



**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**İSOPROTERENOL İLE MİYOKART
İNFARKTÜSÜ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
VİNPOCETİNİN KORUYUCU VE TEDAVİ
EDİCİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**Uzmanlık Tezi
Dr. Taner GÜVEN**

**Tez Danışmanı:
Yrd. Doç. Dr. M.Ediz SARIHAN**

Malatya-2016

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**İSOPROTERENOL İLE MİYOKART
İNFAKTÜSÜ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
VİNPOCETİNİN KORUYUCU VE TEDAVİ
EDİCİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**Uzmanlık Tezi
Dr. Taner GÜVEN**

**Tez Danışmanı:
Yrd. Doç. Dr. M.Ediz SARIHAN**

Bu tez, T.C. İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından
2015/42 proje numarası ile desteklenmiştir.

Malatya-2016

TEŐEKKÖRLER

Uzmanlık eğitimim boyunca tez danıŐmanım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. M.Ediz SARIHAN'a, acil kliniğinde uzun süre birlikte çalışma Őansı bulduğum asistanlık eğitimimde yardım ve desteklerini üzerimde eksik etmeyen değerli hocalarıma ve tez çalıŐmam boyunca emeği ve katkısı bulunan Prof.Dr. Hakan PARLAKPINAR ve Prof.Dr.Nigar VARDI hocalarıma, deney aŐamasında ve sonrasında yardımlarından ve katkılarından dolayı AraŐ. Gör. Dr. Onural ÖZHAN, Ahmet Kadir ASLAN ve Kevser TANBEK' e çok teŐekkür ederim.

Bana her konuda destek olan sevgisi ve desteği ile bana her zaman güç veren sevgili eŐim Arzu'ya ve biricik oğlum Tuna'ma.

ÖZET

Kalp, iskemi reperfüzyon (İ/R) hasarından en fazla etkilenen organlardandır. İskemi bir dokuya gelen kan akımının azalması veya kesilmesi olarak tanımlanır. Reperfüzyon ise kan akımının yeniden başlamasıdır. Deneysel İ/R modeli üzerinde antioksidanların, antienflamatuarların etkileri ile ilgili çalışmalar son yıllarda artmıştır.

Çalışmamızda; ratlara isoproterenol (İSO) verilmesiyle oluşan kalp iskemi hasarı sonrası vinpocetine (vinpo)'in kalp üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Vinpo ile ilgili çalışmalar tüm dünyada yakından takip edilmekte olup, konu oldukça günceldir. Kalpte miyokard infarktüsü(MI) hasarında sorumlu tutulan mekanizmalardan biri olan oksidatif hasar ve enflamasyona karşı güçlü bir antioksidan ve antienflamatuar olan vinpocetin'nin etkilerinin biyokimyasal, elektrofizyolojik ve histopatolojik parametreler yönünden ortaya konulması amaçlandı. Bu çalışmada tahmini ağırlıkları 250-400 g olan 32 adet Wistar-Albino erkek rat kullanılmıştır. Her biri 8 adet olan 4 gruba ayrılmıştır. Grup 1 (SHAM grubu) 'de herhangi bir ilaç uygulanmadı. Grup 2 (İSO grubu) 'de; 1. ve 2. Gün İSO 120mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla verildi 3.-4. Gün herhangi bir ilaç verilmedi 5. gün deney sonlandırıldı. Grup 3 (VİPO+İSO grubu)'de; 1. ve 2. Gün vinpo 20mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla verildi, 30 dakika sonra İSO 120mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla verildi, 3.-4. Gün herhangi bir ilaç verilmedi, 5. gün deney sonlandırıldı. Grup 4 (İSO+VİPO grubu)'de; 1. ve 2. Gün İSO 120mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla verildi, 3.-4. Gün 20mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla vinpocetine verildi 5. gün deney sonlandırıldı. Deney sonlandırılmadan önce karotid artere takılan kanülle ortalama kan basıncı ölçüldü, nabız sayısı, EKG değişiklikleri kaydedildi. Deney protokolünün tamamlanmasından sonra, kan örnekleri ve kalp dokusu alındı. Ratlarda deneysel miyokard iskemi hasarı oluşturularak vinpocetin'in etkisinin incelenmesi amacı ile serumda myoglobulin, total Kreatin Kinaz (CK), laktat Dehidrogenaz (LDH), Aspartat Aminotransferaz (AST) ve Alanin Aminotransferaz (ALT) tayini yapıldı. Kalp dokusunda antioksidan sistem ve oksidatif stres markırları olarak; Malonildialdehit (MDA), Superoksitdismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx) , GSH, Total oksidan status (TOS), Total antioksidan status (TAS) , Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), tayini çalışıldı. Ayrıca histolojik değerlendirmeler için hematoksilen-

eozin (H-E), bağ doku gözlemlemek için Gomori' nin üçlü boyama metodu uygulandı. H-E boyama metodu uygulanan kesitlerde kardiomyositlerde; organizasyon bozukluğu, myofibril kaybı, eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nukleuslu kardiomyositler; Gomori'nin üçlü boyama metodu uygulanan kesitlerde ise bağ doku yoğunluğu değerlendirildi. Sonuçta vinpocetininkalp fonksiyonları üzerinde olumlu etki göstermiştir. Tüm bunlarla birlikte daha net sonuçlara varmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: İsoproterenol, Vinpocetin, Rat, kalp.



SUMMARY

The heart, is the one of the most affected organ by ischemia/reperfusion injury process. Ischemia was defined as decreased or absent blood flow to tissues while reperfusion is resumption of blood flow. Studies about the effects of antioxidants and antiinflammatory drugs in ischemia/reperfusion increased in last years.

Aim of this study, the knowledge of whether vinpocetine(VINPO) is cardioprotective or not following isoproterenol (ISO) induced cardiac ischemia in rats. Studies on vinpo is closely monitored worldwide and the topic is quite upto date.

In myocard infarction, the one of the responsible mechanism of injury is oxidative damage and inflammation. The effect of Vinpo which is the potent antioxidant and anti inflammatory agent aimed to reveal as the biochemical, electrophysiological, and histopathologic parameters. In this study, thirty- two Wistar-Albino male rats (in the estimated weight of 250-400gm.) were divided into four groups, each consisting of eight rats. The group 1 named as sham, no any drug used in this group. Group 2 named as iso group, only isoproterenol was administered, the group 3 named as vinpo and iso group, here initially vinpocetine then isopreterenol were used, and the group 4 named as iso and vinpo, here initially isoproterenol then vinpocetine were used.

For the rats in group2, in first and second day isoproterenol administered at a dose of 120mg/kg using an intraperitoneal injection. At third and fourth day no any drug used. And at fifth day the experiment terminated. For the rats in group 3, at the first and second day Vinpocetine administered at adose of 20 mg/kg using an intraperitoneal injection, after 30 minute isoproterenol administered at adose of 120mg/kg using an intraperitoneal injection. At third and fourth day no any drug used. And at fifth day experiment terminated. Lastly fort he rats in group4, first and second day isoproterenol administered at adose of 120mg/kg using an intraperitoneal injection, at third and fourth day vinpocetine administered at adose of 20 mg/kg using an intraperitoneal injection, and at fifth day experiment terminated. Prior to termination of experiment the pulse rate and ECG changes were recorded. Average blood pressure were measured through the carotid artery cannula. After completion of experiment protocols blood samples and cardiac tissue samples were recieved. For the knowledge of effects of vinpocetine experimental miyocardial ischemia induced in rats, and the serum myoglobulin, total creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate

aminotransferase (AST), alanin aminotransferase (ALT), measured. In myocardial tissue as an antioxidative system and an oxidative stres markers; malonylaldehyate (MDA), Superoxidedismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathionperoxidase (GPx), GSH, Total oxidant status(TOS),Total antioxidant status(TAS),Oxidative stres index(OSI) studied. Also for histologic evaluations hematoxylin –eosin(H-E) ,for connective tissue observation triple staining of Gomorrhah used. İn sections stained with H-E method, abnormal organisation, loss of myofibrils, eosinophilic cytoplasm and picnotic nucleated crdiomyocytes seen. in sections which stained with Gomorrhah stain there was increase density of connective tissue.

As a result, Vinpocetin show positive impact on cardiac functions.with all of these for the best net results advanced studies needed.

Key Words: İsoptroterenol, Vinpocetin, Rat, Heart.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜRLER.....	i
ÖZET	ii
SUMMARY	iv
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO DİZİNİ	viii
RESİM DİZİNİ	ix
ŞEKİLve GRAFİK DİZİNİ	x
KISALTMALAR	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Kalbin Anatomisi ve Fizyolojisi	3
2.2. Miyokard İnfarktüsü.....	8
2.2.1. İnflamatuvar Mediatorler.....	11
2.2.2. Kompleman Sistemi	12
2.2.3. Serbest Radikaller.....	13
2.2.3.4.5. Reperfüzyon Hasarının Tespitinde Bakılacak Parametreler.....	17
2.2.4. Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları	19
2.2.5. Total Antioksidan Status/ Seviye (TAS)	20
2.2.6. Total Oksidatif Status/ Seviye (TOS).....	20
2.2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	20
2.3. Miyokart Enfarktüsü Tanısı.....	21
2.4. Kalp Yetmezliği.....	26
2.5. İsopterenol.....	27
2.6. Vinpocetin	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Deney Grupları	32
3.2. Cerrahi İşlem	33
3.3. Biyokimyasal Değerlendirme	33
3.4. Histolojik Metodlar	33
4. BULGULAR	35

4.1. Deney Hayvanlarının Özellikleri:.....	35
4.2. Biyokimyasal Analizler	36
4.2.1. İstatistiksel Analiz	36
4.2.2. Serum Myoglobin, AST, ALT, LDH ve CK Değerleri	37
4.2.3. Doku Değişkenleri.....	38
4.3. Kalp Hızı, Ortalama Kan Basıncı ve Ekg Değişiklikleri.....	43
4.3.1. Ratların cerrahi işlem öncesi tespit edilen kalp hızları değerleri incelendiğinde;	43
4.3.2. Yine cerrahi işlem öncesi ölçülen ortalama kan basıncı değerleri incelendiğinde;	44
4.3.3. Ratların cerrahi işlem öncesi çekilen EKG leri incelendiğinde;	44
4.4. Histolojik Bulgular	45
4.4.1. İstatistiksel Analiz	50
5. TARTIŞMA	51
KAYNAKLAR	59

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Koroner arter hastalığı risk faktörleri

Tablo 2: Serumdaki Myoglobin, AST, ALT, LDH, CK Değerleri
(median, min- max) ve p değeri

Tablo 3: Gruplardaki doku değişkenlerin median (min-mx) değeri ve p değeri.

Tablo 4: Grupların kalp hızı, ortalama kan basıncı ve EKG değişikliklerinin
median (min-mx) değeri, ortalama değeri ve p değeri

Tablo 5: Gruplar arasındaki EKG' de ST depresyonu

Table 6: Grupların histolojik skorları.

Tablo 7: Grupların histolojik P değerleri

RESİM DİZİNİ

Resim 1: Normal kalp görünütüsü

Resim 2: Kalbin katmanları

Resim 3: Lesser Periwinkle (Küçük Cezayir Menekşesi)

Resim 4: Ratlarda normal EKG görüntüsü

Resim 5: Ratlarda İskemiye bağılı ST depresyonu görünütüsü



ŞEKİL ve GRAFİK DİZİNİ

Şekil 1: En temel kasılma ünitesi olarak miyofibrillerin şematik ifadesi

Şekil 2: Kardiyak dokuda ventriküler aksiyon potansiyelinin fazları ve bu fazlardan sorumlu iyon akımları

Şekil 3: EKG görününtüsü

Şekil 4: Doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu

Şekil 5: Oksijen Radikallerinin Oksidasyonu

Şekil 6: Vinpocetin'in Moleküler Yapısı

Grafik 1: Deney öncesi ratların ortalama ağırlıkları.

Grafik 2: Deney sonrası ratların ortalama ağırlıkları.

Grafik 3: Ratların Ortalama Kalp Ağırlığı

Grafik 4: Tüm Gruplardaki serum enzim düzeyleri ve miyogloblin Ortalamaları.

Grafik 5: MDA Median değeri

Grafik 6: SOD Median değeri

Grafik 7: CAT Median değeri

Grafik 8: GPX Median değeri

Grafik 9: GSH Median değeri

Grafik 10: TOS Median değeri

Grafik 11: TAS Median değeri

Grafik 12: OSI Median değeri

KISALTMALAR

ADP	:Adenozin Difosfat
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AMI	: Akut miyokard infarktüsünde
AMP	: Adenozin monofosfat
AST	: Aspartat Aminotransferaz
AT	: Anjiyotensin
ATP	: Adenozin trifosfat
AV	: Atriyoventriküler
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
CABG	: Koroner Arter Bypass Greft
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CAT	: Katalaz
CK	: Kreatin Kinaz
cTnI	: Kardiyak troponin I
cTnT	: Kardiyak troponin T
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DHA	: Dihidroaskorbik asid
ETZ	: Elektron Transport Zinciri
Fe	: Demir
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GTP	: Guanozin trifosfat
GST	: Glutasyon S-transferaz
GSHPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Redükte glutasyon
GSSH	: Yükseltgenmiş glutasyon
HPETE	: Hidroperosieikazatetraenoik asid
H-E	: Hemotoksilen eozin
OH	: Hidroksil
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipoklorit asit

HOONO	: Hidroksinitrit
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
İR	: İskemi reperfüzyon
İSO	: İsoproterenol
İ.p.	: İnteraperitoneal
İ.v.	: İntravenöz
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LQT	: Herediter uzun QT intervali
MDA	: Malondialdehit
MMSE	: Mini mental state examination
MPO	: Myeloperoksidaz
MCP-1	: Monocyte chemo-attractant protein -1
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfohidrogenaz
NO	: Nitrik oksit
NIRS	: Yakın kızılötesi spektroskopisi
NBT	: Nitroblue tetrazoliumu
O₂⁻	: Süperoksit radikali
OH⁻	: Hidroksil radikali
OS	: Oksidatif stres
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PDE	: Fosfodiesteraz
Red	: Redüktan
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
ROO	: Peroksit radikal
SA	: Sinoatrial
S.C.	: Subcutenoz
SPSS	: Statistical Package of Science
SIRS	: Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOD	: Süperoksid dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TAF	: Trombosit Aktive Eden Faktör

TAS	: Total antioksidan
TMZ	: Trimetazidin
TOS	: Total oksidan kapasite
TNF-α	: Tumor nekrosis faktör-alfa
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCD	: Trans kraniyal doppler
Tn-C	: Troponin C
Tn-I	: Troponin I
UV	: Ultraviöle
VİNPO	: Vinpocetin



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda en sık görülen hastalıklardan biri Akut miyokard infarktüsü (AMI) olup, ilerleyen teknolojinin birtakım olumsuz yaşam şartlarından etkilenmiştir. Miyokard infarktüsü ateroskleroz nedeniyle daha önce daralmış koroner arterin trombotik tıkanması ile kan akımının ani kesilmesi sonucunda ortaya çıkar. Bu tıkanma ile oluşan miyokardial hasar; damarın ne oranda tıkalı olduğuna, koroner tıkanmanın süresine, hasarlı damarın beslediği alana, kolleterallerle hasarlı bölgeye sağlanan kanın miktarına, tıkayıcı trombüsün kendiliğinden lizisini sağlayan etkenlere, miyokardın oksijen gereksinimine ve tıkanmış koroner arterde akım yeniden sağlandığında infarktli alanda miyokardial perfüzyonun yeterliliğine bağlıdır [1].

İsoproterenol (ISO), yüksek dozlarda akut miyokard infarktüsü oluşturan bir P-adrenerjik agonisttir. ISO ile uyarılmış lezyon, miyokardiyal nekroz olarak tanımlanır ve hipoksik/iskemik kalp hastalığında görülen özellikleri gösterir [2, 3]. ISO ile uyarılan miyokardiyal nekroz miyokardiyal membran bütünlüğü ve fonksiyon kaybı ile karakterize değişiklikleri içerir. Lipit metabolizmasında değişikliklerin ortaya çıkması da ISO'nun karakteristik etkilerinden biridir [4, 5]. ISO aynı zamanda serbest radikal oluşumunu ve lipit peroksidasyonunu da uyarır, bu da miyokardiyal membranların geri dönüşümsüz hasarına neden olur [4, 6].

Serbest oksijen reaktifleri ortaklanmamış bir elektron içeren reaktif moleküllerdir. Antioksidanlar serbest oksijen radikallerinin hedef dokulardaki etkilerini önleyen veya meydana gelen hasarın onarılmasında görev alan maddelerdir. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkan oksidatif stresin aterosklerozda arttığı bildirilmiştir. Ortamda serbest radikallerin artması, lipit peroksidasyonunun artmasına neden olur [7]. Membrandaki poliansatüre yağ asidlerinin oksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA) lipit peroksidasyonunun en önemli göstergelerindendir [8].

Bu çalışmanın amacı, isoproterenol ile deneysel olarak miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratlarda vinpocetin'in serum, doku ve kalp fonksiyonu düzeylerine etkisini incelemek ve miyokard infarktüsünde gözlenen oksidatif hücre hasarının rolünü irdelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

Miyokart infarktüsü (MI), miyokardın belli bölgesini besleyen koroner kan akımının ani kesilmesi sonucu oluşan iskemiye bağlı miyokart nekrozuna denir [9, 10]. Kalp ve damar hastalıkları, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde başta gelen mortalite ve morbidite nedenleridir [11, 12].

İsoproterenol (ISO), P- adrenerjik agonist olup yüksek dozlarda akut miyokart infarktüsü oluşturur. ISO ile uyarılmış lezyon, miyokardiyal nekroz olarak tanımlanır ve hipoksik/iskemik kalp hastalığında görülen özellikleri gösterir [2, 3]. ISO ile uyarılan miyokardiyal nekroz, miyokardiyal membranın yapısında vefonksiyonunda değişiklikler meydana getirir. Lipit metabolizmasında değişikliklerin ortaya çıkması da ISO'nun karakteristik etkilerinden biridir [4, 5].

Serbest oksijen radikalleri ortaklanmamış bir elektron içeren reaktif moleküllerdir [7]. Serbest radikaller nükleik asitler, serbest aminoasitler, proteinler, lipitler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makromolekülleri de dâhil olmak üzere, canlı organizmaların yapısındaki tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek geriye dönüşlü veya dönüşsüz etkiler meydana getirebilmektedirler [13, 14].

İskemi sırasında oluşan serbest radikal miktarı; reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda serbest radikaller oluşmakta ve bunlar da lipit peroksidasyona yol açarak hücrel hasarı arttırmaktadırlar [15]. İsoproterenol (ISO), serbest radikal oluşumunu ve lipit peroksidasyonunu da uyarır, bu da miyokardiyal membranların geri dönüşsüz hasarına neden olur [4, 6].

Serbest oksijen radikallerin hedef dokulardaki etkilerini önleyen veya meydana gelen hasarın onarılmasında görev alan maddelere antioksidan denir. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkan oksidatif stresin aterosklerozda arttığı bildirilmiştir. Ortamda serbest radikallerin artması, lipitperoksidasyonunun artmasına neden olur [7]. Membrandaki poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA) lipit peroksidasyonunun en önemli göstergelerindedir [8].

Serbest radikal hasarına karşı hücrel savunma enzimatik veya non enzimatik olarak sağlanır. Bunlardan bazıları katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve redükte glutatyonudur [16]. Oluşan reaktif oksijen

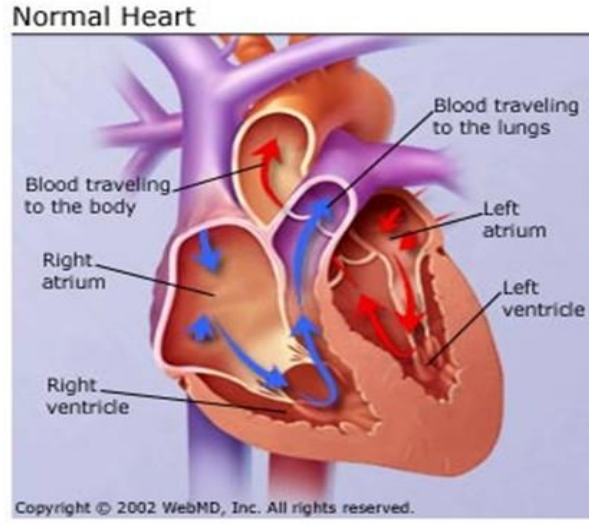
molekülleri lipid peroksidasyonuna aracılık ederek hücre membranına zararlı etkiler oluşturmaktadır. Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyon radikallerinin yıkımı sonucu ortaya çıkar ve oksidatif stresin ana göstergesidir [17]. Serbest oksijen radikalleri (ROS), MI sonrası gelişen disfonksiyonda, fibroziste ve apoptoziste önemli bir etkidir. ROS'a bağlı oksidatif stresin artması, kalp yetmezliğinde disfonksiyona ve ventriküler remodelinge sebep olabilir [18]. Oksidatif strese neden olan etkenlerden biri olan NADPH oksidazın, kardiyositlerde, kalp düz kas hücrelerinde, endotelial hücrelerde ve fibroblastlarda, ROS'un önemli bir kaynağını teşkil ettiği biliniyor [19].

Vinpocetine, periwinkle bitkisinden elde edilen güçlü bir antioksidan alkaloid olup, anti-enflamatuar özelliğe sahip, serebral kan akışını artıran ve nöronal fonksiyonları koruyucu etkisi de olan semi-sentetik bir maddedir [20].

Bu çalışmanın amacı, özellikle miyokard iskemisi toplumda mortalite ve morbidite açısından fazla görülmesi nedeniyle, deneysel olarak isoproterenol ile miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratlarda NADPH oksidaz inhibitörü olan vinpocetin'in koruyucu ve tedavi edici özelliğinin test edilerek yapılacak ileri çalışmalara öncülük etmeyi amaçladık.

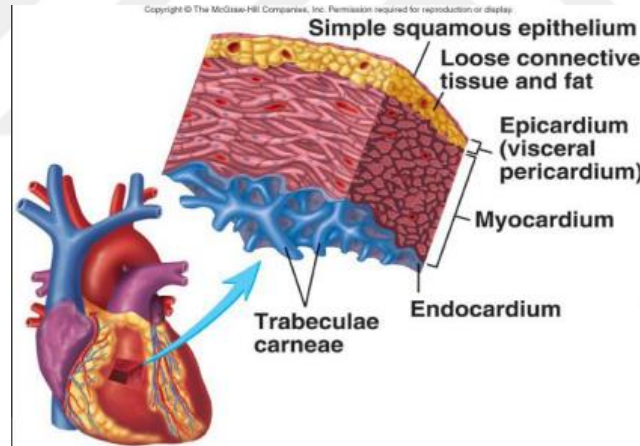
2.1. Kalbin Anatomisi ve Fizyolojisi

Kalbin vücutta anatomik olarak yerleşimi göğüs kafesi içerisinde sternumun gerisinde sağ akciğer ve sol akciğer arasındadır. Kalbin uç kısım aşağıya taban kısmı yukarı bakacak şekildedir. Genellikle sol yana yatık eğik bir şekildedir [21]. Kalbin asıl görevi; periferden sağ atriyumuna, vena cava inferior ve vena cava superior ile taşınan kirli kanı (oksijen fakir) sağ ventrikül aracılığıyla akciğere ulaştırır, akciğerlerden temizlenen kan (oksijen zengin) kalbin sol atriyumuna gelir. Vücuda pompalanmak üzere sol atriyumdan sol ventrikülüne dolarak buradan aorta aracılığıyla bütün vücuda dağıtılır [21, 22]. Kalp iki atriyum ve iki ventrikül olmak üzere dört boşluktan oluşur, bu atriyumlar ve ventriküllerde kendi arasında sağ ve sol diye ikiye ayrılır [21] (Resim 1.).



