

**T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAVŞANLARDA NİTRİK OKSİDİN KALP ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİNİN ELEKTROKARDİYOĞRAFİK
ÖLÇÜMLER İLE ARAŞTIRILMASI**

**Veteriner Hekim
Tennur ATABAY**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Metehan UZUN**

2007-KARS

**T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TAVŞANLARDA NİTRİK OKSİDİN KALP
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ELEKTROKARDİYOĞRAFİK ÖLÇÜMLER İLE
ARAŞTIRILMASI**

**Veteriner Hekim
Tennur ATABAY**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Metehan UZUN**

**Bu Çalışma TÜBİTAK TOVAG Başkanlığına 105 O 638 Nolu Proje Tarafından
Desteklenmiştir.**

2007-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Vet. Hek. Tennur ATABAY tarafından hazırlanmış olan ‘**Tavşanlarda Nitrik Oksidin Kalp Üzerine Olan Etkilerinin Elektrokardiyografik Ölçümler ile Araştırılması**’ adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek **OY BİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/06/2007

Adı Soyadı

İmza

| | |
|--------------------------------------|-------|
| Başkan: Prof. Dr. Cahit BAĞCI | |
| Üye : Doç. Dr. Metehan UZUN | |
| Üye : Doç. Dr. Sedat YILDIZ | |
| Üye : Doç. Dr. Feyyaz ÖNDER | |
| Üye : Doç. Dr. Hidayet Metin ERDOĞAN | |

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
...../...../..... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Hakan KOCAMIŞ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa No |
|---|-----------------|
| SİMGELER VE KISALTMALAR | I |
| TABLolar DİZİNİ | III |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | IV |
| RESİMLER DİZİNİ | V |
| ÖNSÖZ | VI |
| TEŞEKKÜR | VII |
| 1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER | 1 |
| 1.1. Elektrokardiyografik Ölçümler ve Kullanım Alanları | 1 |
| 1.2. QT ve QTc Aralığı | 2 |
| 1.3. QT Aralığı Uzaması | 4 |
| 1.4. QT Dispersiyonu | 7 |
| 1.5. Nitrik Oksit (NO) Tanımı ve Kimyasal Yapısı | 8 |
| 1.6. Nitrik Oksit Vericisi Olarak L-Arjinin (Arjinin) | 9 |
| 1.7. Nitrik Oksit Sentezi ve Nitrik Oksit Sentetaz Enzimi (NOS) | 10 |
| 1.8. Nitrik Oksit Sentetaz Enzimi İnhibitörleri | 11 |
| 1.9. Nitrik Oksidin Kalp Üzerine Etkileri | 12 |
| 1.10. Nitrik Oksidin Damar Sitemi Üzerine Etkileri | 14 |
| 1.11. Nitrik Oksidin Diğer Etkileri | 18 |
| 2. MATERYAL ve METOT | 19 |
| 2.1. Materyal | 19 |
| 2.1.1. Hayvan Materyali | 19 |
| 2.1.2. Enjeksiyon İçin Kullanılan Çözeltiler | 20 |
| 2.1.3. NO Analizleri İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler | 20 |
| 2.1.4. NO Analizleri İçin Kullanılan Çözeltiler | 21 |
| 2.2. Metot | 22 |
| 2.2.1. Enjeksiyonların Yapılması | 22 |
| 2.2.2. Kan Alınması ve Plazma Elde Edilmesi | 22 |
| 2.2.3. EKG Alınması | 23 |

| | |
|---|-----------|
| 2.2.4. EKG Değerlendirilmesi: | 23 |
| 2.2.5. Nitrik Oksit Analizleri İçin Uygulanan Yöntemler | 24 |
| 2.2.5.1. Numunelerin Deproteinize Edilmesi | 24 |
| 2.2.5.2. Plazmada NO Tayini | 24 |
| 2.2.5.3. Çalışma Standartlarının Hazırlanması | 24 |
| 2.2.5.4. Nitrat Analizlerinin Yapılışı | 24 |
| 2.2.5.5. Nitrit Analizlerinin Yapılışı | 25 |
| 2.2.5.6. Sonuçların Hesaplanması | 25 |
| 2.2.6. İstatistiksel Yöntemler | 25 |
| 3. BULGULAR | 26 |
| 3.1. Nitrat, Nitrit ve Nitrik Oksit Değerleri | 26 |
| 3.2. Elektrokardiyografik Veriler | 28 |
| 4. TARTIŞMA VE SONUÇ | 55 |
| 4.1. NO Düzeyleri | 55 |
| 4.2. Elektrokardiyografik Verilerin Değerlendirilmesi | 56 |
| 5. ÖZET | 64 |
| 6. SUMMARY | 66 |
| 7. KAYNAKLAR | 68 |
| 8. ÖZGEÇMİŞ | 81 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-------------|---|
| ASL | : Argininosuccinate lysate |
| ATP | : Adenozin trifosfat |
| cGMP | : Sıkkik guanidin monofosfat |
| EAD | : Erken after depolarizasyon |
| EDRF | : Endotel kaynaklı gevşetici faktör |
| EKG | : Elektrokardiyografi |
| eNOS | : Endotelyal nitrik oksit sentetaz |
| GTP | : Guanidin trifosfat |
| HCl | : Hidroklorik asit |
| $I_{Ca, L}$ | : L-tip Ca^{2+} kanalları |
| I_{Kr} | : Hızlı potasyum kanalları |
| I_{Ks} | : Yavaş potasyum kanalları |
| I_{Kur} | : Çok hızlı potasyum kanalları |
| I_{tol} | : Voltaj kapılı potasyum kanalları |
| iNOS | : İndüklenebilir (yangısal) nitrik oksit sentetaz |
| KA | : Kalp Atımı |
| K_{Ach} | : Asetilkolin tarafından aktive edilen potasyum kanalları |
| K_{ATP} | : ATP tarafından aktive edilen potasyum kanalları |
| L-NA | : N-nitro-L-arjinin |
| L-NAME | : N^G -nitro-L-arjinin metil ester |
| L-NIO | : N-iminometil-L-ornitin |
| L-NMMA | : N-monometil L-arjinin |
| LQTS | : uzamış QT sendromu |
| mPAP | : Ortalama pulmoner arterial basınç |
| msn | : Milisaniye |
| mV | : Milivolt |
| nNOS | : Nöronal nitrik oksit sentetaz |
| NO | : Nitrik oksit |
| NO_2 | : Nitrit |

| | |
|-----------------|-------------------------------|
| NO ₃ | : Nitrat |
| NOS | : Nitrik oksit sentetaz |
| QTc | : Düzeltilmiş QT |
| QTcd | : Düzeltilmiş QT dispersiyonu |
| QTd | : QT dispersiyonu |
| μM | : Micromolar |
| SAD | : Sino-atrial düğümün |
| SNP | : Sodyum nitropurusit |
| TDP | : Torsades de Pointes |
| SMT | : S-Metilizotyöürea |

TABLolar DİZİNİ

| <u>Tablo Adı</u> | <u>Sayfa No</u> |
|---|------------------------|
| Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarında nitrat değerlerinin günlere göre değişimi | 27 |
| Tablo 2. Kontrol ve deney gruplarında nitrit değerlerinin günlere göre değişimi | 27 |
| Tablo 3. Kontrol ve deney gruplarında NO değerlerinin günlere göre değişimi | 28 |
| Tablo 4. Kontrol ve deney gruplarında P süre ve P amplitüt değerlerinin günlere göre değişimi. | 34 |
| Tablo 5. Kontrol ve deney gruplarında P-Q süre ve R amplitüt değerlerinin günlere göre değişimi | 35 |
| Tablo 6. Kontrol ve deney gruplarında QRS süre ve S-T süre değerlerinin günlere göre değişimi | 38 |
| Tablo 7. Kontrol ve deney gruplarında T süre ve T amplitüt değerlerinin günlere göre değişimi | 39 |
| Tablo 8. Kontrol ve deney gruplarında kalp atım (KA) sayıları ve R-R aralığı değerlerinin günlere göre değişimi | 41 |
| Tablo 9. Kontrol ve deney gruplarında QT ve QTcC değerlerinin günlere göre değişimi | 43 |
| Tablo 10. Kontrol ve deney gruplarında QTd ve QTcd değerlerinin günlere göre değişimi | 45 |
| Tablo 11. Kontrol ve deney gruplarında en düşük QTd ve QTcd değerlerinin günlere göre değişimi | 46 |
| Tablo 12. Kontrol ve deney gruplarında en yüksek QTd ve QTcd değerlerinin günlere göre değişimi | 47 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil Adı</u> | <u>Sayfa No</u> |
|---|------------------------|
| Şekil 1. Tipik bir EKG trasesinin şematik resmi | 2 |
| Şekil 2. Normal ve Uzamış QT aralığını gösteren bir EKG trasesi | 5 |
| Şekil 3. Nitrik Oksidin damar endotel hücrelerinden sentezi ve salınımı ve düz kaslarda gevşeklik oluşturma mekanizması | 17 |
| Şekil 4. NO ve QT arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi | 50 |
| Şekil 5. NO ve QTc arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi | 51 |
| Şekil 6. NO ve QTd arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi | 52 |
| Şekil 7. NO ve QTcd arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi | 53 |
| Şekil 8. NO ve kalp atımı (KA) sayıları arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi | 54 |

RESİMLER DİZİNİ

| <u>Resim Adı</u> | <u>Sayfa No</u> |
|--|------------------------|
| Resim 1. Kontrol grubundan bir tavşanın I, II, III, aVR, aVL ve aVF derivasyonlarına ait örnek resimler | 29 |
| Resim 2. L-arjinin uygulanan gruptaki bir tavşanın I, II, III, aVR, aVL ve aVF derivasyonlarını ve kalp atımlarının hızlanmasını gösteren örnek resimler | 30 |
| Resim 3. L-NAME uygulanan gruptaki bir tavşanın I, II, III, aVR, aVL ve aVF derivasyonlarını, QT uzamasını ve kalp atımlarının yavaşlamasını gösteren örnek resimler | 31 |

ÖNSÖZ

İnsanlarda ve hayvanlarda kalp hastalıklarına bağlı ölüm oranları oldukça yaygındır. Dünyanın birçok ülkesinde insan ölümlerinin birinci veya ikinci sebebi kalp damar sistemi hastalıklarıdır. Hayvanlarda ise gerek tedavi giderleri ve gerekse verim azalmasına yol açması nedeni ile kalp damar sistemi hastalıkları büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Kalp damar sistemi hastalıklarına bağlı ölümlerin başında ise ventriküler aritmilere bağlı ani kalp durmaları gelmektedir.

Kalp damar sistemi hastalıklarının belirlenmesinde EKG en ucuz ve invaziv olmayan bir yöntem olarak yıllarca kullanılmaktadır. Son yıllarda araştırmacıların yeniden ilgisini çeken ve çalışmaların odağı haline gelen QT değişkenliğinin belirlenmesinin ise ventriküler aritmilerin önceden belirlenmesi için önemli bir ölçüt olabileceği bilinmektedir.

Öte yandan birçok hastalığa, psikolojik bozukluklara ve toksik maddelere maruz kalınması durumlarında düzeyleri artan veya azalabilen NO özellikle QT değişkenliği olmak üzere kalp-damar sistemi üzerindeki etkilerinin EKG ile belirlenmesinin, bilime ve hastalıkların tedavi seçeneklerine yapacağı katkılar dikkate değer bulunmaktadır. Bu amaçla araştırmamızda NO ile EKG verileri arasındaki ilişkilerin ortaya konulması hedeflenmiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam süresince çok büyük destek ve katkılarını gördüğüm Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve Danışman hocam Doç. Dr. Metehan UZUN'a; yine destek ve katkılarını esirgemeyen tez izleme komitesi üyeleri Doç. Dr. Sedat YILDIZ ve Doç. Dr. Hidayet Metin ERDOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Aynı zamanda desteklerini esirgemeyen, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalının değerli öğretim üyeleri Doç. Dr. Ebru BEYTUT, Doç. Dr. Feyyaz ÖNDER ile Doç. Dr. Nadide KAMILOĞLU'na teşekkür ederim. Ayrıca çalışmam sırasında katkılarını gördüğüm Doç. Dr. Mustafa SAATCI, Doç. Dr. Mehmet ÇİTİL, Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÜNVER, Yrd. Doç. Dr. Kürşat YAPAR ve Arş. Gör. Dr. Onur ATAKİŞİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak çalışmam boyunca maddi ve manevi desteğini ve teşviklerini esirgemeyen değerli eşim Doç. Dr. Halil İbrahim ATABAY ve çocuklarım Muhammed Yaşar ile Ali Sami'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

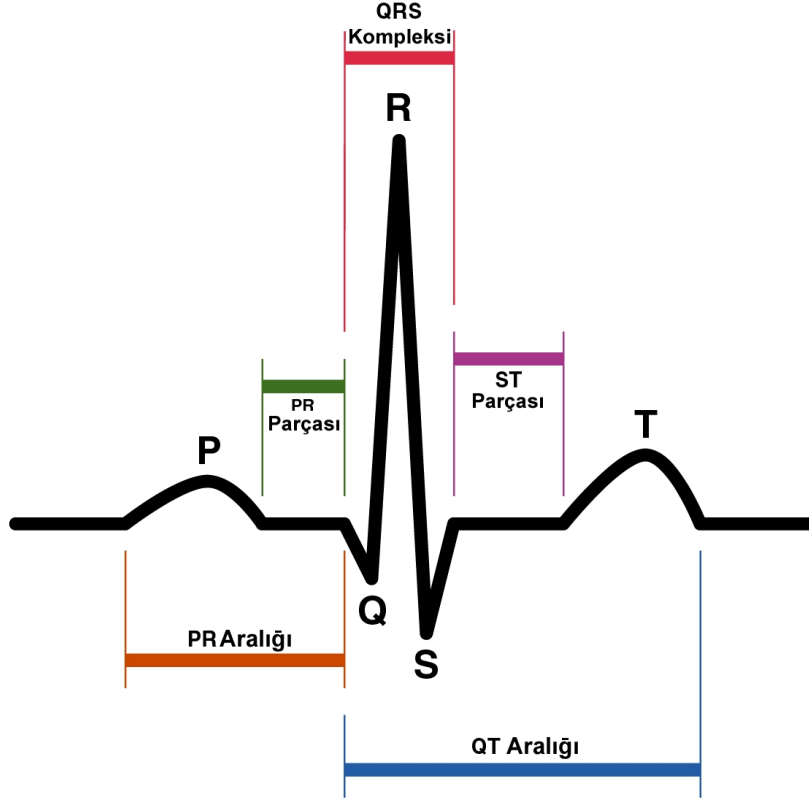
Elektrokardiyografi (EKG) kalp kasının çalışması sırasında oluşan ve kalbin her siklusu esnasında meydana gelen elektriksel aktivitenin bir kağıt üzerine kaydedilmesi işlemidir. Bu amaçla kullanılan cihaza elektrokardiyograf, kâğıt üzerinde çizilerek elde edilen eğrilere ise elektrokardiyogram denir. İnsan hekimliğinde; kalp kası, kalp kapakları, koroner damar hastalıkları, kalbin göğüs boşluğu içindeki durumunun incelenmesi, kalpteki büyümeler (dilatasyon ve hipertrofi) ve uyarım merkezileri ve uyarımın iletimine ilişkin bozukluklar ile kalpteki ritim bozukluklarının belirlenmesinde EKG'den yararlanılmaktadır (Başoğlu, 1992).

Veteriner hekimlik alanında EKG'den kalp hastalıklarının tanı ve incelenmesinin yanı sıra, yeni keşfedilen kalp ilaçları ve diğer kimyasal maddelerin kalp üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla da yararlanılır. Örneğin; kuzularda beyaz kas ve sığırlarda şap hastalığı gibi kalp kasını etkileyen hastalıklarda kalp kasında bir bozukluğun olup oluşmadığını belirlemek amacıyla EKG'den yararlanılır (Başoğlu, 1992).

1.1. Elektrokardiyografik Ölçümler ve Kullanım Alanları

EKG ile kalp hastalıklarının teşhisi yapılırken; P, QRS ve T dalgalarının morfolojik özellikleri ile süre ve amplitütleri, RR aralıkları, P-Q ve Q-T süresi ve kalbin ortalama elektriksel ekseni gibi değerler ortaya konulur. Bu değerlerin her birinde meydana gelen değişmeler ile kalp kasındaki patolojik durumlar arasında

bağlantı kurulmaya çalışılır. Kâğıt üzerine yazdırılmış olan tipik bir EKG trasesi ve elde edilen dalgaların şematik görünümü Şekil 1’de gösterilmektedir.



Şekil 1. Tipik bir EKG trasesinin şematik resmi (kaynak: http://en.wikipedia.org/wiki/QT_interval).

1.2. QT ve QTc Aralığı

Elektrokardiyogramdaki (EKG) QT aralığı QRS kompleksinin başlangıcından T dalgasının inen veya çıkan kolunun izoelektrik çizgiye geldiği noktaya kadar olan aralığın ölçülmesiyle hesaplanır (Doğan ve ark., 2004). Bu aralık ventriküllerin

depolarize ve repolarize olması esnasında geçen zamandır. QT aralığı ventriküler miyokardın elektriksel aktivasyon ve dinlenme sürelerini verir ve kalp hızı ile ters orantılı olarak değişir. Bradikardi, QT aralığının uzamasına neden olur; taşikardi ise QT aralığının kısalmasına neden olur. Bundan dolayı QT süresinin normal veya anormal değerlerde olduğunu belirtmek için kalp hızına göre düzeltilmiş QT aralığı belirlenmelidir. Kalpte meydana gelen herhangi bir anormalliğin değerlendirilmesinde düzeltilmiş QT aralığı (corrected QT = QTc) normal QT aralığından daha fazla kullanılmaktadır (Cubeddu, 2003).

Literatürlerde yer alan birçok kalp atımı QT düzeltme metodu bulunmaktadır. Hangisinin en iyi metot olduğu ise tartışmalıdır (Frunck-Brentano ve Jaillon, 1993; Aytemir ve ark., 1999; Li ve ark., 2004). Düzeltme formülleri, çeşitli eşitlikler kullanılarak, QT'nin RR aralıklarına karşı regresyon analizleri yapılarak elde edilmektedir (Frunck-Brentano ve Jaillon, 1993). Kısaca QT ve RR aralıkları arasındaki ilişkinin eğri-düz (curve-linear) şekilleri çeşitli matematiksel formüllerle modellendirilmiştir (Bazett, 1920). Bu matematiksel formüller parabolik (Bazett, 1920), polynominal (Fridericia, 1920), linear (Sagie ve ark., 1992), hiperbolik (Hodges ve ark., 1983) ve exponential (Frunck-Brentano ve Jaillon, 1993) olabilirler. Bu çok sayıdaki formüllere rağmen, bu formüllerin hiç birisi klinik ihtiyaçlara tam olarak cevap vermemektedir. Bununla beraber, klinisyenler tarafından pratik ve uygulaması kolay olduğundan en yaygın olarak kullanılan düzeltme formülü Bazett'in formülüdür (Bazett, 1920). Yaygın olarak kullanılan ve Bazett'in metoduna daha iyi bir alternatif olduğu düşünülen (Frunck-Brentano ve Jaillon, 1993; Li ve ark., 2004) diğer bir QT düzeltme metodu ise Fridericia'nın metodudur (Fridericia, 1920). Son yıllarda, Malik (2001) farklı bireyler arasındaki, QT ve RR

arasında sabit bir ilişki farz etmenin yetersizliğinden dolayı, ilk basamaktaki QT aralığını düzeltmek amacıyla birey-spesifik bir model geliştirmiş ve önermiştir. Ancak Bazett ve Fridericia'nın formülleri yüksek kalp atımlarında QTc değerini doğru hesaplamaktan uzak olduğu ileri sürülmüş ve laboratuvar hayvanlarında Carlsson'un önerdiği formülün daha doğru sonuçlar vereceği belirtilmiştir (Carlsson ve ark., 1993). Bu öneri birçok araştırmacı tarafından kabul görmüş ve tavşan veya diğer hayvanlarda bu formül yaygın bir kullanım alanına kavuşmuştur.

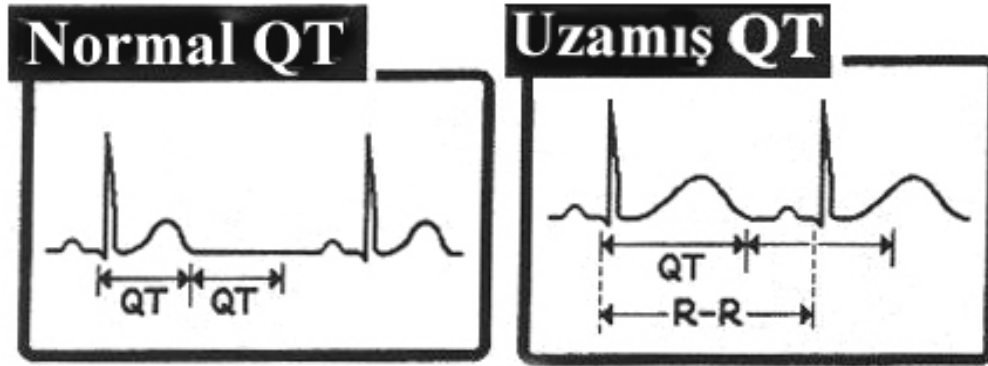
Bu formüllerden bazıları aşağıda belirtilmiştir.

