgasının süresi Kontrol ve Naringin100 grubunda $0.044 \pm 0,00$, CYP grubunda $0.033 \pm 0,00$, Naringin50+CYP grubunda $0.034 \pm 0,00$, Naringin100+CYP grubunda $0.035 \pm 0,00$ olarak bulundu. CYP grubundaki T dalgasının süresi Kontrol ve Naringin100 grubunun değerinden istatistiki bağlamda $p < 0.05$ anlam ifade edecek düzeyde düşük çıktı. Bu düşüş CYP'nin yan etkilerinden kaynaklanmaktadır. Kontrol ve Naringin100 grubundaki T dalgasının süresi ratlar için bildirilen değerlerle uyum içerisindedir.^{24,37,38}

Kalbin aktivitesi sırasında oluşan elektromotor gücün belirtisi olan kalbin

elektriksel akseni gruplarda ortalama olarak sırasıyla $+54^\circ$, $+53^\circ$, $+55^\circ$ ve $+54^\circ$ 'dir. Bu da ratlarda kalbin öne ve hafif sola doğru seyrettiği anlamında yorumlanabilir.⁷¹ Kalbin ortalama elektriksel akseni, Yılmaz²⁴ 0- 175 derece değişim sınırlarında ortalama 28 derece olarak açıklarken, Cieslar ve ark.⁹⁶ ise ortalama 33 derece olarak bildirmişlerdir. Hem kontrol hem de deney grubundaki ratlardan elde edilen sonuçlar yukarıdaki araştırmacıları destekler niteliktedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

CYP ile indüklenmiş ratlarda, kardiyovasküler sistem üzerine naringinin protektif etkileri hem EKG değerlerinde hem de kalp enzimlerinde görülmüştür.

CYP li grupların elektrokardiyoğramlarında PQ ve QT aralıklarında süre kısalmasının Naringine bağlı olarak normal değerlerine doğru uzaması saptanmıştır.

CYP li grupların elektrokardiyoğramlarında QRS kompleksinin süresinin Naringine bağlı olarak normal değerlerine doğru uzaması belirlenmiştir.

CYP li grupların elektrokardiyoğramlarında RR aralığı süresinin ve Kalp atım sayılarının Naringine bağlı olarak normal değerlerine yaklaşması tespit edilmiştir.

CYP li grupların Kalp enzim düzeylerinin Naringine bağlı olarak normal değerlerine yaklaşması saptanmıştır.

Naringine bağlı olarak CYP li grupların EKG lerinde aritmi ve ST yükselmesi olgularının azalması görülmüştür.

Bu araştırma sonuçlarının, Cyclophosphamide ile indüklenmiş ratlarda kardiyovasküler sistem üzerine naringinin protektif etkilerinin incelenmesinde ve bundan sonra yapılacak olan bilimsel çalışmalarda yararlı olabileceği ümidini taşımaktayız. Ayrıca intoksikasyonda kalbin histopatolojisine de bakılmasının yerinde olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Ernest E, Cassileth B. The prevalence of complementary. Alternative medicine in cancer. *Cancer*, 1998, 83(4): 777-782.
2. Akay H, Akay T, Seçilmiş S, Koçak Z, Donderici O. Hepatotoxicity after low-dose cyclophosphamide. *South Med J*, 2006, 99: 1399-1400.
3. DeSouza L, Shen Y, Bogner AL. Disruption of cytoplasmic and mitochondrial folylpolyglutamate synthetase activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 376(2): 299-312.
4. Meirow D, Assad G, Dor J, Rabinovici J. The GnRH antagonist cetrorelix reduces cyclophosphamide-induced ovarian follicular destruction in mice. *Hum Reprod*, 2004, 19(6): 1294-1299.
5. Thatcher, R.W, Walker, R.A, Gerson, I, Geisler, F.H. EEG discriminant analyses of mild head trauma. *EEG Clin Neurophysiol*, 1989, 73(2): 94-106.
6. Koyama K, Nakamuro K, Tanigaki N, Pressman D. Alloantigens of human lymphoid cell lines, 'Human Ia-like antigens'. The alloantigenic activity and the cell line, organ and tissue distribution as determined by the radioimmunoassay. *Immunology*, 1977, 33(2): 217.
7. Muratori L, Ferrari R, Muratori P, Granito A, Bianchi FB. Acute icteric hepatitis induced by a short course of low-dose cyclophosphamide in a patient with lupus nephritis. *Dig Dis Sci*, 2005, 50(12): 2364–2365.
8. Fuhr U, Kummert AL. The fate of naringin in humans: A key to grapefruit juice-drug interactions? *Clin Pharmacol Ther*, 1995, 58(4): 365–373.
9. Konuk T. *Pratik Fizyoloji*. Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay, No:378, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1981.
10. İmren AH, Turan O. *Klinik Tanıda Laboratuvar*. 3 Baskı, Beta Basım Yayın