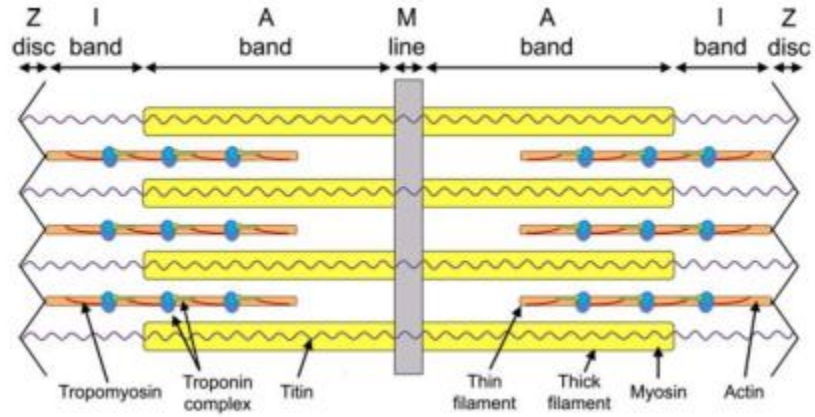
Resim 1: Normal kalp görünütüsü

Kalp 3 katmandan oluşurduğundan içe doğru sıralarsak; perikardium (epikardiyum), miyokardium ve endokardium dur. Kalbi oluşturan kas tabakasına miyokard adı verilir [21, 23].



Resim 2: Kalbin katmanları

Bu kalp kasını atriyal kas, ventriküler kas ve özelleşmiş kas lifleri oluşturur. Kalpteki özelleşmiş bu kas lifleri; kasılabilen fibril az içerdiğinden dolayı kasılmaları zayıftır fakat kalbin uyarılmasından sorumlu aksiyon potansiyelinin iletilmesinde belirleyici rol alır. Atriyal kas ile ventriküler kas iskelet kasına benzerlik gösterir kalp kasında iskelet kasında olduğu gibi aktin ve miyozin adı verilen yan yana sıralı kasılma sırasında birbiri üzerinde kayabilen miyofibrillerden oluşmuştur fakat kalp kasının kasılma süresi biraz daha uzundur [24].

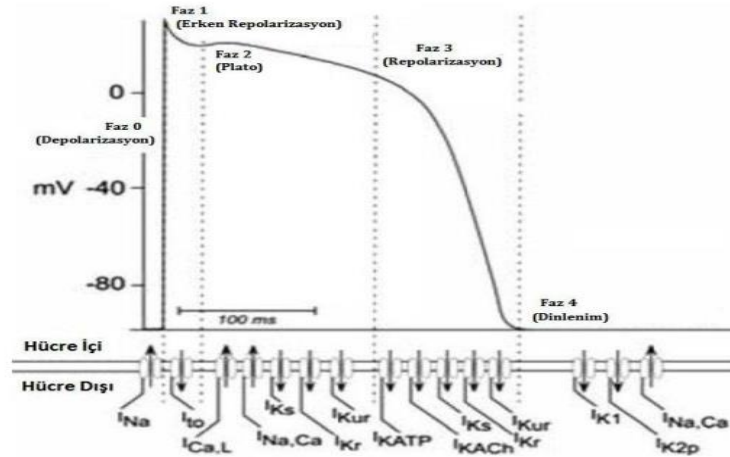


Şekil 1: En temel kasılma ünitesi olarak miyofibrillerin şematik ifadesi [25]

Kalbin kasılması ortamda bulunan kalsiyum iyonlarının yeterli seviyede olmasıyla olur, bu Ca iyonları şekil 2.3 deki gibi troponin c (Tn-C) ile bağlanır. Ca bağlanan Tn-C troponin, troponin I (Tn-I) da yapısal değişikliğe neden olur, troponin I'nin görevi ile Tn-C ile tropomiyozin kompleksini belli bir bölgede sabit tutmaktır. Böylece Aktinlerde bulunan miyozin bağlayıcı bölgeler serbestleşmiş olur, daha sonra bu miyozin başları aktin filamanlar üzerinde kayarak ilerler ve aktin filamanlarını birbirine doğru yaklaştırarak I bandını oluşturan mesafeyi daraltır. Bu kısılmanın aynı anda ve senkronize bir şekilde gerçekleşmesiyle kalp kasılır [25]. Kalbin kasılmasını gevşemesi izler bunun mekanizması da; Ca iyonları Tn-C den ayrılır bu azalmanın nedeni stoplazmada serbest Ca iyonlarının azalmasıdır böylece troponin ve tropomiyozin kompleksi eski halinde döner, aktin bölgelerinde bulunan miyozin bağlayıcı bölgeler inaktif duruma geçmiş olur böylece gevşeme gerçekleşmiş olur [26, 27]. İstirahat halindeki bir insanda kalbin dakikada pompaladığı kan 4-6 lt/dk dır. Fakat bu pompalanan kan miktarı ağır eforla birlikte bu oranın birkaç katına kadar çıkabiliyor. Kalp sürekli kan pompaladığından dolayı oksijene ve besine ihtiyacı vardır. Kalbin oksijen ve besin ihtiyacını koroner dolaşım sağlar istirahat halinde bu 225 mm/dk [22]. Koroner kan dolaşımı kalbin ihtiyacına göre koroner damarlarda lokal vazodilatasyon ile birkaç kat kadar artabilir koroner kan akımını belirleyen esas unsur ise kalbin oksijene olan ihtiyacıdır. Kalp istirahat halindeyken enerji gereksiniminin büyük bir kısmını %60-80 yağ asitlerinden sağlar geriye kalan %20-40 kısmını glukoz ve laktattan sağlar [28]. İskemik durumlarda kalbin enerji ihtiyacı glikoliz ile sağlanır ancak glikoliz için kandan yüksek miktarda glukoz tüketilir [22]. Glikolizin sonucunda ürün olarak ortaya çıkan laktik asit kalpte birikir ve iskemi esnasında ağrıya neden olur

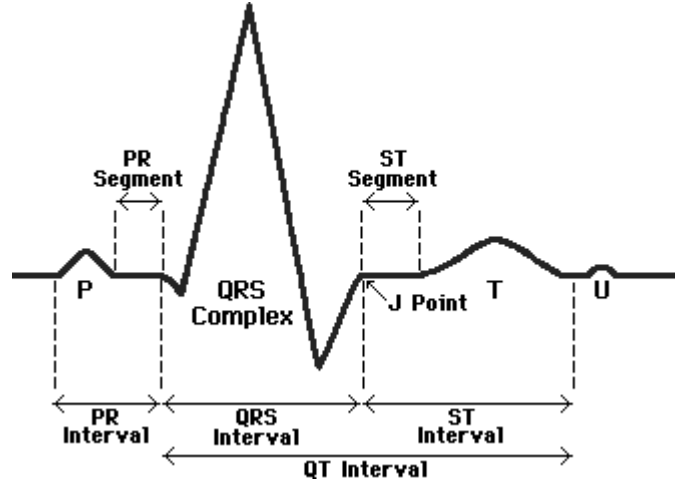
[28]. Ayrıca asidozunun meydana gelmesiyle, NADH, sitrat ve laktat birikir glikolitik yol inhiye olur [29].

Kalbin uyarılmasından sorumlu olan aksiyon potansiyelini inceleyecek olursak; Kalbin istirahat halindeyken aksiyon potansiyeli yaklaşık -80 ile -90 mV arasındadır. Transmembran potansiyelin sodyum iyonu geçirgenliğindeki ani artış sonrası hücre içi sodyum geçişi sonucu yaklaşık +30 ile +40 mV a kadar yükselir böylece depolarizasyon süreci başlar ve bu süreç faz 0 olarak adlandırılır. Potasyum iyonunun hücre dışına çıkması ile Aksiyon potansiyelinin ‘hızlı repolarizasyon faz’ ı olarak da adlandırılan faz 1 süreci esas olarak oluşur. Kalsiyum iyonunun hücre içine girişi ile Aksiyon potansiyelinin faz 2 (plato fazı) süreci oluşur kalp kasına özgüdür, bu plato fazı ve potasyum iyonunun hücre dışına çıkışı arasında oluşan denge sonucu oluşmaktadır. Bu plato fazı sayesinde kalp kasının kontraksiyonu iskelet kasına oranla yaklaşık 15 kat daha uzun sürer. Bu fazdan sorumlu yavaş tip kalsiyum kanallarıdır. (L-tip) -50 mV luk potansiyelin üstünde aktive olur ve 0 ile 10 mV da bu aktivasyon maksimuma çıkar. Potasyum iyonunun hücre dışında birikmesiyle hızlı repolarizasyon faz 3 oluşur bu fazda istirahat potansiyeli tekrar oluşur. Repolarizasyon sonrası Na-K ATPase pompası hücre içinde birikmiş olan sodyumu hücre dışına atar ve hücre dışı potasyumu hücre içine geri pompalar. Aksiyon potansiyelinin faz 4 ü ise otomatisteden sorumlu olan yavaş spontan diyastolik depolarizasyonu gösterir. Sadece sinoatrial (SA) nodda aksiyon potansiyeli eşik değere spontan ve ritmik olarak ulaşabilir. Ancak atriyoventriküler (AV) nod, His-Purkinje lifleri ve koroner sinüs ostiumuna yakın yerleşimli olan diğer hücreler ise sadece SA nod tarafından uyarılmadıkları zaman otomatisteye sahiptirler. Bu otomatisteye sahip hücrelerdeki ‘‘Funny’’ akış veya Pacemaker akışı (If) olarak adlandırılan durum diyastolik hiperpolarizasyonu yavaşça aktive ederek pacemaker aktivitesinin regülasyonunda kilit rol oynar [24].



Şekil 2: Kardiyak dokuda ventriküler aksiyon potansiyelinin fazları ve bu fazlardan sorumlu iyon akımları [30].

Kalpdeki elektriksel potansiyel değişikliklerin elektrokardiyografi (EKG) de oluşumu; EKG trasesindeki p dalgası atriyal depolarizasyonu gösterir, atriyal kasılma oluşur. P dalgası yaklaşık 0.16 saniyedir, sonra QRS dalgası ortaya çıkar. QRS kompleksiventriküler depolarizasyonu gösterir, ventriküler kasılma oluşur bu fazda aortik kapak açılır ve mitral kapak kapanır böylece ejeksiyon başlar, T dalgası ise en son görülen dalgadır ventriküler kasılmadan hemen sonra ortaya çıkar EKG trasesinde ventriküler gevşemeyigösterir [31]. QRS başlangıcından, T dalgasının sonuna kadar olan sürece QT aralığı (intrevali) denir. QT intervalinin büyük bölümünü ventrikül repolarizasyonu oluşturduğu için, QT intervali ventriküler repolarizasyonun iyi bir göstergesidir. Herediter uzun QT intervali (LQT) sendormu bulunan hastalar, tehlikeli ventriküler aritmiler ve hatta ani ölüm açısından risk altındadırlar. Kalp hızı arttığında hem depolarizasyon hem repolarizasyon hızlı meydana gelir, bu nedenle QT intervali kalp hızı ile değişim gösterir [32]. J dalgası, QRS dalgasının ST segmentiyle birleştiği noktaya denir. J dalgası elevasyonu (J noktası) elevasyonu 3 durumda gözlenebilir (i) Hipotermik J dalgası (Osborn dalgası); (ii) non-hipotermik J dalgası (iskemi, hiperkalsemi, intoksikasyon); (iii) idiyopatik J dalgası (Brugada sendromu ve erken repolarizasyonda) [33].



Şekil 3: EKG görününtüsü

2.2. Miyokard İnfarktüsü

İskemi; doku, organ ve hücrelerin yeteri kadar oksijen ve besin ihtiyacının karşılanamaması ve burada oluşan artık ürünlerin uzaklaştırılmamasına denir. Hipoksi ise; dokunun yeteri kadar oksijen ihtiyacının karşılanamamasıdır. Hipoksinin en sık sebebi iskemidir [34]. İskeminin nedenleri farklı olsada sonuçlar hemen hemen benzerdir [29]. Kalbin oksijen ihtiyacını belirleyen faktörler kalbin atım sayısı, miyokardın kasılabilirliği ve tansiyondur [10]. MI'a neden olan temel olay iskemidir [22]. Miyokard infarktüsü koroner dolaşımın ani azalması sonucu oluşan iskemiye bağlı miyokard nekrozuna denir [9, 10]. Koroner dolaşımın amacı, vücuttaki tüm organların ve miyokardın gereksinimi olan oksijen ve besinleri sağlamak ayrıca artık ürünleri uzaklaştırmaktır. Kalp kasılması için oksijene ihtiyaç vardır ve bazal oksijen tüketimi yaklaşık %60'tır. Miyokardın oksijen ihtiyacı arttıkça koroner dolaşımın artması gerekir [35, 36]. Koroner dolaşımın bozulması kalbin pompalama gücünü zayıflatır [36]. Kardiyak dokudaki yetersiz kanlanma sonucu, kalpte enerji azlığına ve miyokard dokusunun kasılma fonksiyonunun kaybına neden olur. Kardiyak hücrelerde iskeminin uzaması sonucu olarak hücre bütünlüğü bozulur ve hücre ölümü gerçekleşir [37, 38]. İskemi ve hipoksizde aerobik metabolizma devam edemediğinden mitokondrideki oksidatif fosforilasyon engellenir. ATP, kreatinin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır [39].

Koroner dolaşımı azaltan nedenler arasında en fazla görülen aterosklerozdur. Ateroskleroz, damar duvarının kalınlaşması ve esnekliğinin kaybolması ile karakterize arteriyel hastalık grubunun bir parçasıdır [40]. Koroner arter hastalığı risk faktörleri

lipitle ilişkili ve lipitle ilişkili olmayan diye ikiye ayrılır lipitle ilişkili olmayan da kendi içinde değiştirilebilir ve değiştirilemez diye sınıflandırılır aşağıdaki tabloda özetlenmiştir;

Tablo 1: Koroner arter hastalığı risk faktörleri

RİSK FAKTÖRLERİ		
Lipid Risk Faktörleri	Non-Lipid Risk Faktörleri	
·LDL kolesterol yüksekliği ·Trigliseritler ·Non-HDL kolesterol ·HDL kolesterol düşüklüğü, ·Aterojenik dislipidemi	Modifiye Edilebilir Risk Faktörleri	Modifiye Edilemeyen Risk Faktörleri
	·Hipertansiyon ·Sigara ·Diabetes Mellitus ·Obezite ·Fiziksel inaktivite ·Aterojenik diyet ·Trombojenik durum	·Yaş ·Erkek cinsiyeti ·Aile öyküsü

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein; **HDL:** Yüksek dansiteli lipoprotein.

[41]

Ateroskleroz vücutta genellikle büyük ve orta boy arterleri tutar bu tutulum arterlerin yerine göre değişkenlik gösterir, buna karşılık küçük arterler nadiren etkilenir [42]. Epikardial koroner arterler; vücutta ateroskleroza en yatkın damarlardır [43].

Aterosklerotik plak yıllarca yavaş bir şekilde genişleyerek ciddi darlık ya da tamamen tıkanıklık yapabilir. Zaman içinde plak spontan rüptüre olabilir buda trombüs oluşumunu tetikler; trombüsler emboli yapabilir, buda damarı aniden tam olarak tıkeyebilir ya da plak ile zaman içinde birleşerek tıkeyici özelliklerine katkıda bulunur [44]. Ateroskleroz ani tıkanıklık yapmak yerine uzun yıllar koroner arterleri daraltırsa, aynı zamanda kolleterallerin de geliştiği görülür. Böylece kişide, kalbin işlev bozukluklarına bağlı akut ataklar görülmez. Koroner arter ani olarak tıkanırsa tıkanma noktasının distalinde küçük bir kolleteral akımın dışında, kan akımı kesilir. Kalpte kan akımının çok az olduğu ya da hiç bulunmadığı için görev yapamayan bu bölgeye infarktüs bölgesi, bütün bu olaya da miyokard infarktüsü adı verilir [45].

Bulgular çoğunlukla arteriyel stenozun derecesi ile ilişkilidir. Akut MI'da lezyonun yeri ne kadar miyokarda yakın ise, risk o kadar fazladır. Fakat bu darlığın gelişme zamanı tahmin edilemez. Hastaların 2/3'de kendiliğinden tromboliz oluşur. Ancak trombolitik tıkanma hastaların sadece % 30'unda görülür. Damardaki stenozun oluşumu ne kadar hızlıysa oluşabilecek kolleteral koroner dolaşım o kadar az olur ve

kolateral akım ne kadar fazla ise infarktın boyutu o derece azdır [10]. MI nadiren arteriyel embolizasyondan ve koroner spazmı bulunan hastalarda da oluşabilir [9]. MI öncelikle sol ventrikülü tutar sonra sağ ventrikül ya da atriuma yayılabilir. Sağ ventrikül infarktı oluşması sağ koroner arterin ya da dominant sol sirküfleks arterin tıkanması sonucu oluşur. Oluşan tıkanıklığa yüksek sağ ventrikül doluş basıncı ile birlikte sıklıkla ağır triküs pit yetersizliği ve daha düşük kalp debisi eşlik eder. Kalbin pompalama fonksiyonu doğrudan miyokart hasarının boyutu ile ilişkilidir [9, 10].

Akut miyokart infarktüsünde gelişen fizyopatolojik olaylar 2 evrede gelişir [46].

1. Akut infarktüs zamanında gelişen erken değişiklikler (<5gün): Bu değişiklikler, damar tıkanıldıktan sonra hemen başlar. O₂ eksikliği nedeniyle intraselüler ATP azalır sonuçta asidoz gelişir, pH düşer, miyokart kasılma özelliği azalır ve 2-4 gün içinde miyokart koagülasyon nekrozunun gelişmesi ile son bulur, buda kalpte histopatolojik değişimi ve miyokart kasılabilirliği üzerine etki eder.
2. Miyokardın rekonstrüksiyonu esnasında gelişen geç değişiklikler (>5gün): Makrofajlar miyokarddaki nekrotik alanı temizler burda kollajen birikir ve skar dokusu gelişir. İnfarktüstün 7 hafta sonra fibrozis ve skarlaşma tamamlanır. İnfarktüsle ventriküllerin kasılması hızla bozulur ve genellikle kalp debisi düşer [46].

Oksijen azlığına bağlı olarak gelişen anaerobik glikoliz sonucu oluşan laktik asit birikir ayrıca hasarlanmış lizozomlardan salınan hidrojen (H⁺) iyonu ile hücre içi Ph düşer asidik ortam oluşur. ATP oluşumu inhibe olur. ATP eksikliği nedeniyle, hücre zarında aktif Na-K ATP'az pompasında yetmezliğe neden olur, hücre içinde Na⁺ tutulmasına ve hücre dışına K⁺ atılmasına neden olur. Hücre içinde Na birikmesi sonucu hücre sel şişme olur, ayrıca hücre içi Ca⁺⁺ artar [47]. Hücre içi Ca⁺⁺ un birikmesi, fosfolipazlar (fosfolipaz A₂), proteazlar (kalpainler) ve endonükleazlar gibi enzimleri aktive eder. Fosfolipazenzim aktivitesinin artması sonrası membran fosfolipidleri parçalanır ve yıkım ürünler birikir. Proteazların aktive olmasıyla proteinler parçalanır. Endonükleaz enzim aktivitesinin artması sonucu nükleer kromatin hasarı olur. Hücre içi Na⁺ miktarının artması, fosfolipaz ve proteaz aktivitesinin artması ve ATP sentezinin azalması sonucu plazma membran geçirgenliği artar. Mitokondri geçirgenliği de artar ve mitokondriyal membran potansiyeli kaybolur. Tüm bu olaylar sonucunda anoksik hasar, nekrotik hücre ölümüne neden olur [48].

Kritik iskemi zamanı, dokunun canlı olarak kalabilmesi için maksimum iskemi zamanı olarak adlandırılır. Hücrenin metabolik aktivitesi ve adaptasyon mekanizmalarına göre kritik iskemi süresi değişiklik göstermekle birlikte uzun süreli iskemide irreversibl hasar ve nekroz kaçınılmazdır. Hipoksi sonrası oluşan mitokondri fonksiyon bozukluğu irreversiblhasarın en önemli göstergesidir [49].

Miyokard iskemisi sonrası koroner kan akımının zaman içinde tekrar sağlanmasına reperfüzyon (yeniden kanlanma) adı verilir [50, 51]. Reperfüzyonu ile birlikte inflamatuvar süreç başlar [52].

2.2.1.İnflamatuvar Mediatörler

Hasarlı dokulardan, hücrelerden ve plazmadan salınırlar. Mediatörler birtakım yapısal değişikliğe uğrar veya enzimler tarafından inaktive edilir.Hücreden köken alan mediatörler, hücre içi granüllerde depolanır ve lüzum halinde salgılanır. Plasmadan köken alan mediatörler; komplemanlar gibi, aktifleşebilmesi için protein yıkımının olması gerekir [53].

Kimyasal mediatör hedef hücreyi etkileyerek ikincil mediatör salınımını uyarabilir. Bu ikincil mediatörler başlangıçtaki mediatörlerin aynısı olabilir ya da benzeyebilir. Hemen hemen tamamı hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak aktivasyon gösterir [53].

Kimyasal mediatörler; serotonin, Histamin,

Plazma proteazları: Kininler (bradikinin, kallikrein), kompleman sistemi, koagülasyon-fibrinolitik sistem (fibrinopeptidler ve fibrin yıkım ürünleri).

Aroşidonik asit meatbolitleri: Siklooksijenaz yolu ile oluşanlar; prostogalandinler, tromboksanlar, endoperoksitler. Lipoksijenaz yolu ile oluşanlar; lökotrienler, hidroperosieikazatetraenoik asid (HPETE), hidroksieikozatetraenoik asit (HETE).

Lökosit ürünleri: Lizozomal proteazlar, serbest oksijen radikalleri

Trombosit Aktive Eden Faktör (TAF)

Büyüme faktörleri

Sitokinler

Diğer mediatörler

2.2.2.Kompleman Sistemi

Kompleman sistemi, bir dizi plazma proteini ve hücre zarı reseptöründen meydana gelir. Serum total proteinin %10'unu kompleman sistemi proteinleri oluşturur. Kompleman sistemi plazmada inaktif olarak bulunan enzimlerin kademeli aktivasyonu ile inflamatuvar peptidlerin, opsoninlerin ve hücre zarı saldırı kompleksinin oluştuğu bir yoldur. Bu yolda oluşan proteinler; anaflatoksi, inflamasyon bölgelerinde vazodilatasyon, damar geçirgenliğini arttıran ve fagositlerin endotele yapışmasını uyaran etkiler gösterirler. Kompleman komponentlerinin bazı sentez yerleri;hepatositler, monositler, makrofajlar, böbreğin tübüler ve glomerüler hücrelerdir. Kompleman düzeyleri, beyin omurilik sıvısında çok düşüktür. Aktivasyon sırasında kompleman komponentlerinin çoğu, iki parçaya ayrılır. Küçük parçası, anaflatoksik, kemotaksik ve vasküler permabilite artırıcı özellikler gösterirken büyük parçası ise bakteri zarları veya immunkompleks gibi farklı yüzeylere bağlanan ve bir sonraki komponenti aktive eden enzimatik bölgeye sahiptir [54].