1. Bazett'in formülü ; $QTcB=QT/(RR)^{1/2}$
2. Fredericia formülü; $QTcF=QT/(RR)^{1/3}$
3. Carlsson formülü; $QTcC=QT-0,175(RR-300)$

1.3. QT Aralığı Uzaması

Normal QT aralığı, ventriküllerin depolarizasyon süresi başlangıcından repolarizasyon süresi sonuna kadar geçen zamanın ölçümü olarak kabul edilmektedir. Pratikte Q dalgasının başlangıcından (eğer Q dalgası yoksa R dalgasının başlangıcından) T dalgasının bitimine kadar geçen sürenin ölçülmesi ile elde edilmektedir. QT aralığının uzaması ise normal ventrikül repolarizasyon süresinin uzaması olarak tanımlanmaktadır (Marfella ve ark., 2003). Bir EKG derivasyonundan elde edilen normal ve uzamış QT aralığının görünümü Şekil 2'de gösterilmektedir. QT uzaması, ventrikül repolarizasyonu esnasında miyokardiyal hücrelerin pozitif yüklü iyonlarla aşırı yüklenmesi neticesinde oluşmaktadır. EKG'da QT aralığının süresini, ventriküler aksiyon potansiyelinin süresi

belirlenmektedir. QRS'nin tam tersine QT aralığının süresi kalp atımına göre değişiklik göstermektedir. Yani QT kalp atımı ve kalbin otonom tonusundaki değişikliklerden etkilenmektedir. Kalp atımı sayısı ne kadar yüksekse QT aralığı da o kadar kısadır. Bundan dolayı kalpte oluşan herhangi bir anormalliği saptayabilmek için normal QT yerine QTc değerlendirilmeye tabii tutulmaktadır (Cubeddu, 2003).



Şekil 2. Normal ve uzamış QT aralığını gösteren bir EKG trasesi (<http://medinfo.ufl.edu/~ekg/QT%20interval.html>).

Ventriküler repolarizasyonun büyük oranda dış potasyum akımlarından ileri geldiği belirtilmektedir. Bu amaçla, hızlı (I_{Kr}) ve yavaş (I_{Ks}) potasyum akımı olmak üzere iki adet gecikmiş potasyum akımı işlev görmektedir. Bu akımlar azaldığında (özellikle de I_{Kr}) repolarizasyon uzar ve bu da ventriküler aksiyon potansiyelinin genişlemesine neden olarak QT süresinin uzamasına neden olur. Repolarizasyon süresi uzadığında, depolarizasyon süresi bunu takip edebilir; bu durum tekrarladığında ve yeterli etkiye sahip olduğunda ise ventriküler aritmiler tetiklenebilmektedir. Erken ve geç olmak üzere iki adet depolarizasyon akımı

tanımlanmıştır. Elektrokardiyografide ilerleyici değişikliklerle birlikte 5-20 atımda bir QRS ekseninde sabit bir dalgalanma görülen paroksizmal ventriküler taşikardi olarak tanımlanan 'torsades de pointes (TDP)', erken depolarizasyon ile ilişkilidir. Erken depolarizasyon da repolarizasyon sırasında oluşan erken depolarizasyon akımları olarak tanımlanmaktadır. Hastalıklar, gen mutasyonları ve bazı ilaçların repolarizasyonu uzatan I_{Kr} akımları ile etkileşmesi sonucunda bazı L tipi Ca kanallarının (bu kanallar normalde depolarizasyon esnasında inaktif durumdadır) aktive olmasına neden olduğu söylenmektedir. Eğer yeterli sayıda Ca kanalları aktive olursa iç kalsiyum akımları meydana gelmektedir. Bu da erken 'after-depolarizasyonlara' neden olmakta ve aritmileri tetikleyebilmektedir. Bu erken depolarizasyonlar, T-dalgası tümsekleri, T-U dalgaları ve bifazik T dalgalarının oluşumları ile paralellik göstermektedir ve bu dalgalar da genellikle ventriküler aritmilerin oluşumundan önce ortaya çıkmaktadırlar. β -reseptörünün uyarılmaları kalp fibrillerindeki L-tip Ca kanallarının sayısının artmasına neden olmaktadır. Bu da QT aralığı uzamış hastalarda aritmilerin ortaya çıkmasını kolaylaştırmaktadır (Ahnve, 1991; Wu ve ark., 1999).

β -reseptör uyarımı, stres veya sempatik uyarının artması, albuterol, efedrin ve fenilefrin gibi ilaçlar tarafından meydana getirilmektedir. Dolayısı ile zaten uzamış bir QT'ye sahip hastalarda, bu gibi ilaçların verilmesi ventriküler aritmi riskini arttırmaktadır (Cubeddu, 2003). Bradikardili hastalarda TDP'i tetikleyen faktörlerden birisi olan düşük potasyum seviyelerinin aritmilerin oluşmasında çok önemli rol oynayabileceği bildirilmektedir. Bu da EKG'da uzamış QT aralığı olarak belirlenmektedir (Yang ve Roden, 1996; Khan, 2002).

QT aralığının uzamasına neden olan faktörler ya kalıtsal ya da sonradan olabilir. Örneğin kongenital uzamış QT sendromu (LQTS), transmembran iyon kanal proteinleri üzerinden etkisini gösteren bir hastalıktır (Roden ve Spooner, 1999). Bunun yanında, kardiyak hastalıklar (iskemik kalp hastalığı, kardiyomiyopati gibi), elektrolit dengenin bozuklukları (düşük potasyum ya da düşük magnezyum), bradikardi, subaraknoid hemoraji, AIDS ve bazı ilaçlar da LQTS'ye neden olmaktadır (Khan, 2002).

1.4. QT Dispersiyonu

QT dispersiyonu, ventrikül kaslarında oluşan repolarizasyondaki heterojenitenin bir göstergesi olarak tanımlanmaktadır (Cubeddu, 2003). Diğer bir ifade ile QT dispersiyonu, anormal ventrikül repolarizasyonun bir yansıması olarak da tanımlanmaktadır (Dilaveris ve ark., 2000). Ventrikül repolarizasyonlarındaki heterojenite aritmilerin meydana gelmesini etkileyen önemli proaritmik faktörlerden birisi olarak kabul edilmektedir (Malik ve Batchvarov, 2000; Cubeddu, 2003).

QT dispersiyonu, en büyük QT aralığı ve en küçük QT aralığı arasındaki fark olarak hesaplanmaktadır ($QT \text{ dispersiyonu} = \text{en büyük QT} - \text{en küçük QT}$) (Dilaveris ve ark., 2000). Son yıllarda ise QT dispersiyonun büyük oranda T dalgası morfolojisindeki değişikliklerden saptanabileceği ileri sürülmektedir (Dilaveris ve ark., 2000; Malik ve Batchvarov, 2000). Dilaveris ve ark. (2000) normal insanlarda ve hipertansif hastalarda yapmış oldukları bir çalışmada, T-dalgası morfolojilerinin her iki grup arasında önemli oranda fark gösterdiği ve dolayısı ile bu yöntemin yani T-dalgası morfolojisindeki değişikliklerin repolarizasyon anormalliklerinde ön bir gösterge olabileceğini saptamışlardır.

Araştırmacılar uzamış bir QTc aralığında, dispersiyon ne kadar fazla ise TDP geliştirme ihtimalinin de o kadar yüksek olabileceğini bildirmektedirler (Van de Loo ve ark., 1996; Tran ve ark., 1997).

1.5. Nitrik Oksit (NO) Tanımı ve Kimyasal Yapısı

Nitrik Oksit (NO), organizmada azot ve oksijen gazlarından sentez edilebilen, küçük moleküllü, yağda çözünen ve hücre zarından kolaylıkla geçebilen, toksik özelliği olan ve aynı zamanda beyinde nörotransmitter olarak görev yapan bir gazdır (Ramrakha ve Gibbs, 2000). NO'in vazodilatasyon, trombosit aggregasyonunun engellenmesi, bağışıklık ve hüresel gelişim sürecinde de rol oynadığı ileri srlmektedir (Kingwell, 2000). NO başlangıçta kan damarlarının endotelial tabakasında üretildiğinden ve damar gevşetici etkisinden dolayı uzun yıllar endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak (EDRF) adlandırılmıştır (Furchgott ve Zawadski, 1980). Ancak daha sonra bu uçucu gaz madde NO olarak tanımlanmıştır (Ignarro ve ark., 1987).

NO, biyolojik solüsyonlarda yarı mrlерinin oldukça kısa olmaları (3 – 5 saniye) nedeniyle, hızla nitrit (NO₂) ve nitrat (NO₃)'lara dekompoze olurlar (Rosselli ve ark., 1995; Huynh ve Chin-Dusting, 2006). Nitrat ve nitritler, N-nitrozo bileşiklerinin öncül maddeleri olarak bilinmekte ve canlılarda kansere yol açmaktadırlar. Nitritlerin toksik etkisi, oksihemoglobinin methemoglobine dönüşmesi suretiyle ortaya çıkar. NO ve diğer azot bileşikleri organizmada endojen olarak sentez edilmeleri yanında, çevredeki nitritlerden de non-enzimatik olarak oluşmaktadır. Nitrat ve nitritler, organizmaya sebzeler ve nitrit-nitrat ilave edilmiş

sucuk gibi et ürünleriyle alınır. Tarımda azotlu gübrelerin aşırı miktarlarda kullanılması toprak ve suyun azot düzeyinin artmasına neden olarak canlılar üzerine olumsuz etki yaparlar.

NO'nun organizmadaki etkileri birçok araştırmaya konu olmuştur. Bunlardan en fazla incelenen mekanizmalardan birisi, damar düz kaslarında bulunan GTP'den cGMP oluşturan guanilat siklaz enziminin aktivasyonudur (Şekil 3). cGMP de düz kaslarda gevşemelere neden olmaktadır. Aynı zamanda, cGMP ve prostasiklin sinerjestik bir etki göstererek trombosit aggregasyonunu azaltmaktadır. NO ayrıca damarlarda gerçekleşen redoks-NO reaksiyonları sayesinde kan akımının oksijen ihtiyacına göre ayarlanmasına da katkıda bulunmaktadır (Huynh ve Chin-Dusting, 2006).

1.6. Nitrik Oksit Vericisi Olarak L-Arjinin (Arjinin)

L-arjinin, renal hemodinamik ve damar basıncının düzenlenmesinde önemli bir fizyolojik düzenleyici olan endotel kaynaklı nitrik oksidin sentezlenmesi için gerekli bir maddedir.

Kimyasal formülü 2 amino-5-guanidin pentatonik asit olan arjinin esansiyel bir aminoasittir ve kreatin, ornitin ve L-glutamat sentezi gibi çeşitli metabolik fonksiyonlar ile protein degradasyonunda rol almaktadır (Huynh ve Chin-Dusting, 2006). Özellikle gençlerde ve gelişme çağındaki memelilerde ya da hastalık ile travma gibi durumlarda esansiyel olan fakat sağlıklı erişkin insanlarda endojen olarak sentezlenebildiğinden dolayı esansiyel olmayan bir aminoasittir (Huynh ve Chin-Dusting, 2006). Erişkinlerde arjinin sentezi ince bağırsaklarda glutamin ya da

glutamatın L-sitrulline dönüştürülmesiyle ile başlamaktadır. Ardından L-sitrullin böbreklere transfer edilmekte ve bu da L-arjinin sentezi için gerekli olan arjininosuksinat lysat (ASL) sentezini uyarmaktadır. Karaciğer de L-arjinin sentez edebilir ancak L-arjinin taşıyıcısının (y^+) zayıf aktivitesinden dolayı sistemik L-arjinin üretimine katkıda bulunmamaktadır (Dhanakoti ve ark., 1990; Watford, 1991; Huynh ve Chin-Dusting, 2006). L-arjinin metabolizmasındaki karmaşıklığından dolayı, L-arjininin biyolojik olarak elde edilmesi ve varlığı çeşitli faktörler tarafından düzenlenmektedir. Bu faktörler; arjininin diyet aracılığı ile ekzojenik olarak sağlanması, protein degradasyonu, endojenik olarak arjininin yeniden sentezi, arjinin katabolizması ve arjinin transportu sırasında endojenik olarak sentezi olarak sıralanabilir (Morris, 1992; Huynh ve Chin-Dusting, 2006).

1.7. Nitrik Oksit Sentezi ve Nitrik Oksit Sentetaz Enzimi (NOS)

Nitrik oksit, nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığıyla bir amino asit olan L-arjininden sentez edilir. Bu enzim, L-arjinin ve oksijeni kullanarak NO ve sitrullin oluşturur (Leclercg ve ark., 2002). Bu reaksiyon L-arjinin-NO yolu veya NOS reaksiyonu olarak kabul görmekte ve adlandırılır (Huynh ve Chin-Dusting, 2006). Şekil 3'de de görüldüğü gibi nitrik oksit, L-arjininden sitrullin oluşumu esnasında, adı geçen enzim vasıtasıyla L-arjinin guanidin nitrojen grubunun hidroksilasyonu ile oluşan bir ara üründür (Cotton ve ark., 2002; Akyol ve ark., 2004). Nitrik oksit sentez edildikten ve fonksiyonunu yerine getirdikten sonra ya hızla metilen mavisi, hemoglobin ve süperoksit anyonları tarafından nötrale edilir

ya da bir kaç saniye içerisinde nitrit ve nitratlara dönüştürülür (Chowdhary ve ark., 2000).

Organizmada NOS'ın 3 izoformu bulunmaktadır. Bunlar; nöronal NOS (nNOS veya NOS I; serebellum ve ön beyindeki nöronlarda, kalpde ganglion hüceleri ve bazı otonom sinirlerin uçlarında sentez edilip salgınır), uyarılabilir NOS (iNOS veya NOS II; kalsiyumdan bağımsız sitokinler ve endotoksinler tarafından uyarılan ve immün sistemin aktivasyonu sonucu makrofaj, nötrofil ve hepatositler gibi hücreler tarafından üretilen NOS) ve endotelial NOS (eNOS veya NOS III; damar endotellerinden ve sinoatriyal düğüm hücrelerinden sentezlenir ve salgınır) olarak adlandırılmaktadır (Kingwell, 2000; Miranda ve ark., 2001; Cotton ve ark., 2002; Herring ve ark., 2002). NOS I ve NOS III konstitütif NOS olarak da sınıflandırılmaktadır. Her bir izoform prostetik gruplar olarak demir protoporfirin (heme) tetrahidrobiopterin (BH₄), flavin adenin dinükleotid ve flavin mononükleotid ihtiva etmektedir. Bu enzimler, aynı zamanda, L-arjinin, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat ve Ca²⁺/kalmodulin için bağlanma bölgeleri içermektedirler (Huynh ve Chin-Dusting, 2006).

1.8. Nitrik Oksit Sentetaz Enzimi İnhibitörleri

Arjinin analogları ve azot içeren bileşikler NOS enzimini inhibe etmektedirler. Günümüzde yaygın olarak kullanılan arjinin analogu N-monometil L-arjinin (L-NMMA)'dir. NOS inhibitörü olarak kullanılan diğer maddeler ise N-nitro-L-arjinin (L-NA) ile metil türevi olan N^G-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) ve N-

iminometil-L-ornitin (L-NIO)'dir (Rosselli ve ark., 1995; Kingwell, 2000; Santos ve ark., 2004).

1.9. Nitrik Oksidin Kalp Üzerine Etkileri

Son yıllarda kalp damar sistemi üzerine NO'in etkilerini ortaya koymak için çok sayıda araştırma yapılmıştır (Suto ve ark., 1998; Ramrakha ve Gibbs, 2000; Wattanapitayakul ve Bauer, 2001; Herring ve ark., 2002; Kawabata ve Ishikawa, 2003; Chowdhary ve ark., 2002a,b; Skovgaard ve ark., 2005).

Nitrik oksit, hem normal bazal koşullarda hem de çeşitli uyarılara cevap olarak koroner arterlerin endotellerinde sentezlenip salgılanmaktadır (Suto ve ark., 1998). Yapılan araştırmalar, NO'in kalp miyosit hücrelerinde kontraksiyonu zayıflattığı (Balligand ve ark., 1993; Brady ve ark., 1993), β -adrenerjik uyarımlara karşı kalbin inotropik cevabının vagal inhibisyonunu düzenlediği (Hare ve ark., 1995a) ve kalbin oksijen tüketimini düzenlediği belirtilmektedir (Shen ve ark., 1995; Suto ve ark., 1998).

Vücuttaki NO düzeyleri, çeşitli hormonların, toksik veya henüz bilinmeyen birçok maddenin etkisiyle değişmektedir. Endojen NO'in kalp atımının düzenlenmesini de kapsayan kalp fizyolojisini etkilediği belirtilmektedir. Sino-atrial düğümde aktivitesi belirlenen NOS enzimi, NO'in önder odak aktivitesi üzerine doğrudan rolü olduğunu göstermektedir (Herring ve ark., 2002). Çalışmalar, NO'in denerve edilmiş insan kalbi üzerine tonik, doğrudan ve pozitif kronotropik bir etki gösterdiğini bildirmektedir (Chowdhary ve ark. 2002a). Bir diğer araştırmada,

NO'in sol ventrikül yetersizliği olan hastalarda β -adrenerjik uyarıma karşı pozitif inotropik cevabı yavaşlattığı ortaya konulmuştur (Hare ve ark., 1995b).

Broyler piliçlere damar içi olarak L-NAME enjekte edilerek endotelial NO üretiminin inhibe edilmesiyle; enjeksiyonu takip eden 1 ve 2. saatlerde II. ve aVF derivasyonları incelendiğinde S-dalgası ile RS-dalgası yüksekliklerinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde artış gösterdiği ve mPAP'nin (ortalama pulmoner arterial basınç) de yükseldiği belirlenmiştir (Weidong ve ark., 2002). Chowdhary ve ark. (2002b) yaptıkları bir çalışmada ise, endojenik NO üretimini L-NMMA ile engellediklerinde önemli derecede bradikardi gözlemlemişlerdir.

Pinelli ve ark. (2001) tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada L-NAME'nin plazma NO seviyelerini düşürdüğünü; buna bağlı olarak da diastolik kan basıncını arttırdığını kaydetmişlerdir. NO seviyesindeki bu azalmanın elektrokardiyografik ölçümlerle saptanamayan küçük boyutta miyokardial koagulatif nekrozlara neden olduğu saptanmıştır (Pinelli ve ark., 2001).

Nitrik oksidin organizmada, kalp damar sisteminin fonksiyonlarını da düzenleyen birçok fizyolojik olayda endojenik bir düzenleyici olarak görev aldığı bildirilmektedir (Majmudar ve ark., 2000; Miranda ve ark., 2001). NO'in insan ve hayvanlarda kalp atımının otonomik sinirsel kontrolü üzerine doğrudan bir etkisinin bulunduğu gösterilmiştir (Chowdhary ve ark., 2002a). NO'in aynı zamanda sinoatrial düğümün (SAD) uyarım oluşturma yeteneği üzerine kolaylaştırıcı bir etki gösterdiği ileri sürülmektedir (Chowdhary ve ark., 2002b). Chowdhary ve ark. (2004) insanlarda kalbin periferal parasempatetik kontrolünün düzenlenmesinde endojenik NO'in fizyolojik rolü ile NO'in adrenerjik-muskarinik interaksiyonuna (indirek parasempatetik aktivite) etkisinin belirlenmesini amaçlayan bir çalışma

gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmanın neticesinde, NO'in insan kalbinin indirek (antiadrenerjik) parasempatetik kontrolünde çok güçlü bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Azad ve ark. (2001) alüminyum fosfat uygulanması ile kardiyovasküler toksisite oluşturulmuş ratlarda, L-NAME uygulanmasının dikkate değer ölçüde bir bradikardi oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise, Chowdhary ve ark. (2004) insanlarda L-NMMA infüzyonunun bradikardi oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Hem eNOS hem de nNOS tarafından sentezlenen NO'in, kalp kas hücrelerinin sarkoplazmasında bulunduğu ve sarkolemmal L-tipi kanallardan Ca^{2+} girişi ile sarkoplazmik retikulumdan Ca^{2+} salınımını ve geri alınımını sağlayarak uyarı-kasılma ilişkisi üzerine etkisi olduğu belirtilmektedir (Campbell ve ark., 1996; Xu ve ark., 1998). Düşük konsantrasyondaki NO, kalp atımlarını artırırken, yüksek konsantrasyonları ise negatif kronotropik etki medana getirir. NO'in kalp kasında önemli derecede otokrin/parakrin etkileri mevcuttur (Cotton ve ark., 2002).