- Dağıtım A.Ş, İstanbul, 1985.
11. Yetim İ. Siklofosfamide Bağlı Sıçan Testis Hasarında E Vitamininin Rolünün Histolojik Olarak İncelenmesi / Histological Examination Of The Role Of The Vitamin E İn Cyclophosphamide-İnduced Testicular İnjury. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Eskişehir: Osman Gazi Üniversitesi, 2011.
 12. Chen TL, Kennedy MJ, Anderson LW, Kiraly SB, Black KC, Colvin OM, Grochow LB. Nonlinear pharmacokinetics of cyclophosphamide and 4-hydroxycyclophosphamide/aldophosphamide in patients with metastatic breast cancer receiving high dose chemotherapy followed by autologous bone marrow transplantation. *Drug Metab Dispos*, 1997, 25(5):544-51.
 13. Yalın S. Turunçgil Ürünlerinde Naringin (4',5,7-Trihydroxyflavanone 7-Rhamnoglucoside) Miktarının Belirlenmesi Ve Giderilmesi / Debittering And Researching Of Naringin (4',5,7-Trihydroxyflavanone 7-Rhamnoglucoside) Levels İn Citrus Fruit Products. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, Mersin: Mersin Üniversitesi, 2002.
 14. Asharful AM, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *American Society for Nutrition. Ad. Nutr*, 2014, 5(4): 404-417.
 15. Naringin. <https://www.google.com/patents/EP2163247B1?cl=en>. 19 Nisan 2017.
 16. Yılmaz, B. *Fizyoloji*, Ankara, Hacettepe Tas Kitapçılık Ltd. Sti, 1984.
 17. Guyton A, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 9th Ed. Philadelphia, W.B.Saunders Company. 1996.
 18. Noyan A. *Fizyoloji Ders Kitabı*. Ankara, Meteksan Ltd. Şti. 1988.

19. Sonel A. *Kardiyoloji* 3.baski. Ankara, Türk Tarih Kurumu Basımevi, 1987.
20. Başoğlu A. *Veteriner Kardiyoloji*. Konya, Çağrı Basım Yayın, 1992.
21. Çınar A, Yörük M, Meral İ, Kılıçalp D, Koç A, Ertekin A. Karbon Tetraklörür (CCl₄) ile Tavşanlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Akut ve Kronik İntoksikasyonun Karaciğerin Histolojik Yapısına, Bazı Hematolojik Değerlere ve Elektrokardiyogram Üzerine Etkileri. *Tr.J.of Vet. and Anim. Sci*, 1999, 23: 235-242.
22. Kılıçalp D, Çınar A. The Investigation of the Effects of Age, Sex and Season on Electrocardiograms (ECG values) and Heart Radiographs of Healty Van Cats. *Tr. J. Vet. Anim. Sci*, 2003, 27: 101-107.
23. Cinar A, Kılıçalp D, Atasoy N. Electrocardiography of a Turkish Van Cat with Hypertrophy and Ventricular Arrhythmias. *Australian Veterinary Practitioner*, 2003, 33(1):37.
24. Yılmaz, B. (1988). Kobaylarda elektrokardiyogram. *A.Ü. Yet. Fakt. Derg*, 35 (2-3): 309- 316.
25. Edwards NJ. *Bolton's Handbook of Canine and Feline Electrocardiography. 2nd Edition*. W.B. Saunders Company; Philadelphia, 1987
26. Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf PG, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Graw MC. *Harrison's Principles of Internal Medicine. 2nd Edition*. Hill Book Company, New York, 1987.
27. Chung EK. *Pocket Guide to EKG Diagnosis*. Blackwell Science Inc, U.S.A, 1996.
28. Tunca R, Sozmen M, Erdogan H, Citil M, Uzlu E, Ozen H, Gokce E. Determination of cardiac troponin I in the blood and heart of calves with foot-and-mouth disease. *J Vet Diagn Invest*, 2008, 20:598–605.
29. Fishbein MC, Wang T, Matijasevic M. Myocardial tissue troponins T and I. An