İskemik doku içine aktive lökositler girer. Aktive nötrofiller aktive plateletlerle birlikte hasarlanmış damar duvarına yapışırlar ve membrana bağımlı NADPH oksidaz tarafından süperoksit oluştururlar [52]. Fagositer sistemde görev alan lökositlerin katalaz pozitif mikroorganizmaları öldürmesinde önemli bir rol oynayan süperoksit oluşumunu sağlayan Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH) oksidaz enzim defekti sonucunda ortaya çıkar. NADPH oksidaz, süperoksit radikallerinin oluşumunu ve solunum patlamasını sağlayan bir enzimdir. Hücre aktivasyonu sonrasında NADPH'ın sitoplazmik ve membran komponentleri bir araya gelerek enzim aktive olmakta ve bir elektron transferi ile fagozomda süperoksit oluşumu gerçekleşmektedir. Süperoksit radikalleri, hücre içi solunumsal patlamaya neden olarak hücre içi mikroorganizmanın öldürülmesi yanında, hücre içi diğer mikrobisidal yolları tetikleyerek de etki göstermektedir [55]. NADPH oksidaz, elastaz ve miyeloperoksidaz ezimlerini içerirler. Bu enzimler oksidan doku hasarında önemli roller üstlenir; aktive nötrofillerde ksantin-oksidad'ın artması ile SOR'un salınması "solunum patlaması" olayını meydana getirir. İskemi sonrası reperfüzyonun başlaması ile birlikte, dokuya sunulan oksijenin yaklaşık %70'i NADPH-bağımlı oksidaz ile süperoksit

iyonlarına oksitlenmektedir. Süperoksit iyonu, çoğu kez spontan dismutasyonla hidrojen peroksida dönüşür. Hidrojen peroksit ise klorür iyonlarının varlığında miyeloperoksidaz enzimi aracılığı ile hipoklorik aside indirgenir. Hipoklorik asit güçlü bir oksidandır ve birçok biyolojik molekülle kolayca reaksiyona girebilir. Nötrofillerin aktivasyonu ile nötrofil sekonder granüllerden salıverilen apolaktoferrin, plazminojen aktivatörü, komplemanı aktive eden enzim ve elastaz, kollajenaz, ve jelatinaz gibi proteolitik enzimler damar endotelinde hasara neden olmaktadır. Proteinazların etkisi ile damar duvarında yapının değişimi ve duvar yapısının gevşemesi ile nötrofillerin dokuya göçü kolaylaşır [56]. Moleküler oksijenin indirgenmesi veya uyarılması sonucu serbest oksijen radikalleri oluşur [37, 38]. Deneysel çalışmalarda reperfüzyonun akut fazı esnasında bir miktar daha doku kaybının oluştuğunu göstermiştir. Reperfüzyon hasarı olarak bilinen bu olayda Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu artar, sonuç da hücre ölümü gerçekleşir [50, 51]. Bu ROS artışın sebebi iskemik dokuya infiltre olan polimorfnükleer lökosit (PNL) tarafından yapıldığı düşünülmektedir [53]. Dolayısıyla MI sonrasındaki en önemli biyokimyasal olaylardan biride serbest oksijen radikallerinin artmasıdır [57].

2.2.3.Serbest Radikaller

Serbest radikal, dış yörüngelerinde tek sayıda elektron bulunan bir atom veya moleküldür. Bunlar kararsız olduğundan dolayı çok kısa ömürlüdür [58]. Yapılarındaki kararsızlık nedeniyle başka moleküllerle etkileşime girerek elektron alırlar ve verirler bu şekilde diğer moleküllerinde kararlı yapılarını bozarlar. Elektriksel yükleri pozitif, negatif veya nötr olabilir. Tepkimeye girmeleri elektriksel yüklerine göre değişir [59]. Hücrenin tüm elemanlarının yapısını bozar. Böylelikle metabolik ve yapısal değişikliklere neden olurlar ve hatta hücre ölümüne de yol açabilirler. Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı arasındaki denge devam ettiği sürece organizma bu maddelerden etkilenmemektedir [60, 61]. Normalde, ROS oluşumu ve bu ROS'u organizmadan temizlemesi denge halindedir. İskemi/ Reperfüzyon hasarında Serbest oksijen radikalleri önemli rol oynamaktadır. Serbest radikallerin en önemli kaynağın canlı organizmalarda oksijen varlığında moleküler oksijen olduğu kabul edilmektedir. Aerobik canlılarda ortamda sürekli oksijen bulunduğu için serbest radikaller daha sıklıkla oksijen radikali biçimindedir [62, 63]. Ayrıca serbest radikal kaynakları olarak NO, endoplazmik retikulum, aktive nötrofiller, mitokondrial elektron

transport sistemi, peroksizom ve plazma membranıdır. Normal metabolizma sırasında oksijen (O_2)'nin %98'i su (H_2O)'ya indirgenmektedir. Geriye kalan %2'lik kısım ise süperoksit (O_2) ve hidroksil (OH) radikaline dönüşür

2.2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri;

1.Süperoksit (O_2) Radikali:Oksijen molekülüne bir elektronun eklenmesiyle oluşur, vücut için çok zararlı değildir Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile H_2O_2 'e indirgenir. Bu oluşan yapı Serbest radikallerin oluşturacağı zarara karşı antioksidan etki gösterir. Düşük pH değerlerinde hidrojen iyonu alarak hidroperoksit haline dönüşür.

2.Hidroperoksit (HO_2) Radikali:Hidroperoksit yağ asitleriyle kolayca etkileşime girebiliyor bu nedenle hücrelerden rahatlıkla geçiş yapabiliyor.

3.Hidrojen Peroksit (H_2O_2):Oksijenin, 2 e- ve 2 H+ ile tepkimsesi sonucu ortaya çıkar. Metal iyonlarının yokluğunda dayanıklı, oksidan ve redüktan özelliği düşük, biyolojik membranları rahatlıkla geçebilen ve yarı ömrü uzun oksijen bileşiğidir. Metal iyonlarının varlığında ise dayanıksızdır ve OH radikali oluşumuna neden olur. Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir. Süperoksit radikalinin varlığında ise Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidroksil radikali oluşturur [64].

4.Hidroksil (OH) Radikali:Çok reaktif ve kısa ömürlü olan radikaldir. Çevre dokular fazlasıyla etkilenir ancak hücrede olduğu yerden daha uzağa gidemez.

5.Nitrik oksit (NO) Radikali:Nitrik oksit vücutta çeşitli hücrelerde salınmaktadır, endotel hücresi, sinir hücresi, düz kas hücresi, makrofaj ve trombosit gibi çeşitli hücrelerden sentezlenir. L- Arginin den nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla oluşur. NO düşük molekül ağırlıklı, yarı ömürleri kısa (3-5 saniye) gaz yapıda oldukça reaktif bir moleküldür. Lipofiliktir ve biyolojik membranlardan rahatlıkla geçer. NO düşük dozda kalbi koruyucu etkisi vardır fakat doz arttıkça kalp için zararlıdır. İskemi reperfüzyon hasarında NO sentezi artar ve NO 'nun istenmeyen etkileri oluşur. Kısaca iskemi reperfüzyon hasarında önemli bir role sahiptir [65].

2.2.3.2. Hücrede Radikal Oluşumu

Normal durumlarda hücrelerdeki serbest radikalın majör kaynağı elektron transport zincirinden olan elektron kaçaklarıdır. Endoplazmik retikulum ve mitokondrielerde moleküler oksijen ve süperoksit oluşur. Süperoksit veya hidrojen peroksit oluşumunda peroksizomlarda lokalize flavin oksidaz gibi enzimler rol oynar[57]. Mitokondriyal radikallerin kaynağı, mitokondri iç membranında yer alan elektron transport zinciridir. Oksijenin %95'i herhangi bir ara metabolit oluşmadan H₂O'ya indirgenirken, kalan %5'i serbest radikal oluşturur [66].

2.2.3.3. Hücrede Hasar Oluşumu

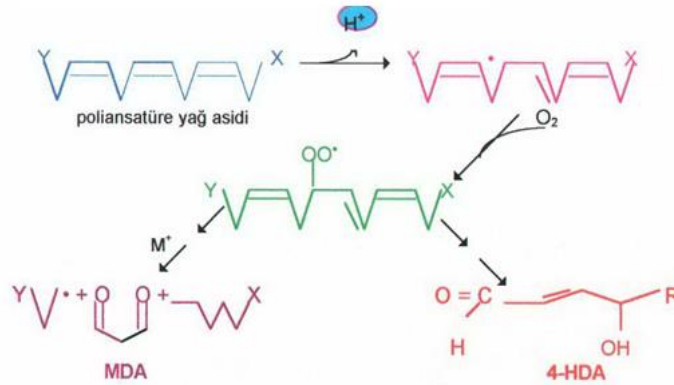
Yeniden kanlanmanın sağlanmasıyla oluşan serbest radikaller, hücrenin temel yapı ve fonksiyonlarında hasar meydana getirir. Bu hasardan en fazla etkilenen yapılar membran lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit (DNA) molekülleridir [67]. Serbest Radikaller oluşunca organizmada bir dizi olaylar oluşur. Serbest oksijen radikalleri paylaşılmamış elektronlarından dolayı lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar. Serbest radikaller ayrıca hücrenin protein yapılarını hedef alırlar. Bazı amino asitler oksidasyondan daha fazla etkilenir, terminal sülfidril grubu bulunduran (metionin, sistein) amino asitlerle aromatik amino asitlerdir. (tirozin, histidin, fenilalanin) Serbest radikaller pürin ve primidin bazlarının yapısını bozarak DNA üzerinde etki ortaya çıkartır. Serbest radikaller nükleik asitlerden özellikle guanidin bazının yapısını bozarak hücrenin yapısında değişiklik yapar böylece mutasyon oluşur [68, 69].

2.2.3.4. Makromoleküllerdeki Hasarlanma Mekanizmaları

1. Lipid peroksidasyonu
2. Protein oksidasyonu
3. DNA
4. Kovalen bağlanma
5. Kalsiyum

1. Lipid Peroksidasyonu; Hücre membranları yağ asitleri ve fosfolipidlerden

oluşmaktadır. Serbest radikallerin hücrede başlattığı en önemli etki lipid peroksidasyonudur. Ortamda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak tanımlanır [70]. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir radikalın etkisiyle membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki alfa metilen gruplarından bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Süperoksit ile hidroksil radikalının bu lipid peroksidasyonunun başlatılmasında başlıca rol aldığı kabul edilmektedir. Özellikle molekül içi çift bağ aktarılması ve lipid radikalının moleküler oksijenle etkileşimi sonucunda lipid peroksi radikali (LOO) oluşur. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroksiperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşikleri ile etkileşmesi sonucu etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşür [53,70]. Lipid peroksidasyonu biyolojik membranlarda yaygın hale gelince hücresel yapı ve fonksiyonlarında bozulmalara neden olur. Bütün bu olayların sonunda malonildialdehit(MDA) meydana gelir, MDA ölçümü lipid peroksidasyonu derecesini belirlemede önemlidir [66, 71].



Şekil 4: Doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu [72]

2. Protein Oksidasyonu; SOR-i aminoasitlerin yan zincirlerini okside ederek protein-protein bağlarının oluşmasına neden olur [73].

Bu değişiklikler proteinlerin bağlanma özelliklerinde ve enzim aktivitelerinde farklılaşmaya neden olarak hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilir [69, 70].

3. DNA hasarı; SOR-i nukleer ve mitokondrial DNA'da timin ile etkileşime girer ve tek zincirde kırılmalar oluşturur. Bu durumda DNA onarım mekanizmasının uyarılması PARS enzimi aktive olur [73].

4. Kovalen bağlanma; Serbest radikaller polisiklik hidrokarbonlar, aromatik

aminler ve nitroz aminler gibi ksenobiyotiklerin çeşitli biyomoleküllere kovalan bağlanmasına neden olabilir. Bu da doğrudan hücre hasarına yol açabilir [74].

5.Kalsiyum; Hücre yaralanması ile ilgili olduğu düşünülen bir elementtir. Kalsiyumun transportunu engelleyen herhangi bir durum hücre fonksiyonlarını olumsuz etkiler. Ca^{++} -ATP'az enzimleri önemli sulfidril gruplarına sahiptir ve serbest SOR tarafından inaktive edilebilir. Sitokinler, hipoksi, endotoksin gibi faktörler, SOR aracılı yol kullanarak, hücre enerjisini azaltabilirler [75].

2.2.3.4.5. Reperfüzyon Hasarının Tespitinde Bakılacak Parametreler [48].

- 1.İndirgenmiş glutatyon (GSH) /Yükseltgenmiş glutatyon (GSSH) oranı
- 2.Superoksit dismutaz
- 3.Katalaz
- 4.Malondialdehit
- 5.Hidroperoksidazlar
- 6.Tiyobarbitürik asit
- 7.İsoprostanlar

1.GSH/GSSH oranı; İndirgenmiş glutatyon (GSH)/ yükseltgenmiş glutatyon (GSSH) oranı oksidatif stres gelişiminin ve serbest radikal oluşumunun bir göstergesidir. Oksidatif strese karşı en önemli olaylardan biri Glutatyon homeostazisinin sürdürülmesidir [62, 66, 76, 77]. Süperoksit radikallerin ortadan kaldırılmasında GSH-Px enziminin etkisi için İndirgenmiş glutatyon, substrat olarak kullanılmaktadır.

2.Superoksid Dismutaz (SOD); Esas endojen antioksidandır. Oksijen üreten tüm mikroorganizmalarda bulunan metalloproteindir. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi artar. Substratı olan süperoksitin H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar [48]. Hücrelerdeki SOD ve GSH-Px aktivitesi arasındaki dengesizlik hücrelerdeki oksidatif stresin bir belirteci olarak kabul edilir. GSH-Px aynı zamanda GSH'ın yükseltgenmesinde etki etmektedir [76, 77]. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin hücre içinde öldürülmesinde de görev alır. Hücreyi özellikle DNA'yı radyasyonun iyonizan etkisine karşı koruyucudur [78].

3.Katalaz; Bütün memeli hücrelerinde genellikle kan, kemik iliği, subsellüler

organellerinin iç kısmında bulunan peroksizom enzimidir. Tetramerik yapıda olup dört adet hem grubu içeren bir hemoproteindir. Dokuların H₂O₂ molekülünü su ve oksijene metabolize ederek reperfüzyon hasarından korur. H₂O₂ aktivitesinin azaltılmasında GSH-Px'a göre daha düşük aktivitelidir. H₂O₂ oluşumunu, lipid peroksidasyonu ve vasküler hasarı baskılar [77, 79].

4.Malondialdehit (MDA); Serbest Radikallerin oluşturduğu hasarının tespitinde yaygın kullanılmaktadır [80, 81].

5.Hidroperoksidazlar; Hidroksiperoksidazı esteraz ve lipoksijenaz enzimlerinin aktivasyonu oluşturur [82]. Oksidasyon reaksiyonlarında ilk olarak lipid peroksil radikalleri oluşur. Daha sonra lipid hidroperoksitler oluşur. Lipit peroksit miktarı Fulminan hepatit, MI ve şiddetli yanık ile artar. Antioksidanlarla tedavi ile lipid peroksidasyon işlemlerinin azaltılabileceği kabul edilmektedir. Çeşitli dokular içinde GSH ve GSSH transportu olduğundan kan glutatyon seviyesinin ölçülmesi pratikte yapılabilmektedir.

6.Tiyobarbitürik Asit (TBA); Lipid peroksidasyon aldehytleri (MDA gibi) ile reaksiyona giren ve biyolojik örneklerde lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için sık kullanılan parametrelerden biridir. Plazmadaki TBA ölçümü, hastalıklarda oksidatif stresi ve radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunu araştırmak için kullanılmaktadır [66, 77].

7.İsoprostanlar; Araşidonik asitten serbest radikallerin katalizlemesi ile oluşan ürünlerin oluşturduğu bir kompleks ailedir. İnsanda ilk defa 1990 yılında Morrow ve ark. tarafından araşidonik asidin serbest radikaller tarafından peroksidasyonu sonucu oluşan prostoglandin F₂ benzeri bir ürün olarak saptandığından F₂ isoprostanlar olarak adlandırılmışlardır [83].

Vücutta idrar, plazma, BOS, seminal sıvı ve perikard sıvısında ölçülmüştür. Serbest radikal hasarının olduğu bölgede salındığı, daha sonra dolaşımında dilüe olduğu ve bu nedenle bölgesel vazokonstrüksiyonda etkili olduğu kabul edilmektedir. Vasküler hastalıklarda lipid peroksidasyonunu araştırmak için fırsat sağlayan patofizyolojik biyomarkerlerdir. Endojen antioksidanlar, organizmada normal metabolik olaylar sırasında sürekli olarak oluşan serbest radikalleri etkisizleştirir. Oksidan maddeler belirli düzeyin üzerine çıktığında ve antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında serbest radikaller lipid, protein, karbonhidrat ve nükleik asit gibi hücrenin bazal yapı

taşlarını hasara uğrattır [62, 84].

2.2.4.Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları

Memeli hücrelerini oksidanlara karşı savunan beş mekanizma önemlidir [76, 85]. Metal iyonlarının bağlanması ile toksik radikal oluşumunun önlenmesi, oluşan radikallerin toplanması ve bastırılması, radikal zincir reaksiyonlarının kırılması, hedef molekülün hasar sonrası tamiri veya tamir edilemeyecek durumdaki moleküllerin uzaklaştırılması, antioksidan kapasitenin artırılmasıdır.

Antioksidanlar İkiye Ayrılır [48]

1.Enzimatik Antioksidanlar: Süperoksit dismutaz(SOD), katalaz,glutatyon peroksidaz

2.Enzimatik Olmayan Antioksidanlar: C vitamini, E vitamini, melatonin, bazı P-blokerler (metoprolol,karvedilol), amiodaron, karotenoidler, tiyol antioksidanlar (glutatyon, tiyoredoksin velipoik asit), naturel flavanoidler

1.Enzimatik Antioksidanlar

Glutatyon Peroksidaz; Daha çok hücrenin sitozollerinde bulunur. Membran lipidlerini ve hemoglobini oksidatif hasara karşı korur. İnsanlarda dört farklı GSH-Px bulunur. GSH-Px'in aracılık ettiği katalitik reaksiyonun substratları, H₂O₂ ve organik peroksit ROOH'dır [82].

GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli görevlere sahiptir. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkin antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma H₂O₂' nin artmasına ve şiddetli hücre hasarına neden olur [86].

2.Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Glutatyon; Tiyol grubu antioksidanlardan biridir. Tripeptit yapıda olup sitozol, çekirdek ve mitokondride yüksek oranda bulunur. Glutatyonun redükte formu GSH (glutatyon); okside formu GSSH (glutatyon disulfid)'dir. GSH çekirdekte DNA yapımı ve onarımı için gerekli olan sülfhidril proteinlerinin redükte durumunun sürdürülmesinde görev alır [82].

2.2.5. Total Antioksidan Status/ Seviye (TAS)

TAS, serbest radikallerin saldırısına karşı organizmadaki total antioksidan korumayı yansıtır[87].Normal sağlıklı koşullarda, SOR oluşumu ve oluşan SOR'u organizmadan temizlemesi denge halindedir. Canlı organizmada koruyucu antioksidan sistem; SOD, katalaz, glutasyon peroksidaz gibi enzimatik veya C vitamini, E vitamini, melatonin gibi enzimatik olmayan moleküllerden oluşur[48].TAS seviyesinin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgi verir. TAS seviyesi ölçümü, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS (Etilbenzotiazolin Sulfonik Asit) katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonu ile orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır [88].

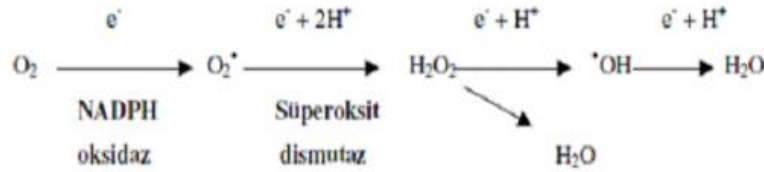
2.2.6. Total Oksidatif Status/ Seviye (TOS)

Total Oksidatif Stres (TOS) oksidatif stresin toplam değeri olarak ifade edilir. Vücudumuzda denge halinde olan oksidan ve antioksidanın, oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durum oksidatif stres olarak adlandırılır [89]. Bu durum, aşırı miktarda reaktif oksijen radikali veya nitrojen radikallerinin oluşumu veya antioksidan tampon sisteminin yetersizliği sonucu ortaya çıkar. Reaktif oksijen ve radikallerinin seviyelerindeki artış ise hücrelere toksik etki yapar ve hücrenin lipid, protein ve DNA benzeri moleküllerine zarar verir.Yöntemin esası, örnekteki oksidanların ferroz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromatojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır [88]. Spektrofotometrik olarak ölçülen rengin yoğunluğu örnekteki oksidan moleküllerin total miktarı ile ilişkilidir.

2.2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total oksidanların, total antioksidanlara bölünmesi ile elde edilen oransal bir indekstir. OSİ'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir. OSİ bir oksidatif stres indikatörüdür.Bu metabolitler, (süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^\bullet) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), reperfüzyon hasarının önemli nedenlerinden biri olarak görülmektedir. Eşleşmemiş bir elektrona sahip olan ROS, yüksek reaktivitesi nedeniyle hücre içindeki tüm biyomoleküllere karşı atak yapar. Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik

asit molekülleridir [39]. ROS etkisiyle oluşan organik peroksitler, kendileri de radikal özelliği kazandıkları için başka moleküllere atak yaparlar. Zincirleme bir şekilde devam eden bu olay, radikallerin tutulması, peroksitlerin ortamdaki temizlenmesine kadar sürebilir. SOD, KAT, GPx, glutatyon ve vitamin E gibi antioksidanlar, oksidatif strese karşı organizmanın savunma hattını oluşturmaktadır. İskemi, kalp hücrelerinin fonksiyonlarını kaybetmelerine neden olur. Miyokard infarktüsünün en önemli nedeni, koroner aterosklerozdur. Araştırmalar proteaz inhibitörlerinin, pıhtılaşma faktörlerinin ve kompleman aktivasyonunun koroner risk faktörü olabileceğini göstermektedir [90]. Miyokard dokusunun reperfüzyonu özellikle akut miyokard infarktüsünde (AMI) kurtarılan sağlam doku miktarını artırmak için önemlidir. Kan akımının yeniden sağlanması ile infarkt gelişen dokuda inflamatuvar reaksiyon oluşur. İnflamasyon, hasar sonrası dokunun iyileşmesinde önemli bir yer tutmaktadır [90]. Bununla birlikte iskemi sonrası inflamasyon, nötrofillerin infiltrasyonu, damar endotel aktivasyonu, endotelial hücre adezyon molekülleri ve inflamatuvar sitokinlerin artışı gibi bir dizi olayları içerir [91].



Şekil5: Oksijen Radikallerinin Oksidasyonu[92].

Epigastrik yanma, bulantı, kusma özellikle inferior akut miyokard infarktüsünde görülür [9, 10]. Tipik MI'da tanı hikaye ile konur, elektrokardiyografi (EKG) ile kesinleştirilir ve seri enzim değişiklikleri ile laboratuvar desteği sağlanır [9].

2.3. Miyokart Enfarktüsü Tanısı

2.3.1. Elektrokardiyografik tanı: Elektrokardiyografi (EKG), miyokard iskemisini veya infarktüsünü tanımlamada önemlidir fakat iskemi-nekroz ayrımı için yeterli değildir. Akut miyokard infarktüsü sırasında çekilen seri EKG'ler hastaların birçoğunda değişiklik gösterir. Kardiyak iskemik ağrı esnasında çekilen bir EKG'de

genellikle repolarizasyon anomalileri görülür. Ağrı esnasında çekilen EKG’de iskemik değişiklik yoksa ağrının iskemik olmadığı düşünülebilir ama bu kesin değildir[93].Miyokardiyal nekroz sonucunda enzimler, miyogloblin ve kontraktıl proteinler gibi birçok makromolekül dolaşıma geçer ve bunlar akut miyokard infarktüsü tanısında önemli belirteçlerdir [93].