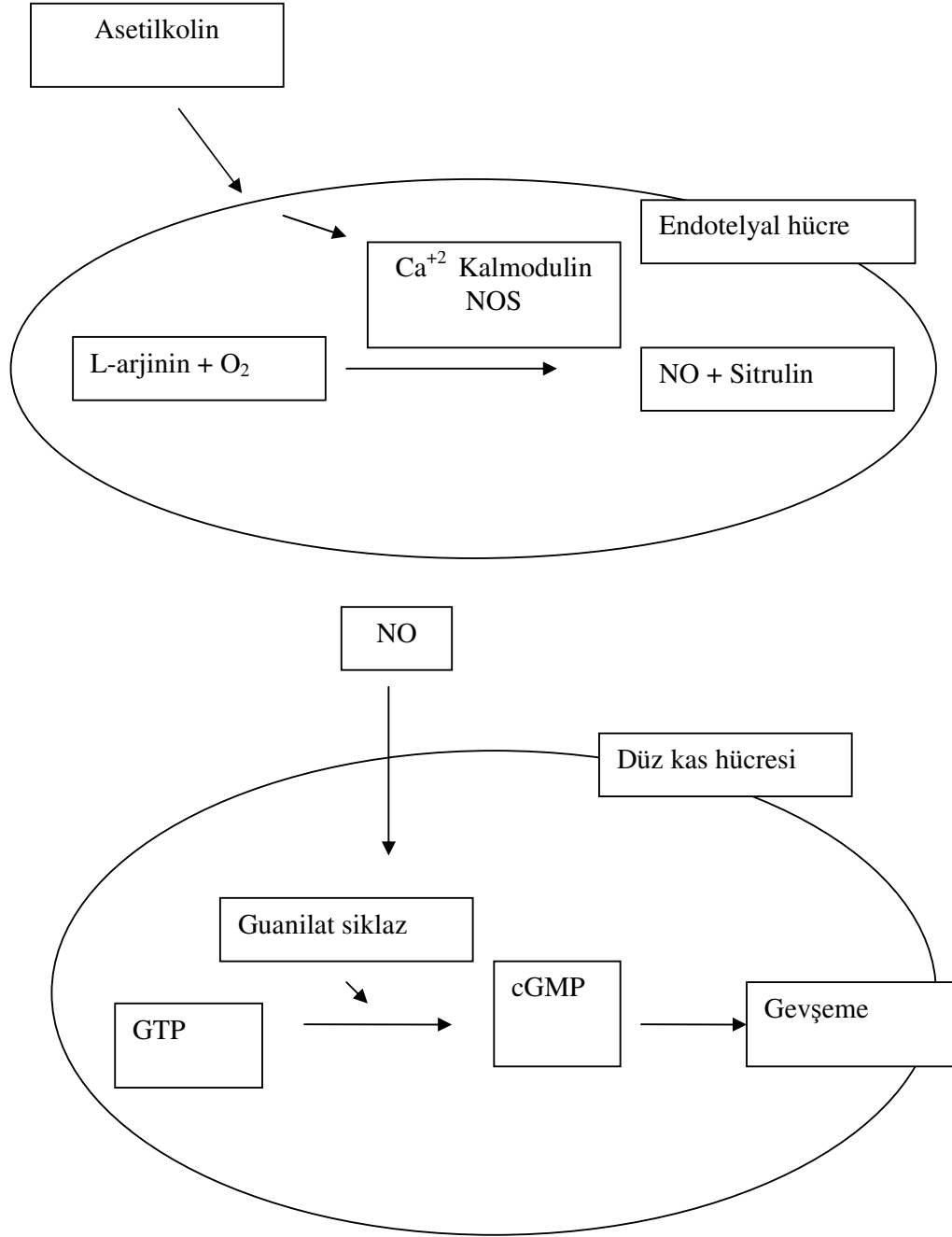
1.10. Nitrik Oksidin Damar Sistemi Üzerine Etkileri

Nitrik oksit özellikle büyük arterlerde damar tonusunun düzenli bir şekilde sürdürülebilmesinde anahtar bir rol oynamaktadır. NO'in seviyesi azaldığında damar genişlemesinin yavaşlaması, trombosit agregasyonunun artması, trombozis ve yangı sonucunda yapısal ve fonksiyonel damar duvarı hasarları ile sonuçlanan patolojik durumlar oluşmaktadır (Huynh ve Chin-Dusting, 2006). Şekil 3'te de özetlendiği üzere; NO'in damar endotel hücrelerinden sentezi ve salınımı ve düz kaslarda

gevşeklik oluşturma mekanizması kısaca şöyle açıklanabilir: (1) Asetil kolin, endotel hücresinde L-arjinine bir O_2 eklenerek NO+Sitrullin oluşan reaksiyonu kalsiyum–kalmodilin aracılığı ile NOS üzerinden tetikler; (2) Oluşan NO düz kas hücresine gelir; (3) Düz kasta guanilat siklaz üzerinden guanidin trifosfat (GTP)'tan siklik guanidin monofosfat (cGMP) oluşan reaksiyonu tetikleyerek gevşemeye neden olur (Moncada ve ark., 1991).

Tansiyon ve kolesterol yüksekliğinde, kalbi besleyen damarlarda egzersiz ve stres karşısında genişleme, koroner kalp hastalığı ve miyokard infarktüsü olaylarında NO'in rol aldığı ileri sürülmüştür (Wattanapitayakul ve Bauer, 2001; Marfella ve ark., 2003). Endotel kaynaklı NO damar duvarlarında üretilir ve damarlarda vazodilatasyona neden olur (Suto ve ark., 1998; Chowdary ve ark., 2002b). NO bu etkisi nedeniyle canlılarda sistemik, pulmoner ve koroner dolaşımında arterlere bağlı basıncın düşürülmesinin sürekliliğinden sorumlu önemli bir damar genişletici olarak rol oynayan bir molekül olarak kabul edilmiştir (Gardiner ve ark., 1990; Quyyumi ve ark., 1995). Dolayısıyla NO sentezinin aksaması hipertansiyona sebep olmaktadır. Endotellerde sentez edilen NO sadece vasküler basıncı kontrol etmekle kalmaz, aynı zamanda anti-aterojenik bir etkisi de vardır. Bu nedenle NO sentezinin yetersizliğinin kalp damar hastalıklarının oluşumu ve gelişimine zemin hazırlayan bir etken olduğu bildirilmektedir (Lyamina ve ark., 2003). Yapılan deneysel çalışmalarda NOS inhibitörünün (L-NMA, L-NAME, vb.) verilmesi sonucu hipertansif cevabın arttığı ve hipertansiyona duyarlı hayvanlara L-arjinin verilmesinin hipertansiyon oluşumunu kuvvetli şekilde engellediği bildirilmiştir (Miranda ve ark., 2001; Wattanapitayakul ve Bauer, 2001; Lyamina ve ark., 2003).

Yapılan araştırmalar, ratlarda NO sentezinin L-arjinin analoglarından olan L-NAME verilerek kronik olarak inhibe edilmesiyle sistemik arteryel hipertansiyon ve kalpte hipertrofi meydana getirdiğini göstermiştir (Numaguchi ve ark., 1995; Devlin ve ark., 1998; Kobayashi ve ark., 2000; Miyamoto ve ark., 2003). Ayrıca NO'in damarlarda bölgesel kan akımını ve kan basıncını değiştirerek, kalbin mekaniksel yüklenmesini sistemik olarak kontrol ettiği ileri sürölmektedir (Miyamoto ve ark., 2003).



Şekil 3. Nitrik oksidin damar endotel hücrelerinden sentezi ve salınımı ve düz kaslarda gevşeklik oluşturma mekanizması (Tuñçok ve ark., 2002).

1.11. Nitrik Oksidin Diğer Etkileri

Nitrik oksidin damarlar üzerine vazodilatör etkisi yanında, trombosit agregasyonunu inhibe etmesi, damar düz kaslarında proliferasyonun önlenmesi ve aterosklerotik plakların inhibe edilmesi gibi kalp damar sistemi üzerine koruyucu etkileri bulunmaktadır (Scrogin ve ark., 1998; Majmudar ve ark., 2000; Shao ve ark., 2001; Lyamina ve ark., 2003). NO fiziksel aktivite sırasında ihtiyaç duyulan önemli bir hemodinamik ve metabolik düzenleyici olarak da rol oynamaktadır (Kingwell, 2000).

Nitrik oksidin organizmada cinsiyet hormonlarının etkilerine aracılık ettiği de ileri sürülmektedir. Östrojenin kalp damar sistemi üzerine olan koruyucu etkisinin, östrojen tarafından damar endotellerinden salgılanması uyarılan NO tarafından gerçekleştirildiği düşünülmektedir (Duncan ve ark., 2002). Östrojen NO sentezini doğrudan antioksidan etkileri ve endotelial NO sentezinde gerekli olan ko-faktör ve enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonunu düzenleyerek gerçekleştirebilmektedir (Santos ve ark., 2004). NO'in artrit, kolit ve nefrit gibi farklı yangısal olaylarda da rol oynadığı bildirilmektedir. NO'in kalp atımını da kapsayan kalp damar sistemi üzerine olan etkileri yanısıra sinir sistemi, karaciğer, böbrekler ve deri üzerine de etkisi vardır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmada, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde yetiştirilmekte olan Yeni Zelanda ırkı 5-7 aylık tavşanlar kullanıldı. Çalışma öncesi tavşanların canlı ağırlıkları belirlendi, kulak numaraları verilip gruplara ayrıldı. Bu tavşanlardan her bir grupta 7 adet olmak üzere toplam 21 adet hayvan kullanıldı ve aşağıda belirtildiğı şekilde 3 grup oluşturuldu. Bütün tavşanlar çalışma boyunca çiftlikte aynı yemle beslendiler ve su ad libitum olarak verildi. Enjeksiyonlar, kan alımı ve EKG kayıt işlemleri ise Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Tavşanlar uygulamalardan 30 dakika önce laboratuara getirildiler ve işlemler tamamlanır tamamlanmaz tekrar çiftlikteki kafeslerine konuldular.

Kontrol grubu: Kontrol grubu yedi adet tavşandan oluşturuldu (ortalama canlı ağırlık; 2.57 kg). Bu gruba 11 gün boyunca her gün 1 ml izotonik NaCl çözeltisi intraperitoneal olarak enjekte edildi.

L-arjinin grubu: Bu grup da yine yedi adet tavşandan oluşturuldu (ortalama canlı ağırlık; 2.58 kg). Bu gruba granül halinde temin edilen L-arjinin (L-arginine, Cat no: 11010, Fluka)'den hazırlanan çözelti 11 gün boyunca intraperitoneal olarak 200 mg/kg/gün dozunda olmak üzere enjeksiyon şeklinde verildi.

L-NAME grubu: Yine yedi adet tavşandan oluşan bu grubun ortalama canlı ağırlığı 2,64 kg olarak belirlendi. Enjeksiyonlar bu gruba da intraperitoneal olarak

granül halinde temin edilen N^G -nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME; kat. no: 72760, Fluka)'den hazırlanan çözültiden 100mg/kg/gün dozunda yapıldı.

Gruplar QT değerlerinin cinsiyete göre değişebileceğini ifade eden literatürler dikkate alınarak bütünlüğü sağlamak amacıyla hem dişi hem de erkek hayvanlardan oluşturuldu. L-Arjinin ve L-NAME için uygulanacak dozlar daha önce farklı laboratuvar hayvanları için belirlenen değerlere göre hesaplandı (Johnson ve ark, 2002; Khavandgar ve ark., 2003).

2.1.2. Enjeksiyon İçin Kullanılan Çözültüler

L-Arjinin Çözültisi

5 g L-Arjinin 25 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcı aracılığı ile çözüldürülerek hazırlandı.

L-NAME (N-Nitro –Larginine Methyl Ester) Çözültisi

2 g L-NAME yine manyetik karıştırıcı aracılığı ile 10 ml distile su içerisinde çözüldürülerek hazırlandı.

2.1.3. NO Analizleri İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler

Metafosforik asit (Merck)

Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) (Merck)

Sodyum klorür (NaCl) (Merck)

Sodyum hidrojen fosfat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) (Merck)

Sodyum sitrat (Merck)

Hidroklorik asit (HCL) (Merck)

n-Bütanol (Merck)

Vanadyum (III) klorür (VCl_3) (Merck)

N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür (NEDD) (Merck)

Sülfanilamid (SULF)(Lancaster)

Sodyum hidroksit (NaOH) (Merck)

2.1.4. NO Analizleri İçin Kullanılan Çözeltiler

Çinko sülfat (%10): 10 g çinko sülfat distile su içerisinde çözdürülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Sodyum hidroksit (0,3M): Distile su içerisinde, 1,2 g sodyum hidroksit çözdürülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Vanadyum (III) Klorür (% 0,8): 1M HCl'de, 800 mg vanadyum (III) klorür çözdürülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı ve katı partiküller filtreye uzaklaştırıldı.

Sülfanilamid (%2): 2 g sülfanilamid % 5'lik HCl içerisinde çözdürülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

NEDD (%0,1): Distile suda, 100 mg N-(1-Naftil) etilendiamine dihidroklorür çözdürülerek, hacim 100 ml'ye tamamlandı ve katı partiküller filtreye uzaklaştırıldı.

Griess ayıracı: 50 ml % 0,1 NEDD ve 50 ml % 2 sülfanilamid eşit miktarda karıştırıldı.

Stok nitrit çözeltisi (1mM): Distile suda, 0,0069 g $NaNO_2$ çözdürülerek hacim 100 ml 'ye tamamlandı

Stok nitrat çözeltisi (1mM): Distile suda, 0,0085g NaNO₃ çözdürülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

2.2. Metot

2.2.1. Enjeksiyonların Yapılması

Enjeksiyon işlemleri her gün sabah saat 9'da intraperitoneal olarak insülin enjektörü kullanılarak, 11 gün boyunca yapıldı.

Kontrol grubu: Her gün hayvan başına 1 ml serum fizyolojik,

L-arjinin grubu: Her gün 200 mg/kg/canlı ağırlık doz L-arjinin,

L-NAME grubu: Her gün 100 mg/kg/canlı ağırlık doz L-NAME enjeksiyonları yapıldı.

2.2.2. Kan Alınması ve Plazma Elde Edilmesi

Tüm gruplardan denemenin, 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerinde enjeksiyondan yaklaşık 2 saat sonra (EKG alımını takiben) kan örnekleri alındı. Kan örnekleri, tavşanların kulak venasından (Vena auricularis) içerisinde antikoagulan (EDTA) bulunan tüplere alındı ve bekletilmeden 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmalarına ayrıştırıldı. Elde edilen plazma örneklerinde deproteinizasyon işlemi yapılarak, analiz edilinceye kadar -20 °C'de saklandı.

2.2.3. EKG Alınması

Hayvanlardan kan alınan günlerde enjeksiyonlardan yaklaşık 2 saat sonra EKG alındı (Logos 8821, Japonya). EKG alınmaya başlamadan 1 hafta önce timsah ağızlı elektrotların tutturulacağı bölgeler tamamen traş edildi. Elektrotlar ön bacakta dirsek ekleminin üstüne, arka bacakta ise diz ekleminin üzerine tutturuldu. Tüm tavşanlardan standart bipolar ekstremite derivasyonları (I, II ve III) ve artırılmış unipolar ekstremite derivasyonları (aVR, aVL ve aVF) yazdırıldı (hız: 50 mm/sn ve amplitüt: 1 mm= 20 mV). EKG alınırken hayvanlarda herhangi bir heyecan ve korku oluşturulmamasına özen gösterildi. EKG alımlarında herhangi bir sedatif veya anestezi kullanılmadığından ve cihazın filtresi kapalı tutulduğundan heyecana bağlı oluşacak kas titremelerini en aza indirmek için hayvanlar deney öncesi bir kaç kez EKG alınarak alıştırmaya çalışıldı.

2.2.4. EKG Değerlendirilmesi:

Elde edilen EKG verilerinden P, QRS ve T dalgalarının morfolojik özellikleri ile süre ve amplitütleri, RR aralıkları, P-Q ve Q-T süresi ve kalp atımı gibi değerler belirlendi. Ölçümlerde I, II ve III gibi bipolar ekstremite derivasyonları ile artırılmış unipolar aVR, aVL ve aVF ekstremite derivasyonları kullanıldı.

Q-T aralığı ölçümlerinde daha çok II ve aVR derivasyonu kullanıldı. Bir QT değerinin belirlenmesi için en az 2 derivasyonda arka arkaya 3 EKG dalgasında ölçüm yapılarak ortalamaları alındı. Belirlenen Q-T değerleri kalp atımlarına göre düzeltilerek QTc olarak ayrıca hesaplandı. QTc'nin hesaplamasında Carlsson'un kullandığı formülden yararlanıldı.

Carlsson Formülü; QTcC = QT-0,175 (RR-300) (Carlsson ve ark., 1993).

2.2.5. Nitrik Oksit Analizleri İçin Uygulanan Yöntemler

2.2.5.1. Numunelerin Deproteinize Edilmesi

Plazma örneklerden 400 µl alındı, üzerine 200 µl 0,3M NaOH ilave edilerek vortekslendi ve 5 dakika bekledikten sonra 200 µl %10'luk ZnSO₄ eklenerek tekrar vortekslendi. Numuneler, 1400 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki berrak sıvı analiz için ayrıldı (Atakişi, 2005).

2.2.5.2. Plazmada NO Tayini

Plazmadaki nitrik oksit düzeyleri, Miranda ve ark. (2001)'in bildirdikleri yönteme göre kalorimetrik olarak tayin edildi. NO düzeyleri plazmadaki nitrat ve nitrit değerlerinin toplam seviyelerinden spektrofotometrik (540 nm dalga boyunda okunarak) yöntemle belirlendi.

2.2.5.3. Çalışma Standartlarının Hazırlanması

1000 µM'lık stok nitrit ve nitrat çözeltilerinden 200-100-50-25-12,5-6,5-3,125 µM'lık çalışma standartları hazırlanarak kalibrasyon eğrisi çizildi.

2.2.5.4. Nitrat Analizlerinin Yapılışı

Mikroplak kuyucuklarına 100 µl nitrat standartları ve numuneler pipetlendi. Tüm kuyucuklara 100 µ VaCl₃ konuldu. Hemen arkasından da 100 µl griess ayırıcı pipetlendi. Otuz dakika 37 °C'de etüvde inkübe edildikten sonra absorbanslar 540 nm dalga boyunda okundu.

2.2.5.5. Nitrit Analizlerinin Yapılışı

Mikroplak kuyucuklarına 100 µl nitrit standartları ve numuneler pipetlendi. Arkasından da 100 µl griess ayırıcı pipetlendi. 30 dakikada 37 °C’de etüvde inkübe edildikten sonra absorbanslar 540 nm dalga boyunda okundu.

2.2.5.6. Sonuçların Hesaplanması

Kalibrasyon eğrisine bakılarak bulunan nitrat ve nitrit konsantrasyonları toplandı ve saptanan bu değerlerden de aşağıdaki formüle göre NO konsantrasyonu hesap edildi.

$$\text{Nitrik Oksit } (\mu\text{M}) = \text{Nitrat } (\mu\text{M}) + \text{Nitrit } (\mu\text{M})$$

2.2.6. İstatistiksel Yöntemler

Bütün veriler ortalama \pm standart hatayı (SE) gösterecek şekilde verildi. Gruplar arasındaki P, QRS ve T dalgalarının amplitüt ve süreleri, P-Q, S-T, QT, QTc, QTd, QTcd, Kalp Atımı, nitrat, nitrit ve NO değerleri arasındaki farklılıklar ANOVA ile değerlendirildi. Gruplar arasındaki ilişkinin göz önüne koyulması için ise korelasyon ve regresyon analizlerinden faydalanılarak p, r ve R² değerleri belirlendi. Tüm istatistiksel testler MINITAB istatistik programı kullanılarak yapıldı (Minitab Inc., Pennsylvania, ABD).

3. BULGULAR

Araştırmada tüm gruplara ait tavşanlardan 1-9. günlerde kan örnekleri alınarak nitrat, nitrit ve NO analizleri yapıldı. Ancak 11. günde bazı tavşanların kulaklarından kan almak iyice zorlaştığından 11. güne ait kan örnekleri tüm hayvanlardan alınmadı. Ancak enjeksiyonlara ise 11 gün boyunca devam edildi ve EKG alımlarına hayvanlarda bir rahatsızlık oluşturmadığı için 11. güne kadar EKG kayıtları alındı. Deneme sürecinde hayvanlarda herhangi bir ölüm veya hastalık durumu oluşmadı.

3.1. Nitrat, Nitrit ve Nitrik Oksit Değerleri

Araştırmanın 1. gününde başlayan enjeksiyonlar sonrası 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde kulak venalarından alınan kan örneklerinden nitrat, nitrit ve NO değerleri belirlendi. NO değerleri nitrat ve nitrit değerlerinin toplanması ile elde edildi. Ölçümlerin yapıldığı tüm günlerde L-arjinin grubunda NO değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek, L-NAME grubunda ise düşük olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca tüm günlerde farklı istatistiki önemlerde olmak üzere L-arjinin ile L-NAME ve L-NAME ile kontrol grubu NO değerleri arasında anlamlı farklılıklar belirlendi ($p < 0.001$). Nitrat, nitrit ve NO değerlerine ait tüm veriler aşağıdaki Tablo 1-3'te gösterilmiştir.

Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarında nitrat değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata)

| Gruplar | Nitrat (μM) | | | | |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | 1. gün | 3. gün | 5. gün | 7.gün | 9. gün |
| Kontrol (n=7) | 35.47 \pm 4.0 ^a | 34.90 \pm 1.8 ^a | 36.06 \pm 2.0 ^a | 34.87 \pm 1.9 ^a | 35.25 \pm 2.9 ^a |
| L-arjinin (n=7) | 41.64 \pm 7.8 ^a | 43.64 \pm 8.0 ^a | 41.66 \pm 4.0 ^a | 37.90 \pm 7.4 ^a | 44.29 \pm 5.4 ^b |
| L-NAME (n=7) | 24.76 \pm 5.1 ^b | 22.03 \pm 6.4 ^b | 20.89 \pm 7.6 ^b | 20.51 \pm 6.4 ^b | 18.77 \pm 4.1 ^c |

Aynı sütünda farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; $p < 0.001$.

Tablo 2. Kontrol ve deney gruplarında nitrit değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata)

| Gruplar | Nitrit (μM) | | | | |
|-----------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | 1. gün | 3. gün | 5. gün | 7.gün | 9. gün |
| Kontrol (n=7) | 1.0 \pm 0.2 ^a | 1.1 \pm 0.3 ^{abc} | 0.9 \pm 0.1 ^a | 0.8 \pm 0.1 ^a | 0.79 \pm 0.0 ^a |
| L-arjinin (n=7) | 1.6 \pm 0.6 ^b | 0.8 \pm 0.1 ^{ab} | 1.0 \pm 0.2 ^{ab} | 0.8 \pm 0.1 ^{ab} | 1.0 \pm 0.1 ^{ab} |
| L-NAME (n=7) | 1.0 \pm 0.1 ^a | 1.2 \pm 0.2 ^{ac} | 1.3 \pm 0.2 ^c | 1.5 \pm 0.4 ^c | 1.5 \pm 0.3 ^c |

Aynı sütünda farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; $p < 0.05$.

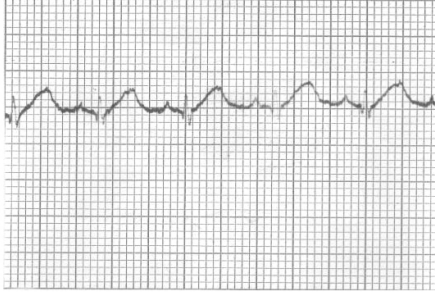
Tablo 3. Kontrol ve deney gruplarında NO değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata)

| Gruplar | Nitrik Oksit (μ M) | | | | |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | 1. gün | 3. gün | 5. gün | 7.gün | 9. gün |
| Kontrol (n=7) | 36.48 \pm 3.9 ^a | 36.06 \pm 1.9 ^a | 36.98 \pm 1.9 ^a | 35.73 \pm 1.9 ^a | 36.04 \pm 2.9 ^a |
| L-arjinin (n=7) | 43.30 \pm 8.1 ^a | 44.51 \pm 8.0 ^a | 42.71 \pm 4.1 ^a | 38.74 \pm 7.4 ^a | 45.30 \pm 5.4 ^b |
| L-NAME (n=7) | 25.77 \pm 5.0 ^b | 23.29 \pm 6.4 ^b | 22.28 \pm 7.5 ^b | 22.06 \pm 6.2 ^b | 20.30 \pm 3.8 ^c |

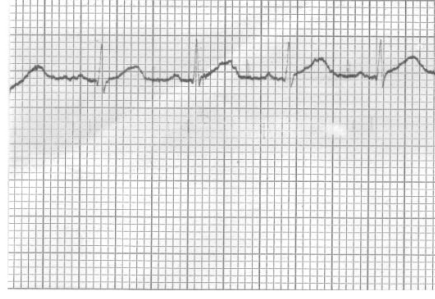
Aynı sütünde farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; $p < 0.001$.

3.2. Elektrokardiyografik Veriler

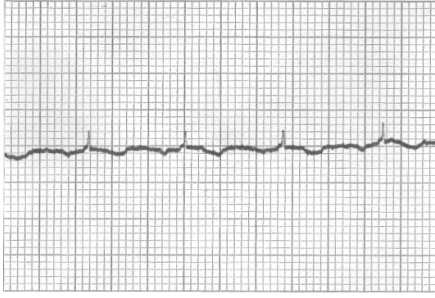
Araştırma sonucunda elde edilen elektrokardiyogramlardan P, T ve QRS dalgalarının süresi ve yüksekliği, P-Q, R-R ve S-T aralıklarının süresi, QT, QTcC, QTd, QTcd, en düşük QTd, QTcd, en yüksek QTd, QTcd değerleri ve Kalp Atım sayıları hesaplandı. Her grubun I, II, III, aVR, aVL ve aVF derivasyonlarına ait örnek EKG'ler Resim 1-3'te gösterildi. Ayrıca tüm gruplara ait veriler birleştirilerek NO ile QT, QTcC, QTd, QTcd değerleri ve KA sayıları arasında bir korelasyonun olup olmadığı araştırıldı. Tüm bu sonuçlar ve istatistiki farklılıkları ve önemlerini gösteren tablolar Tablo 4-10'da gösterildi. NO ile aralarında korelasyon belirlenen parametrelerin regresyon, R^2 ve p değerleri ve istatistiki olarak anlam dereceleri ise Şekil 4-8'de verildi.



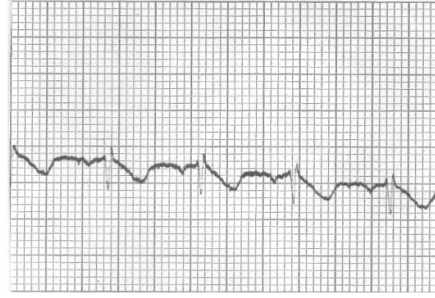
I



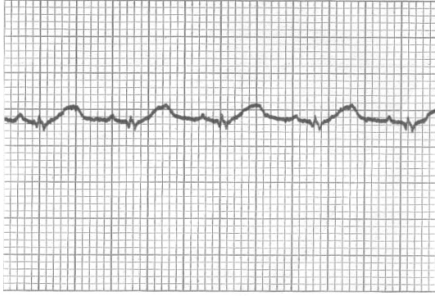
II



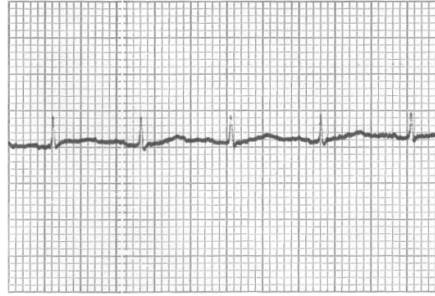
III



aVR



aVL

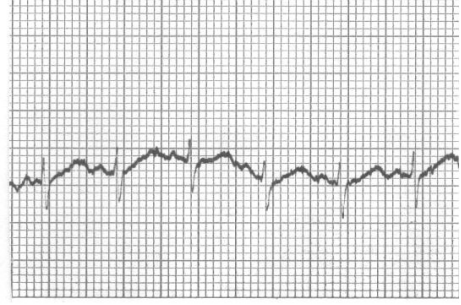


aVF

Resim 1. Kontrol grubundan bir tavşanın I, II, III, aVR, aVL ve aVF derivasyonlarına ait örnek resimler (1 mm=20 mV; hız 50 mm/sn).



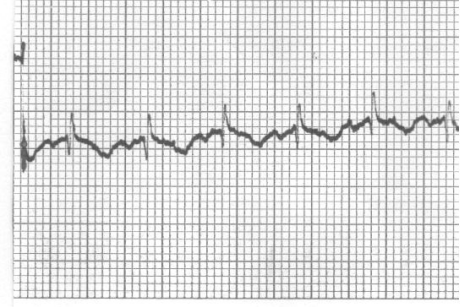
I



II



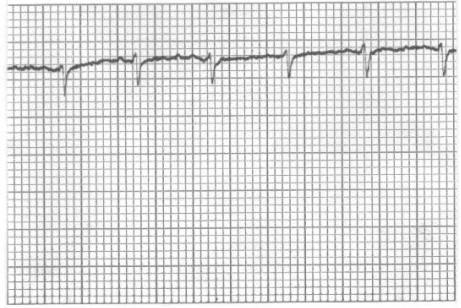
III



aVR

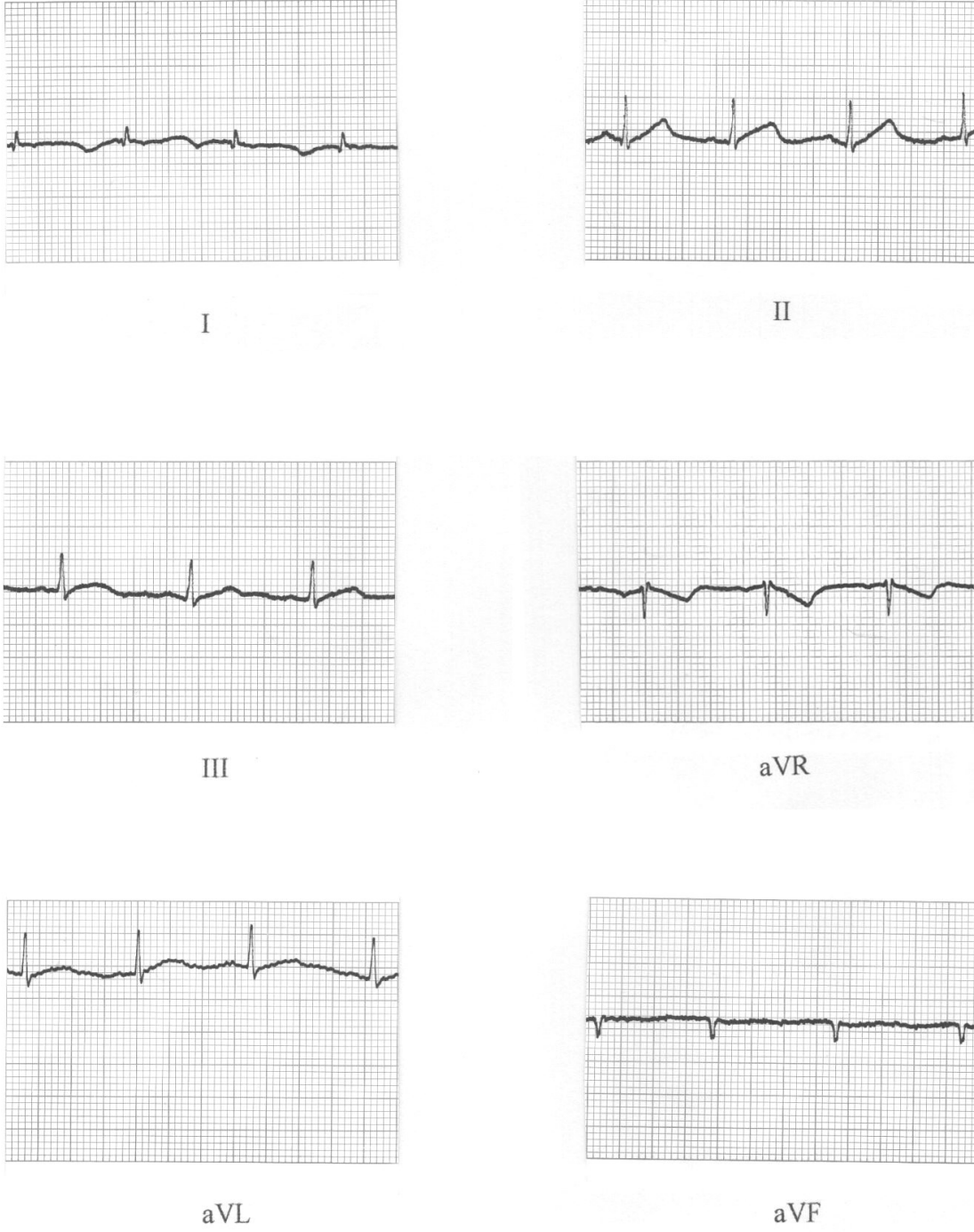


aVL



aVF

Resim 2. L-arjinin uygulanan gruptaki bir tavşanın I, II, III, aVR, aVL ve aVF derivasyonlarını ve kalp atımlarının hızlanmasını gösteren örnek resimler (1 mm=20 mV; hız 50 mm/sn).



Resim 3. L-NAME uygulanan gruptaki bir tavşanın I, II, III, aVR, aVL ve aVF derivasyonlarını, QT uzamasını ve kalp atımlarının yavaşlamasını gösteren örnek resimler (1 mm=20 mV; hız 50 mm/sn).

Kontrol ve deney gruplarında bulunan tavşanlar arasındaki değişik EKG verileri (P süresi, P amplitüt, P-Q süresi, R amplitüt, QRS süresi, S-T süresi, T süresi, T amplitüt değerleri) hesap edilmiş olup elde edilen bulgular Tablo 4-7’de özetlendi. Her bir gruptan elde edilen EKG verileri açısından günlere göre önemli bir istatistikî farklılık gözlemlenmedi ($p > 0.05$). P dalgasının süresi ve yüksekliği açısından bakıldığında 3. günde L-arjinin grubunda P dalgası süresi dışında gruplar arasında istatistikî olarak anlamlı bir sonuca rastlanılmadı. P dalga sürelerinin kontrol grubunda $20,00 - 24, 28 \pm 6,7$ msn; L-arjinin grubunda $24,28 \pm 7,4 - 26, 19 \pm 7, 4$ msn; L-NAME grubunda ise $21,90 \pm 4,0 - 25, 23 \pm 8,1$ msn arasında değiştiği gözlemlendi (Tablo 4).

Gruplar P-Q süresi açısından incelendiğinde ise; deney grubunda bulunan hayvanlarda kontrol grubunda göre bir uzama görüldü. Ancak bu uzama sadece L-NAME grubunda kontrol grubuna göre ($p < 0.001$) istatistikî olarak anlamlı bulundu (Tablo 5).

R amplitüt değerleri açısından ise 1. gün hariç diğer tüm günlerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında L-arjinin grubundaki tavşanlarda rakamsal olarak bir azalma, L-NAME grubundaki tavşanlarda ise bir artış gözlemlendi. Özellikle L-arjinin ve L-NAME grubu arasındaki farklılıkların istatistikî olarak bir anlam ifade ettiği görüldü ($p < 0.05$; Tablo 5).

QRS süresi bakımından kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında genel olarak L-NAME grubunda bir azalma söz konusu iken, sadece 1 ve 9. günlerde elde edilen değerler istatistikî olarak anlam ifade etmektedir. L-arjinin grubundaki hayvanlara ait QRS değerlerine bakıldığında ise genelde kontrol grubu ile aynı

olduğu görülmekle birlikte 5 ve 7. günlerde bir azalma gözlendi. Ancak bu farklılıklar istatistik olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 6).

Tablo 4. Kontrol ve deney gruplarında P süre ve P amplitüt değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata).

| Günler/ Gruplar | P süre (msn) | | | P amplitüt (mV) | | |
|--------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | Kontrol (n=7) | L-arjinin (n=7) | L-NAME (n=7) | Kontrol (n=7) | L-arjinin (n=7) | L-NAME (n=7) |
| 1 | 21,90 \pm 5,1 | 25,23 \pm 6,7 | 22,38 \pm 4,3 | 0,05 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 |
| 3 | 20,00 \pm 0,0 ^a | 25,71 \pm 7,4 ^b | 21,90 \pm 4,0 ^{a,c} | 0,05 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 |
| 5 | 22,85 \pm 5,6 | 26,19 \pm 7,4 | 23,81 \pm 6,6 | 0,05 \pm 0,0 | 0,04 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 |
| 7 | 21,42 \pm 3,5 | 24,7 \pm 6,7 | 22,3 \pm 4,3 | 0,04 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 |
| 9 | 24,28 \pm 6,7 | 25,23 \pm 7,4 | 25,23 \pm 8,1 | 0,05 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 | 0,04 \pm 0,0 |
| 11 | 21,42 \pm 3,5 | 24,28 \pm 7,4 | 23,33 \pm 5,7 | 0,05 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 | 0,05 \pm 0,0 |

Aynı satırda farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; $p < 0.001$. msn: milisaniye, mV: milivolt.

Tablo 5. Kontrol ve deney gruplarında P-Q süre ve R amplitüt değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata).

| Günler/ Gruplar | P-Q süre (msn) | | | R amplitüt (mV) | | |
|--------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Kontrol (n=7) | L-arjinin (n=7) | L-NAME (n=7) | Kontrol (n=7) | L-arjinin (n=7) | L-NAME (n=7) |
| 1 | 50,95 \pm 7,6 ^a | 54,76 \pm 8,1 ^a | 61,42 \pm 5,7 ^b | 0,18 \pm 0,0 ^a | 0,22 \pm 0,1 ^{ab} | 0,29 \pm 0,1 ^b |
| 3 | 49,52 \pm 8,0 ^a | 55,23 \pm 6,0 ^{a,b} | 59,04 \pm 9,9 ^b | 0,26 \pm 0,0 ^a | 0,19 \pm 0,1 ^b | 0,30 \pm 0,0 ^{qc} |
| 5 | 47,61 \pm 8,3 ^a | 54,76 \pm 7,4 ^b | 56,19 \pm 7,4 ^b | 0,22 \pm 0,0 ^a | 0,20 \pm 0,1 ^a | 0,27 \pm 0,0 ^b |
| 7 | 51,9 \pm 7,4 | 56,6 \pm 10,6 | 58,0 \pm 8,7 | 0,20 \pm 0,0 ^{ab} | 0,16 \pm 0,0 ^a | 0,26 \pm 0,0 ^b |
| 9 | 51,42 \pm 10,1 ^a | 55,71 \pm 5,9 ^a | 61,90 \pm 5,1 ^b | 0,24 \pm 0,0 ^{ab} | 0,18 \pm 0,0 ^a | 0,28 \pm 0,1 ^b |
| 11 | 47,14 \pm 9,5 ^a | 55,23 \pm 6,0 ^{bc} | 59,04 \pm 7,0 ^c | 0,23 \pm 0,0 ^{a,b} | 0,19 \pm 0,1 ^a | 0,26 \pm 0,0 ^b |

Aynı satırda farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; R amplitüt için $p < 0.05$, diğer parametreler için $p < 0.001$. msn: milisaniye, mV: milivolt.

S-T süresindeki değişiklikler incelendiğinde ise kontrol grubuna göre L-arjinin grubunun sürelerinin azaldığı (1. gün hariç; Tablo 6), L-NAME grubunda ise bu sürenin tüm günlerde uzadığı ve istatiksels olarak anlamlı derecede olduğu görüldü ($p < 0.001$; Tablo 6). L-arjinin grubundaki azalma genelde kontrol grubuna göre istatistikî olarak anlamlı olmamasına rağmen (3 ve 11. günler hariç), L-arjinin grubu L-NAME grubu ile karşılaştırıldığında ise aradaki farklılıklar istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$; Tablo 6).

Kontrol ve deney gruplarındaki hayvanlardan elde edilen T dalga süre değişiklikleri incelendiğinde ise kontrol grubuna göre L-arjinin grubunda sürelerin azaldığı, L-NAME grubundaki sürelerin ise arttığı gözlemlendi (Tablo 7). Özellikle L-NAME grubundaki hayvanlarda T dalgası süresindeki artışlar kontrol ve L-arjinin grubuna göre istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Kontrol ve L-arjinin grubu karşılaştırıldığında ise L-arjinin grubundaki hayvanlara ait T dalgası süresindeki azalma 7 ve 9. günler hariç (7. gün T süre $65,7 \pm 11,6$ ve 9. gün T süre $73,33 \pm 14,9$ msn; bkz Tablo 7) istatistiki bir anlam ifade etmemektedir.

T dalgası yüksekliği (T amplitüdü) açısından ise 1, 3 ve 5. günlerde kontrol ve L-arjinin grubuna göre L-NAME değerinde bir artış söz konusudur ve bu artış istatistiki olarak 3. gün hariç önemli olarak saptandı (Tablo 7). Yedinci ve 9. gün T amplitüdü ise kontrol grubuna göre azalmış olarak bulunmuş fakat istatistikî olarak önemsizdir ($p < 0.001$; Tablo 7). L-arjinin grubuna ait T dalgası süresi ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 3, 7, 9 ve 11. günlerde azalmış, 1 ve 5. günlerde ise artmış olup aradaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamsızdır. L-arjinin grubu ve L-NAME grubu kendi aralarında kıyaslandığında ise L-arjinin grubuna ait T amplitüt

değerlerinin L-NAME grubuna göre rakamsal olarak azaldığı görüldü. Ancak istatistiki açıdan 1. gün değerleri hariç bir anlam saptanamadı.