- immunohistochemical study in experimental models of myocardial ischemia. *Cardiovasc Pathol*, 2003, 12:65–71.
30. Christenson RH, Apple FS, Morgan DL, Alonsozona GL, Mascotti K, Olson M, McCormack RT, Wians FH, Keffer CH, Duh SN. Cardiac troponin measurement with the access immunoassay system: analytical and clinical performance characteristics. *Clin Chem*, 1998, 44: 52-60.
 31. Iliou MC, Fumeron C, Benoit MO, Tuppin P, Courvoisier CL, Calonge VM, Moatti N, Buisson C, Jacquot C. Factors associated with increased serum levels of cardiac troponins T and I in chronic haemodialysis patients: Chronic Haemodialysis And New Cardiac Markers Evaluation (CHANCE) study. *Nephrol Dial Transplant*, 2001, 16 (7): 1452-1458.
 32. Sambhi MP, White FN. The Electrocardiogram of the Normal and Hypertensive Rat. *Am Heart Monogr S*, 1960, 8: 129–134.
 33. Bronsky D, Dubin A, Kushner DS, Waldtein SS. Calcium and the electrocardiogram. III. The relationship of the intervals of the electrocardiogram to the level of serum calcium. *Am. J. Cardiol*, 1961, 7: 840-843.
 34. Abukurah AR, Moser AM, Baird CL, Randall RE, Setter JG, Blanke RV. Acute sodium fluoride poisoning. *JAMA*, 1972, 222 (7): 816-817.
 35. Baltazar R, Mower M.M, Reider R, Funk M, Salomon J. Acute fluoride poisoning leading to fatal hyperkalemia. *Chest*, 1980, 78 (4): 660-664.
 36. Simonin P, Pierron A. Accessory factor in fluorosis by ingestion of calcium fluoride in guinea pig. *Compt. Rend. Soc.Biol*, 1937, 124: 669-675.
 37. Piskin İ, Emre B. Kobaylarda akut flor zehirlenmesinin elektrokardiyogram üzerine etkileri. *A.Ü. Vet. Fak. Derg*, 1994, 41 (3-4): 413 - 437.
 38. Bulduk B, Kılıçalp Kılınç D. Günlük *Crataegus oxyacatha* (Alıç) Uygulamasının

- Ratlarda EKG Değerlerine Etkisi. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2013, 24 (2): 77 – 81.
39. Baillard C, Mansier P, Ennezat PV, Mangin L, Medigue C, Swynghedauw B. Converting enzyme inhibition normalizes QT interval in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 2000, 36: 350–354.
40. Adin DB, Milner RJ, Berger KD, Engel C, Salute M. Cardiac troponin I concentrations in normal dogs and cats using a bedside analyzer. *J Vet Cardiol*, 2005, 7: 27-32.
41. Ooi DS, Isotalo PA, Veinot JP. Correlation of Antemortem serum creatine kinase-MB, troponin-I and troponin-T with cardiac pathology. *Clin Chem*, 2000, 46(3), 338-344.
42. Benjamin MM. *Outline of Veterinary Clinical Pathology. Third Ed.* Colorado State University, USA, 1978.
43. Charles CJ, Elliott JM, Nicholis MG, Rademaker MT, Richards M (2000). Myocardial infarction with and without reperfusion in sheep: early cardiac and neurohumoral changes. *Clin Sci*, 98, 703711.
44. Sönmez N, Ağaoğlu ZT. Van Kedilerinde Kardiyak Troponin Seviyelerinin Araştırılması. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2010, 21 (1), 21 – 25
45. Kurtgöz Ö. Troponin-I Ölçümünde ELFA Ve CMIA Yöntemlerinin Karşılaştırılması / Troponin-I Measurement ELFA And CMIA Comparison Of Methods. Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, Hatay: Mustafa Kemal Üniversitesi, 2013.
46. Kayhan R. Farklı Kuvvet Antrenmanlarının Kreatin Kinaz Enzim Aktivitesi Ve Kan Parametrelerine Etkisi / The Effect Of Different Weight Training On Blood Parameters And Serum Creatine Kinase. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi

- ve Spor Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi, 2014.
47. Gürger M. Acil Serviste Akut İskemik Stroklu Hastaların Tanısında Kreatin Kinaz, Kreatin Kinaz-Mb, Troponin I, D-Dimer Değerlerinin Kullanılması / Using Creatine Kinase, Creatine Kinase-Mb, Troponin I, D-Dimer Values In Diagnosing Patients With Ischemic Stroke In Emergency Service. Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2007.
48. Sato Y, Kataoka K, Matsumori A. Measuring serum aminoterminal type III procollagen peptide, 78 domain of type IV collagen, and cardiac troponin T in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy and secondary cardiomyopathy. *Heart*, 1997,78: 505-508.
49. O'Brien PJ, Dameron GW, Beck ML, Kang YJ, Erickson BK, Di Battista TH, Miller KH, Jackson KH, Mittelestad S. Cardiac troponin T is a sensitive specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab Anim Sci*, 1997, 47(5): 486-495.
50. O'Brien PJ, Smith DE, Knechtel TJ. Cardiac troponin I is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab Anim*, 2006, 40:153–171.
51. Connolly DJ, Cannata J, Boswood A, Archer J, Groves EA, Neiger R. Cardiac troponin I in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J Feline Med Surg*, 2003, 5: 209-216.
52. Gunes V, Atalan G, Cital M, Erdogan HM. Use of cardiac troponin kits for the qualitative determination of myocardial cell damage due to traumatic reticulopericarditis in cattle. *Vet Rec*, 2008, 162:514–517.
53. Comba B, Çınar DA, Comba A, Gencer YG. Sıçanlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyon testleri elektrolitler ve hematolojik parametreler üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Derg*, 2016, 63: 229-233.

54. Keles İ, Alptekin İ, Atasoy N, Cinar A, Dönmez N, Ceylan E. Pseudopericarditis in cow caused by theileriosis. *Veterinarski Arhiv*, 2003, 73(2):111-117.
55. Yolken R, Konecny P, McCarthy P. Acute fluoride poisoning. *Pediatrics*, 1976, 58 (1): 90-93.
56. Meral İ, Çınar A, Bayıroğlu F, Aslan O. Effects of Different Concentrations of Monensin on the Electrocardiogram and the Serum ion Balance of the Rabbit. *Tr.J.of Vet. and Anim. Sci*, 1998, 22:421-426.
57. Kılıçalp D, Değer Y, and Çınar A. Effects of Green Tea on Electrocardiography of Guinea Pigs Exposed to Electromagnetic Field Emitted by Mobile Phones. *Kafkas UniVet. Fak. Derg*, 2009,15(6):823-828.
58. Bolton, G.R. *Handbook of Canine Electrocardiography*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1975.
59. Nasrin S, Masuda E, Kugaya H, Ito Y, Yamada S. Improvement by phytotherapeutic agent of detrusor overactivity, down-regulation of pharmacological receptors and urinary cytokines in rats with cyclophosphamide induced cystitis. *J Urol*, 2013,189 (3): 1123-1129.
60. Mohn GR, Ellenberger J. Genetic effect of cyclophosphamide, ifosfamide and trofosfamide. *Mutat Res*, 1976, 32: 334–360.
61. Calabresi P and Parks RE. Antiproliferative agents and drugs used for immunosuppression. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1980, 1256-1313.
62. Stanton ME and Legendre AM. Effects of cyclophosphamide in dogs and cats. *JAWMA*, 1986, 188 (11): 1319-22.
63. Korkmaz A, Topal T, Oter S. Pathophysiological aspects of cyclophosphamide and ifosfamide induced hemorrhagic cystitis; implication of reactive oxygen and