Akut miyokart iskemisi atakları esnasında EKG dalgalarındaki dinamik değişiklikler, özellikle ilk başvuruda EKG’ nin tanısıl olmadığı durumlarda sıklıkla seri EKG çekilmesini gerektirir. İlk EKG’ si tanısıl olmayan semptomatik hastalarda 15-30 dk aralarla seri kayıtlar alınmalı veya mümkünse sürekli bilgisayar destekli 12 derivasyonlu EKG kaydı yapılmalıdır. Asemptomatik bir dönem sonrası belirtilerin tekrarlanması çekimin tekrarlanması için bir endikasyondur ve EKG bozuklukları gelişen hastalarda gelecekte karşılaştırma yapabilmek için taburculuk öncesi bir bazal EKG elde edilmelidir. ST-T ve Q dalgalarında akut veya yeni gelişen değişiklikler, eğer mevcutsa, klinisyene olayın zamanını, enfarktla ilişkili arteri belirlemek, risk altındaki miyokart miktarını ve prognozu hesaplamak ve tedavi stratejisini saptamak için imkan sağlar. Birçok derivasyonu/bölgeyi içeren daha belirgin ST-segmenti değişiklikleri veya T dalga inversiyonu daha ileri derecede miyokart iskemisi ve daha kötü prognozla ilişkilidir. Koroner arter boyutu ve arteriyel segmentlerin dağılımı, kollateral damarlar, yerleşim, koroner darlığın yaygınlığı ve ciddiyeti ile önceki miyokart nekrozu gibi etmenlerin tümü miyokart iskemisinin EKG göstergelerini etkileyebilir [94]. Bu yüzden başvuru sırasındaki EKG her zaman varsa eski EKG kayıtları ile karşılaştırılmalıdır. ST sapmaları akut perikardit, sol ventrikül hipertrofisi, Brugada Sendromu, ve erken repolarizasyon örnekleri gibi başka durumlarda da gözlenebildiğinden tek başına EKG, akut miyokart iskemisi veya enfarktüsü tanısını koydurmada sıklıkla yetersiz kalır [95]. Uzamış yeni ST-segment yükselmesi (örn. >20 dak), özellikle resiprokal ST-segment çökmesi ile ilişkili ise, genellikle akut koroner tıkanmayı yansıtır ve nekrozlu miyokart hasarı ile sonuçlanır. Kardiyomiyopatilerde olduğu gibi, Q dalgaları, KAH olmadan da miyokart fibrozisine bağlı olarak gelişebilir. Miyokart iskemisi veya enfarktüsünün EKG değişiklikleri PR segmentinde, QRS kompleksinde, ST-segmentinde veya T dalgalarında kaydedilebilir. Miyokart iskemisinin en erken göstergeleri tipik olarak T dalga ve ST-segment değişiklikleridir. Birbiri ile ilişkili en az iki derivasyonda yüksek simetrik T dalgaları ile artmış hiperakut T dalga genliği, ST-segment yükselmesi öncesinde görülebilen erken bir bulgudur. Geçici Q dalgaları, bir akut iskemi atağı ya da

(nadiren) başarılı bir reperfüzyon yapılmış akut MI sırasında gözlemlenebilir. ST-segment sapmasının büyüklüğünü tespit etmek için J noktası kullanılır. Yeni veya yeni olduğu düşünülen $>0,1$ mV J noktası yükselmesi V_2 ve V_3 dışındaki tüm derivasyonlarda gereklidir. Kırk yaş altı sağlıklı erkeklerde V_2 ve V_3 derivasyonlarında $0,25$ mV' a kadar J noktası yüksekliği bulunabilir, ancak artan yaşla birlikte azalır. Cinsiyet farklılıkları kadınlar için farklı eşik değerleri gerektirir, çünkü sağlıklı kadınlarda V_2 ve V_3 derivasyonlarında J noktası yüksekliği erkeklerden daha azdır [96].

ST sapmasının iki veya daha fazla ilişkili derivasyonda mevcut olması gerekmektedir. Akut miyokart iskemisinin, zaman zaman, bir derivasyonda kriteri karşılamak için yeterli ancak ilişkili derivasyonda kriter için gerekenden daha az ST-segment sapması oluşturabileceğine dikkat edilmelidir. Daha az derecelerde ST yer değiştirmesi veya T dalga tersleşmesi akut miyokart iskemisini veya gelişen bir MI' yı dışlamaz, çünkü tek bir sabit kayıt seri kayıtlarla tespit edilebilecek daha dinamik EKG değişikliklerini yakalayamayabilir. İlişkili derivasyon gruplarında ST yükselmesi veya tanısal Q dalgaları miyokart iskemisinin veya nekrozunun bölgesini belirlemede ST çökmesine göre daha özgündür [97, 98]. Akut göğüs ağrısı atağı sırasında öncesinde ters dönmüş T dalgalarının psödonormalizasyonu akut miyokart iskemisine işaret edebilir. Pulmoner emboli, intrakraniyal olaylar, elektrolit bozuklukları, hipotermi veya perimiyokardit de ST-T anormallikleri ile sonuçlanabilir ve ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Sol dal bloğu varlığında MI tanısı daha güçtür [99, 100].

2.3.2. Akut Miyokard İnfarktüsünde kandaki değişiklikler

Akut kardiyak hasarın tespitinde en önemli bulgu; kardiyak hasar belirteçlerindeki artıştır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre miyokard infarktüsü tanısı için iki kriter gereklidir: 1) İskemi ile uyumlu klinik bulgular 2) EKG değişiklikleri ve miyokard hasarı için tipik olan enzimlerde iki kat artış. Kardiyak hasar tespitinde sadece semptomlar ve EKG değişikliklerine dayanılarak konması olanaksızdır[92].Miyokarda yeteri kadar oksijen sağlanamadığında miyokard nekroze olur, sarkolemmal membranın yapısı bozulur ve hücre içi makromoleküller ve iyonlar interstisyuma oradan mikrovasküler yapıya ve lenfatiklere, daha sonra da periferik dolaşıma geçer. Periferik dolaşıma katılan bu makromoleküller serum kardiyak belirteçleri olarak adlandırılırlar [101]. İdeal bir kardiyak belirtecin en iyi düzeyde spesifik olması için miyokard

dokusunda yüksek oranda bulunması, miyokard dışı dokularda ve serumda olmaması gerekir [102]. En iyi spesifisiteye sahip olabilmesi için ise miyokard hasarından sonra kana süratle geçmeli, ayrıca belirtecin plazmadaki oranı ile miyokard hasarının büyüklüğü arasında pozitif bir ilişki bulunmalıdır [103].

2.3.3. Kreatin kinaz:Kreatin kinazın başlıca görevi, kreatin fosfattan creatin oluşturmak ve ATP oluşumunu sağlamak ayrıca kreatinine de fosfat ekleyerek kreatin fosfat oluşumunu sağlamak [104]. Kreatin kinazın üç izoenzimi bulunur: CK-MM, CK-MB, CK-BB. Kalp kasında hem CK-MB hem de CK-MM bulunur [105]. CK-MB izoenzimi iskelet kasında da 1/3 oranında bulunur [106]. CK-MB'nin nadir kaynakları, uterus, prostat, mide, barsak, dil ve diyaframda bulunur [46]. Miyokart infarktüsü teşhisinde Kreatin kinaz ve kreatin kinaz-MB seviyelerinin ölçümü çok değerlidir. Miyokard infarktüsü teşhisinde sadece CK seviyesinin ölçülmesi önerilmiyor bununla beraber CK-MB ölçümünde yapılmalıdır [93]. Çünkü serum CK düzeyini artışına neden birçok durum vardır ki bunlar; kas hastalıkları, alkol intoksikasyonu, diabetes mellitus, iskelet kası travması, ağır egzersiz, konvülziyonlar, kas içi enjeksiyonlar ve pulmoner embolide artış gösterir ayırıcı tanıda önemlidir [107, 108]. CK- MB daha çok kardiyak miyositlerden salınır ve total CK düzeyinin %20'sini oluşturur. CK- MB infarktüsten 6 saat sonra yükselmeye başlar. 24 saatte pik değerine ulaşır, CK-MB 2-3 günde normale döner[92, 109]. MI da CK-MB düzeyi total serum CK'nın %5'inden daha fazla yükselir. infarktüsün yaygınlığı CK-MB seviyesinin yüksekliği ile tahmin edilebilir[46].

2.3.4 Laktat Dehidrogenaz İzoenzim 1 (LDH-1):Laktat dehidrogenaz vücutta birçok dokuda bulunur. Oksijenli ortamda pirüvatın laktata dönüşümünü sağlar. Laktat dehidrogenazın 5 izoenzimi bulunur. LDH-1 ve LDH-2 (kalp kası, eritrositlerde), LDH-3 (lenfatik doku, trombositler), LDH-4 ve LDH 5(iskelet kasında, karaciğerde) bulunur. Bunlardan LDH-1 ve LDH-2 miyokard infarktüsü tanısında kullanılır [105]. LDH-1 infarktüsün 8-12. saatlerinde yükselmeye başlar, 1-3 günde en yüksek değere ulaşır ve 7-10. günde normale döner. LDH ve izoenzimleri, Akut miyokard infarktüsü düşünülen ancak CK aktiviteleri normale dönmüş geç gelen hastalarda önemlidir [109].

2.3.5. Miyogloblin:Tüm kas hücrelerinde bulunan ve stoplazmaya lokalizedüşük molekül ağırlıklı, hem proteindir. Miyogloblin, miyokard hasarı sonucu dolaşıma

saliverilir. İnfarktüsün başlangıcından itibaren dolaşımında 1-2. saatlerinde yükselmeye başlar, 6-7. saatlerinde pik yapar ve bu durum 24 saat sürer. CK-MB aktivitelerinden daha belirgin olarak yükselir. Miyokard infarktüsünde ilk 2 saat içinde özgüllüğü %95 ve doğruluğu %37 olarak bulunmuştur [109]. Miyokard infarktüsünde erken dönemde miyogloblin artmasına rağmen miyokard hasarı teşhisinde klinik önemi azdır çünkü miyogloblin iskelet kasının çok küçük hasarlarında daartıyor. Miyogloblinin serumda artışı infaktlı alanın yeniden kanlanmasıdan sonra hızlanır [110]. Düşük molekül ağırlıklı olduğundan dolayı idrarla atılır [111].

2.3.6. Troponinler (Tn): Kalp ve iskelet kasında bulunan bir proteindir. 3 yapıdan oluşmuştur. Bunlar asimetrik globüler protein olan troponin T (TnT), troponin I (TnI) ve troponin C (TnC) dir [43]. TnT; troponin kompleksini tropomiyozine bağlar. TnC; Ca² bağlayarak kasılmayı başlatır. TnI; aktini bağlar böylece Aktin-miyozin etkileşimini önleyerek ATP-az aktivitesini inhibe eder [43, 112]. Sadece miyokartta bulunur bu nedenle kalp hasarında TnT ye göre daha spesifiktir. Kalp kasında CK-MB'den daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır ve CK-MB'den daha erken yükselir (ilk 4 saatte) [113]. Miyokart hasarı sonrası dolaşımında 4-8 saat sonra dolaşımdaki normal değerinin üstüne çıkmaya başlar. Eğer kardiyak hasar yoksa serumda ölçülen kardiyak troponin değerleri çok düşüktür, bu nedenle CK-MB'ye göre miyokart hasarını tespitinde daha önemlidir. Bu ilk artışın nedeni troponinlerin sitoplazmik fraksiyonudur. Miyofibril bağlı fraksiyonda troponinlerin salınımı devam eder ve akut miyokart infarktüsü sonrası 5 ile 10 gün arasında TnI ve TnT artmış olarak kalır [46]. TnI unstabil anjina, miyokardiyal hasar, iskeminin veya nekrozun tanısında ve peroperatif miyokardiyal infarktüsün tanısında oldukça yararlı bilgiler sağlar [110].

Miyokart infarktüsünün ilk 6 saati içinde TnT, CK-MB ya da miyoglobline göre bir üstünlük sağlamasa da, TnT'nin duyarlılığı 10.saat ile 5gün arası %100'dür. Tanısal etkinliği ise 6 güne kadar %98'dir. TnT, kalp kası hasarının ayırıcı tanısında kullanılır [43].

2.3.7. Aspartat Aminotransferaz (AST): AST Göğüs ağrısı ortaya çıktıktan sonra 8-12 saat içinde yükselmeye başlar, 24-48 saatte pik değerine ulaşır ve 3-4 gün içinde normal değerine döner [114]. Yaygın doku dağılımı nedeni ile AST klinik tanıda yararı kısıtlı bir enzimdir. Miyokardın yanı sıra karaciğer parankim hasarı, iskelet kası

hastalığı, akut pankreatit, perikardit gibi hastalıklarda, intramüsküler enjeksiyonlar, morfin, meperidin, ve warfarin gibi ilaçların kullanımında etkilenir [115].

2.3.8. Alanin Aminotransferaz (ALT): ALT öncelikle karaciğer ve böbrekte bulunup kalp ve iskelet kasında az miktarda mevcuttur [116]. Aminotransferaz enzimlerinin gün içinde değerleri değişebilmektedir, ALT abdominal yağlanma ile koreledir [117]. Hipoglisemiye ve hipoksiye bağlı miyokardiyal hücrelerde hasar sonucu CK, CK-MB, LDH, ALP, AST ve ALT kana salınır böylece serumdaki konsantrasyonları artar [118]. Bu nedenle bu enzimler miyokard iskemisinin şiddetini gösteren spesifik diyagnostik markerlerdir, yapılan hayvan çalışmalarında İSO enjeksiyonu serumdaki bu enzimlerin düzeltilmez artışına sebep olur bu diğer makalelerde gösterilmiştir [119]. Kardiyak kas hasarında kanda AST ve ALT enzimleri yükselir [120]. Bu enzimler MI da yükselebilirler, İSO tarafından ratlarda yapılan AST ve ALT' nin artmış aktivitesi bu enzimlerin sızıntısı sonucu olmuştur [121, 122].

2.4. Kalp Yetmezliği

Kalp yetersizliği, kalbin dokuların metabolik gereksinimini karşılayacak düzeyde oksijen ihtiyacının karşılanamamasına yol açan, kardiyak yapısal veya işlevsel bozukluk şeklinde tanımlanabilir [123]. Deneysel ve klinik kalp yetmezliğinde sistolik fonksiyon üzerinde yapılan gözlemlere dayanılarak 1960'lar ve 1970'lerde mekanik pompa yetmezliğini önlemek amacıyla kardiyak kontraktileti artırıcı farmakolojik yaklaşımları teşvik etmiştir. Sistemik vazokonstriksiyonun varlığı, dolaşım yetmezliği hastalığın önemli bir bileşeni olduğunu göstermiş ve sonuçta vazodilatör tedavi başlatılmıştır. Son yıllarda yapılan deneysel ve klinik çalışmalar kalp yetmezliğinin patofizyolojisinde; nörohumoral sistem, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi ve sempatik sinir sisteminin üstlendiğini göstermektedir. Bu sistemik yanıtlar, yeni miyokart hasarına ek olarak, kan damarları, böbrekler, kaslar, kemik iliği, akciğer ve karaciğere de zarar verirler ve miyokardın elektriksel stabilitesinin bozulmasının da dahil olduğu KY ile ilişkili pek çok klinik durumdan sorumlu olan patofizyolojik kısır döngüyü oluştururlar. Bu iki anahtar sürecin engellenmesi, KY'nin etkili tedavilerinden çoğunun temelini oluşturur [124, 125].

Miyokardiyal iskemi, cerrahi ve medikal olarak oluşturulur. Kalp cerrahisi genellikle, kalbin kansız ve hareketsiz olduğu koşullarda daha güvenli yapılmaktadır.

Kalp/akciğer pompası ile sağlanan bu kansız ve hareketsiz durum kalbin beslenmesinide durdurmaktadır. Cerrahi sırasında miyokardiyal iskemi sağlarken miyositlerde olumsuz etkiler ortaya çıkmaktadır [126]. Açık kalp cerrahisinde mortalite ve morbiditenin post operatif kardiyak pompa yetersizliği ile ilgili olduğu düşünülmüştür. CABG operasyonlarında post operatif pompa yetersizliğinin iskemik kardiyak arrest ve reperfüzyon sırasında oluşan miyokardiyal hasarla ilgili olduğu uzun yılların bir sonucu olarak karşımızda güncelliğini korumaktadır.

Bu düşünce ve bilimsel verilerin ışığında çalışmalar, iskemi kavramı ve iskemi fizyopatolojisinin anlaşılması üzerine yoğunlaştırılmıştır. İskemi esnasında miyokardı koruma amacıyla geliştirilen hipopotasemik kardiyopleji solüsyonları ve hipotermimin desteği ile kalpte güvenli olarak iskemi süresi uzatılmıştır. Cerrahi teknikler ve operasyonda yapılacak işlemlerin yanında, operasyon öncesi miyokardı iskemiye daha dayanıklı hale nasıl getirebiliriz sorusu beraberinde anti iskemik ajanların ve anti oksidanların açık kalp cerrahisinde kullanılma amacını oluşturmuştur [127].

Çeşitli ilaçların ve miyokard koruma stratejilerinin gelişmesi sonucu miyokardın iskemi sırasında ve sonrasında etkilenme oranları azalmış olup bu etkiyi en iyi gösteren laboratuvar markeri olarak da troponin halen ilk sıradaki yerini korumaktadır [128].

Miyokard iskemisideneyssel olarak oluşturmak için çeşitli medikal ilaçlarkullanılarak oluşturulmuştur bunlar; isoproterenol [129], Sikolosporin A [130], Adriamisin [131] gibi ilaçlar kullanılmıştır. Biz deneyimizde isoproterenol kullanarak kalpte iskemi ve yetmezlik oluşturacağız.

2.5. İsoproterenol

İsoprotereneol Sistemik adı 4-(1-hidroksi-2-[(metiletil) amino]etil)-1,2-benzendiol hidroklorit ($C_{17}H_{17}NO_3.HCl$) ve molekül ağırlığı 242.72 gram sempatomimetik amin (katekolamin)'dir. İsoproterenol, yapısal olarak adrenaline benzer, adrenalini gibi P1 ve P2 reseptörlerini uyarır fakat, adrenalinden farklı olarak a reseptörlerini ISO etkilemez. ISO vazodilatör etkiye sahiptir. Ağız yolu ile kullanılmaz çünkü barsakta inaktive edilir. Kalp bloğunda kalp hızını arttırmak amacıyla ve pulmoner hipertansiyonlu hastalarda pulmoner vasküler rezistansı azaltmak amacıyla kullanılır. İsoproterenol aynı zamanda aerosol şeklinde inhalasyon yoluyla, astım tedavisinde ve kronik bronşit ve amfizem tedavisinde kullanılan bir ilaçtır [132, 133].

İsoproterenol ratlarda miyokart infarktüsü oluşturmak için yaygın kullanılır. İsopteranol kalp kasında infarktüs benzeri nekroz oluşturarak membran geçirgenliğinin değişmesine neden olur. Membran geçirgenliğinin bozulmasındaki değişim miyokart membran bütünlüğünü ve fonksiyonunu bozar. ISO ile oluşturulmuş miyokart infarktüsü sonrası patofizyolojik değişiklikler ile insanlarda gelişen miyokart infarktüsü sonrası değişimler benzerdir [2, 3]. ISO ile uyarılan miyokart infarktüsün mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Sıklık adenozin monofosfat (cAMP) düzeylerindeki artış, intrasellüler kalsiyum artışı ve yüksek enerjili fosfatların tüketilmesi gibi çeşitli faktörlerin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür [134, 135]. Ayrıca katekolaminlerin oksidatif metabolizmasından kaynaklanan serbest radikallerin aşırı üretimi de olası mekanizmalar arasındadır [136].

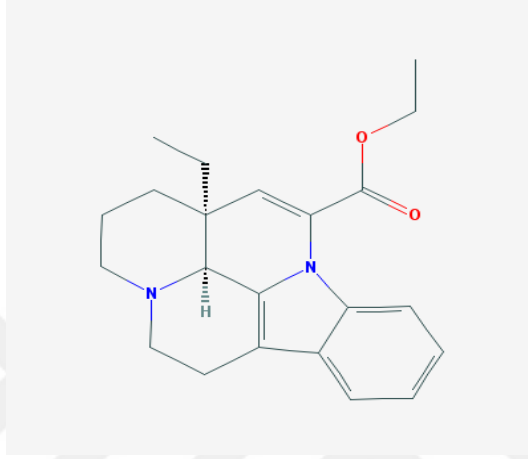
Daha önceden ratlarda cerrahi ve medikal olarak oluşturulmuş miyokard iskemi hasarının önlenmesinde çeşitli ilaçlar kullanılmıştır. Bunlardan bazıları, deksmedetomidin'in miyokard iskemi reperfüzyon üzerine etkileri [137], Rovustasin'in kalpte oluşturulan iskemi ve reperfüzyondaki koruyucu etkisi [138], trimetazidin (TMZ)' in koroner bypass sırasında oluşabilecek reperfüzyon hasarının azalttığını Fabiani 1992 yılında yaptığı çalışma ile göstermiştir [139]. Askorbik asit 'in serbest oksijen radikal temizleyicisi olarak kalp cerrahisinde kullanımı [140], diltizemin rolü, etkileri, silostazol'un etkileri çalışılmıştır. Deneysel olarak isoproterenolün kullanımıyla oluşturulan miyokard iskemi hasarının düzeltilmesinde çeşitli medikal ilaçlar kullanılmıştır. Bunlardan bazıları; Lasidipin, Ramipril ve valsartanın etkileri, kükürt dioksitin isoproterenol ile oluşturulan miyokart iskemisi üzerine etkisi. İsopteranol ile miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratlarda L-lizin'in total siyalik asit düzeylerine etkisi, isoproterenol ile miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratlarda L_Arginin'in total siyalik asit düzeylerine etkisi, isoproterenol ile miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratlarda L_Arginin'in lipit lipoprotein ve malonildialdehit düzeylerine etkisi incelenmiştir.

Bizde bu deneyimizde İsopteranol sonrası kapte oluşacak iskemi ve yetmezliğin tedavisinde vinpocetin tedavisi ve koruyucu etkisini göstereceğiz.

2.6. Vinpocetin

Vinpocetin, *lessnerperiwinkle* (küçük ceviz menekşesi) bitkisinden elde edilen güçlü bir antioksidan alkaloiddir. Kimyasal adı; etil apovincaminat, vinka alkaloid vincaminenin yarı sentetik türevidir. Vinpocetin, serebral kan akışını artıran, nöronal

fonksiyonları koruyucu etkisi olan ayrıca antiinflamatuvar özelliğe sahip, yarı sentetik bir maddedir [141]. İlk olarak Macar kimyager Csaba Szontay tarafından 1975 yılında Cezayir menekşesi bitkisinden izole edilmiştir. Vinpocetin bir alkaloid olan Voacanga tohumlarında görülebilir ve Batı Afrikada sıklıkla bulunur. Vinpocetin, bir fosfodiesteraz (PDE) tip-1 inhibitörüdür. Vazodilatatör, antiinflamatuvar, antikonvülzan, antioksidan etkileri vardır [142, 143].



Şekil 6: Vinpocetin'in Moleküler Yapısı(16).

Moleküler formülü: $C_{22}H_{26}N_2O_2$ Vinpocetin, bir fosfodiesteraz (PDE) tip-1 inhibitörüdür. Vazodilatatör, antiinflamatuvar, antikonvülzan, antioksidan etkileri vardır [142, 143].