Tablo 6. Kontrol ve deney gruplarında QRS süre ve S-T süre değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata).

| Günler/ Gruplar | QRS süre (msn) | | | S-T süre (msn) | | |
|--------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Kontrol (n=7) | L-arjinin (n=7) | L-NAME (n=7) | Kontrol (n=7) | L-arjinin (n=7) | L-NAME (n=7) |
| 1 | 35,71 \pm 5,9 ^a | 35,71 \pm 5,0 ^a | 29,52 \pm 9,7 ^b | 103,81 \pm 8,0 ^a | 104,76 \pm 10 ^a | 133,33 \pm 17,0 ^b |
| 3 | 33,33 \pm 7,3 ^{ab} | 37,14 \pm 4,6 ^a | 31,42 \pm 10,1 ^b | 115,71 \pm 10,7 ^a | 101,90 \pm 8,1 ^b | 134,29 \pm 20,1 ^c |
| 5 | 35,23 \pm 6,0 | 33,33 \pm 7,9 | 29,52 \pm 9,7 | 108,57 \pm 11,5 ^a | 103,3 \pm 10,1 ^a | 136,6 \pm 16,8 ^b |
| 7 | 35,23 \pm 6,7 | 32,85 \pm 7,8 | 35,71 \pm 7,4 | 108,5 \pm 11,5 ^a | 103,3 \pm 10,1 ^a | 136,6 \pm 16,8 ^b |
| 9 | 34,76 \pm 6,7 ^a | 34,28 \pm 7,4 ^a | 27,14 \pm 9,0 ^b | 118,10 \pm 15,0 ^a | 107,62 \pm 10,9 ^a | 139,05 \pm 16,0 ^b |
| 11 | 34,76 \pm 7,5 | 35,00 \pm 12,8 | 31,90 \pm 9,8 | 108,10 \pm 10,0 ^a | 86,19 \pm 33 ^b | 132,86 \pm 19,0 ^c |

Aynı satırda farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; QRS süre için $p < 0.05$ (QRS süre 11. gün için $p < 0.001$), diğer parametreler için $p < 0.001$. msn: milisaniye, mV: milivolt.

Tablo 7. Kontrol ve deney gruplarında T süre ve T amplitüt değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata).

| Günler/ Gruplar | T süre (msn) | | | T amplitüt (mV) | | |
|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| | Kontrol (n=7) | L-arjinin (n=7) | L-NAME (n=7) | Kontrol (n=7) | L-arjinin (n=7) | L-NAME (n=7) |
| 1 | 78,57 \pm 10,1 ^a | 76,67 \pm 15,6 ^a | 92,38 \pm 13,0 ^b | 0,08 \pm 0,0 ^a | 0,11 \pm 0,0 ^b | 0,15 \pm 0,0 ^c |
| 3 | 80,0 \pm 14,1 ^a | 71,43 \pm 14,9 ^a | 95,24 \pm 15,3 ^b | 0,10 \pm 0,0 | 0,09 \pm 0,0 | 0,29 \pm 0,6 |
| 5 | 79,05 \pm 9,9 ^a | 77,62 \pm 14,1 ^a | 99,05 \pm 17,0 ^b | 0,10 \pm 0,0 ^a | 0,12 \pm 0,0 ^b | 0,13 \pm 0,0 ^b |
| 7 | 80,4 \pm 12,0 ^a | 65,7 \pm 11,6 ^b | 90,4 \pm 17,4 ^{ac} | 0,20 \pm 0,2 ^a | 0,09 \pm 0,0 ^b | 0,15 \pm 0,0 ^{a,b} |
| 9 | 87,62 \pm 18,6 ^a | 73,33 \pm 14,9 ^b | 97,62 \pm 18,9 ^{ac} | 0,20 \pm 0,2 ^a | 0,09 \pm 0,0 ^b | 0,15 \pm 0,0 ^{ab} |
| 11 | 80,0 \pm 14,1 ^a | 71,43 \pm 14,9 ^a | 95,24 \pm 15,3 ^b | 0,10 \pm 0,0 ^a | 0,09 \pm 0,0 ^a | 0,14 \pm 0,0 ^b |

Aynı satırda farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; $p < 0.001$. msn: milisaniye, mV: milivolt.

Tablo 8’de kontrol ve deney gruplarındaki tavşanların kalp atım (KA) sayılarının günlere göre değişimi verildi. Kontrol grubunda 1. günde 260 ± 19 /dak olan KA sayısı L-arjinin grubunda 278 ± 26 /dak; L-NAME grubunda ise 149 ± 11 /dak olarak belirlendi. Üçüncü günde KA sayısı kontrol grubunda 243 ± 37 /dak, L-arjinin grubunda 290 ± 26 /dak, L-NAME grubunda ise 179 ± 31 /dak olarak belirlendi. Beşinci günde kontrol grubunda 238 ± 22 /dak olan KA sayısı L-arjinin grubunda 283 ± 39 /dak olarak yükseldi, L-NAME grubunda ise 178 ± 22 /dak olarak azaldı. Yedinci günde de aynı şekilde L-arjinin grubunda (311 ± 31 /dak) kontrol grubuna (172 ± 22 /dak) göre yükselme; L-NAME grubunda ise azalma (172 ± 22 /dak) gözlemlendi. Dokuzuncu günde ise L-arjinin grubunun KA sayısının dakikada 294 ± 22 , L-NAME grubunun ise 159 ± 19 olduğu görüldü. Aynı şekilde kontrol grubuna göre (229 ± 12 /dak) L-arjinin grubunda bir yükselme L-NAME grubunda ise bir azalma gözlemlendi. 11. gün değerleri de (kontrol 253 ± 12 /dak; L-arjinin 295 ± 9 /dak; L-NAME 162 ± 17 /dak) aynı şekilde paralellik arz etmektedir. Kontrol ve deney grupları arasındaki farklılıklar istatistikî olarak da anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

Tablo 8. Kontrol ve deney gruplarında kalp atım (KA) sayıları ve R-R aralığı değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata)*

| Değer/ Gruplar* | 1. gün | | 3. gün | | 5. gün | | 7. gün | | 9. gün | | 11. gün | |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | KA (atım/dak) | RR (msn) | KA (atım/dak) | RR (msn) | KA (atım/dak) | RR (msn) | KA (atım/dak) | RR (msn) | KA (atım/dak) | RR (msn) | KA (atım/dak) | RR (msn) |
| Kontrol | 260 \pm 19 ^a | 231 \pm 17 ^a | 243 \pm 37 ^a | 246 \pm 54 ^a | 238 \pm 22 ^a | 253 \pm 22 ^a | 249 \pm 34 ^a | 245 \pm 30 ^a | 229 \pm 12 ^a | 262 \pm 14 ^a | 253 \pm 12 ^a | 237 \pm 11 ^a |
| Arjinin | 278 \pm 26 ^b | 217 \pm 22 ^b | 290 \pm 26 ^b | 208 \pm 21 ^b | 283 \pm 39 ^b | 216 \pm 33 ^b | 311 \pm 31 ^b | 194 \pm 19 ^b | 294 \pm 22 ^b | 205 \pm 16 ^b | 295 \pm 9 ^b | 203 \pm 6 ^b |
| L-NAME | 149 \pm 11 ^c | 403 \pm 32 ^c | 179 \pm 31 ^c | 343 \pm 56 ^c | 178 \pm 22 ^c | 341 \pm 41 ^c | 172 \pm 22 ^c | 354 \pm 46 ^c | 159 \pm 19 ^c | 381 \pm 47 ^c | 162 \pm 17 ^c | 372 \pm 44 ^c |

*Her bir grup 7 tavşandan oluşmaktadır.

Aynı sütunda farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; $p < 0.001$, dak: dakika, msn: milisaniye.

Tablo 9'dan de anlaşıldığı gibi kontrol grubunda QT değerleri; 1. günde 147 ± 9 msn, 3. günde 142 ± 23 msn, 5. günde 145 ± 9 msn, 7. günde 144 ± 8 msn, 9. günde 148 ± 8 msn, 11. günde 142 ± 7 msn; L-arjinin grubundaki QT değerleri ise 1. günde 129 ± 8 msn, 3. günde 128 ± 9 msn, 5. günde 128 ± 8 msn, 7. günde 128 ± 10 , msn, 9. günde 129 ± 9 , 11. günde 126 ± 8 msn ve L-NAME grubundaki QT değerleri ise; 1. günde 170 ± 17 msn, 3. günde 170 ± 14 msn, 5. günde 179 ± 16 msn, 7. günde 181 ± 17 msn, 9. günde 182 ± 15 msn, 11. günde 180 ± 14 msn olarak saptandı. Bu bulgulardan da anlaşılacağı üzere L-arjinin grubunda bulunan tavşanların QT değerlerinin, kontrol grubundaki tavşanlara göre kısaldığı; L-NAME grubundaki hayvanların QT değerlerinin ise kontrol grubuna göre uzamış olduğu tespit edildi. Aradaki farklar istatistiki olarak da anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

Aynı şekilde kontrol ve deney grubunda bulunan tavşanlara ait QTc değerleri karşılaştırıldığında, 1, 3, 5, 7, 9 ve 11. günlerin hepsinde de L-arjinin grubuna ait hayvanların QTc sürelerinin azaldığı, L-NAME grubundaki hayvanlara ait QTc sürelerinin ise uzadığı ve bu farklılığın istatistiki olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.001$; Tablo 9).

Tablo 9. Kontrol ve deney gruplarında QT ve QTcC değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata)*.

| Değer/ Gruplar* | 1. gün | | 3. gün | | 5. gün | | 7. gün | | 9. gün | | 11. gün | |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | QT (msn) | QTcC (msn) | QT (msn) | QTcC (msn) | QT (msn) | QTcC (msn) | QT (msn) | QTcC (msn) | QT (msn) | QTcC (msn) | QT (msn) | QTcC (msn) |
| Kontrol | 147 \pm 9 ^a | 147 \pm 9 ^a | 142 \pm 23 ^a | 146 \pm 7 ^a | 145 \pm 9 ^a | 145 \pm 9 ^a | 144 \pm 8 ^a | 145 \pm 8 ^a | 148 \pm 8 ^a | 149 \pm 8 ^a | 142 \pm 7 ^a | 143 \pm 7 ^a |
| Arjinin | 129 \pm 8 ^b | 130 \pm 8 ^b | 128 \pm 9 ^b | 129 \pm 9 ^b | 128 \pm 8 ^b | 128 \pm 8 ^b | 128 \pm 10 ^b | 128 \pm 10 ^b | 129 \pm 9 ^b | 129 \pm 9 ^b | 126 \pm 8 ^b | 127 \pm 8 ^b |
| L-NAME | 170 \pm 17 ^c | 170 \pm 17 ^c | 170 \pm 14 ^c | 171 \pm 14 ^c | 179 \pm 16 ^c | 179 \pm 16 ^c | 181 \pm 17 ^c | 182 \pm 17 ^c | 182 \pm 15 ^c | 183 \pm 15 ^c | 180 \pm 14 ^c | 180 \pm 14 ^c |

*Her bir grup 7 tavşandan oluşmaktadır.

Aynı sütunda farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; $p < 0.001$. msn: milisaniye.

Kontrol ve deney grubundaki tavşanların QTd değerleri karşılaştırıldığında genelde kontrol ve L-arjinin grubundaki hayvanlara ait değerler arasında istatistiki olarak anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi (Tablo 10). Ancak L-NAME verilen gruptaki tavşanların ise QTd sürelerinin uzadığı ve 21.4 ± 10 - 31.6 ± 17 milisaniye arasında değiştiği gözlemlenmiş olup bu grup ile L-arjinin grubundaki hayvanlar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$ veya $p < 0.001$). QTcd süreleri açısından ise aynı şekilde 3. gün hariç (8.5 ± 3 msn) genelde kontrol ve L-arjinin grubundaki hayvanlar arasında istatistiki olarak önemli bir fark saptanamadı. Ancak, L-NAME grubu ile diğer gruplar arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar belirlenmiş olup QTcd süresinin 32.8 ± 11 'e kadar uzadığı saptanmıştır ($p < 0.05$ veya $p < 0.001$; Tablo 10).

Tablo 11'de kontrol ve deney gruplarındaki en düşük QTd ve QTcd değerlerinin günlere göre değişimi gösterildi. Bu değerler açısından kontrol grubu ile deney grupları arasında büyük bir farklılığın olduğu anlaşılmaktadır. L-arjinin grubunda bu süre yaklaşık olarak 10 milisaniye olup günlere göre bir değişim göstermedi. Ancak L-NAME grubundaki hayvanlarda özellikle 5, 7 ve 11. günlere ait değerler 20 milisaniyeye kadar uzadığı tespit edildi.

Tablo 12'de ise kontrol ve deney gruplarında bulunan tavşanlardaki en yüksek QTd ve QTcd değerlerinin günlere göre değişimi gösterildi. Kontrol ve L-arjinin grubundaki hayvanlarda genelde 10 ile 30 milisaniye arasında değişen bu sürenin L-NAME grubunda 60 milisaniyeye (40-60 msn arası) kadar uzadığı gözlemlendi.

Tablo 10. Kontrol ve deney gruplarında QTd ve QTcd değerlerinin günlere göre değişimi (ortalama \pm standart hata)*.

| Değer/ Gruplar* | 1. gün | | 3. gün | | 5. gün | | 7. gün | | 9. gün | | 11. gün | |
|--------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------|----------------------------|----------------------------|
| | QTd (msn) | QTcd (msn) | QTd (msn) | QTcd (msn) | QTd (msn) | QTcd (msn) | QTd (msn) | QTcd (msn) | QTd (msn) | QTcd (msn) | QTd (msn) | QTcd (msn) |
| Kontrol | 13,3 \pm 8 ^{ab} | 12,8 \pm 7 ^a | 14,2 \pm 9 ^{ab} | 18,5 \pm 6 ^a | 18,5 \pm 6 ^a | 18,5 \pm 6 ^a | 11,6 \pm 4 ^a | 14,0 \pm 5 ^a | 12,8 \pm 9 ^a | 15,0 \pm 8 | 17,1 \pm 4 ^{ab} | 17,1 \pm 4 ^a |
| Larjinin | 12,8 \pm 4 ^a | 11,4 \pm 3 ^a | 8 \pm 3 ^a | 8,5 \pm 3 ^b | 14,2 \pm 9 ^a | 15,7 \pm 5 ^a | 12,8 \pm 4 ^a | 14,2 \pm 5 ^a | 15,7 \pm 7 ^{ab} | 15,7 \pm 7 | 8,3 \pm 4 ^a | 10,0 \pm 6 ^a |
| L-NAME | 25,7 \pm 12 ^b | 27,1 \pm 11 ^b | 21,4 \pm 10 ^b | 22,8 \pm 9 ^a | 28,5 \pm 6 ^b | 28,5 \pm 6 ^b | 31,4 \pm 10 ^b | 32,8 \pm 11 ^b | 31,6 \pm 17 ^b | 31,6 \pm 17 | 25,7 \pm 9 ^b | 24,2 \pm 12 ^b |

*Her bir grup 7 tavşandan oluşmaktadır.

Aynı sütunda farklı harflerle belirtilen değerler birbirlerinden farklı; 7. ve 9. günler için $p < 0.001$, diğer günler için $p < 0.05$ veya (msn): milisaniye.

Tablo 11. Kontrol ve deney gruplarında en düşük QTd ve QTcd değerlerinin günlere göre değişimi.

| Değer/ Gruplar* | 1. gün | | 3. gün | | 5. gün | | 7. gün | | 9. gün | | 11. gün | |
|--------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | en düşük QTd (msn) | en düşük QTcd (msn) | en düşük QTd (msn) | en düşük QTcd (msn) | en düşük QTd (msn) | en düşük QTcd (msn) | en düşük QTd (msn) | en düşük QTcd (msn) | en düşük QTd (msn) | en düşük QTcd (msn) | en düşük QTd (msn) | en düşük QTcd (msn) |
| Kontrol | 0 | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 |
| Arjinin | 10 | 10 | 0 | 0 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 0 | 0 |
| L-NAME | 10 | 10 | 10 | 10 | 20 | 20 | 20 | 20 | 10 | 10 | 20 | 10 |

msn: milisaniye

*Her bir grup 7 tavşandan oluşmaktadır.

Tablo 12. Kontrol ve deney gruplarında en yüksek QTd ve QTcd değerlerinin günlere göre değişimi

| Değer/ Gruplar* | 1. gün | | 3. gün | | 5. gün | | 7. gün | | 9. gün | | 11. gün | |
|--------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| | en yüksek QTd | en yüksek QTcd | en yüksek QTd | en yüksek QTcd | en yüksek QTd | en yüksek QTcd | en yüksek QTd | en yüksek QTcd | en yüksek QTd | en yüksek QTcd | en yüksek QTd | en yüksek QTcd |
| Kontrol | 20 | 20 | 30 | 30 | 30 | 30 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Arjinin | 20 | 20 | 10 | 10 | 20 | 20 | 20 | 20 | 30 | 30 | 10 | 20 |
| L-NAME | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 50 | 50 | 60 | 60 | 40 | 40 |

Değerler milisaniye olarak verilmiştir.

*Her bir grup 7 tavşandan oluşmaktadır.

Nitrik oksit ile QT değeri arasındaki korelasyonun tüm günlerde istatistiki olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p < 0.05$). Korelasyonun yönüne baktığımızda ise NO düzeyleri azaldığında QT sürelerinin uzadığını, NO değerleri arttığında ise QT değerlerinin azaldığı görüldü. NO ile QT arasında korelasyon analizleri sonucunda 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde elde edilen korelasyon grafikleri ve regresyon değerleri Şekil 4'te gösterildi.

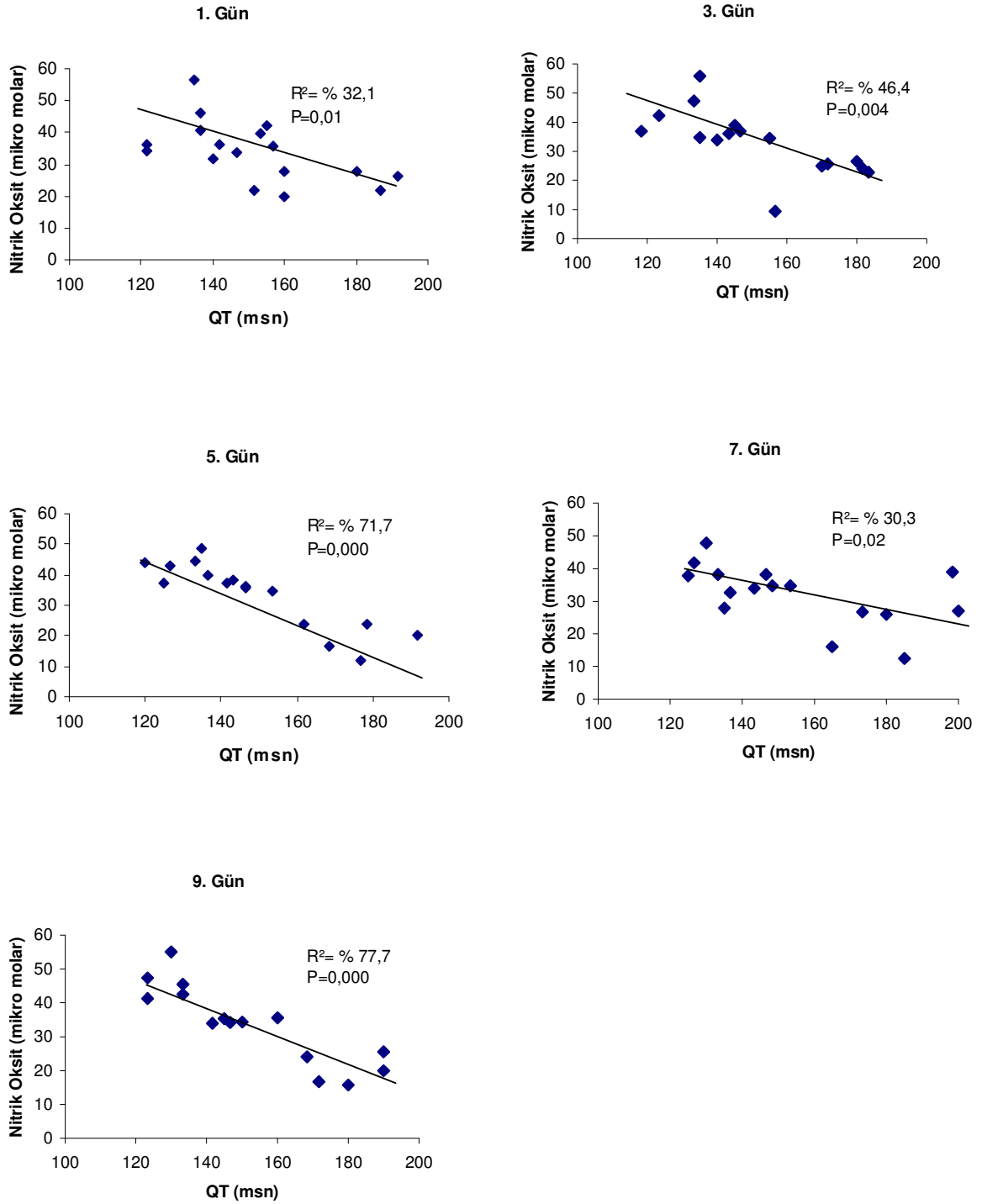
Nitrik oksit ile QTc değerleri arasında 5, 7 ve 9. günlerde istatistiki öneme sahip bir korelasyon bulundu ($p < 0.05$). NO ile QTc arasında korelasyon analizleri sonucunda 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde elde edilen korelasyon grafikleri ve regresyon değerleri Şekil 5'te gösterildi.

Nitrik oksit ile QTd arasındaki korelasyonun sadece 5. günde istatistiki bir önem taşıdığı ($p < 0.05$), yine 7. günde p değerinin 0.07 olduğu görüldü. NO ile QTd arasında korelasyon analizleri sonucunda 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde elde edilen korelasyon grafikleri ve regresyon değerleri Şekil 6'da gösterildi.