- nitrogen species as well as PARPactivation. *Cell Biol. Toxicol*, 2007, 23 (5): 303–312.
64. Delarmelina JM, Dutra JC, Batitucci Mdo C. Antimutagenic activity of ipriflavone against the DNA-damage induced by cyclophosphamide in mice. *Food Chem Toxicol*, 2014, 65: 140-146.
65. Anderson D, Bishop JB, Garner RC, Ostrosky-Wegman P, Selby PB. Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risks. *Mutat Re*, 1995, 330(1-2): 115-118.
66. Sampa G, Monomohon M, Ujjal B, et al. Effect of human chorionic gonadotrophin co administration on ovarian steroidogenic and folliculogenic activities in cyclophosphamide treated albino rats. *Reprod Toxicol*, 2001, 15(2): 221-225.
67. Kenney LB, Laufer MR, Grant FD, Grier H, Diller L. High risk of infertility and long term gonadal damage in males treated with high dose cyclophosphamide for sarcoma during childhood. *Cancer*, 2001, 1, 91(3): 613-21.
68. Tripathi DN, Jena GB. Intervention of astaxanthin against cyclophosphamide-induced oxidative stress and DNA damage: a study in mice. *Chem Biol Interact*, 2009, 14, 180 (3): 398-406.
69. Ernst E, Girndt M, Pliquett RU. A case of granulomatosis with polyangiitis complicated by cyclophosphamide toxicity and opportunistic infections: choosing between Scylla and Charybdis. *BMC Nephrol*, 2014, 4: 15- 28.
70. Wang X, Zhang J, Xu T. Cyclophosphamide-evoked heart failure involves pronounced co-suppression of cytoplasmic thioredoxin reductase activity and non-protein free thiol level. *Eur J Heart Fail*, 2009, 11: 154–162.
71. Yeh ET, Tong AT, Lenihan DJ, Yusuf SW, Swafford J. Cardiovascular complications of cancer therapy: diagnosis, pathogenesis, and management.

- Circulation*, 2004, 109: 3122–3131.
72. Zver S, Zadnik V, Bunc M, Rogel P, Cernelc P. Cardiac toxicity of high-dose cyclophosphamide in patients with multiple myeloma undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol*, 2007, 85: 408–414.
 73. Albini A, Pennesi G, Donatelli F, Cammarota R, De Flora S. Cardiotoxicity of anticancer drugs: the need for cardio-oncology and cardio- oncological prevention. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102: 14–25.
 74. Celebi F, Gelen V, Çınar A, Şengül E. The effect of rutin on overactive contractility of bladder smooth muscle in the model of cyclophosphamide-induced cystitis in rats (690.15). *The FASEB Journal* 28.1, 2014, 690: 15.
 75. Şengül E, Gelen V, Gedikli S, Özkanlar S, Gür C, Kara A, Çelebi F, Çınar A. Protective effect of Quercetin on cyclophosphamide-induced lung toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 92: 303–307.
 76. Gelen V, Şengül E, Gedikli S, Çelebi F, Çınar A, Kara A, Özkanlar S, Gür C. The Effects of Quercetin on Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity in Rats. *Acta physiologica*, 2016, 218, 14-15.
 77. Littledike, E.T., Glazier, D. and Cook, H.M. Electrocardiographic changes after induced hypercalcemia and hypocalcemia in cattle: Reversal of the induced arrhythmia with atropine. *Am. J. Vet. Res*, 1976, 37 (4): 383-388.
 78. Luisada A, Weisz L, Hantman, H.W. A comparative study of electrocardiogram and heart sounds in common and domestic mammals. *Cardiologia*, 1944, 8: 60-84.
 79. Larsen PD, Galletly DC. Cardioventilatory coupling in the anaesthetised rabbit, rat and guinea pig. *Eur J Physiol*, 1996, 437, 910–916.
 80. Sabharval R, Coote JH, Johns EJ, Egginton S. Effect of hypotermia on baroreflex control of heart rate and renal sympathetic nerve activity in anaesthetized rats. *J*

Physiol, 2004, 557, 247–259.

81. Hochster H, Wasserheit C, Speyer J. Cardiotoxicity and cardioprotection during chemotherapy. *Curr Opin Oncol*, 1995, 7(4):304-309.
82. Braverman AC, Antin JH, Plappert MT, Cook EF, Lee RT. Cyclophosphamide cardiotoxicity in bone marrow transplantation: a prospective evaluation of new dosing regimens. *J Clin Oncol*, 1991, 9: 1215-1223.
83. Fraiser LH, Kanekal S, Kehrer JP. Cyclophosphamide toxicity. Characterising and avoiding the problem. *Drugs*, 1991, 42: 781-95.
84. Gottdiener JS, Appelbaum FR, Ferrans VJ, Deisseroth A, Ziegler J. Cardiotoxicity associate with high-dose cyclophosphamide therapy. *Arch Intern Med*, 1981, 141: 758-763.
85. Tiersten A, Wo J, Jacobson C, Weitzman A, Horwich T, Hesdorffer C. Cardiac toxicity observed in association with high-dose cyclophosphamide-based chemotherapy for metastatic breast cancer. *Breast*, 2004, 13: 341–346
86. Schwartz PJ, Stramba BM. Prolongation of the QT interval and the sudden infant death syndrome. *New Engl J Med*, 1998, 338: 1709–1714.
87. Mills BA and Roberts RW. Cyclophosphamide-induced cardiomyopathy. *Cancer*, 1979, 43: 2223-2226.
88. Morandi P, Ruffini PA, Benvenuto GM, Raimondi R, Fosser V: Cardiac toxicity of high dose chemotherapy. *Bone Marrow Transplant*, 2005, 35: 323–334.
89. Slordal L, Spigset O. Heart failure induced by non-cardiac drugs. *Drug Saf*, 2006, 29: 567–586.
90. Goldberg MA, Antin JH, Guinan EC, Rapoport JM. Cyclophosphamide cardiotoxicity: an analysis of dosing as a risk factor. *Blood*, 1986, 68: 1114–1148.
91. Stanton ME and Legendre AM. Effects of cyclophosphamide in dogs and cats.