Vinpocetin ile yapılan klinik çalışmalar sonucu, nörolojik semptomlarda, bellekteki gelişmelerde ve diğer bilişsel işlevlerde olumlu sonuçlar tespit edilmiştir. Bu sonuçlar; kapiller kan akımında ve hücrel metabolizmada artış olduğunu göstermiştir. Bu veriler aynı zamanda Yakın Kızılötesi Spektroskopisi (NIRS), Trans kraniyal Doppler (TCD) ve Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) yöntemleri kullanılarak, nöropsikolojik testlerle doğruluğu kanıtlanarak serebral perfüzyon ve parankimal oksijeni ölçmek için yapılmıştır [144, 145]. Vinpocetin; serebrovasküler hastalığın tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Vinpocetin infüzyonu, kronik serebrovasküler yetmezliği ve arteriyel hipertansiyon hastası 4865 hastayı içeren çok merkezli klinik epidemiyoloji programında değerlendirilmiştir. Veri analizinde hastaların nörolojik semptomlarının şiddetinde anlamlı bir azalma ve ($p < 0.05$) Mini mental state examination (MMSE) skorlarında iyi düzelme ($p < 0.001$) gözlemlenmiştir

[146].Son klinik çalışmada, vinpocetin ile tedavi edilen dolaşım bozukluğu ensefalopatisinde, etkilenen hasta grubunun tüm nörolojik bulgularının iyileştirildiği bildirildi. Dolaşım bozukluğusefalopatisinde 12 ay boyunca vinpocetin kullanımı klinik olarak önemli bir düzelme göstermiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tedavi edilen hastalarda geçici iskemik atakların oluşması ve inme riskinde önemli bir azalmaya neden olmuştur [147]. Kronik serebral hipoperfüzyon klinik özellikleri arasında bilişsel bozukluk ve çeşitli kökenlerden (subkortikal arteriosklerotik lökoensefalopatisi, vasküler demans, Alzheimer hastalığı, vb) organik psikiyatrik bozuklukların belirtileri vardır. Birçok hücre çalışmasında TNF- α 'yı inhibe ettiği gösterilmiştir. TNF- α 'yı indükleyen IL- 1 beta, Monocyte chemoatraktant protein-1(MCP-1) ve düz kas adezyon molekül gibi reaktanlarının yazılımını inhibe ettiği gösterilen vinpocetinin özellikle antiinflamatuvar ve antioksidan özelliği üzerinde durulmaktadır [148]. İskemi reperfüzyon hasarı tedavisi için birçok ilaç ve antioksidan maddeler denenmiş olup, halen üzerinde çalışılmaktadır. Bu çalışmamızda; antienflamatuvar, antioksidan bir madde olan *vinpocetin*in iskemik kalp reperfüzyon hasarında kalp dokusundaki enflamasyon ve oksidatif hasara karşı koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırılacaktır.



Resim 3: Lesser Periwinkle (Küçük Cezayir Menekşesi) [149].

Kaynağı:<http://naturallysavvy.com/care/could-vinpocetine-from-periwinkles-promote-brain-health> 17.02.2016 tarihli eklenmiştir.

Vinpocetine ile çalışmalar tüm dünyada yakından takip edilmekte ve konu oldukça günceldir. Birçok hücre çalışmasında TNF α 'yı inhibe ettiği gösterilmiştir. TNF α 'yı indükleyen interleukin 1 beta, monocyte chemo-attractant protein -1 (MCP-1) ve düz kas adezyon molekül gibi reaktanlarının yazılımını inhibe ettiği gösterilen

vinpocetinin özellikle anti-inflamatuar ve antioksidan özelliği üzerinde durulmaktadır [150].

Bu alışmamızda NADPH oksidaz inhibitörü olan vinpocetinin koruyucu ve tedavi edici özelliğini test etmek için, izoproterenol ile oluşturulmuş MI modelinde kalp incelenecektir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi 20.01.2015 tarih ve 2015/A-12 Protokol no'lu Etik Kurulu onayı ile izin alındıktan sonra gerçekleştirildi. Çalışmamız ayrıca İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklendi (Proje No: BAP-2015/42). Bu çalışmamızda, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilmiş ve standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1 $^{\circ}\text{C}$, % 60 nem ortamında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık siklusunda) tutulmuş, ad-libitum olarak beslenen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip rastgele seçilen sekizerli 4 gruptan oluşan toplam 32 adet Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Hayvan atıklarının uzaklaştırılması, su ve yemlerinin sağlanması, kafeslerin temizlenmesi ve kontrolü merkezin veteriner hekimi ve personelleri tarafından yapıldı. Sağlık Araştırmaları Ulusal Topluluğunun "Laboratuvar hayvanları bakım prensipleri" ve Laboratuvar Hayvan Kaynakları Enstitüsü ile Ulusal Sağlık Enstitüsünün yayınladığı, "Laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanım kılavuzu" doğrultusunda deney hayvanları çalışması yapıldı. Çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi, Turgut Özal Tıp Merkezi Merkez Laboratuvarı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.1. Deney Grupları

Grup 1) SHAM grubu; (n=8) : ama herhangi bir ilaç uygulanmadı, 5. gün EKG si çekildi kalp hızı ve ortalama kan basıncı ölçüldü deney sonlandırıldı

Grup 2) İSO grubu;(n=8)1. Ve 2. Gün İSO 120mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla verildi 3.-4. Gün herhangi bir ilaç verilmedi 5. gün EKG si çekildi kalp hızı ve ortalama kan basıncı ölçüldü deney sonlandırıldı.

Grup 3) Vin+İSO grubu; (n=8)1. ve 2. Gün vinpocetin 20mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla vinpocetine verildi 30 dakika sonra İSO 120mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla verildi, 3.-4. Gün herhangi bir ilaç verilmedi, 5. gün EKG si çekildi kalp hızı ve ortalama kan basıncı ölçüldü deney sonlandırıldı.

Grup 4) İSO+Vin grubu;(n=8)1. ve 2. Gün İSO 120mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla verildi, 3.-4. Gün 20mg/kg intraperitoneal (i.p.) yolla vinpocetine verildi, 5. gün EKG si çekildi kalp hızı ve ortalama kan basıncı ölçüldüdeney sonlandırıldı

3.2.Cerrahi İşlem

Operasyondan önce ratlara, anestezi için % 2'lik ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer) 10 mg/kg ve ketamin hidroklorür (Ketalar, Phizer) 50 mg/kg i.p. yolla uygulandı. Ameliyat masasına supin pozisyonunda yatırıldı, EKG leri çekildi, kalp hızı ve ortalama kan basıncı ölçüldü.Ardından % 10 povidon-iyot ve steril gazlı bez ile operasyon alanı temizlendi. Sonra toraksa yapılan 3 cm'lik median insizyonla cilt, ciltaltı, fascia ve toraks açıldı. Karotit artere kanül takılarak ortalama kan basıncı ölçüldü. Biyokimyasal analiz için tüm gruplardan intrakardiak ponksiyonla kan örneği alındı. Alınan 4-5 cc kan, santrüfuj edilip serum elde edildikten sonra, biyokimyasal ölçüm zamanına kadar -30 °C'de muhafaza edildi. Çıkarılan vertikal ve horizontal olarak ikiye ayırdı % 10 formol içeren flakonlara alınarak +4 °C'de saklandı. Tüm denekler işlem sonunda sakrifiye edildi.

3.3. Biyokimyasal Değerlendirme

Deneklerden alınan 5 cc kan örnekleri vakumlu jelli tüplere (BD Vacutainer SST, UK) konularak 4000 rpm devirde 15 dk santrifuj edildi. Elde edilen serumlar İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi-Merkez Laboratuvarındaki cihazlarda; miyogloblin(Referans Aralığı: 14-70 ng/ml), AST (Referans Aralığı: 5-34 U/L), ALT (Referans Aralığı: 0-55 U/L), LDH (Referans Aralığı: 125-243 U/L), CK (Referans Aralığı: 29-200 U/L) otomatik analyser sistemiyle çalışıldı.

3.4.Histolojik Metodlar

Deney sonunda alınan kalp dokuları %10'luk formaldehit içerisinde tespit edildi. Tespit sonunda dokular, dehidrasyon ve parlatma işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirilen kesitlere genel histolojik değerlendirmeler için hematoksilin-eozin (H-E), bağ doku gözlemlemek için Gomori' nin üçlü boyama metodu uygulandı.

H-E boyama metodu uygulanan kesitlerde kardiomyositlerde; organizasyon bozukluğu, myofibril kaybı, eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik nukleuslu kardiomyositler; Gomori'nin üçlü boyama metodu uygulanan kesitlerde ise bağ doku yoğunluğu değerlendirildi. (Billingham et al. 1978) **(Billingham M. Use of the myocardial biopsy to monitor cardiotoxicity. Cancer Treat Rep. 1978 Oct;62(10):1607)**, Hasarın yaygınlığına göre;

0: Normal

1: Kardiomyositlerde organizasyon bozukluğu, miyofibril kaybı, eozinofilik sitoplazma ve piknotik nukleuslu hücreler ve bağ doku artışı % 25'den az

2: Benzer değişikliklerin izlendiği kardiomyosit oranı %25 ile % 50 arasında

3: Benzer değişikliklerin izlendiği kardiomyosit oranı % 50 ile % 75 arasında

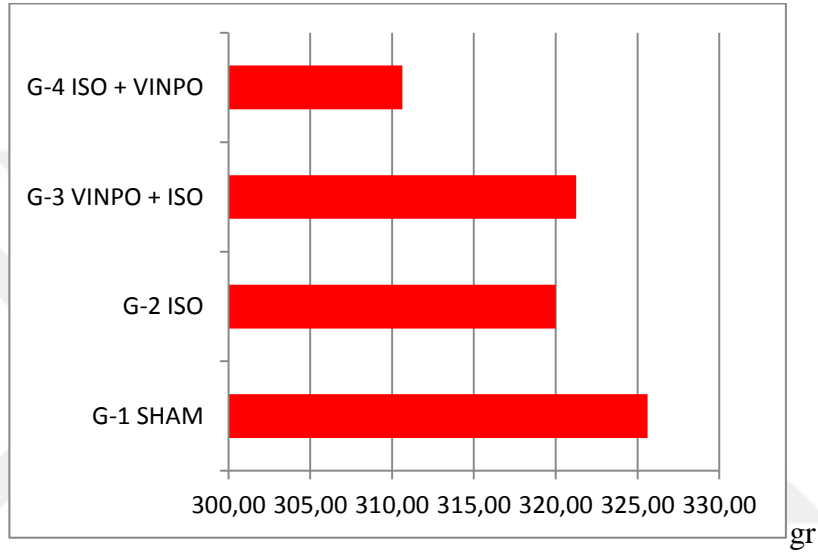
4: Benzer değişikliklerin izlendiği kardiomyosit oranı % 75'den fazla

şeklinde numaralandırıldı. Her kesitten rastgele 10 alan (X20 objektif büyütmesi altında) Leica Q Win görüntü analiz sistemi kullanılarak incelendi.

4. BULGULAR

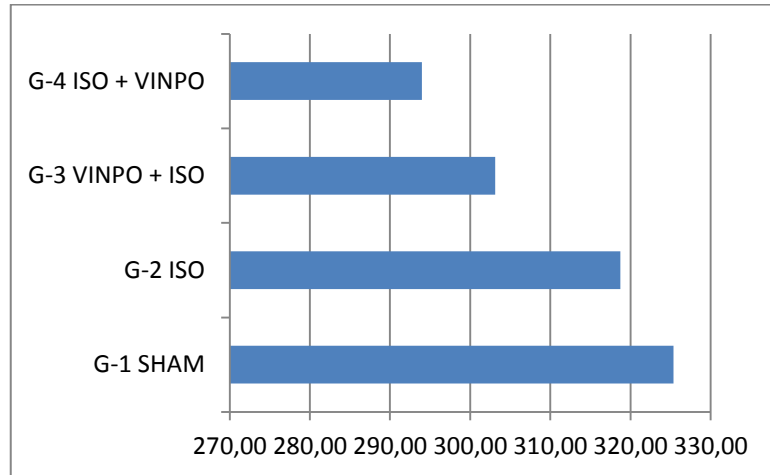
4.1. Deney Hayvanlarının Özellikleri:

4.1.1. Deney öncesi ortalama rat ağırlıkları: Grup 1 (SHAM) için 325.63 gr, Grup 2 (İSO) için 320.0 gr, Grup 3 (VİNPO+İSO) için 321.25gr ve Grup 4 (İSO+VİNPO) için 310.63gr olarak ölçüldü.



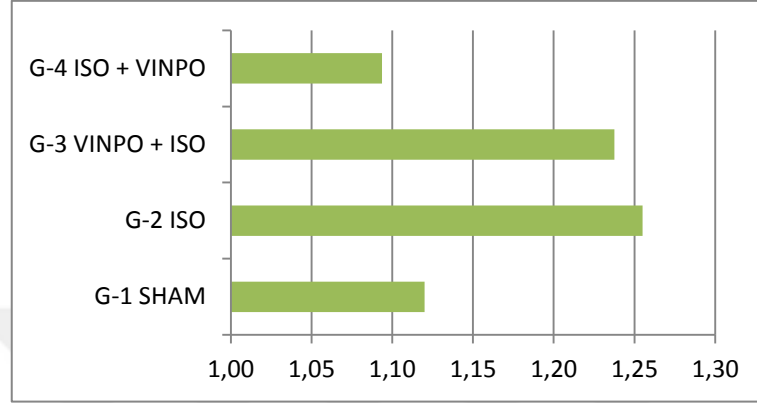
Grafik 1: Deney öncesi ratların ortalama ağırlıkları.

4.1.2. Deney sonrası ortalama rat ağırlıkları: Grup 1 (SHAM) için 325.38 gr, Grup 2 (İSO) için 318.75 gr, Grup 3 (VİNPO+İSO) için 303.13 gr ve Grup 4 (İSO+VİNPO) için 294.00 grolarak ölçüldü.



Grafik 2: Deney sonrası ratların ortalama ağırlıkları.

4.1.3. Ratların ortalama kalp ağırlıkları: Grup 1 (SHAM) için 1.12gr, Grup 2 (İSO) için 1.25gr, Grup 3 (VİNPO+İSO) için 1.24 gr ve Grup 4 (İSO+VİNPO) için 1.09 gr olarak ölçüldü.



Grafik 3: Ratların Ortalama Kalp Ağırlığı

4.2. Biyokimyasal Analizler

4.2.1. İstatistiksel Analiz

Veriler medyan (min-maks) ile verildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro - Wilk testi ile yapıldı. Analizlerde parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Kruskal-Wallis testi sonrası çoklu karşılaştırmalar ise Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Analizlerde IBM SPSS Statistics 22.0 programı kullanıldı.

4.2.2. Serum Myoglobin, AST, ALT, LDH ve CK Değerleri

Tablo 2: Serumdaki Myoglobin, AST, ALT, LDH, CK Değerleri (median, min-max) ve p değeri

Değişkenler	Gruplar				p
	SHAM (n=8)	ISO (n=8)	VINPO+ISO (n=8)	ISO+VINPO (n=8)	
MIYOGLOBIN (ng/L)	452.4 (94.1 - 762.6)	194.9 (6.9 - 562.3)	127.6 (82.9 - 832.4)	170.5 (52 - 440.9)	0.267
AST (U/L)	157 (89 - 321)	118 (56 - 167)	154 (65 - 2244)	114 (66 - 253)	0.431
ALT (U/L)	53 (37 - 123)	38 ^b (25 - 60)	55 (50 - 177)	54 (31 - 80)	0.031
LDH (U/L)	919 (335 - 1515)	1039 (300 - 1933)	827 (58 - 1935)	1425 (130 - 4295)	0.530
CK (U/L)	1813 (1332 - 2349)	884 (317 - 3509)	1324 (217 - 2989)	1463 (251 - 2726)	0.220

p<0.05 ise anlamlı (gruplar arası fark var) kabul edildi; a: ISO 'ya göre farklıdır; b: VINPO +ISO 'ya göre farklıdır; c: ISO+VINPO 'ya göre farklıdır

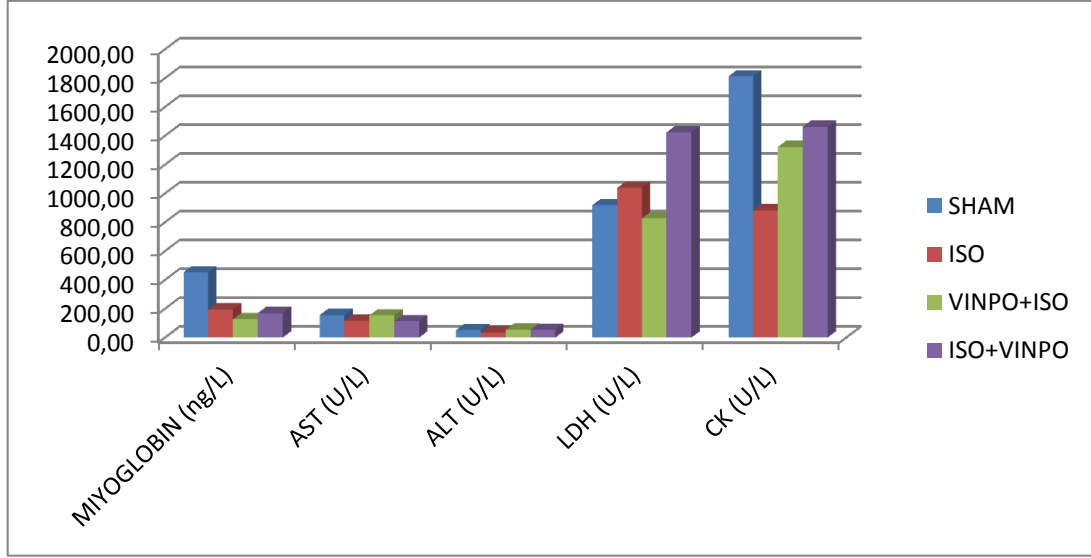
Ratlarda ölçülen Miyoglobin değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında; SHAM grubunda 452.4 ng/L, İSO grubunda 194.9 ng/L, VINPO+İSO grubunda 127.6 ng/L, İSO+VİNPO grubunda 170.5 ng/L olup gruplar arasında anlamlı fark yoktur (p>0.05).

Ratlarda ölçülen AST değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında; SHAM grubunda 157 U/L, İSO grubunda 118 U/L, VINPO+İSO grubunda 154 U/L, İSO+VİNPO grubunda 114 U/L olup gruplar arasında anlamlı fark yoktur (p>0.05).

Ratlarda ölçülen ALT değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında; SHAM grubunda 53 U/L, İSO grubunda 38 U/L, VINPO+İSO grubunda 55 U/L, İSO+VİNPO grubunda 54 U/L olarak ölçülmüştür. Gruplar arasında İSO grubundaki ALT değeri ile VİNPO+İSO grubundaki ALT değerleri açısından anlamlı fark vardır (p<0.05).

Ratlarda ölçülen LDH değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında; SHAM grubunda 919 U/L, İSO grubunda 1039 U/L, VINPO+İSO grubunda 827 U/L, İSO+VİNPO grubunda 1425 U/L olup gruplar arasında anlamlı fark yoktur (p>0.05).

Ratlarda ölçülen CK değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında; SHAM grubunda 1813 U/L, İSO grubunda 884 U/L, VINPO+İSO grubunda 1324 U/L, İSO+VİNPO grubunda 1463 U/L olup gruplar arasında anlamlı fark yoktur (p>0.05).



Grafik 4: Tüm Gruplardaki serum enzim düzeyleri ve miyogloblin Ortalamaları.

4.2.3. Doku Değişkenleri

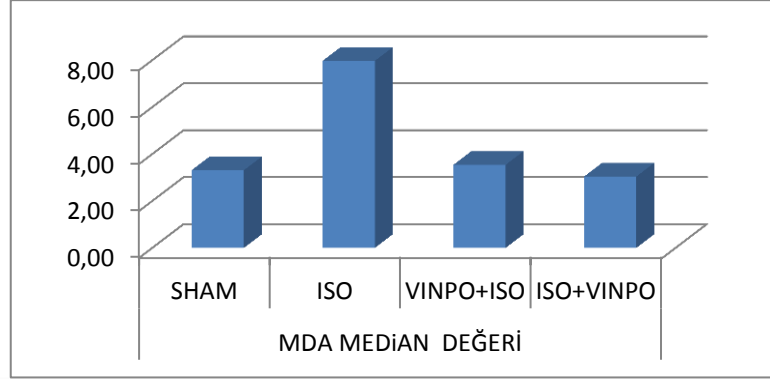
Tablo 3: Gruplardaki doku değişkenlerinin median (min-mx) değeri ve p değeri.

Değişkenler	Gruplar				p
	SHAM (n=8)	ISO (n=8)	VINPO+ISO (n=8)	ISO+VINPO (n=8)	
MDA(nmol/g doku)	3.31 ^a (2.44 - 4.18)	7.97 ^{b,c} (7.29 - 9.8)	3.54 (2.46 - 5.1)	3.04 (2.11 - 3.67)	<0.001
SOD(U/mg protein)	1.75 ^a (1.13 - 2.32)	0.82 ^{b,c} (0.52 - 1.05)	1.91 (1.43 - 2.44)	1.59 (1.24 - 2.55)	<0.001
CAT(k/mg protein)	27.08 ^a (18.2 - 34.88)	15.56 ^{b,c} (13.88 - 19.39)	29.49 (20.14 - 42.77)	26.29 (18.58 - 36.83)	0.001
GPX(U/mg protein)	260.38 ^a (228.3 - 325.65)	151.9 ^{b,c} (111.97 - 185.86)	302.34 (220.52 - 353.5)	242.36 (205.9 - 407.12)	<0.001
GSH(μmol/g doku)	28.73 ^a (22.94 - 46.92)	14.24 ^{b,c} (12.04 - 18.71)	30.81 (28.06 - 32.58)	30.02 (27.79 - 34.39)	<0.001
TOS(μmol H2O2Eqv / L)	4.88 ^a (3.87 - 6.15)	8.1 ^{b,c} (7.41 - 10.35)	5.01 (4.38 - 6.66)	5.55 (4.44 - 6.48)	<0.001
TAS(Trolox equivalent/L)	0.35 (0.24 - 0.59)	0.18 (0.1 - 0.48)	0.26 (0.11 - 0.49)	0.26 (0.18 - 0.48)	0.063
OSI(AU)	14.99 ^a (6.72 - 22.23)	45.12 (16.96 - 77.45)	19.85 (10.14 - 42)	23.18 (9.8 - 29.71)	0.001

p<0.05 ise anlamlı (gruplar arası fark var) kabul edildi. a: ISO 'ya göre farklıdır; b: VINPO +ISO 'ya göre farklıdır; c: ISO+VINPO 'ya göre farklıdır.

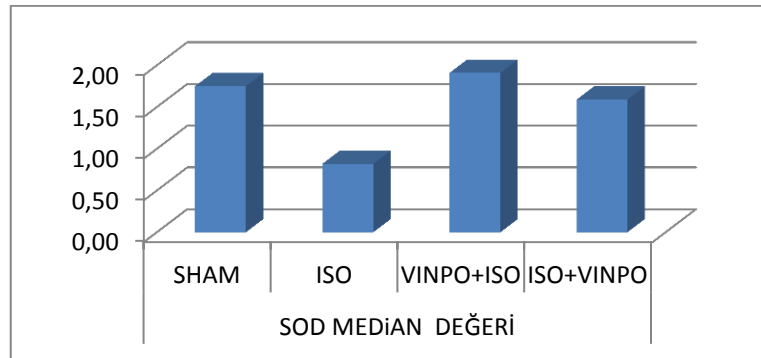
4.2.3.1. Doku MDA Değerleri; Doku MDA düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Ohkawa ve arkadaşları tarafından önerilen metoda göre yapıldı [151].Doku MDA tayini; aerobik şartlar altında ve pH:3,5'te, doku homojenatının kaynar su banyosunda 1 saat inkubasyonu sonucu, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ölçülen MDA değerleri arasında gruplar arasında karşılaştırıldığında SHAM grubunda 3.31 (nmol/g doku) olarak ölçüldü

buda İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). MDA değeri ayrıca İSO grubunda 7.97(nmol/g doku) olarak ölçüldü buda İSO+VİNPO ve VİNPO+İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$).