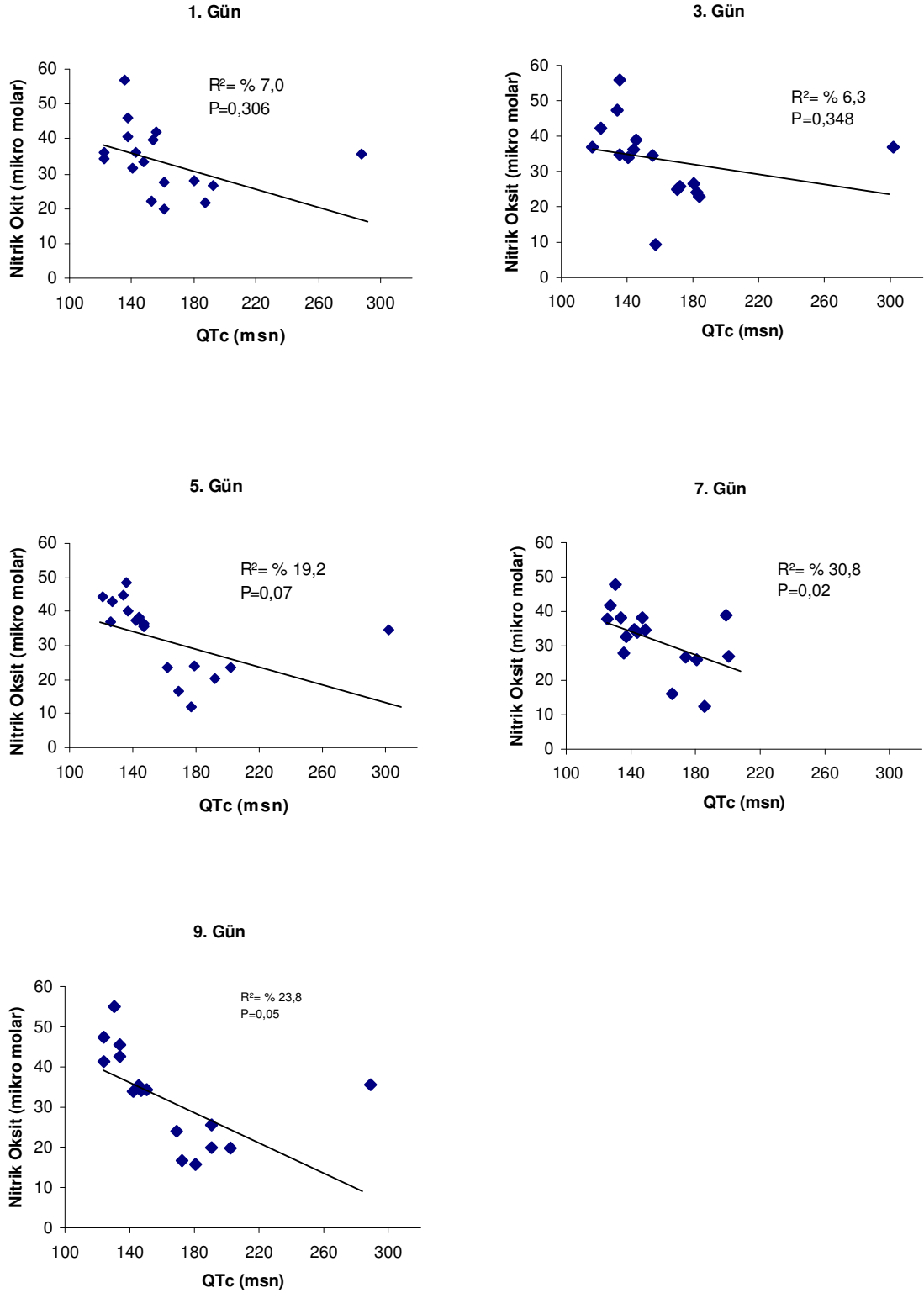
Düzeltilmiş QTc değerlerinden elde edilen QTcd değerleri ile NO arasında yapılan korelasyonda 1, 5 ve 7. günlerde istatistikî olarak anlamlı sonuçlara ulaşıldı ($p < 0.05$). NO ile QTcd arasında korelasyon analizleri sonucunda 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde elde edilen korelasyon grafikleri ve regresyon değerleri Şekil 7'de gösterildi.

Nitrik oksit değerleri ile ölçülen parametreler arasında en yüksek korelasyon kalp atım sayılarında belirlendi. Plazma NO değerlerinin arttığı durumlarda kalp atım sayılarının da arttığı, plazma NO değerlerinin azaldığı durumlarda ise kalp atım sayılarının da azaldığı görüldü. Yani NO ile kalp atım sayıları arasında pozitif bir korelasyonun varlığı belirlendi. Bu korelasyonların ölçümün yapıldığı tüm günlerde

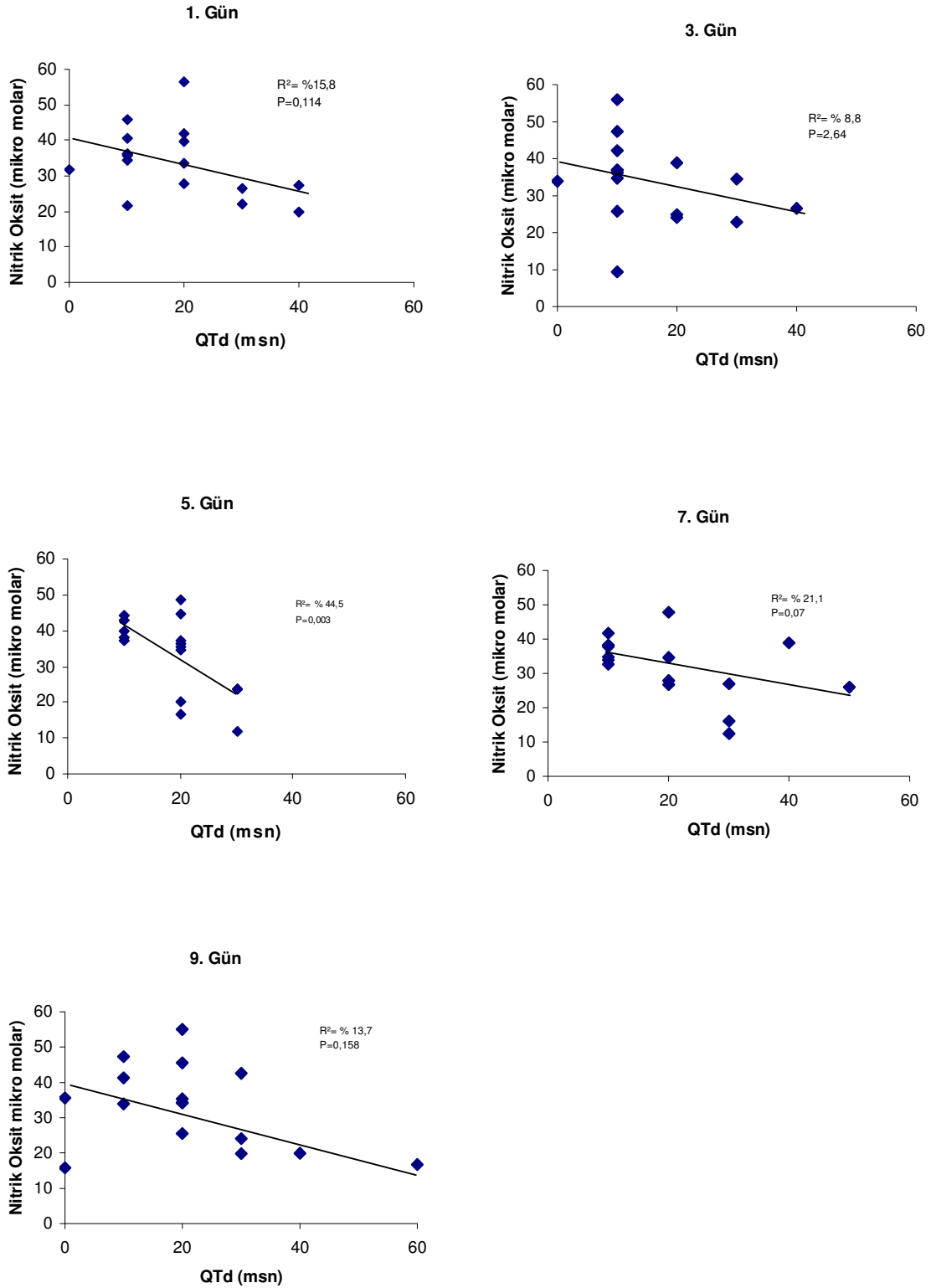
ortaya çıktığı gözlemlendi. Ölçülen korelasyonların p değerleri 0.004-0.000 arasında değiştiği belirlendi. NO ile KA arasında korelasyon analizleri sonucunda 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde elde edilen korelasyonun regresyon grafikleri Şekil 8’te gösterildi.



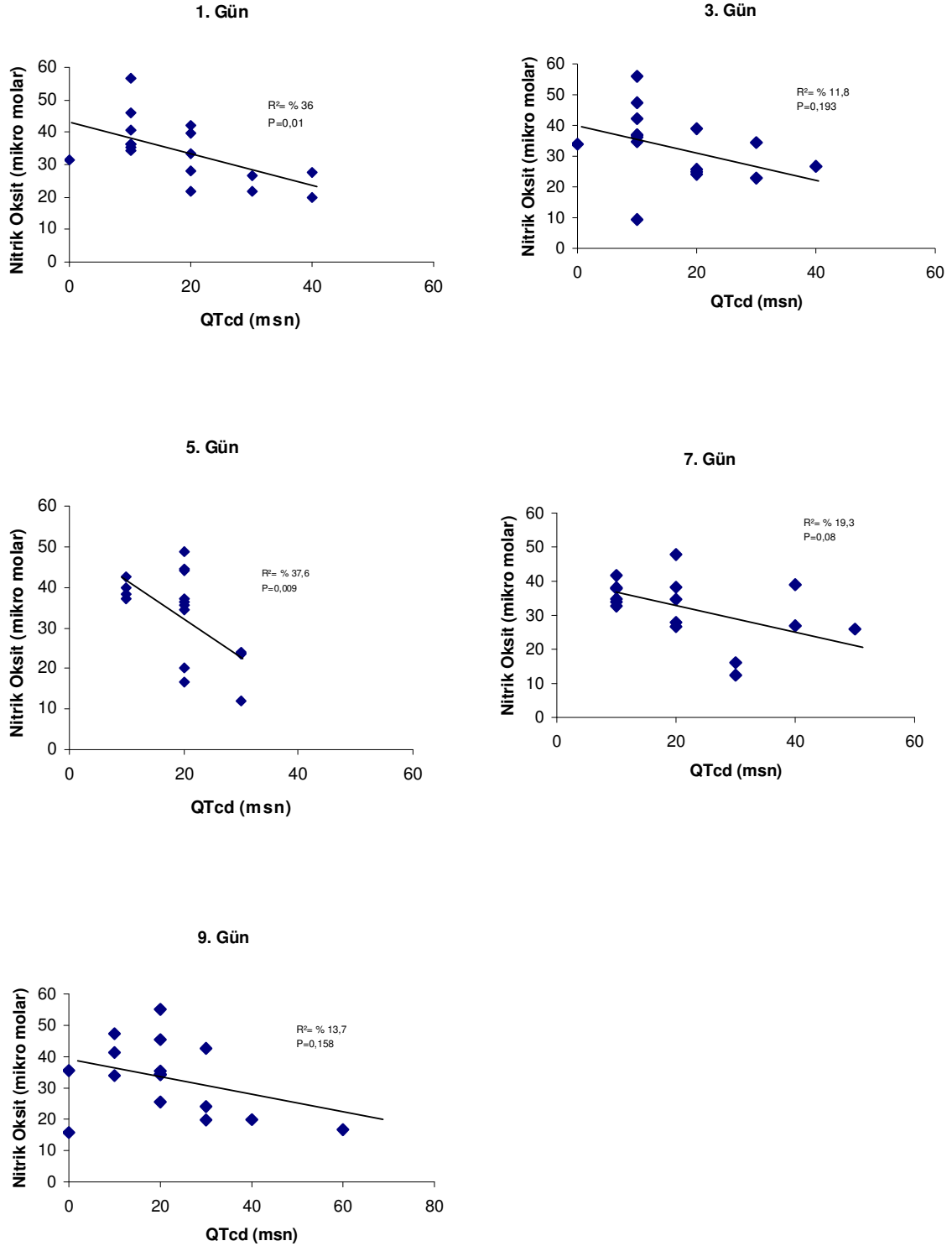
Şekil 4. NO ve QT arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi, (msn): milisaniye



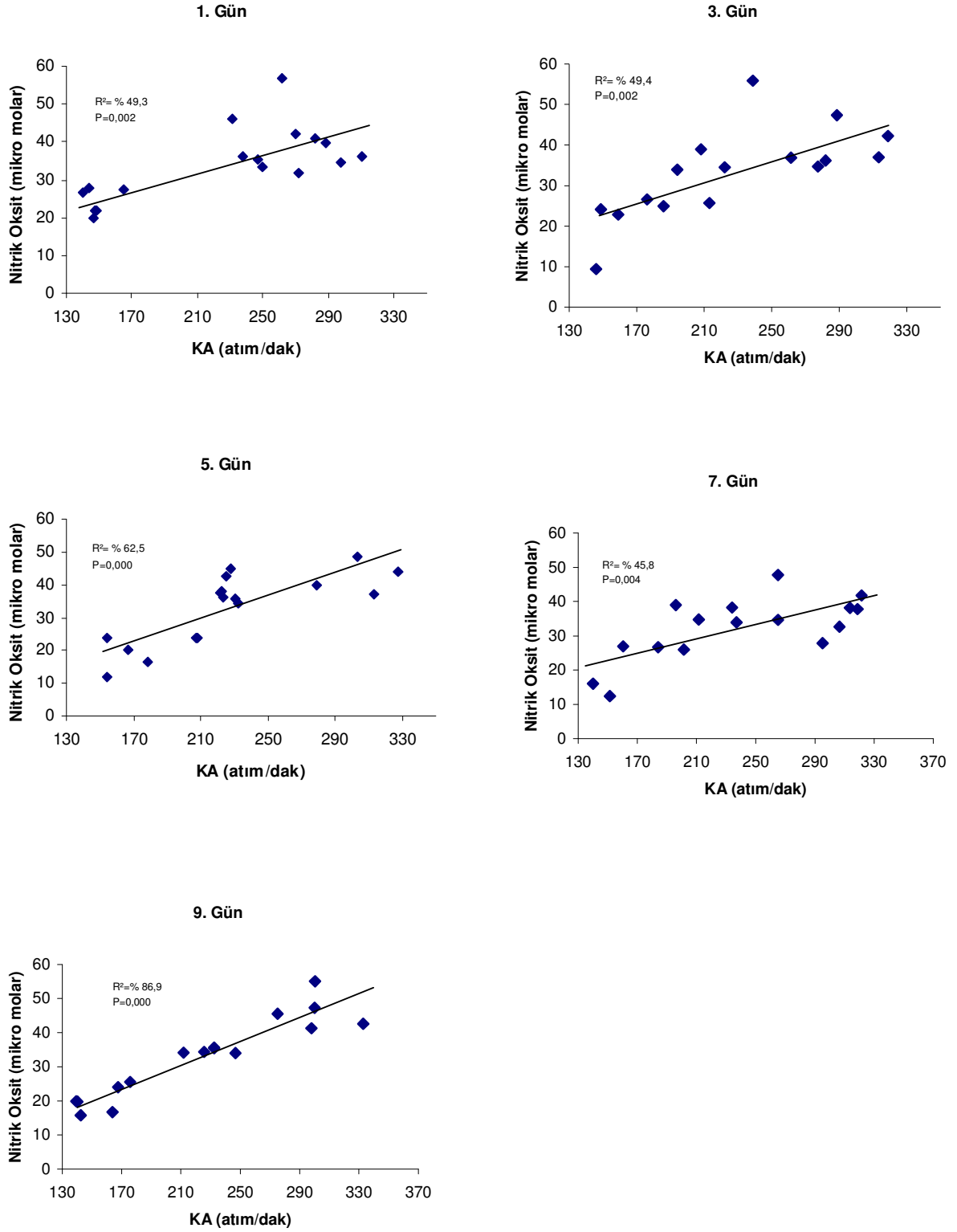
Şekil 5. NO ve QTc arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi, (msn): milisaniye



Şekil 6. NO ve QTd arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi, (msn): milisaniye



Şekil 7. NO ve QTcd arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi, (msn): milisaniye



Şekil 8. NO ve kalp atımı (KA) sayıları arasında 1, 3, 5, 7 ve 9. günlerde belirlenen korelasyonun grafiksel gösterimi, (msn): milisaniye

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

4.1. NO Düzeyleri

Bu araştırmada NO'nun EKG parametreleri üzerine etkilerini belirlemek için kan NO düzeylerinde öncelikle belirgin artışlar ve azalmalar meydana getirmek hedeflendi. Elde edilen sonuçlara bakıldığında L-arjinin uygulanan grupta 7. gün hariç NO değerlerinin 42.71-45.30 $\mu\text{mol/L}$ ile kontrol grubuna göre daha yüksek, L-NAME uygulanan grupta ise 20.30-25.77 $\mu\text{mol/L}$ ile kontrol grubuna göre daha düşük değer gösterdiği belirlendi (Tablo 3). Ancak L-arjinin uygulanan gruptaki artışların istatistikî önemi sadece 9. günde ortaya çıkmışken, L-NAME uygulanan grupta tüm günlerde kontrol grubuna göre istatistiki düzeyde azalmalar gözlemlendi. Öte yandan L-arjinin uygulanan grup ile L-NAME uygulanan grup arasında da tüm günlerde NO değerleri istatistiki olarak önemli derecede olmak üzere birbirinden farklılık gösterdi. Bu verilerden hareketle tavşanlara uygulanmış olan L-arjininin, bir NO donörü olarak çalıştığı ve L-NAME'nin ise NO sentezini inhibe ettiği söylenebilir. Öte yandan L-NAME'nin inhibe edici etkisinin L-arjininin NO sentezini uyarıcı etkisine göre daha güçlü veya hızlı olduğu da gözlemlenmektedir. Her ne kadar L-arjinin uygulanan grupta kontrol grubuna göre NO değerleri açısından istatistiki olarak bariz yükselmeler belirlenemediyse de, bu grup L-NAME grubuna göre tüm günleri ile anlamlı şekilde farklılık gösterdi. Dolayısı ile NO'nun EKG üzerine olan etkilerini yorumlayabilecek düzeyde NOS aktivitesinin ve NO sentezinin bir göstergesi olan kan NO seviyelerinde anlamlı değişikliklerin olduğu görüldü.

Nitrik oksit renksiz, küçük moleküllü, yağda çözünen, yarı ömrü oldukça kısa olan ve hücre zarlarından kolaylıkla geçebilen reaksiyon yeteneği oldukça yüksek ve serbest radikal özelliği olan toksik etkili nörotransmitter bir maddedir (Garthwaite, 1991). Nitrik oksit, L-arjininden sitrulin oluşumu sırasında, L-arjinin guanidin nitrojen gurubunun hidroksilasyonu ile oluşan bir ara üründür. Bu reaksiyon bir dizi NO sentetaz (NOS) enzimi tarafından katalize edilir (Akyol ve ark., 2004). Endotel hücrelerinde (eNOS), nöronal hücrelerde (nNOS) ve yangısal hücrelerde (iNOS) olmak üzere üç ayrı NOS izozimi belirlenmiştir (Sessa, 1994). Bu enzimlerin aktiviteleri, L-arjinin tarafından artırılarak NO sentezi uyarılır (Huynh and Chindusting, 2006). NO sentezini inhibe etmek amacı ile araştırmacılar yaygın olarak L-NAME kullanmışlardır (Chowdhary ve ark., 2004; Scrogin ve ark., 1998).

NO birkaç dakikalık yarı ömre sahiptir ve kandan çok kolay kaybolur. Aslında plazmada ölçülen NO'in kendisi değil de metabolitleri olan nitrat ve nitritlerdir.

4.2. Elektrokardiyografik Verilerin Değerlendirilmesi

Bu araştırmada L-arjinin uygulanan grupta kalp atım sayılarının kontrol grubuna göre arttığı, RR aralıklarının kısaldığı, bunun tam tersine L-NAME uygulanan grupta ise kalp atım sayılarının azaldığı ve RR aralıklarının uzadığı belirlendi. Diğer taraftan L-NAME uygulanan grupta QT ve QTc aralığı, kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde uzamışken, L-arjinin uygulanan grupta bariz kısalmaların meydana geldiği gözlemlendi.

Endotel kaynaklı NO'in damarlarda meydana getirmiş olduğu etkiler çok iyi bilinmesine rağmen, kalp endotel hücrelerinden ya da kalp miyositlerinden salgılanan NO'in kalp kası üzerine otokrin/parakrin etkilere sahip olduğu henüz yeni ortaya konulmuştur (Cotton ve ark., 2002). Her üç NOS izoformunun da kalpte varlığı bildirilmiştir. eNOS yapısal olarak hem endotel hem de endokardiyal hücrelerden ve çok daha az miktarlarda da kalp miyositlerinden salınırlar. nNOS ise sinir liflerinde ve kalp miyositlerinde bulunmaktadır. Uygun uyarımlar oluşturulduğunda ise, özellikle sitokinler tarafından, endotelyal hücreler ve kalp miyositleri gibi çeşitli hücelerden yüksek miktarlarda indüklenebilir NOS (iNOS) salgılanabilir (Shah ve MacCharthy, 2000; Cotton ve ark., 2002).