- JAWMA*, 1986, 188 (11): 1319-1322.
92. Kılıçalp, D. Cinar, A. and Belge, F. Effects of Chronic fluorosis on electrocardiogram in dogs. *Fluoride*, 2004, 37 (2):96-101.
93. Cinar A, Bağcı C, Belge F, Uzun M. The Electrocardiogram of the Pekin Ducks. *Avian Diseases*, 1996, 40 (4):919-923.
94. Kılıçalp D, Çınar A. The Investigation of the Effects of Age, Sex and Season on Electrocardiograms (ECG values) and Heart Radiographs of Healthy Van Cats. *Tr. J. Vet. Anim. Sci*, 2003, 27: 101-107.
95. Cinar A, Kılıçalp D, Atasoy N. Electrocardiography of a Turkish Van Cat with Hypertrophy and Ventricular Arrhythmias. *Australian Veterinary Practitioner*, 2003, 33(1):37.
96. Cieslar G, Sieron A, Rzepka E, Zmudzinski J, Franek A. Nonnal electrocardiogram in guinea pig. *Acta physiol*, 1986, 37 (3): 139- 149.
97. Bureh GE, Winsor T. *A Primer of Electrocardiography. 4th ed*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1960.
98. Tilley LP. Electrocardiography: A guide to diagnosis and therapy. *Can. vet. J*, 1984, 25: 97-104.
99. Nasa Y, Hashizume H, Hoque AN, Abiko Y. Protective effect of *Crataegus* extract on the cardiac mechanical dysfunction in isolated perfused working rat heart. *Arznei-Forschung*, 1993, 43, 945-949.
100. Birman H, Salmayenli N, Melikoğlu G, Meriçli AH. Effects of *Crataegus tanacetifolia* extract on total body ion concentration in normal rats. *Acta Pharm Turc*, 2003, 45: 213-217.

EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı : Yavuz Selim KOLİKPINAR
Doğum tarihi : 11.05.1986
Doğum yeri : Yakutiye/ ERZURUM
Medeni hali : Bekar
Uyruğu : T.C.
Adres : Müftü Solakzade mah. Kosova cad. Özçağın evler B Blok kat : 3 no : 5 yıldızkent Palandöken / ERZURUM
Tel : 0531 620 4557
Faks :
E-mail kolikpinar@gmail.com
Eğitim
Lise : Erzurum Lisesi
Lisans : Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2009-2013)
Yüksek Lisans : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce : Orta derecede
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler
Kitap okumak, Film izlemek, Bilgisayar Yazılımı yapmak, Seyahat etmek

EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1600158911
Konu : HADYEK Kararı.

12.07.2016

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : a) 24.06.2016 tarihli ve 36643897-000-E.1600150867 sayılı belge.
b) 27.06.2016 tarihli ve 36643897-000-E.1600152032 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazılarınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 30.06.2016 tarih ve 4 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 125 no'lu karar ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 30.06.2016

Toplantı Sayısı : 4

KARAR NO 125: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Dursunali ÇINAR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yürütülecek olan "Cyclophosphamide İle İndüklenmiş Ratlarda, EKG ve Kalp Enzimleri Üzerine Naringinin Protektif Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 24.06.2016 tarih ve 36643897-000-E.1600150867 sayılı yazısı ile 27.06.2016 tarih ve 36643897-000-E.1600152032 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Devriş ÖZDEMİR
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#/birim=veteriner-fakultesi>

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr



1 / 2

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır. www.atauni.edu.tr adresinden doğrulama yapabilirsiniz. Doğrulama Kodu=502E648