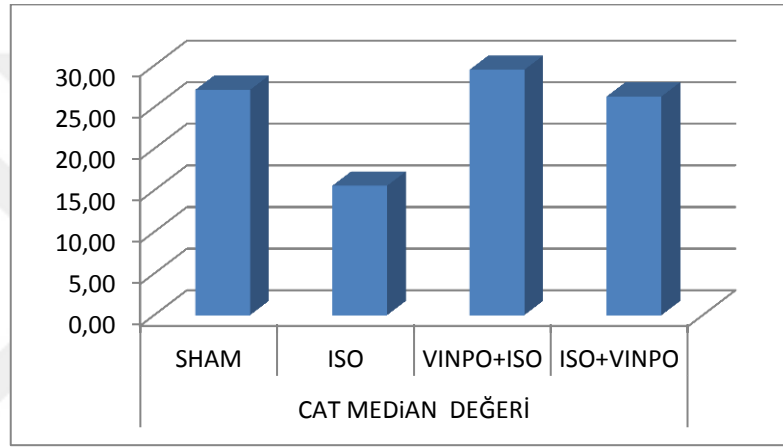
Grafik 5: MDA Median değeri

4.2.3.2. Doku SOD Değerleri; Dokulardaki SOD enzim aktivitesi Sun ve arkadaşları[152] tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı. Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Oluşan süperoksit radikallerinin NBT'yi indirgemesi ile oluşan renkli formazon spektrofotometrik olarak ölçülür.Çalışmamızda ölçülen SOD değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında SHAM grubunda 1.75 (U/mg protein) olarak ölçüldü buda İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). SOD değeri ayrıca İSO grubunda 0.82 (U/mg protein) olarak ölçüldü buda İSO+VİNPO ve VİNPO+İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$).



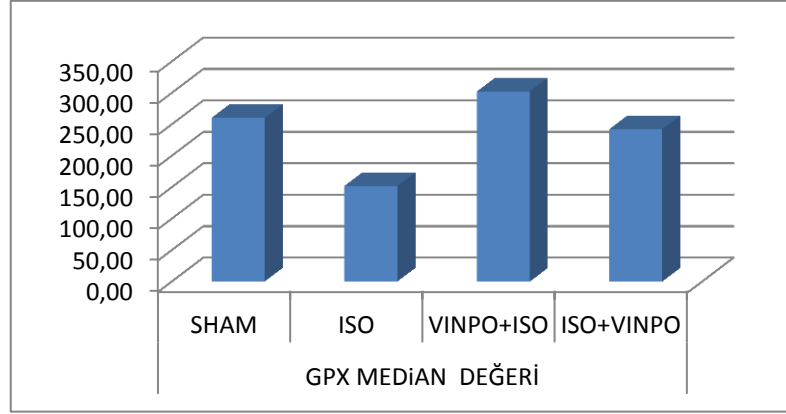
Grafik 6: SOD Median değeri

4.2.3.3. Doku CAT Değerleri; Dokulardaki CAT enzim aktivitelerinin tayini Aebi [153] tarafından tarif edilen metoda göre yapıldı. Hidrojen peroksit, 240 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermektedir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂'nin CAT enzimi tarafından parçalanması, UV spektrumunda bir absorbans azalması olarak takip edilir. Çalışmamızda ölçülen CAT değerlerigruplar arasında karşılaştırıldığında SHAM grubunda 27.08(k/mg protein) olarak ölçüldü böylece İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi (p<0.05). CAT değeri ayrıca İSO grubunda 15.56 (k/mg protein)olarak ölçüldü buda İSO+VİNPO ve VİNPO+İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi (p<0.05).



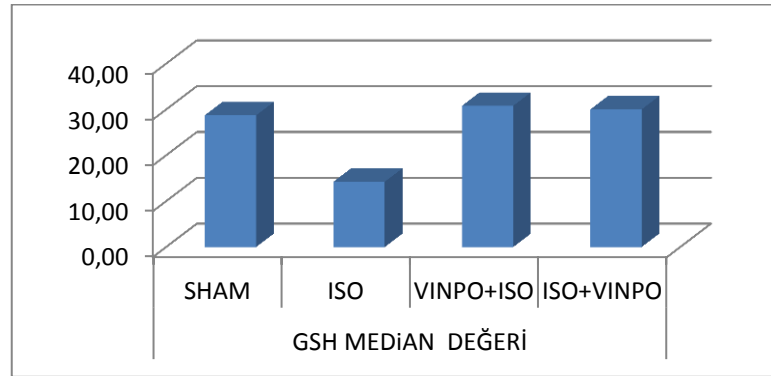
Grafik 7: CAT Median değeri

4.2.3.4. Doku GPX Değerleri; GPx aktivitesi düzeylerinin ölçümü Paglia'nın tarif ettiği yöntemle yapıldı. Çalışmamızda ölçülen GPX değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında SHAM grubunda 260.38 (μmol/g doku) olarak ölçüldü böylece İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi (p<0.05). GPX değeri ayrıca İSO grubunda 151.9 (μmol/g doku) olarak ölçüldü buda İSO+VİNPO ve VİNPO+İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi (p<0.05).



Grafik 8: GPX Median değeri

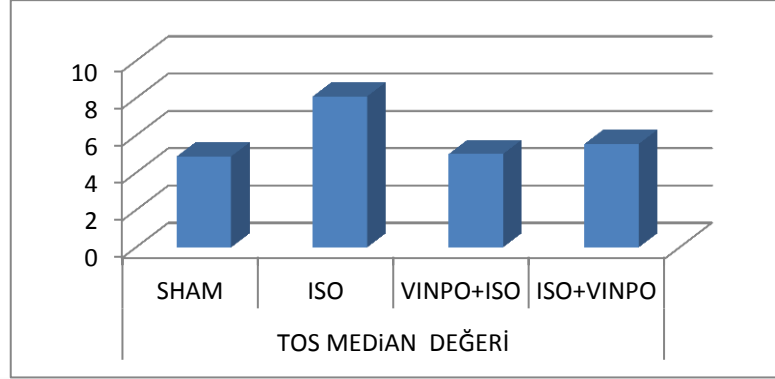
4.2.3.5. Doku Redükte Glutasyon (GSH) Değerleri; Dokulardaki GSH aktiviteleri Ellman[85] tarafından ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim metodu olarak tanımlanan yöntemle göre tayin edildi. 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfidril bileşikler tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks oluşturur. Bu sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda ölçülerek GSH aktivitesi saptanır. Çalışmamızda ölçülen GSH değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında SHAM grubunda 28.73 ($\mu\text{mol/g}$ doku) olarak ölçüldü böylece İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$). GSH değeri ayrıca İSO grubunda 14.24 ($\mu\text{mol/g}$ doku) olarak ölçüldü buda İSO+VİNPO ve VİNPO+İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi ($p < 0.05$).



Grafik 9: GSH Median değeri

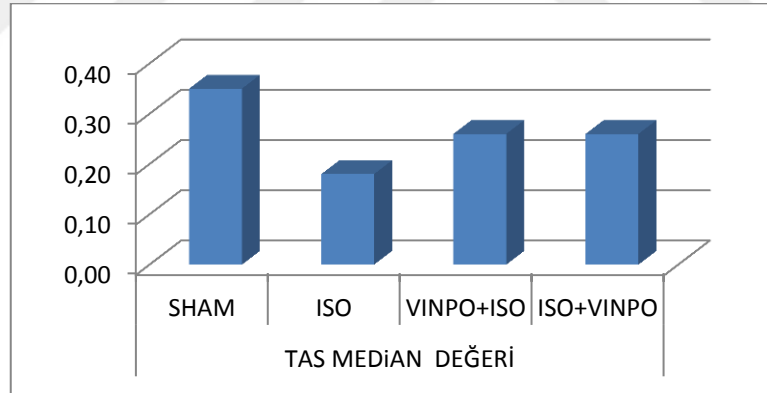
4.2.3.6. Doku Total Oksidan Seviyesi (TOS) ölçümü; Hidrojen peroksit ile kalibre edilen sonuçlar $\text{nmol H}_2\text{O}_2$ Eq/mg protein olarak belirtildi, spektrofotometrik olarak ölçüldü. Çalışmamızda ölçülen TOS değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında SHAM grubunda 4.88 ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Eqv} / \text{L}$) olarak ölçüldü böylece İSO grubuna göre

anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). TOS değeri ayrıca İSO grubunda 8.1($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Eqv / L}$) olarak ölçüldü buda İSO+VİNPO ve VİNPO+İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$).



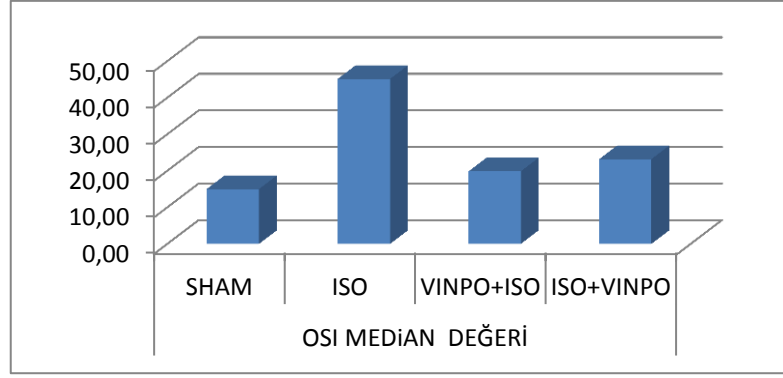
Grafik 10: TOS Median değeri

4.2.3.7. Doku Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Ölçümü; Spektrofotometrik yöntemle ölçüldü ve Trolox Equiv./L olarak ifade edildi. Çalışmamızdaki tüm gruplar arasında TAS değeri açısından anlamlı bir fark yoktu ($P>0.05$).



Grafik 11: TAS Median değeri

4.2.3.8. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ);TOS'un TAS kapasitesine bölünmesiyle hesaplandı ve $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/ \text{mmol Trolox}$ olarak ifade edildi. Çalışmamızda ölçülen OSİ değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında SHAM grubunda 14.99 (6.72 - 22.23) (AU) olarak ölçüldü İSO grubunda ise; 45.12 (16.96 - 77.45) olarak ölçüldü böylece sadece İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). OSİ değerleri diğer gruplarla kıyaslandığında ise anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Grafik 12: OSİ Median değeri

4.3. Kalp Hızı, Ortalama Kan Basıncı ve Ekg Değişiklikleri

Tablo 4: Grupların kalp hızı, ortalama kan basıncı ve EKG değişikliklerinin median (min-mx) değeri, ortalama değeri ve p değeri

Değişkenler	Gruplar				p
	SHAM (n=8)	ISO (n=8)	VINPO+ISO (n=8)	ISO+VINPO (n=8)	
Kalp hızı	229.500 ^a (220-310)	394 ^{b,c} (350-542)	219.500 (189-275)	210 (154-305)	<0.001
Ortalama kan basıncı	90 ^a (76-93)	111 ^{b,c} (100-130)	84 (77-105)	80 (73-92)	<0.001
PR	44 ^a (40-48)	55 ^{b,c} (48-70)	44 (40-44)	44 (36-54)	0.001
QRS	68 ^a (58-88)	109 ^{b,c} (90-132)	70 (52-98)	66 (54-98)	0.001
QT	113.500 ^a (100-120)	175 ^{b,c} (150-194)	114 (100-126)	115 (106-120)	<0.001

a: ISO 'ya göre farklıdır; b: VIN +ISO 'ya göre farklıdır; c: ISO+VIN 'a göre farklıdır.

4.3.1. Ratların cerrahi işlem öncesi tespit edilen kalp hızları değerleri incelendiğinde;

SHAM grubunda;229.500 (220-310) beats/min olup İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edilmiştir(p<0.05).

İSO grubunda;394 (350-542) beats/min ölçülmüş olup VINPO+İSO ve İSO+VINPO grubuna göre anlamlı fark tespit edilmiştir(p<0.05).

VİNPO+İSO; grubunda 219.500 (189-275) beats/min olarak ölçülmüştür.

İSO+VİNPO grubunda ise;210 (154-305) beats/min olarak tespit edilmiştir.

4.3.2. Yine cerrahi işlem öncesi ölçülen ortalama kan basıncı değerleri incelendiğinde;

SHAM grubunda,90 (76-93) mmHg ölçülmüş olup İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edilmiştir($p<0.05$).

İSO grubunda,111 (100-130) mmHg ölçülmüş olup VİNPO+İSO ve İSO+VİNPO grubuna göre anlamlı fark tespit edilmiştir($p<0.05$).

VİNPO+İSO grubunda,84 (77-105) mmHg olarak ölçülmüştür

İSO+VİNPO grubunda ise; 80 (73-92) mmHgolarak ölçülmüştür

4.3.3. Ratların cerrahi işlem öncesi çekilen EKG leri incelendiğinde;

SHAM grubunda; PR mesafesinin 44 (40-48) ms, QRS mesafesinin 68 (58-88) ms, QT mesafesinin ise 113.500 (100-120) ms olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan bu değerler İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edilmiştir($p<0.05$).

İSO grubunda; PR mesafesinin 55 (48-70) ms, QRS mesafesinin 109(90-132) ms, QT mesafesinin ise 175 (150-194) ms olarak hesaplanmıştır.Hesaplanan bu değerler VİNPO+İSO ve İSO+VİNPO grubuna göre anlamlı fark tespit edilmiştir($p<0.05$).

VİNPO+İSO grubunda; PR mesafesinin 44 (40-44) ms, QRS mesafesinin 70 (52-98) ms, QT mesafesinin ise 114 (100-126) ms olarak hesaplanmıştır.

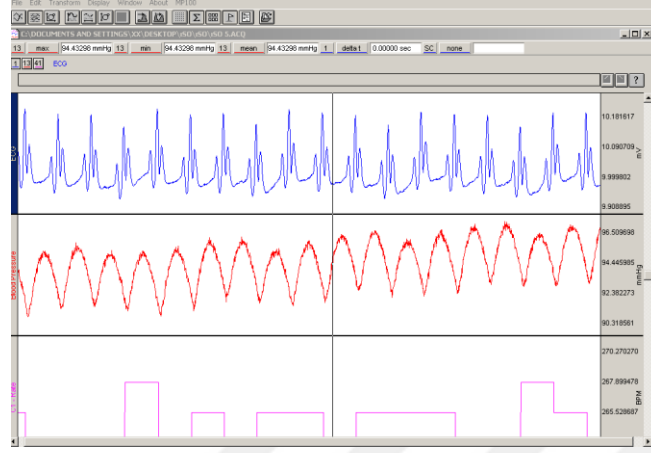
İSO+VİNPO grubunda; ; PR mesafesinin 55 (48-70) ms, QRS mesafesinin 66 (54-98) ms, QT mesafesinin ise 115 (106-120) ms olarak hesaplanmıştır.

Tablo 5: Gruplar arasındaki EKG' de ST depresyonu

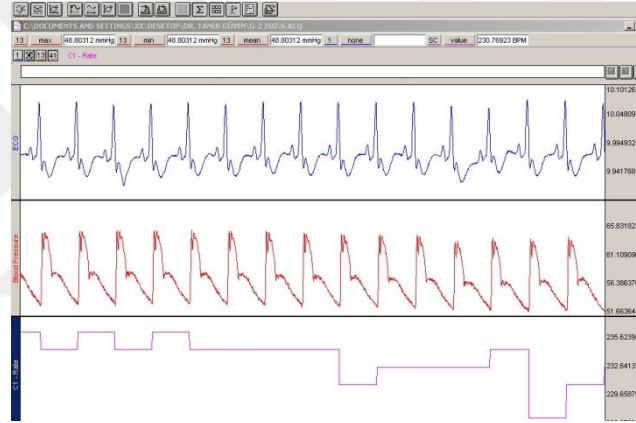
Gruplar	n	ST Depression
1.SHAM	8	1
2.ISO	8	7
3.VINPO+ISO	8	1
4. ISO+VINPO	8	1

Ratların cerrahi işlem öncesi çekilen EKG leri incelendiğinde SHAM grubunda sadece 1 ratta ST depresyonu olduğu, İSO grubunda 7 adet ratta ST depresyonu olduğu,

VİNPO+İSO grubunda sadece 1 ratta ST depresyonu olduğu, İSO+VİNPO grubunda ise yine sadece 1 adet ST depresyonu olduğu tespit edildi.



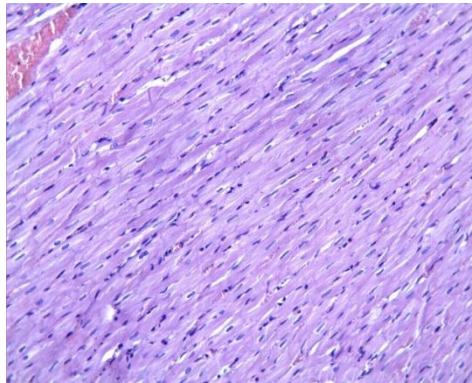
Resim 4:Ratlarda normal EKG görüntüsü



Resim 5: Ratlarda İskemiye bağlı ST depresyonu görüntüsü

4.4. Histolojik Bulgular

SHAM grubunda longitudinal seyirli kas lifleri, oval nukleuslu ve merkezi yerleşimli nukleusları ile normal histolojik yapıda izlendi (Resim 1).

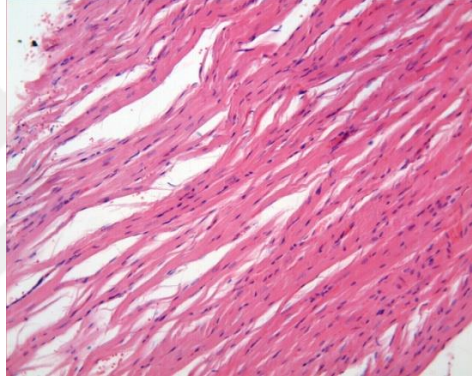


Resim 1: SHAM grubu; longitudinal seyirli myokardial kas lifleri sağlam olarak izlenmekte. H-E X20.

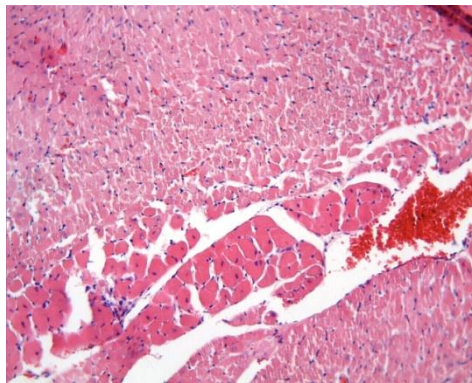


Resim 2: SHAM grubu; myokardialkas lifleri düzenli olarak izlenmekte. Gomori X20.

İSO grubunda kas liflerinin organizasyonları bozulmuş ve yer yer intersellüler ödem nedeniyle birbirlerinden ayrılmışlardı (Resim 3).

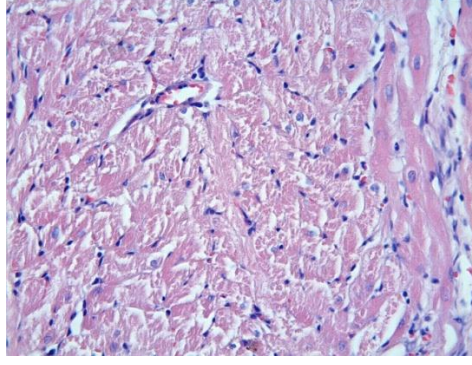


Resim 3: İSO grubu; kardiomyositlerin organizasyonu bozulmuş ve yer yer birbirlerinden ayrılmış olarak gözlenmekte (yıldız). H-EX20.



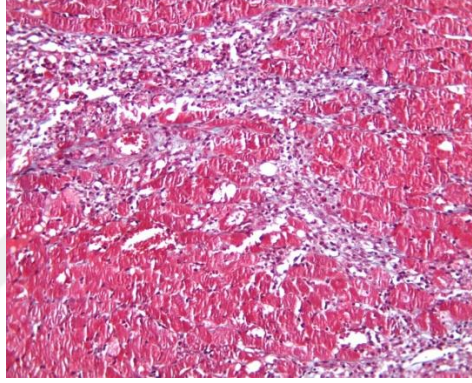
Resim 4: İSO grubu; çevresindeki sağlam kardiomyositlerden eozinofilik sitoplazması ve koyu-piknotik nükleusları ile ayrılan hücreler (oklar). H-E X20.

Ayrıca kardiomyosit sitoplazmasında, myofibrillerin homojen dağılımının bozulduğu ve içerisinde miyofibrillerin bulunmadığı sınırları düzensiz alanlar tespit edildi (Resim 5).



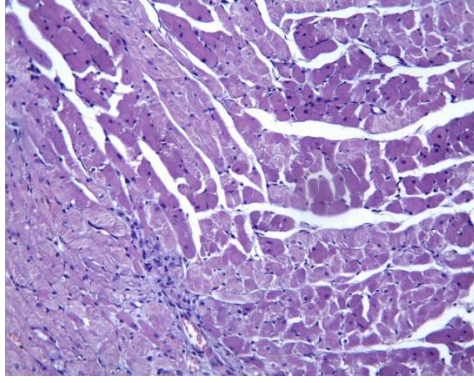
Resim 5: İSO grubu; myofibril kaybı izlenen kardiomyositler (oklar). H-E X40.

Bu grupta dikkat çeken diğer bir bulgu, kas lifleri ve damar çevresinde izlenen bağ doku artışıydı (Resim 6).

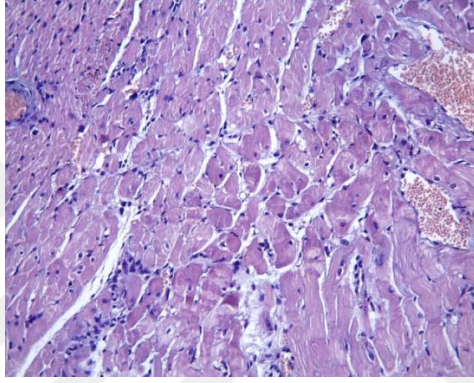


Resim 6: İSO grubu;kardiomyositler arasında ve damar duvarında izlenen bağ doku artışı (oklar).
Gomori boyama metodu X20.

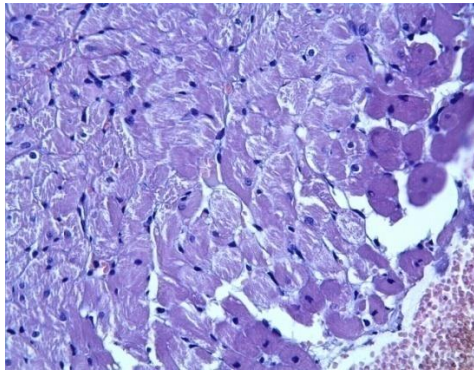
VİN+İSO ve İSO+VİN gruplarında izlenen histopatolojik değişiklikler, İSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldı ($p < 0.05$). Bu gruplarda da yer yer asidofil sitoplazmalı ve piknotik nukleuslu kas liflerine ve myofibril kaybına rastlandı (Resimler 7, 8, 9 ve 10).



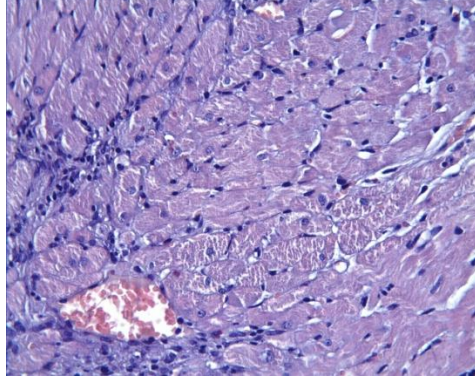
Resim 7: ISO+VİN; eozinofil sitoplazmalı ve piknotik nukleuslu kardiomyositlerin görünümü (oklar).
H-E X20.



Resim 8: VİN+İSO; eozinofil sitoplazmalı ve piknotik nukleuslu kardiomyositlerin yaygınlığı, ISO grubuna göre azalmış olarak izlenmekte. H-EX20.