NO veya NO vericilerinin kalp üzerine olan etkileri konusunda farklı bildirimler bulunmaktadır. Düşük dozlarda verilen NO'in, kalp kası üzerinde düşük düzeyde bir pozitif inotropik etki oluşturduğu ve bunun da bazal kardiyak fonksiyonu arttırdığı kabul edilmektedir. NO, fizyolojik doz sınırlarında olmak üzere biraz daha yüksek dozlarda verildiğinde ise miyosit gevşemesini ya da diastolik fonksiyonu arttırmaktadır. Miyokardiyumlarda lokal olarak üretilen NO'in bazal kalp atımını da düzenlediği bildirilmektedir. Düşük dozlardaki NO vericileri, kalp atımını arttırırken daha yüksek dozlarda negatif kronotropik bir etki göstermektedir (Cotton ve ark., 2002). Ayrıca, NO'in β adrenoseptör uyarımına karşı inotropik, kronotropik ve dromotropik cevapları düzenlediği bildirilmektedir. Düşük dozlar β adrenerjik cevabı arttırmakta, yüksek dozlar ise azaltmaktadır (Shah ve MacCharty, 2000). Suto ve ark. (1998) köpekler üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, bir NO inhibitörü olan L-NMMA'nın kalbin kontraktilesini ve kalp kasının oksijen tüketimini (MVO_2) arttırdığını, L-arjininin ise L-NMMA'nın tam tersi bir etki oluşturduğunu

saptamışlardır. Bu değişikliklerin de endojen NO'in baskılanması ya da arttırılması neticesinde ortaya çıkmış olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Myosit sarkoplazmik retikulum içerisinde NOS1 riyanoit reseptör (RZR) aynı anda lokalize olur ve NOS1 aktivasyonu kardiyak kontraktiletiyi pozitif olarak düzenler. Ayrıca, NO yetersizliği, kalpte ksantin oksidaz bağımlı reaktif oksijen aktivitesinde bir artışa neden olarak miyokardiyal kontraktilitenin azalmasına yol açmaktadır (Khan ve ark., 2004). Buna karşın, β adrenerjik reseptöre (AR) bağlanmış NOSIII, L-tip Ca^{2+} kanallarını inhibe ederek miyokardiyal kontraktiledaki β -AR-aracılığı ile gerçekleştirilen artışları engellemektedir (Steppan ve ark., 2005).

Kontrol grubunda 229-260 atım/dakika aralığında belirlenen kalp atım sayılarının, L-NAME uygulanan grupta 149-179 atım/dakika değerine kadar düştüğü, L-arjinin uygulanan grupta ise 278-311 atım/dakika değerine kadar çıktığı görüldü. Bu bulgular daha önceki literatür verilerine göre beklenen verilerdi. Arjinin NO sentezini uyaran bir donör olarak kabul edilir ve NO donörleri önder odak hücrelerindeki aksiyon potansiyelini cGMP üzerinden aktive ederek bu işlevi yerine getirirler (Musialek ve ark., 1997). Yine kronik L-NAME uygulanmış ratlarda kalp atım oranının önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Scrogin ve ark., 1998). Bunun nedeni olarak NO'in kalpte parasempatik tonusun düzenlenmesi üzerine olan etkisi gösterilmektedir. Öte yandan NO düzeylerinin azaldığı bu grupta kan basıncı değerlerinin artacağı beklenen bir sonuçtur. NO sentezinin akut inhibisyonun kan basıncında artış ve bradikardi oluşturduğuna dair literatür verileri mevcuttur (Okuyama ve ark., 2007). Yine Hogan ve ark. (1999) kan basıncında azalmalar belirledikleri tavşanlarda kalp atımlarının hızlandığını ortaya koymuşlardır. Bu

bulgular ışığında çalışmamızda L-NAME grubunda ortaya çıkan bradikardinin, kan basıncındaki azalmaların sonucu ortaya çıkabileceği de söylenebilir.

QT aralığı ventrikül kas hücrelerindeki depolarizasyon ve repolarizasyonların elektrokardiyografik göstergesidir. QT aralığındaki uzamalar ‘torsades de pointes’ (TDP) olarak isimlendirilen ventriküler taşiaritmilerin oluşmasına neden olabildiği için tehlikeli olarak kabul edilmektedir (Piotrovsky, 2005). QT aralığındaki uzamaların EKG ile kolaylıkla belirlenebilmesi birçok hastalık ve ilacın kalp üzerine olan proaritmik risk etkilerinin belirlenmesinde kullanılmasını sağlamıştır. QT aralığı süresi kalp atımlarına bağlı olduğu için, kalp atım sayısı arttığında bu aralıkta kısaltmalar, kalp atım sayıları azaldığında ise bu aralıkta uzamalar ortaya çıkar. Bu nedenle araştırmacılar daha sağlıklı ölçümler ve değerlendirmeler yapabilmek için düzeltilmiş QT (QTc) değerlerini kullanmaktadırlar (Viskin ve ark., 2003). Araştırmamızda, bu nedenle hem QT hem de QTc değerleri hesaplanarak NO’in proaritmik etkileri belirlenmeye çalışıldı. Elde edilen bulgulara bakıldığında L-NAME uygulanan grupta QT ve QTc aralığı değerlerinin anlamlı şekilde uzadığı ve L-arjinin uygulanan grupta ise bu gruba göre anlamlı şekilde kısaltıldığı görüldü. Birçok hastalık durumları ve ilaç uygulamalarında QT ve QTc aralığında uzamalar belirlenmiştir ve araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Bu faktörlerin dışında QT/QTc Piotrovsky aralığını etkileyen 12 faktör daha tanımlamıştır (Piotrovsky, 2005). Bunlar; Long QT hastalığı (genetik kökenlidir), besin alımı, günlük ritim, cinsiyet, obezite, fiziksel aktivite, elektrolit denge bozuklukları, kan glukoz düzeyi, kan basıncı, alkolizm, yaş ve EKG’de U dalgasının bulunmasıdır. Bu faktörler kan NO düzeylerinde azalmaya neden olan hastalıklara göre daha az risk taşımaktadırlar. Çünkü özellikle nöro-psikolojik hastalıklar olmak üzere bazı hastalıklarda NO

sentezi bariz şekilde azalmaktadır (Mussleman ve ark, 2000; Chrapko ve ark., 2004). NO sentezini L-NAME uygulayarak azalttığımız sağlıklı tavşanlarda QT ve QTc sürelerinde belirlenen anlamlı uzamaların, kan NO düzeyini azaltan hastalık veya çeşitli faktörlerin kalpte oluşabilecek muhtemel aritmiler açısından bir potansiyel taşımalarını sağlayan molekülün NO olduğu düşünülebilir.

Ayrıca bu sonuçlara göre, NO inhibitörü olan L-NAME'nin QT ve QTc sürelerini uzatarak ventriküler aritmilere bağlı kalp krizleri riskini arttırdığı söylenebilir. NO bu etkiyi farklı yollarla meydana getirebilir. Bunlardan bir tanesinin kalpteki Ca^{2+} kanalları üzerine olan etkisi olabileceği söylenebilir. Kalpteki aksiyon potansiyeli süresinin uzaması, EKG'de QT aralığındaki uzama olarak kendini gösterir. Kalp hücrelerindeki Ca^{2+} konsantrasyonunun artması bu süreyi uzatan etmenlerden bir tanesidir ve ventriküler aritmileri tetikleyebilir (Roden ve ark., 1996). Erken after depolarizasyon (EAD) aksiyon potansiyeli repolarizasyonu sırasında hücre membranındaki voltaj dalgalanmaları olarak bilinir ve bu dalgalanmaların 'torsade de pointes'e neden olabilen QT intervalindeki uzamalara yol açtığı söylenmektedir (Roden ve ark., 1996). Yavaş inaktive olan Ca kanalları ($I_{Ca,L}$) EAD oluşmasında rol oynarlar (January ve ark., 1989). NO'nun kardiyak myosit hücrelerinde kalsiyum döngüsünün fizyolojik düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (Khan ve Hare, 2003; Khan ve ark., 2003). Ayrıca, Bai ve ark. (2004) I_{Ks} kanallarının Ca^{2+} tarafından etkilendiğini gösteren aşağıdaki bulgulara ulaşmışlardır: (1) NO vericisi kalsiyumun I_{Ks} üzerine olan uyarıcı etkisini aynen gösterir, (2) NOS inhibitörleri bu etkiyi ortadan kaldırır. Bai ve ark. (2003) yaptıkları bir diğer çalışmada ise $I_{Ca,L}$ kanallarının NO tarafından cGMP aracılığı ile baskılandığını göstermişlerdir. Endothelin-1 in QT ve QTc süresini uzatarak

ventriküler taşikardilere neden olduğu ve bu etkisini myokardial Ca^{2+} kanalları üzerinden gerçekleştirdiği belirtilmektedir (Bai ve ark., 2004). Dolayısı ile L-NAME uygulanan grupta gözlemlenen QT ve QTc aralığındaki uzamanın nedeni olarak kalpte NO sentezinin azalması ve $I_{Ca,L}$ kanalları üzerine NO'nin gösterdiği baskılayıcı etkinin ortadan kalkmasına bağlı olduğu söylenebilir. Tam aksine L-arjinin uygulanan grupta QT ve QTc sürelerinin kısalmasının nedeni olarak, NO sentezinin artması ve buna bağlı olarak $I_{Ca,L}$ kanallarının etkisinin azalmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

NO'nin, QT ve QTc süresi üzerine etkilerinin ortaya çıkmasında K^+ kanalları da rol oynamış olabilir. Kalpteki K^+ kanalları; dinlenim membran potansiyelini, kalp atım oranını, aksiyon potansiyelinin şekil ve süresini kontrol eden kanallardandır ve kalp aktivitelerini etkileyen nörotransmitterler, ilaçlar ve toksinler bu kanalları hedef seçerler. Bu kanalları bloke eden maddeler, kardiyak aksiyon potansiyel süresini uzatarak EKG'de QT ve QTc aralığının uzamasına neden olurlar. Memeli kalp hücrelerinde bulunan K^+ kanalları, voltaj kapılı ve iyon kapılılar olmak üzere iki kategoride incelenir. Voltaj kapılı olanlar (I_{tol}), çok hızlı (I_{Kur}), hızlı (I_{Kr}) ve yavaş (I_{Ks}) olanlardır. İyon kapılı olanlar ise adenosin trifosfat (ATP) tarafından aktive edilenler (K_{ATP}) ve asetilkolin tarafından (K_{Ach}) aktive edilenlerdir (Tamargo ve ark., 2004). Bai ve ark. (2004), NO'nin I_{Ks} üzerine kanal proteinlerinin S-nitrolizasyonu üzerinden etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Nitekim ginsenoside Re uyguladıkları kobay kardiyomyosit hücrelerinde artırılmış I_{Ks} etkinliği bir NOS inhibitörü olan S-Metilizotyürea (SMT) tarafından neredeyse tamamen ortadan kaldırılmıştır. Öte yandan NO vericileri olan sodyum nitropurusit (SNP) verilmesinde ise, I_{Ks} etkinliğinde bariz artışlar gözlemlenmiştir. Yine NOS

inhibitörlerinin, Ca^{2+} tarafından aktive edilmiş I_{Ks} etkinliğini ortadan kaldırdığı ve Ca^{2+} 'un oluşturduğu I_{Ks} kinetiğindeki artışın NO vericileri tarafından benzer şekilde meydana getirildiği söylenmektedir (Bai ve ark., 2005). Kalp kası hücrelerinde NOS1 ve NOS3'ün varlığı bilinmektedir (Barouch ve ark., 2002; Khan ve Hare, 2003; Khan ve ark., 2003). Dolayısı ile bu araştırmada tavşanlara uygulanan L-NAME bu enzimlerin aktivitesini azaltarak, NO sentezini inhibe etmiş ve bunun üzerinden I_{Ks} etkinliğini azaltarak QT ve QTc süresinin uzamasına yol açmış olabilir. Diğer taraftan L-arjinin verilerek NO sentezini uyardığımız grupta ise tam tersi olarak kısalmış aksiyon potansiyeli süresinin nedeni olarak, yine NO'nin I_{Ks} etkinliği üzerindeki pozitif etkisi gösterilebilir.

Bu araştırmada aynı zamanda L-NAME uygulanan grupta QTd ve QTcd değerlerinin tüm günlerde, kontrol ve L-arjinin grubuna göre daha uzun olduğu ve tüm günler için L-arjinin grubu ile arasında anlamlı farklılıklar olduğu gözlemlendi. QT dispersiyonu ventriküllerin geri kazanım zamanını gösterir ve bu sürenin uzaması kalpteki dengesizliğin bir göstergesidir ve aritmilerle çok güçlü bağlantısı vardır (Malik ve Batchvarov, 2000). QTd-QTcd süresindeki uzamanın nedenlerinden bir tanesi kan basıncındaki artışlar olabilir. Bu araştırmada kan basıncı ölçümü yapılmadığı halde mevcut literatür bilgilerine bakıldığında, L-NAME uygulamalarından sonra kan basıncının artmış olduğu rahatlıkla söylenebilir (Scrogin ve ark., 1998; Hogan ve ark., 1999; Leclercq ve ark., 2002). Çünkü L-NAME aynı zamanda damar endotel hücrelerindeki eNOS aktivitesini azaltarak, periferik kan basıncını arttırmış olabilir. Periferik kan basıncı artışları 'afterload'ın artmasına neden olan etmenlerden bir tanesi olarak kabul edilir. Yee ve ark. (2000) fenilefrin uyguladıkları normal insanlarda kan basıncındaki akut değişiklikler ile tüm QTd

değerleri arasında anlamlı korelasyonlar belirlemişlerdir. Ayrıca bu korelasyonun kalp atım oranı ve refleks vagal aktiviteden bağımsız olduğunu bildirmektedirler. Öte yandan 'afterload' artışının aksiyon potansiyeli süresini mekanoelektriksel geri bildirim mekanizmaları üzerinden değiştirdiği deneysel olarak gösterilmiştir (Hansen, 1993). Diğer taraftan artan kan basıncı kalpte lokal myokardial işemilerin oluşmasına neden olarak da elektrofizyolojik heterojinete neden olabilir (Horvath ve ark., 2000).

Sonuç olarak;

- L-arjinin uygulamasının kalp atım sayılarını arttırdığı, L-NAME uygulamasının ise kalpte bradikardi oluşturmasının yanında QTc ve QTd değerlerinde ise uzamalara neden olduğu belirlenmiştir.
- Değişen NO düzeyleri ile kalp atım sayıları, QT, QTc, QTd ve QTcd değerleri arasında anlamlı korelasyonların bulunduğu belirlenmiştir.
- Özellikle nöropsikolojik hastalıklar olmak üzere NO sentezinin azaldığı hastalıklarda kardiyak aritmilere yatkınlığı sağlayan etmenlerden bir tanesinin de NO olduğu söylenebilir.
- Herhangi bir hastalık durumunda NO düzeyleri de azalıyorsa kalp hastalıkları yönünden hastanın daha bir dikkatli incelenmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

5. ÖZET

Tavşanlarda nitrik oksidin kalp üzerine olan etkilerinin elektrokardiyografik ölçümler ile araştırılması

Bu araştıma ile NO'in kalp üzerine olan etkilerinin Elektrokardiyografik (EKG) verilerle belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla NO sentezini artırmak için L-arjinin ve azaltmak için ise L-NAME uygulanmıştır. Araştırma için 4-7 aylık Yeni Zelanda ırkı tavşanlar kullanılmış, kontrol (n=7), Arjinin ve L-NAME grupları oluşturulmuştur. Kontrol grubuna 1 ml izotonik NaCl çözeltisi, L-arjinin grubuna 200 mg/kg dozda L-arjinin çözeltisi, L-NAME grubuna 100 mg/kg dozda L-NAME çözeltisi intraperitoneal olarak 11 gün boyunca enjekte edildi. Enjeksiyon sürecinde 1, 3, 5, 7, 9 ve 11. günlerde kan örnekleri ve EKG kayıtları alındı. EKG örneklerinden P, T ve QRS dalgalarının süresi ve yüksekliği, P-Q, R-R ve S-T aralıklarının süresi, QT, QTc, QTd, QTcd, en düşük QTd ve QTcd, en yüksek QTd ve QTcd değerleri ile kalp atım sayıları (KA) hesaplandı. Ölçümlerin yapıldığı tüm günlerde L-arjinin grubunda NO değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek, L-NAME grubunda ise düşük olduğu gözlemlendi. Ayrıca tüm günlerde farklı istatistikî önemlerde olmak üzere L-arjinin ile L-NAME ve L-NAME ve kontrol grubu NO değerleri arasında anlamlı farklılıklar belirlendi ($p < 0.001$). QT, QTc, RR ve KA değerlerinin tüm gruplarda birbirlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu görüldü ($p < 0.001$). QT ve QTc değerlerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında L-arjinin uygulanan grupta kısaldığı, L-NAME uygulanan grupta ise uzadığı belirlendi. Kalp atım sayılarının ise arjinin uygulanan grupta yükseldiği, L-NAME uygulanan grupta ciddi bir bradikardi tablosu olduğu göze çarptı. Nitrik oksit ile QT ve KA değerleri

arasında tüm günler için istatistikî olarak anlamlı bir korelasyonun olduğu belirlendi ($p < 0.05$ veya $p < 0.001$).

Sonuç olarak, nitrik oksidin kalbin elektriksel aktivasyonunu üzerine etkili olan bir molekül olduğu, ventriküler aritmilerin bir göstergesi olarak kabul edilen QT/QTc aralığının uzamasına neden olması sebebiyle, NO düzeylerini azaltan hastalıklarda kardiyak aritmilerin daha fazla dikkate alınması gerektiği ve NO'in kardiyak etkilerinin moleküler mekanizmalarını araştırarak yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Nitrik oksit, QT, QTc, QTd, kalp, EKG, tavşan

6. SUMMARY

Effects of nitric oxide on heart investigated by ECG in rabbits

The aim of this study was to determine the effect(s) of nitric oxide (NO) on heart using Electrocardiographic Records (ECG). In order to achieve this, L-arginine was used to increase NO synthesis and L-NAME was used to inhibit NO synthesis. In this study, twenty-one New Zealand rabbits aged between 4-7 months were used and randomly assigned into the following three groups: (1) control (n=7; 1ml isotonic NaCl solution per animal), (2) Arginine (n=7; L-arginine solution 200 mg/kg) and (3) L-NAME (n=7; L-NAME solution 100 mg/kg)). Injections were performed intraperitoneally for 11 days. During the study, blood samples were taken and ECG was recorded after two hours of the injections on 1, 3, 5, 7, 9 and 11th days. ECG recordings was also taken at 11th day of the injections. Duration and amplitude of P-, T- and QRS waves, duration of P-Q, R-R and S-T, QT, QTc intervals and QTd, QTcd, the lowest QTd and QTcd, the highest QTd and QTcd values and Heart Rate (HR) were calculated from ECG recordings. NO values were found higher in L-arginine group and lower in L-NAME group than in those of control group throughout all days on which records were taken. In addition, it was observed that there were statistically significant differences between L-arginine and L-NAME groups and L-NAME and control groups on all days ($p < 0.001$). Statistically significant differences were seen amongst QT, QTc, RR and HR values in all groups ($p < 0.001$). QT and QTc values were shortened in arginine-injected group and prolonged in L-NAME-injected group in comparison with control group. Heart Rates were increased in arginine-injected group and a serious bradycardia was

observed in L-NAME-injected group. It was also determined that there was a statistically significant correlation amongst the nitric oxide and QT and HR values for all days ($p < 0.05$ or $p < 0.001$).

It is concluded from this study that nitric oxide is an important molecule for the electrical activation of heart. Since NO causes prolongation of QT/QTc interval, which is considered as an indicator of ventricular arrhythmias, it is suggested that cardiac arrhythmia is taken into more consideration in patients with lower level of NO. In addition, it is concluded that further research is required in order to investigate molecular mechanisms of cardiac effects of the NO.

Key words: Nitric oxide, QT, QTc, QTd, heart, ECG, rabbit.

7. KAYNAKLAR

Ahnve, S.: Is QT interval prolongation a strong or weak predictor for cardiac death? *Circulation*, 84: 1862-65, 1991.

Akyol, O., Zoroglu, S.S., Armutçu, F., Şahin, S., Gürel, A.: Nitric oxide as a physiopathological faktör in neuropsychiatric disorders. *In vivo*. 18(3): 377-390, 2004.

Atakişi, O.: Gebelik periyodu boyunca çinko verilen koyunlarda redükte glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeylerinin araştırılması, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü., (Doktora Tezi), (2005).

Aytemir, K, Maarouf, N., Gallagher, M.M., Yap, Y.G., Waktare, J.E.P., Malik, M.: Comparasion of formulae for heart rate correction of QT interval in exercise electcardiograms. *Computer Column. PACE.*, 22: 1397-1401, 1999.

Azad, A., Lall, S.B., Mitra, S.: Effect of N-acetylcysteine and L-NAME on aluminium phosphide induced cardiovascular toxicity in rats. *Acta Pharmacol. Sin.*, 22 (4):, 298-304, 2001.