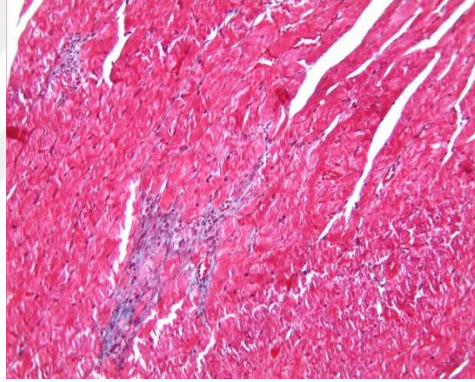


Resim 9:ISO+VİN; myofibril yapısı sağlam görünen kardiomyositlerin arasında (ok başı), myofibril kaybı izlenen kardiomyositler (oklar). H-EX40.

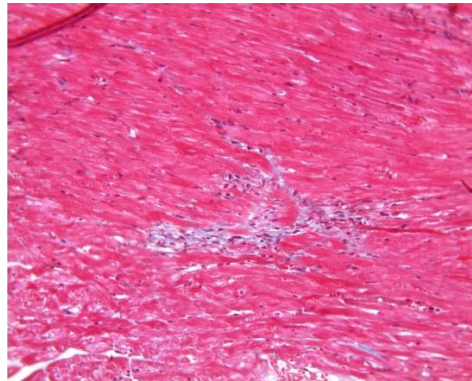


Resim 10: VIN+ISO; myofibril kaybı izlenen hücreler (oklar). H-EX40.

Bağ doku artışı; ISO+VIN ve VIN+ISO gruplarında, ISO grubuna göre daha sınırlı bir alanda izlendi. Histopatolojik skor sonuçlarına göre; isoproterenolün neden olduğu bağ doku artışını önlemede, vinpocetinin isoproterenolden önce verilmesi, sonra verilmesine göre daha etkili bulundu (Resimler 11 ve 12).



Resim 11: ISO+VIN: ISO grubuna göre daha sınırlı bir alanda izlenen bağ doku oluşumu (oklar).
Gomori boyama metodu X20.



Resim 12: VIN+ISO; ISO+VIN grubuna göre daha lokal bir alanda bağ doku oluşumu izlenmekte.
Gomori boyama metodu X20.

4.4.1. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, SPSS istatistiksel yazılım programı (SPSS for Windows version 17) ile yapıldı. Bütün veriler $AO \pm SD$ olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Table 6: Grupların histolojik skorları.

Gruplar	Miyofibril Kaybı	Disorganizasyon	Eozinofilit	Fibrozis
SHAM	0.07 ± 0.26	0.14 ± 0.35	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
ISO	1.08 ± 0.79^a	1.03 ± 0.90^a	0.93 ± 0.86^a	0.87 ± 0.91^a
ISO+VIN	0.29 ± 0.46^b	0.30 ± 0.46^b	0.33 ± 0.63^b	0.44 ± 0.56^b
VIN+ISO	0.22 ± 0.45^b	0.23 ± 0.46^b	0.17 ± 0.38^b	$0.21 \pm 0.48^{b,c}$

^aKontrol grubuna göre anlamlı artış.

^bISO grubuna göre anlamlı azalış.

^cISO+VIN grubuna göre anlamlı azalış.

Tablo 7: Grupların histolojik P değerleri

	SHAM-ISO	ISO-ISO+VIN	ISO-VIN+ISO	ISO+VIN-VIN+ISO
Miyofibril Kaybı	0.001	0.001	0.001	0.288
Disorganizasyon	0.001	0.001	0.001	0.273
Eozinofilit	0.001	0.001	0.001	0.212
Fibrozis	0.001	0.008	0.001	0.005

5. TARTIŞMA

Miyokart infarktüsü sanayileşmiş toplumlarda ve ülkemizde hem morbidite hemde mortalite açısından en önemli nedenlerdendir, miyokart infarktüsü; yetersiz doku perfüzyonuna bağlı uzamış iskemi sonucu meydana gelen irreversibl miyokart hücre hasarı ve nekrozu olarak tanımlanır [46].

Son yıllarda en sık görülen hastalıklardan biri Akut miyokard infarktüsü (AMI) olup, ilerleyen teknolojinin birtakım olumsuz yaşam şartlarından etkilenmiştir. Miyokard infarktüsü ateroskleroz nedeniyle daha önce daralmış koroner arterin trombotik tıkanması ile kan akımının ani kesilmesi sonucunda ortaya çıkar. Bu tıkanma ile oluşan miyokardial hasar; damarın ne oranda tıkalı olduğuna, koroner tıkanmanın süresine, hasarlı damarın beslediği alana, kolleterallerle hasarlı bölgeye sağlanan kanın miktarına, tıkayıcı trombüsün kendiliğinden lizisini sağlayan etkenlere, miyokardın oksijen gereksinimine ve tıkanmış koroner arterde akım yeniden sağlandığında infarktli alanda miyokardial perfüzyonun yeterliliğine bağlıdır [1].

İsoproterenol (ISO), yüksek dozlarda akut miyokart infarktüsü oluşturan bir P-adrenerjik agonisttir. ISO ile uyarılmış lezyon, miyokardiyal nekroz olarak tanımlanır ve hipoksik/iskemik kalp hastalığında görülen özellikleri gösterir [2, 3]. ISO ile uyarılan miyokardiyal nekroz miyokardiyal membran bütünlüğü ve fonksiyon kaybı ile karakterize değişiklikleri içerir. Lipit metabolizmasında değişikliklerin ortaya çıkması da ISO'nun karakteristik etkilerinden biridir [4, 5]. ISO aynı zamanda serbest radikal oluşumunu ve lipit peroksidasyonunu da uyarır, bu da miyokardiyal membranların geri dönüşümsüz hasarına neden olur [4, 6]. Yüksek doz ISO vererek ratlarda meydana gelen MI'daki patofizyolojik değişikliklerin insanda oluşan değişikliklerle aynı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Kısacası ratlara yüksek doz ISO uygulaması insanlarda oluşan MI'nın tüm biyokimyasal, fizyopatolojik ve histopatolojik değişiklikleri benzerdir [154]. Bu nedenle ISO ile indüklenen MI modeli standardize edilmiş bir model olup birçok ilacın yararlı etkilerini veya kardiyak fonksiyonlar üzerine olan etkisini araştırmak için sıklıkla kullanılmaktadır [155]. Hücre membran hasarıyla birlikte dolaşıma kardiyak belirteçler salınır ve bunlar infarktüsü laboratuvar olarak desteklerler. Bu enzim ve proteinlerden en sık kullanılanları; kreatin kinaz izoenzimleri, laktat dehidrogenaz, miyogloblin ve troponin' dir. Kardiyak belirteçler, miyosit içindeki yerleşimleri, hasar sonrası salınımları ve serum klirensleri açısından farklılık gösterirler [9, 10].

AST göğüs ağrısı ortaya çıktıktan sonra 8-12 saat içinde yükselmeye başlar, 24-48 saatte pik değerine ulaşır ve 3-4 gün içinde normal değerine döner [114]. Yaygın doku dağılımı nedeni ile AST klinik tanıda yararı kısıtlı bir enzimdir. Miyokardın yanı sıra karaciğer parankim hasarı, iskelet kası hastalığı, akut pankreatit, perikardit gibi hastalıklarda, intramüsküler enjeksiyonlar, morfin, meperidin, ve warfarin gibi ilaçların kullanımında etkilenir [115].

ALT öncelikle karaciğer ve böbrekte bulunup kalp ve iskelet kasında az miktarda mevcuttur [116]. Hipoglisemiye ve hipoksiye bağlı miyokardiyal hücrelerde hasar sonucu CK, CK-MB, LDH, ALP, AST ve ALT kana salınır böylece serumdaki konsantrasyonları artar [118]. Bu nedenle bu enzimler miyokard iskemisinin şiddetini gösteren spesifik diyagnostik markerlerdir, yapılan hayvan çalışmalarında İSO enjeksiyonu serumdaki bu enzimlerin düzeltilmez artışına sebep olur bu diğer makalelerde gösterilmiştir [119]. Kardiyak kas hasarında kanda AST ve ALT enzimleri yükselir [120]. Bu enzimler MI da yükselebilirler, İSO tarafından ratlarda yapılan AST ve ALT' nin artmış aktivitesi bu enzimlerin sızıntısı sonucu olmuştur [121, 122].

Miyoglobinin tüm kas hücrelerinin stoplazmasında bulunandüşük molekül ağırlıklı, hem proteindir. Miyoglobin, miyokard hasarı sonucu dolaşıma salıverilir. İnfarktüsün başlangıcından itibaren dolaşımda 1-2. saatlerinde yükselmeye başlar, 6-7. saatlerinde pik yapar ve bu durum 24 saat sürer. CK-MB aktivitelerinden daha belirgin olarak yükselir. Miyokard infarktüsünde ilk 2 saat içinde özgüllüğü %95 ve doğruluğu %37 olarak bulunmuştur [109]. Miyokard infarktüsünde erken dönemde miyoglobin artmasına rağmen miyokard hasarı teşhisinde klinik önemi azdır çünkü miyoglobin iskelet kasının çok küçük hasarlarında da artıyor. Miyoglobinin serumda artışı infaktlı alanın yeniden kanlanmasıyla hızlanır [110].

Laktat Dehidrogenaz İzoenzim, Laktat dehidrogenaz vücutta birçok dokuda bulunur. Oksijenli ortamda pirüvatın laktata dönüşümünü sağlar [105]. LDH infarktüsün 8-12. saatlerinde yükselmeye başlar, 1-3 günde en yüksek değere ulaşır ve 7-10. günde normale döner. LDH ve izoenzimleri, Akut miyokard infarktüsü düşünülen ancak CK aktiviteleri normale dönmüş geç gelen hastalarda önemlidir [109].

Miyokard hücresi hipoksik ve glukozun eksik olduğu durumlarda hasarlanır, hücre membranı daha geçirgen hale gelir ve parçalanır bu hücreler CK ve AST içerir sonuçta bu enzimlerin salınımı artar yani periferik dolaşıma geçer [114,156].İSO

uygulanmış hastalarda AST %90-95 oranında yükselir [157]. AST göğüs ağrısı ortaya çıktıktan sonra 8-12 saat içinde artmaya başlar ve pik değerine 24-48 saatte ulaşır, 3-4 gün içinde normal değerine döner. AST'de ALT gibi yaygın doku dağılımı nedeni ile klinik tanıda yararı kısıtlı bir enzimdir. Buna rağmen bu enzimin de kardiyak profile eklenmesinin yararlı olduğu belirtilmiştir [158].

MI'nin başlangıcından itibaren 4-8 saat içinde Serum CK seviyesi yükselmeye başlar ve 2-3 gün içerisinde normale döner. CK yaklaşık 24. saatte pik yapmasına rağmen trombolitik tedavi veya mekanik rekanalizasyon uygulamalarıyla reperfüzyon yapılan hastalarda ve erken spontan trombolizis vakalarında daha erken pik düzeye ulaşır. Serum CK düzeyindeki artış rutinde yaygın olarak kullanılabilmesine ve ISO'nin sensitif enzimatik bir göstergesi olmasına rağmen; kas hastalıkları, iskelet kası travması, kas içi enjeksiyonlar, ağır egzersiz, alkol intoksikasyonu, diabetes mellitus, konvülziyonlar, torasik outlet sendromu ve pulmoner embolide yanlış pozitif sonuçlar vermesi en önemli dezavantajdır [107, 108,156].

İskeminin oluşturduğu hasar, hücresel iskeminin erken dönemlerinde tamamen geri dönüşümlü iken, ilerleyen dönemlerde hücre ve organellerinin iskeletini bozarak hücresel ölüme yol açar. Kanlanmanın yeniden sağlanması çoğu zaman kurtarıcı olmamakla birlikte hücresel hasarın daha da büyümesine neden olabilir. Bu durum İ/R hasar olarak tanımlanmaktadır [159].

Günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğu, İ/R hasarının sadece bir etkene bağlı olmayıp, birbirini aktive eden ve birbiriyle etkileşen, birçok etkenin rol aldığı bir dizi olayın sonucu olarak ortaya çıkan non-immünolojik bir durum olduğu sonucuna varmaktadır [160, 161]. Hücre içi Ca^{2+} artışı, yüksek enerjili bileşiklerin tüketilmesi ve yenilenememesi, adezyon moleküllerinin ve enflamatuar sitokinlerin artması, enflamatuar hücrelerin infiltrasyonu ve degranülasyonu, endotel aktivasyonu ve disfonksiyonu, hücre membran hasar ve fosfolipaz aktivasyonu İ/R hasarının patogeneğinde yer alan faktörlerdir. Ancak; birçok çalışma sonucunda gösterilen ve günümüzde de kabul edilen görüş, İ/R hasarını oluşturan en önemli faktörün SOR ve artmış oksidatif stres olduğudur [162, 163].

Olayların fizyopatolojisi dikkate alınarak, İR hasarından korunmak için birçok ilacı gündeme getirmiştir. Bunlar; vitaminler, Angiotensin Converting Enzim (ACE) inhibitörleri, NO-donörleri, adenozin, $Na^+ - H^+$ değiştirici inhibitörleri, glutamat, aspartat,

aprotinin, metilprednisolon, Ca⁺⁺ kanal blokerleri, ATP duyarlı K⁺kanal açıcıları, glukoz- insülin-K⁺solüsyonları, prostoglandinler, glutasyon, N-asetilsistein, pentoksifilin, C₂esteraz inhibitörü, Endotelin-1 reseptör antagonisti ve anestezi ajanlarıdır.

Çalışmamızda; ratlara isoproterenol (İSO) verilmesiyle oluşan kalp iskemisi sonrası antienflamatuar ve antioksidan etkili PDE tip-1 inhibitörü olan vinpocetine (vinpo)'in kalp üzerinde koruyucu ve tedavi edici etkisinin olup olmadığını araştırdık. Vinpo ile ilgili çalışmalar tüm dünyada yakından takip edilmekte olup, konu oldukça günceldir.

Ratlarda deneysel miyokart iskemisi oluşturularak vinpocetinin etkisinin incelenmesi amacıyla serumda myoglobulin, total CK, LDH, AST ve ALT tayini yapıldı. Çalışmamızda, serum ALT değeri kontrol grubu (SHAM)'da 53 (37-123) iken, sadece İSO verilen grup (Grup 2)'de 38 (25-60), VINPO+İSO grubu (Grup 3)'de 55 (50-177), İSO+VINPO grubu (Grup 4)'de 54 (31-80) olarak ölçüldü. İSO ile indüklenen MI'da ALT değeri VINPO+İSO grubuna göre düşük çıktı buda istatistiksel olarak anlamlı derecede fark tespit edildi (p<0.05).MI sonrası kronik periyotta iskemik alan etrafında kollateral dolaşım oluşmakta olup, bu iskeminin hasarını sınırlayan doğal bir savunma mekanizmasıdır [164].Vinpocetin'in koruyucu ve tedavi edici özelliğinin gelecek çalışmalara öncülük edeceğini düşünüp ALT ile ilgili çalışmalara da yer verilmelidir.

Kalp dokusunda antioksidan sistem ve oksidatif stres markırları olarak; Malonildialdehit (MDA), Superoksitdismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GPx), GSH, Total oksidan status (TOS), Total antioksidan status (TAS), Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), tayini çalışıldı.

Dokuda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak farklı metodlar kullanılmakla beraber en çok kullanılan belirteçlerden biri MDA seviyesi tayinidir. MDA seviyesinin yüksekliği, lipidperoksidasyonunun yüksek olduğunun direkt göstergesidir. Yani İR hasarının azaltılabileceği hipotezinde kullanılan en önemli belirteç MDA'dır [66, 71]. Çalışmanın sonunda elde edilen bulgularda MDA değeri SHAM grubunda 3.31 (2.44 - 4.18) olup İSO Grubuna göre düşük ölçülüp anlamlı fark tespit edildi (p<0.05). İSO grubunda ölçülen MDA değeri 7.97 (7.29 - 9.8) olup bu değer, VINPO+İSO gurubunda 3.54 (2.46 - 5.1) ve İSO+VINPO gurubunda 3.04 (2.11 - 3.67) ölçülmüş olup bu iki

gruba göre daha yüksek ölçüldü ve anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). Bu bulgulara dayanarak MDA' nın Grup 2 (ISO grubunda) yüksek, Grup 3 (VINPO+ISO) ve Grup 4 (ISO+VINPO) düşük çıkması vinpocetin'in iskemi öncesi verilmesiyle hasarın kontrol grubundan daha az olduğu tespit edildi. Ayrıca iskemi sonrası VINPO uygulanmasıyla da bulunan değerlerin hemen hemen kontrol grubuna yakın çıkması, bu hasarın onarımında etkili olduğu yönünde yorumlandı.

İskemik dokuda oksidanlara bağlı olarak iskemi süresince glutatyon miktarının azaldığı ve SOD, CAT ve GPx gibi enzimlerin inhibisyonunun hızlandığı ve buna bağlı olarak hücrelerin reperfüzyon sırasında hızla oluşan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale geldiği rapor edilmiştir [165].

Bizim çalışmamızda da diğer çalışmalara benzer olarak ISO ile MI oluşturulmuş kontrol grubumuzdaki ratların kalp doku örneklerinden elde ettiğimiz antioksidan enzimlerden SOD, CAT, GPX ve GSH seviyelerinin istatistik olarak anlamlı derecede azalmış olduğu tespit edildi ($p<0.05$) [166, 167]. Azalmış olan SOD ve CAT aktivitesi diğer yapılan çalışmalarla örtüşmektedir [168, 169].

SOD ve CAT enzimlerin azalması süperoksit ve H_2O_2 oluşumunu artırarak daha toksik olan OH radikallerinin oluşmasına neden olabilir [170]. Süperoksit anyonunun indirgenmesiyle oluşan H_2O_2 metabolizmasında iki önemli enzim vardır. Biri miyokarda bulunan CAT, diğeri miyokard sitozolündeki GPX'dir. Büyük ölçüde pentoz fosfat yolu ile glukoz 6 fosfat oksidasyonu yolu ile oluşan NADPH, glutatyon redüktazı aktive ederek GSH oluşumunu sağlar. İndirgenmiş GSH'de GPX tarafından GSSG'ye çevrilir. Bu zincir ile oksidatif strese neden olan peroksitlerin miktarı azaltılmış olur. Burada ortaya çıkan GSH hücrel oksidatif olaylar hakkında bilgi veren önemli bir belirteçdir. Dokudaki ya da koroner dolaşımdaki GSH seviyesinin artması hücrelerin oksidatif stresden korunduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmiştir [171]. Bizim çalışmamızda da ISO ile indüklenen kardiyak hasarın tespitinde SOD, CAT, GPX, GSH enzimlerinin seviyelerinde azalma olduğunu tespit ettik. Çalışmamızda sadece ISO verilen rat grubunda azalmış bu enzimlerin, VINPO ile tedavi edilmiş gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir ($p<0.05$). VINPO'nun iskemi öncesi uygulanmasıyla sağlıklı kontrole göre yine bu SOD, CAT, GPX, GSH enzimlerinin seviyelerinde daha fazla arttırdığı tespit edilmiştir. Bu da bize VINPO'nun özellikle iskemi öncesi daha etkili olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda serbest radikallerin saldırısına karşı organizmadaki toplam

antioksidan korumayı yansıtan TAS ve oksidatif stresin toplam değeri olan TOS belirteçleri kullanılmıştır. TAS enzim aktivitesi açısından kendi aralarında kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

Total Oksidatif Stres (TOS); oksidatif stresin toplam değeri olarak ifade edilir. Vücudumuzda denge halinde olan oksidan ve antioksidanın, oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durum oksidatif stres olarak adlandırılır [89].

Çalışmanın sonunda elde edilen bulgularda TOS değeri SHAM grubunda 4.88 (3.87 - 6.15) olup İSO Grubuna göre düşük ölçülüp anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). İSO grubunda ölçülen TOS değeri 8.1 (7.41 - 10.35) olup bu değer, VINPO+İSO gurubunda 5.01 (4.38 - 6.66) ve ISO+VINPO gurubunda 5.55 (4.44 - 6.48) ölçülmüş olup bu iki gruba göre daha yüksek ölçüldü ve anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). Bu bulgulara dayanarak TOS' un Grup 2' de (İSO grubunda) yüksek, Grup 3 (VINPO+İSO) ve Grup 4 (ISO+VINPO)' de düşük çıkması vinpocetin'in koruyucu ve tedavi edici özelliğinin olduğu yönünde yorumlandı.

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ); TOS'un TAS kapasitesine bölünmesiyle hesaplandı ve $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{mmol Trolox}$ olarak ifade edildi. Çalışmamızda ölçülen OSİ değerleri gruplar arasında karşılaştırıldığında SHAM grubunda 14.99 (6.72 - 22.23) (AU) olarak ölçüldü İSO grubunda ise; 45.12 (16.96 - 77.45) AU olarak ölçüldü böylece sadece İSO grubuna göre anlamlı fark tespit edildi ($p<0.05$). OSİ değerleri diğer gruplarla kıyaslandığında ise anlamlı fark tespit edilmedi ($p>0.05$).

Çalışmamızda ratların cerrahi işlem öncesi çekilen EKG leri incelendiğinde SHAM grubunda sadece 1 ratta ST depresyonu olduğu, İSO grubunda 7 adet ratta ST depresyonu olduğu, VİNPO+İSO grubunda sadece 1 ratta ST depresyonu olduğu, İSO+VİNPO grubunda ise yine sadece 1 adet ST depresyonu olduğu tespit edildi buda VİNPO verilen guruplarda iskeminin oluşum oranı kontrol gurubuyla aynı oranda tespit edildi.

Çalışmamız histopatolojik olarak incelendiğinde; SHAM grubunda longitudinal seyirli kas lifleri, oval nukleuslu ve merkezi yerleşimli nukleusları ile normal histolojik yapıda izlendi (Resim 1).

İSO grubunda; kas liflerinin organizasyonları bozulmuş ve yer yer intersellüler ödem nedeniyle birbirlerinden ayrılmışlardı (Resim 3). Bu grupta normal histolojik yapıdaki kardiomyositlerden, yoğun asidofilik sitoplazmaları ve piknotik-koyu nukleusları ile ayırt edilen hücre grupları izlendi (Resim 4). Ayrıca kardiomyosit sitoplazmasında, myofibrillerin homojen dağılımının bozulduğu ve içerisinde miyofibrillerin bulunmadığı sınırları düzensiz alanlar tespit edildi (Resim 5). Bu grupta dikkat çeken diğer bir bulgu, kas lifleri ve damar çevresinde izlenen bağ doku artışıydı (Resim 6).

VİNPO+İSO ve İSO+VİNPO gruplarında izlenen histopatolojik değişiklikler, İSO grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldı ($p<0.05$). Ancak bu gruplarda da yer yer asidofil sitoplazmalı ve piknotik nukleuslu kas liflerine ve myofibril kaybına rastlandı (Resimler 7, 8, 9 ve 10). Bağ doku artışı; İSO+VİNPO ve VİNPO+İSO gruplarında, İSO grubuna göre daha sınırlı bir alanda izlendi. Histopatolojik skor sonuçlarına göre; isoproterenolün neden olduğu bağ doku artışını önlemede, vinpocetinin isoproterenolden önce verilmesi, sonra verilmesine göre daha etkili bulundu (Resimler 11 ve 12).