Bai, C.-X., Sunami, A., Namiki, T., Sawanobori, T., Furukawa, T.: Electrophysiological effects of ginseng and ginsenoside Re in guinea-pig ventricular myocytes. *Eur.J. Pharmacol.*, 476: 35-44, 2003.

Bai, C.-X., Takahashi, K., Masumiya H., Sawanobori, T., Furukawa, T.: Nitric oxide-dependent modulation of the L-type Ca^{2+} current by ginsenoside Re, an

ingredient of Panax ginseng, in guinea-pig cardiomyocytes. *Br. J. Pharmacol.*, 142: 567-575, 2004.

Bai, C-X., Namekata, I., Kurokawa, J., Tanaka, H., Shigenobu, K., Fukawa, T.: Role of nitric oxide in Ca²⁺ sensitivity of the slowly Activating Delayed Rectifier K⁺ current in Cardiac Myocytes. *Circ. Res.*, 96: 64-72, 2005.

Balligand, J.L., Kelly, R.A., Marsden, P.A., Smith, T.W., Michel, T.: Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 90: 347-51, 1993.

Barouch, L.A., Harrison, R.W., Skaf, M.W., Roses, G.O, Cappola, T.P., Kobeissi, Z.A., Hobai, I.A., Lemmon, C.A., Burnett, A.L., O'Rourke, B., Rodriguez, E.R., Huang, P.L., Lima, J.A., Berkowitz, D.E., Hare, J.M.: Nitric oxid regulates the heart by spatial confinement of nitric oxide synthas isoforms. *Nature*, 416: 337-339, 2002.

Başoğlu, A. *Veteriner Kardiyoloji*. 1. Baskı, Çağrı Basın Yayın, Ankara, 39-50, 1992.

Bazett, J.C.: An analysis of time relations of electrocardiograms. *Heart*, 7: 353-367, 1920.

Brady, A.J., Warren, J.B., Poole-Wilson, P.A., Williams, T.J., Harding, S.E.: Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction. *Am. J. Physiol.*, 265: Heart Circ. Physiol., 34: H176-H182, 1993.

Campbell, D.L., Stamler, J.S., Sitrouss, H.C.: Redox modulation of L-type calcium channels in ferret ventricular myocytes. Dual mechanism regulation by nitric oxide and S-nitrosothiols. *J. Gen. Physiol.*, 108: 277-93, 1996.

Carlsson, L., Abrahamsson, C., Andersson, B., Duker, G., Schiller-Linhardt, G.: Proarrhythmic effects of the class III agent almokalant: Importance of infusion rate, QT dispersion, and early afterdepolarisations. *Cardiovasc. Res.*, 27 (12): 2186-93, 1993.

Chowdhary, S., Vaile, J. Fletcher, J. Ross, H.F., Coote, J.H., Townend, J.N.: Nitric oxide and cardiac autonomic control in humans. *Hypertension*, 36: 264-269, 2000.

Chowdhary, S., Nuttal, S.L., Coote, J.H., Townend, J.N.: L-arginine augments cardiac vagal control in healthy human subjects. *Hypertension*, 39: 51-56, 2002a.

Chowdhary, S., Harrington, D., Bonser, R. S., Coote, J. H., Townend, J. N.: Chronotropic effects of nitric oxide in the denervated human heart. *J Physiol.*, 541 (2): 645-651, 2002b.

Chowdhary, S., Marsh, A.M., Coote, J.H., Townend, J.N.: Nitric oxide and cardiac muscarinic control in humans. *Hypertension*, 43: 1023-28, 2004.

Chrapko, W.E., Juracz P, Radomski, M.W., Lara, N., Archer S., Le Melledo, J.M.: Decreased plasma nitric oxide metabolites and platelet nitric oxide synthase activity in patients with major depression. *Biol. Psychiatry*, 56: 129-34, 2004.

Cotton, J.M., Kearney, M.T., Shah, A.M.: Nitric oxide and myocardial function in heart failure.: friend or foe? *Heart*, 88: 564-66, 2002.

Cubeddu, L. X. : QT prolongation and fatal arrhythmias: A review of clinical implications and effects of drugs. *Am. J. Ther.*, 10: 452-457, 2003

Devlin, A.M., Brosnan, M.J., Graham, D., Morton, J.J., McPhaden, A.R., McIntyre, M., Hamilton, C.A., Reid, J.L., Dominiczak, A.F.: Vascular smooth muscle cell polyploidy and cardiomyocyte hypertrophy due to chronic NOS inhibition *in vivo*. *Am. J. Physiol.*, 274: H52-9, 1998.

Dhanakoti, S.N., Brosnan, J.T., Herzberg, G.R., Brosnan, M.E.: Renal arginine synthesis: Studies *in vitro* and *in vivo*. *Am. J. Physiol.*, 259: E437-442, 1990.

Dilaveris, P., Gialafos, E., Polontecki, J., Hnatkova, K., Richter, D., Andrikopoulos, G., Lazaki, E., Gialafos, J., Malik, M.: Changes of the T-Wave amplitude and angle: An early marker of altered ventricular repolarization in hypertension. *Clin. Cardiol.*, 23: 600-606, 2000.

Doğan, A., Tunç, E., Özaydın, M., Öztürk, M., Gedikli, Ö.: Sağlıklı orta yaş Türk erkeklerinde QT aralığını kalp hızına göre düzelten dört yöntemin karşılaştırılması. *MN Kardiyoloji*, 11(3): 198-203, 2004.

Duncan A.C., Petrie J.R., Brosnan M.J., Devlin A.M., Bass R.A., Charnock-Jones D.S., Connel J.M., Dominiczak A.F., Lumsden M.A.: Is estradiol cardioprotection a nitric oxide-mediated effect? *Hum. Reprod.*, 17(7): 1918-24, 2002.

Fridericia L.S.: Die Systolendauer im Elektrokardiogram bei normalen Menschen und bei Herzkranken. *Acta Med. Scand.*, 53: 469-486 1920

Funck-Brentano, C., Jaillon, P.: Rate-corrected QT interval: Techniques and limitations. *Am. J. Cardiol.*, 72: 17B-22B 1993.

Furchgott, R.F., Zawadski, J.V.: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288: 373-376, 1980.

Gardiner, S.M., Compton, A.M., Kemp, P.A., Bennett, T.: Regional and cardiac haemodynamic effects of N-nitro L-arginine methyl ester in conscious Long Evant rats. *Br. J. Pharmacol.*, 101: 625-31, 1990.

Garthwaite, J.: Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci.*, 14 (2): 60-67, 1991.

Hansen, D.E.: Mechanoelectrical feedback effects of altering preload, afterload and ventricular shortening. *Am. J. Physiol.*, 264: H423-H432, 1993.

Hare, J.M., Keaney, J.F., Balligand, J. L., Loscalzo, J., Smith, T.W., Colucci, W.S.: Role of nitric oxide in parasympathetic modulation of β -adrenergic myocardial contractility in normal dogs. *J. Clin. Invest.*, 95: 360-366, 1995a.

Hare, J.M., Loh, E., Creager, M.A., Colucci, W.S.: Nitric oxide inhibits the positive inotropic response to β -adrenergic stimulation in humans with left ventricular dysfunction. *Circulation*, 92: 2198-2203, 1995b.

Herring, N., Edward, J.F., Danson, F., David, J.P.: Cholinergic control of heart rate by nitric oxide is site specific. *News Physiol. Sci.*, 17: 202-6, 2002.

Hodges, M., Salerno, D., Erlie, D.: Bazett's QT correction reviewed. Evidence that a linear QT correction for heart rate is better. (abstract). *Am. Coll. Cardiol.*, 1: 694, 1983.

Hogan, N., Casadei, B., Paterson, D.: Nitric oxide donors can increase heart rate independent of automatic activation. *J. Appl. Physiol.*, 87(1): 97-103, 1999.

Horvath, G., Racker, D.K., Goldberger, J.J., Johnson, B., Jain, S., Kadish, A.H.: Electrophysiological and anatomic heterogeneity in evolving canine myocardial infarction. *Pacing Clin. Electrophysiol.*, 23: 1068-1079, 2000.

Huynh, N., Chin-Dusting, J.: Brief review: amino acids, arginase and nitric oxide in vascular health. *Clin. and Exp. Pharmacol. and Physiol.*, 33: 1-8, 2006.

Ignarro, L.J., Buga, G.M., Wood, K.S., Byrns, R.E., Chaudhuri, G.: Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.* 84: 9265-9269, 1987.

January, C.T., Riddile, J.M.: Early afterdepolarizations : mechanism of induction and block. A role for L-type Ca^{2+} current. *Cir. Res.* 64: 977-990, 1989

Johnson, F.K, Teran, F.J., Prieto-Carrasquero, M., Johnson, R.A.: Vascular effects of a heme oxygenase inhibitor are enhanced in the absence of nitric oxide. *Am. J. Hypertens.*, 15 (12): 1074-1080, 2002.

Kawabata, H., Ishikawa, K.: Cardioprotecion by metformin is abolished by a nitric oxide synthase inhibitor in ischemic rabbit hearts. *Hypertens. Res.*, 26 (1): 107-110, 2003.

Khan, I.A.: Long QT syndrome: Diagnosis and management. *Am. Heart J.*, 143: 7-14, 2002.

Khan, S.A., Hare, J.M.: The role of nitric oxide in the physiological regulation of Ca^{2+} cycling. *Curr. Opin. Drug. Disco.*, 6: 658-666, 2003.

Khan, S.A., Skaf, M.W., Harrison, R.W., Lee, K., Minhas, K.M., Kumar, A., Fradley, M., Shoukas, A.A., Berkowitz, D.E., Hare J.M.: Nitric oxide regulation of myocardial contractility and calcium cycling: independent impact of neuronal and endothelial nitric oxide synthases. *Circ. Res.*, 92: 1322-1329, 2003.

Khan, S.A., Lee, K., Minhas, K.M., Gonzalez, D.R., Raju, S.V., Tejani, A.D., Li, D., Berkowitz, D.E., Hare, J.M.: Neuronal nitric oxide synthase negatively regulates xanthine oxidoreductase inhibition of cardiac excitation-contraction coupling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 15944-15948, 2004.

Khavandgar, S., Homayoun, H., Zarrindast, M.R.: The effect of L-NAME and L-arginine on impairment of memory formation and state-dependent learning induced by morphine in mice. *Psychopharmacology*, 167(3):291-6, 2003.

Kingwell, B.A.: Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: effects of training in health and cardiovascular disease. *FASEB Journal.*, 14: 1685-1696, 2000.

Kobayashi, N., Hara K., Watanabe, S., Higashi, T., Matsuoka, H.: Effect of imidapril on myocardial remodeling in L-NAME-induced hypertensive rats is associated with gene expression of NOS and ACE mRNA. *Am. J. Hypertens.*, 13: 199-207, 2000.

Leclercg, B., Jaimes, E.A., Raij, L.: Nitric oxide synthase and hypertension. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 11(2): 185-9, 2002.

Li, L., Desai, M., Desta, Z., Flockhart, D.: QT analysis: a complex answer to a 'simple' problem. *Stat. Med.*, 23: 2625-2643, 2004.

Lyamina, N.P., Dolotovskaya, P.V., Lyamina, S.V., Malyshev, I.Y., Manukhina, E.B.: Nitric oxide production and intensity of free radical processes in young men with normal and hypertensive blood pressure. *Med. Sci. Monit.*, 9: CR304-310, 2003.

Majmudar, N.G., Robson, S.C., Ford, G.A.: Effects of the menopause, gender, and estrogen replacement therapy on vascular nitric oxide activity. *Clin. Endocrinol. Metab.*, 85(4): 1577-83, 2000.

Malik, M., Batchvarov, V.N.: Measurement, interpretation and clinical potential of QT dispersion. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 36: 1749-1766, 2000.

Malik, M.: Problems of heart rate correction in assessment of drug-induced QT interval prolongation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, 12: 411-420, 2001.

Marfella, R., Galdiero, P., Siniscalchi, M., Carusone, C., Verza, M., Marzano, S., Esposito, K., Giugliano D.: Morning blood pressure peak, QT intervals, and sympathetic activity in hypertensive patients. *Hypertension*, 41:237-243, 2003.

Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A.: A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 5: 67-71, 2001.

Miyamoto, T., Takeishi, Y., Shishido, T., Takahashi, H., Itoh, M., Kubota, I., Tomoike, H.: Role of nitric oxide in the progression of cardiovascular remodeling induced by carotid arterio-venous shunt in rabbits. *Jpn. Heart*, 44: 127-137, 2003.

Moncada S, Palmer R.M, Higgs E.A.: Nitric Oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 43: 109-42, 1991.

Moore, P. K., Handy, R. L. C. : Selective inhibitors of neuronal nitric oxide synthase – is no NOS really good NOS for the nervous system? *Trends Pharmacol. Sci.*, 18(6): 204-211, 1997.

- Morris, Jr. S.M.: Regulation of enzymes of urea and arginine synthesis. *Annu.Rev .Nutr.*, 12: 81-101, 1992.
- Musialek, P., Lei, M., Brown, H. F.: Nitric oxide can increase heart rate by stimulating the hyperpolarization-activating inward current, I(f). *Circ. Res.*, 81: 60-68, 1997.
- Musselman, D.L, Marzec, U.M., Manatunga, A., Pena, S., Reemsnyder, A., Knight, B.T., Baron, A., Hanson, S.R., Nemeroff,, C.B.: Platelet activity in depressed patients treated with paroxetine: preliminary findings. *Arch. Gen. Pstchiatry*, 57 (9): 875-882, 2000.
- Numaguchi, K., Egashira, K., Takemoto, M. Ve ark.: Chronic inhibition of nitric oxide synthesis causes coronary microvascular remodeling in rats. *Hypertension*, 26: 957-62, 1995.
- Okuyama, C.E., Mendes, G.D., Faro, R., Rezende, V.M., Lagos, R.M., Astigarraga, R.E., Antunes, E., De Nucci, G.: Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a nitric oxide-releasing derivative of enalapril in male beagles. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 34(4): 290-5, 2007.
- Pinelli, A., Trivulzio S., Tomassoni, L., Bertolini, B., Brenna, S., Bonacina, E.: Low nitric oxide values associated with low levels of zinc and high levels of cardiac necrosis markers detected in the plasma of rabbits treated with L-NAME. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 37 (3): 310-6, 2001.

Piotrovsky, V.: Pharmacokinetic-Pharmacodynamic modeling in the data analysis and interpretation of drug-induced QT/QTc prolongation. *AAPS Journal*, 7(3): 609-627, 2005.

Quyyumi, A.A., Dakak, N., Andrews, N.P.: Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of the risk factors for coronary atherosclerosis. *J. Clin. Invest.*, 95: 1747-55, 1995.

Ramrakha, P.S., Gibbs, J.S.R.: Nitric oxide in heart failure. *Int. J. Cardiol.*, 73: 131-134, 2000.

Roden, D.M., Lazzara, R., Rosen, M., Schwartz, P.J., Towbin, J., Vincent, G.M.: Multiple mechanisms in the long-QT syndrome current knowledge gaps, and future directions. The SADS. Foundation Task. Force on LQTS. *Circulation*, 94:1996-2012, 1996.

Roden, D.M., Spooner, P.M.: Inherited long QT syndromes: A paradigm for understanding arrhythmogenesis. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, 10: 1664-1683, 1999.

Rosselli, M., Imthurn, B., Keller, P.J., Jackson, E.K., Dubey, R.K.: Circulating Nitric Oxide (Nitrite/Nitrate) levels in postmenopausal women substituted with 17 β -estradiol and norethisterone acetate. *Hypertension*, 25: 848-853, 1995.

Sagie, A., Larson, M.G., Goldberg, R.J., Begston, J.R., Levy, D.: An improved method for adjusting the QT interval for heart rate (the Framingham Heart Study). *Am. J. Cardiol.*, 70: 797-801, 1992.

Santos, R.L., Abreu, G.R., Bissoli, N.S., Moyses, M.R.: Endothelial mediators of 17 β -estradiol-induced coronary vasodilation in the isolated rat heart. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 37: 569-575, 2004.

Scrogin, K.E., Hatton, D.C., Chi, Y., Luft, F.C.: Chronic nitric oxide inhibition with L-NAME: effects on autonomic control of the cardiovascular system. *Am. J. Physiol.*, 274: R367-374, 1998.

Sessa, W.C.: The nitric oxide synthase family of proteins. *J. Vasc. Res.* 31(3): 131-43, 1994

Shah, M., MacCarthy, P.A.: Paracrine and autocrine effects of nitric oxide on myocardial function. *Pharmacol. Ther.*, 86: 49-86, 2000.

Shao J., Miyata T., Yamada K., Hanafusa N., Wada T., Gordon K.L., Inagi R., Kurokawa K., Fujita T., Johnson R. J. ve Nangaku M.: Protective role of nitric oxide in a model of thrombotic microangiopathy in rats. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 12: 2028-97, 2001

Shen, W., Hintze, T.H., Wolin, M.S.: Nitric oxide. An important signaling mechanism between vascular endothelium and parenchymal cell in the regulation of oxygen consumption. *Circulation*, 92: 3505-12, 1995.

Skovgaard N, Gali G, Abe A., Taylor E.W., Wang T.: The role of nitric oxide in regulation of the cardiovascular system in reptiles. *Comp. Biochem. Physiol.*, 142 (2): 205-14, 2005.

Steppan, J., Ryoo, S., Schuleri, K.H., Gregg, C., Hasa, R.K., White, A.R., Bugaj, L.J., Khan, M., Santhanam, L., Nyhan, D., Shoukas, A.A., Hare, J.M.,

Berkowitz, D.E.: Arginase modulates myocardial contractility by a nitric oxide synthase 1-dependent mechanism. *Physiol.*, 103 (2): 4759-4764, 2005.

Suto, N., Mikuniya, A., Okubo, T., Hanada, H., Shinozaki, N., Okumara, K.: Nitric oxide modulates cardiac contractility and oxygen consumption without changing contractile efficiency. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 275: H41-H49, 1998.

Tamargo, J., Caballero, R., Gomez, R., Valenzuela, C., Delpon, E.: Pharmacology of cardiac potassium channels. *Cardiovasc. Res.*, 62 (1): 9-33, 2004.

Tran, H.T., Chow, M.S., Kluger, J.: Amiodarone induced torsades de pointes with excessive QT dispersion following guanidine induced polymorphic ventricular tachycardia. *Pace Pacing Clin. Electrophysiol.*, 9: 2275-2278, 1997.

Tunçok, Y., Kalkan, S., Nergis, M., Arkan, F., Guven, H., Aygoren, O., Kurt, S.: The Effect of the Nitric Oxide Synthesis Inhibitor L-NAME on Amitriptyline-Induced Hypotension in Rats. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 40 (2): 121-127, 2002.

Van de Loo, A., Klingenheben, T., Hohnloser, S.H.: Amiodarone therapy after previous sotalol-induced torsade de pointes: analysis of QT dispersion to predict Proarrhythmia. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.*, 1: 75-78, 1996.

Viskin, S., Justo, D., Halkin, A., Zeltster, D.: Long QT syndrome caused by noncardiac drugs. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, 45 (5): 415-27, 2003

Watford, M.: The urea cycle: A two-compartment system. *Essays Biochem.*, 26: 49-58, 1991

Wattanapitayakul, S.K., Bauer J.A.: Oxidative pathways in cardiovascular disease: Roles, mechanisms, and therapeutic implications. *Pharmacol. Ther.*, 89: 187-206, 2001.

Weidong, S., Xiaolong, W., Jinyong, W., Ruiping, X.: Pulmonary arterial pressure and electrocardiograms in broiler chickens infused intravenously with L-NAME, an inhibitor of nitric oxide synthase, or sodium nitroprusside (SNP), a nitric oxide donor. *Br. Poult. Sci.*, 43 (2): 306-12, 2002.

Wu, Y., MacMillan, L.B., McNeill, R.B., Colbran, R.J., Anderson, M.E.: CaM kinase augments cardiac L-type Ca^{2+} current: a cellular mechanism for long Q-T arrhythmias. *Am. J. Physiol.*, 276: H2168-H2178, 1999.

Xu, L., Eu, J.P., Messner, G., et al.: Activation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) by poly-S-nitrosylation. *Science*, 279: 234-7, 1998.

Yang, T., Roden, D.M.: Extracellular potassium modulation of drug blockade of IKr: Implications for torsades de pointes and reverse use dependence. *Circulation*, 93: 407-411, 1996.

Yee, K.M., Lim, P.O., Ogston, S.A., Struthers, A.D.: Effect of phenylephrine with and without atropine on QT dispersion in healthy normotensive men. *Am. J. Cardiol.*, 85(1): 69-74, 2000.

8. ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında İzmir'in Torbalı İlçesinin Yazıbaşı Kasabasında doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Yazıbaşı İlköğretim Okulunda tamamladım. Lise öğrenimini TÜBİTAK bursiyeri olarak İzmir Özel Türk Kolejinde bitirdim. 1989 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesine girip 1994 yılında mezun oldum. 1999 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalında Doktora öğrenimine başladım. Temmuz 2004 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. Şubat 2007 tarihinde Tarım Bakanlığına Veteriner Hekim olarak naklen atandım. Şu anda Kars İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde çalışmaktayım. Evli ve iki çocuk annesiyim.