Sonuç olarak; insan ve hayvanlar yaşamları boyunca sürekli olarak, hem normal oksidatif metabolizma sırasında üretilen ROS'un, hem de eksojen kaynakların neden olduğu ROS'un tahribatlarına maruz kalmaktadır. ROS organizmada lipid, protein ve DNA gibi makromolekülleri etkilemekte ve bu moleküllerin yapı ve fonksiyonlarında değişikliklere yol açmaktadır. Bu değişiklikler çeşitli yöntemlerle gösterilmektedir. Lipitlerdeki hasarı göstermek için genellikle lipid peroksidasyon ölçümü, protein

hasarını belirlemek için protein karbonil grupları ölçümü kullanılmaktadır [172]. Bizim çalışmamızda ISO ile indüklenen MI modelinde kontrol gruplarında ROS oluşumunun arttığı antioksidan sistemdeki SOD ve CAT enzimlerinin aktivite azalışı, GSH seviyesinde azalış. Bu parametrelerdeki artış ve azalışlar ROS'nin oluşumunun artışına atfedilmiştir. Ayrıca MI'nin biyokimyasal göstergeleri olan Miyogloblin, AST, ALT, LDH ve CK ölçülmesiyle sadece ISO ile indüklenmiş iskemi modelinde düşük olduğu belirlenmiş. Çalışmamız gereği kontrol gruplarıyla beraber VİNPO uygulanan gruplarının sadece ISO ile indüklenen MI modeline göre koruyucu etki göstererek ROS oluşumunu, yukarıda bahsedilen biyokimyasal parametrelerin aktivitesini artırmak veya azaltmak suretiyle azalttığı belirlendi. Böylece ISO ile indüklenen MI modelinde iskemi öncesi VİNPO uygulanmasının iskemi sonrası VİNPO uygulamasına göre üstünlüğüne görüldü. Aynı zamanda bu ilacın sağlıklı hayvanlarda kan biyokimyasal ve oksidatif stres parametrelerini değiştirmedeğini gözlemlendi. Çalışmamızın ışık tutacağı ve öncülük edeceği klinik çalışmalar ile bu ilacın MI sonrası artan biyokimyasal doku hasar belirteçleri üzerine olan etkileriyle beraber kardiyak remodelling üzerine olan etkilerinin ekokardiyografik ve histopatolojik inceleme ile gösterilmesi bu ilacın MI öncesi ve sonrasında da önemli rol alacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

1. Eliot MA, Braunwald E (Çeviri: A.Birand). Akut miyokard infarktüsü. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (Eds). Harrison İç Hastalıkları Prensipleri'nde. 1. Cilt , 15. Baskı , İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi;2004;p.1383-7.
2. Rona G, Chappel CI, Balazs T, Gaudry R. An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat. *AMA Arch Pathol* 1959;67:443-55.
3. Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Cho K, Weber KT, Clark WA. Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ Res* 1989;65(3):657-70.
4. Sathish S, Ebenezar KK, Devali T. Synergistic effect of nicorandil and amlodipine on tissue defense system during experimental myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem* 2003;243:133-8.
5. Prince SMP, Karthick M. Preventive effect of rutin on lipids, lipoproteins, and ATPases in normal and isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2007;21(1):1-6.
6. Chattopadhyay A, Biswas S, Bandyopadhyay D, Sarkar C, Datta AG. Effect of isoproterenol on lipid peroxidation and antioxidant enzymes of myocardial tissue of mice and protection by quinidine. *Mol Cel Biochem* 2003;245:43-9.
7. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993;57(5):715-24.
8. Draper HH, Hadley M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. *Xenobiotica* 1990;20(9):901-7.
9. Berkow RMD. Kardiyovasküler Bozukluklar. (çeviri: İ.Keleş). Keklikoğlu M (Editör). The Merck Manuel Tanı/Tedavi El Kitabı'ında.Birinci baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2002. p.1668-702.
10. Shah PK, Falk E. Anstabil Koroner Sendromlar (çeviri: T. Ülker). Dursun AN (Editörler). Roche Crawford Kardiyoloji'de 1 .Cilt. 1.Baskı. İstanbul:And kitapevi; 2003.p. 12.1-16.6.

11. Türk Kardiyoloji Derneği. Ulusal Kalp Sağlığı Politikası Ana İlkeleri. <http://www.tkd.org.tr/tkdout.asp?out=77KPBBW1P6OX>.
12. Türk Kardiyoloji Derneği. Türkiyede kalp ve damar hastalıklarının olumsuz etkilerini en aza indirmek için eylem planı (ÖZET). <http://www.tkd-online.org/UKSP/UKSP EylemPlani.pdf>.
13. Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251: F765-6.
14. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin invest* 1984; 74: 1156-4.
15. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med* 1994; 42: 632-9.
16. Korkmaz A, Kolankaya D. The Protective Effects of Ascorbic Acid against Renal Ischemia Reperfusion Injury in Male Rats.
17. İhtiyar E, Yaşar NF, Erkasap N, Köken T, Tosun M, Öner S, Erkasap S. Effects of Doxycycline on Renal Ischemia Reperfusion Injury Induced by Abdominal Compartment Syndrome.
18. Impaired oxidative metabolism and calcium mishandling underlie cardiac dysfunction in a rat model of post acute isoproterenol-induced cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014 Dec 19:ajp heart.00734.2013.
19. Leukocyte β -adrenergic receptor sensitivity and depression severity in patients with heart failure. *Psychosom Med*. 2014 Nov-Dec;76(9):726-31.
20. Aksulu HE, Ercan ZS, Türker RK. Further studies on the antiarrhythmic effects of iloprost. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1985; 277: 223-34.
21. Vannini V, Dianzani U, Rosa E.D. Nomina Anatomica. Feridun Vural, Anatomi Atlası, İstanbul Birol Yayın A.Ş. 2001; 93-103.
22. Guyton AC, Hall JE. Medical Textbook Of Physiology Çavusoglu H., Tıbbi Fizyoloji Nobel Tıp Kitabevleri Onuncu Edisyon 2001; 96-916.
23. Burtis C.A, Ashwood E.R. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler Aslan D, Ankara Palme Yayıncılık 2005; 682-98.
24. DiFrancesco D. Cardiac pacemaker I(f) current and its inhibition by heart rate-reducing agents. *Curr Med Res Opin*. 2005; 21: 1115-22.

25. England, J. and S. Loughna, Heavy and light roles: myosin in the morphogenesis of the heart. *Cell Mol Life Sci*, 2013. 70(7): p. 1221-39.
26. Bers, D.M., Cardiac excitation-contraction coupling. *Nature*, 2002. 415(6868): p. 198-205.
27. Bracken, N., et al., Mechanisms Underlying Contractile Dysfunction in Streptozotocin-Induced Type 1 and Type 2 Diabetic Cardiomyopathy, in *Atherosclerosis, Hypertension and Diabetes*, G. Pierce, et al., Editors. 2003, Springer US. p. 387-408.
28. Smith C, Marks AD, Lieberman M, Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası İnal ME, Atik U, Aksoy N, Haşimi A. Güneş Tıp Kiyabevleri İkinci Baskı 2007; 862-79.
29. Peters, A., et al., Air pollution and incidence of cardiac arrhythmia. *Epidemiology*, 2000. 11(1): p. 11-7.
30. Wolf, C.M. and C.I. Berul, Molecular mechanisms of inherited arrhythmias. *Curr Genomics*, 2008. 9(3): p. 160-8.
31. Page E, Fozzard HA, Solaro JR: Handbook of Physiology, sec 2: The Cardiovascular System, vol 1: The Heart. New York: Oxford University Press, 2002.
32. Dale Dubin hızlı EKG yorumu, MD 6. Baskı çeviri editörü Dr. Taha Okan P:28
33. Gussak I, George S, Bojovic B, Vajdic B. ECG Phenomena of the Early Ventricular Repolarization in the 21 Century. *Indian Pacing Electrophysiol J* 2008;8:149-157.).
34. Siemionow M, Arslan E, Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery*. 2004;24:468-75.
35. Maseri A, Lanza GA, Sanna T, Rigattieri S (Çeviri: Y.Güneş). Koroner kan akımı ve miyokard iskemisi. Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA (Eds). In: *Hurst's The Heart*. 10. Baskı. 3. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2002:p:1109-30.
36. Feigl EO, Schaper W (Çeviri: T.Ülker). Koroner dolaşımın fizyolojisi. Crawford MH, DiMarco JP (Eds). *Kardiyoloji'de*. 1. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2003:1-8.
37. Kukreja RC, Kontos HA, Hess ML, Ellis EF. PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH or NADPH. *Circ Res* 1986; 59: 612-9.

38. Van Der Vusse GJ, Bilsen MV, Reneman RS. Ischemia and reperfusion induced alterations in membrane phospholipids. An overview Das DK ed. Cellular, Biochemical and molecular aspects of reperfusion injury. Ann NY Acad Sci 1994; 723: 1-14.
39. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. Acta Univ Carol Med Monogr 1990; 137:1-53.
40. Hansson GK, Nilsson J (Çeviri: T.Ülker). Aterosklerozun patogenezi. Crawford MH, DiMarco JP (Eds). Kardiyoloji'de. 1. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2003:1-12.
41. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02-5215 September 2002.
42. Acar Z. Sol Ana Koroner Arter Hastalığında Operasyon Zamanının Hastane İçi Mortalite ve Morbiditeye Etkisi (tez). İstanbul: Siyami Ersek Göğüs Kalp Ve Damar Cerrahisi Merkezi; 2006.
43. Apple FS, Henderson AR. Cardiac function. In: Burtis CA, Ashwood ER (Eds.). Tietz Text Book of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999: p.630-7.
44. Berkov R (Çeviri: M.Tuzcu). Kalp damar hastalıkları. The Merck Manual Tanı/Tedavi El Kitabı. 16. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1995:365-594.
45. Guyton AC, MD (Çeviri: N.Gökhan, H.Çavuşoğlu). Tıbbi Fizyoloji. 7. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1986:423-30.
46. Gök H. Klinik Kardiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1996:97-171.
47. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. Free Radic Res Commun 1989;7: 255-6.
48. Duran E. Kalp ve Damar Cerrahisi. 1. Baskı. Edirne: Ekim 2004; cilt 1, 197.
49. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH. The molecular events underlying ischemia/reperfusion injury. Transplant Proc. 2002;34: 2518-9.

50. Flaherty JT, Zweier JL. Role of oxygen radicals in myocardial reperfusion injury. Experimental and clinical evidence. *Wien Klin Wochenschr* 1991 ; 69: 1061-5.
51. Mohanlal Rw, Mauve I, Zoet AcM. Reperfusion induced enzyme release washout effect or manifestation of reperfusion idamage. *Cardiovasc Res* 1988; 22: 603-10.
52. Biglioli P, Cannata A, Alamanni F. Biological effects of off-pumps on-pump coronary artery surgery: focus on inflammation, hemostasis and oxidative stress. *Eur J. CARDio-thorac Surg* 2003;24:260-9.
53. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br JSurg* 1994;81:637-47.
54. Hergenç G. Kompleman Sisteminin Aterosklerozdaki Rolü. *Arch TurkSoc Cardiol* 2004; 32:28-37.
55. Holand SM. Chronic granulomatous disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2010; 38(1): 3-10 (crossRef).
56. Korthuis RJ, Granger DN. Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis ischemic-tissue/reperfusion. *Clin Cardiol* 1993; 16 (4 suppl 1): 119-26.
57. Keles MS, Demirci N, Yildirim A, Atamanalp SS, Altinkaynak K. Protective effects of N-acetylcysteine and Ginkgo biloba extract on ischaemia-reperfusion-induced hepatic DNA damage in rats. *Clin Exp Med.* 2008; 8-4: 193-8.
58. Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol* 1990;68:989.
59. Cheeseman KH, Slater TF, Anintroduction to freeradical biochemistry.*Br Med Bull*1993;49:481-93.
60. RanganU, Bulkley GB. Prospects for treatment of freeradical-mediated tissue injury.*Br Med Bull*1993;49:700-18.
61. Erden M. Serbest radikaller. *T. KlinikTip Bilimleri Dergisi* 1992;12:201-7.
62. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic Biol Med.* 2000; 15;28(10): 1456- 62.
63. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role ofoxygen-derivedfree radicalsin digestivetract diseases. *Surgery*1983;94:415-22.
64. Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach* Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland 1996.
65. Das UN. Free radicals, cytokines and nitric oxide in cardiac failure andmyocardial infarction. *Mol Cell Biochem*;2000; 215(1-2): 145-52.

66. Becker LB. Newcon septsinre active oxygen species and cardiovascular reperfusion physiolog. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 461-70.
67. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *The Am J Off Surgery* 1991; 161: 488-503.
68. Kilgore KS, Lucchesi BR. Reperfusion injury after myocardial infarction: The role of free radicals and the inflammatory response. *Clin Biochem* 1993; 26: 359-70.
69. Ertan T, Soran A, Kılıc M, Aşlar AK, Koc M, Cengiz O. Kan Malondialdehid ve total antioksidan seviyesinin (TAS) önemi. *Cerrahi Tıp Bülteni* 2001, 2;4:154-67.
70. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res* 2000; 39:1529-42.
71. Rathore N, John S, Kale M, Bhatnagar D. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in isoproterenol induced oxidative stress in rat tissues. *Pharmacol Res* 1998; 38: 297-303.
72. Free radicals and oxidative stress: The cytokine bulletin, Microsoft Internet.
73. Nuh zafer Cantürk, Şkender Sayek. Cerrahi araştırma kitabı. 2005 nobel tıp kitabevleri.
74. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000,21;3:361- 70.
75. Unno N, Fink MP. Nutritional, physiologic, and pathophysiologic considerations of the gastrointestinal tract. Intestinal epithelial hyperpermeability. Mechanisms and relevance to disease. *Gastroenterology Clinics* 1998,27;2:289-307.
76. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2000;47: 446-56.
77. Maxwell SRJ, Lip GYH. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol* 1997; 58: 95-117.
78. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharm* 1994;NS34: 26-35.
79. Seekamp A, Lalonde C, Zhu DG. Catalase prevents prostanoid release and lung lipid peroxidation after endotoxemia in sheep. *J Appl Physiol* 1988;65:1210- 6.
80. Altuntaş I, Delibaş N, Doğuç DK, Özmen S, Gültekin. Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicol in Vitro* 2003;17: 153-7.

81. Pantke U, Volk T, Schmutzler M, Kox WJ, Site N, Grune T. Oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery. *Free Radical Biol Med* 1999;27: 1080-6.
82. Gaeta LM, Tozzi G, Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subjects. *Clin Chim Acta* 2002;322:117- 20.
83. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ. A series of prostaglandin F-2 like compounds reproduced in vivo in humans by an non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87: 9383-7.
84. Boyle EM, Pohlman TH, Cornejo CJ, Verrier ED. Ischemia-Reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1997;64:S24-30.
85. Morin D, Hauet T, Spedding M, Tillement JP. Mitochondria as target for anti-ischemic drugs. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;49:151-74.
86. Murrell GA, Francis MJ, Bromley L. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. *Biochem J* 1990;265:659-65.
87. Murat Rabus, Recep Demirbağ, Yusuf Sezen, Oğuz Konukoğlu, Ali Yıldız, Özcan Erel, Rahmi Zeybek, Cevat Yakut. Plasma and tissue oxidative stress index in patients with rheumatic and degenerative heart valve disease. *Türk kardiyol derm arş - arch turk soc cardiol* 2008;36(8):536-40
88. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* Apr 2004;37(4):277-85.
89. Agarwal A, Prabakaran SA, Said TM. Prevention of oxidative stress injury. *J Androl* 2005;26(6):654-60.
90. Hopkins PN, Williams RR. A survey of 246 suggested coronary risk factors. *Atherosclerosis* 1981; 40: 1-52.
91. Kukielka GL, Hawkins HK, Michael L, et al. Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in ischemic and reperfused canine myocardium. *J Clin Invest* 1993; 92: 1504-16.

92. Jaffe AS, Davidenko J (Çeviri: T.Ülker). Akut miyokard iskemisi ve enfarktüsün tanısı. Crawford MH, DiMarco JP (Eds). Kardiyoloji'de. 1. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2003:1-19.
93. Alexander RW, Pratt CM, Ryan TJ (Çeviri: E.Kaynak). Akut miyokard infarktüsülü hastaların tanı ve tedavisi. Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA (Eds). Hurst's The Heart. 10. Baskı. 3. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2002:1275-360.2007;50:2173-95.
94. Zimetbaum PJ, Josephson ME. Use of the electrocardiogram in acute myocardial infarction. N Engl J Med 2003;348:933-40.
95. Wang K, Asinger RW, Marriott HJ. ST-segment elevation in conditions other than acute myocardial infarction. N Engl J Med 2003;349:2128—35.
96. Mcfarlane PW. Age, sex, and the ST amplitude in health and disease. J Electrocardiol 2001;34:S35—41.
97. Zimetbaum PJ, Krishnan S, Gold A, Carrozza JP II, Josephson ME. Usefulness of ST-segment elevation in lead III exceeding that of lead II for identifying the location of the totally occluded coronary artery in inferior wall myocardial infarction. Am J Cardiol 1998;81:918—9.
98. Engelen DJ, Gorgels AP, Cheriex EC, De Muinck ED, Ophuis AJO, Dassen WR, Vainer J, van Ommen VG, Wellens HJ. Value of the electrocardiogram in localizing the occlusion site in the left anterior descending coronary artery in acute anterior myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 1999;34:389—95.
99. Sgarbossa EB, Pinsky SL, Barbagelata A, Underwood DA, Gates KB, Topol EJ, Califf RM, Wagner GS. Electrocardiographic diagnosis of evolving acute myocardial infarction in the presence of left bundle branch block. N Engl J Med 1996;334:481-7.
100. Jain S, Ting HT, Bell M, Bjerke CM, Lennon RJ, Gersh BJ, Rihal CS, Prasad A. Utility of left bundle branch block as a diagnostic criterion for acute myocardial infarction. Am J Cardiol 2011;107:1111-6.
101. Antman ET, Braunwald E. Acute myocardial infarction in Braunwald E, Zipes DP, Libbi P, eds. Heart disease. A textbook of cardiovascular medicine. 6th ed. Philadelphia WB Saunders Company 2001: 1114-219.

102. Ellis AK. Serum protein measurements and diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 1991; 83: 1107-09.
103. Sacks DB. Troponin T. A cardiac specific marker in Goldman and Khalus HA, eds. *Cardiac troponin T for the diagnosis of myocardial injury*. Deerfield IL. Discovery International 1994: 3.
104. Mayes PA. Bioenergetics. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (Eds.). *Harper's Biochemistry*. 21st ed. California: Appleton and Lange; 1988: p.93-9.
105. Adams JE 3rd, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation* 1993;88(2):750- 63.
106. Tsung JS, Tsung SS. Creatine kinase izoenzymes in extracts of various skeletal muscles. *Clin Chem* 1986; 32: 1568-70.
107. Lee TH, Goldman L. Serum enzyme assays in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Ann Intern Med* 1986; 105: 221-33.
108. Adams JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, et al. Cardiac troponin i a marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993; 88: 101-6.
109. Demiroğlu C. *Koroner Kalp Hastalıkları Tıbbi Tedavisi'nde*. 4. baskı İstanbul: Florence Nighthingale Hastanesi; 2000:59-151.
110. Adams JE 3rd, Miracle VA. Cardiac biomarkers: past, present, and future. *Am J Crit Care* 1998;7(6):418-23; quiz 424-5.
111. Calbreath DF. *Clinical Chemistry a fundamental textbook*. Philadelphia WB Saunders Company 1992: 199-207.
112. Ingram L. Cardiac function. In: Mc Grew L (Ed.). *Clinical Chemistry Principles, Procedures, Correlations*. 4th ed. Tokyo:Lippincott Williams&Wilkins; 2000: p.423-39.
113. Pincus MR, Zimmerman HJ, Henry JB. Clinical enzymology. In: Henry JB(Ed.). *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*.19th ed. Philadelphia:W.B. S anders Company;1996:p.268-95.
114. Bakan E, *Klinik Biyokimya Laboratuar El kitabı*, Aktif Yayınevi, Erzurum 2001; 26-41.

115. İbrahim F. H. Akut Myokard İnfarktüsünün erken tanısında Kreatinin Kinaz CKMB, Troponin-T ve miyoglobin diagnostik değeri (yüksek lisans tezi). İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul 1999.
116. Lott JA, Wolf PL. Alanine and aspartate aminotransferase (ALT and AST). Clinical enzymology: a case-oriented approach. Chicago, Yearbook Medical Publishers, 1986, 131-8.
117. Ruhl CE, Everhart JE. Trunk fat is associated with increased serum levels of alanine aminotransferase in the United States. *Gastroenterology* 2010;138:1346-56
118. Mathew, S., Menon, P. V. G., & Kurup, P. A. (1985). Effect of administration of vitamin A, ascorbic acid and nicotinamide adenine dinucleotide flavin adenine nucleotide on severity of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 23,500-4.
119. Al Makdessai, S., Sweidan, H., Mullner, S., & Jacob, R.(1996). Myocardial protection by pretreatment with *Crataegus oxyantha*: An assessment by means of the release of lactate dehydrogenase by the ischemic and reperfused Langendorff heart. *Arzneimittelforschung*, 46, 25-7.
120. K. H. Sabeena Farvin, R. Anandan, S. H. S. Kumar, K. S. Shiny, T. V. Sankar, and T. K. Thankappan, "Effect of squalene on tissue defense system in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats," *Pharmacological Research*, vol. 50, no. 3, , 2004. pp. 231-6
121. S.-B. Wang, S. Tian, F. Yang, H.-G. Yang, X.-Y. Yang, and G.- H. Du, "Cardioprotective effect of salvianolic acid A on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats," *European Journal of Pharmacology*, vol. 615, no. 1-3, , 2009. pp. 125-32
122. K. K. Mueen Ahmed, A. C. Rana, and V. K. Dixit, "Effect of *Calotropis procera* latex on isoproterenol induced myocardial infarction in albino rats," *Phytomedicine*, vol. 11, no. 4, 2004. pp. 327-30
123. Akut ve Kronik Kalp Yetersizliği Tanı ve Tedavisine Yönelik 1012 ESC Kılavuzu. *European Heart Journal* 2012.33, 1787-847.

124. Stevenson LW, Inotropic therapy for heart failure. N Eng J Med, 1998. 339:1948-50.
125. Shah AM, M.D., In search of new therapeutic targets and strategies for heart failure: recent advances in basic science. Lancet 2011.378:704-12.
126. Steenberger C, Hill ML, Jennings RB. Volume regulation and plasma membrane injury in aerobic, anearobic, and ischemic myocardium in vitro. Circ Res 1987;57: 864-75.
127. George V Moukarbel, Chakib M Ayoub, Antoine B Abchee. Pharmacological therapy for myocardial reperfusion injury. Current Opinion in Pharmacology.2004, 4: 147-53.
128. Katus HA, Schoepenthou M, Tanzeem A, et al.Noninvasive assessment of perioperative myocardial celldamage by circulating cardiak troponin T, Br Heart J 1991;65:259-64.
129. UZGUR, Selda; USTA, Ufuk; GÖKMEN, Selma Süer. İsoproterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçanlarda L-lizinin serum sialik asit düzeylerine etkisi.Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi, 2011, 36.3.
130. MELTEM KURUŞ,MUKADDES EŞREFOĞLU, ENGİN ŞAHNA, SEDAT SEVİL, ALİ OTLU, Fırat Tıp Dergisi 2008; 13(1):09-14.
131. Tuncay kuloğlu, gökhan artaş firat tip derg/ firat med j 2015; 20(2):81-5.
132. Wikipedia.isoprenaline. <http://www.en.wikipedia.org/wiki/MHTML>.
133. The kanji foundry press.Adrenalin. <http://www.thekaniifoundrypress.com/a.html>.
134. Bhagat B, Sullivan JM, Fischer VW, Nadel EM, Dhalla NS. cAMP activity and isoproterenol-induced myocardial injury in rats. Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab 1976;12:465-70.
135. Fleckenstein A, Janke J, Doring HJ, Leder O. Myocardial fiber necrosis due to intracellular Ca overload-a new principle in cardiac pathophysiology. Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab 1974;4:563-80.
136. Singal PK, Beamish RE, Dhalla NS. Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. Adv Exp Med Biol 1983;161:391-401.
137. Kocoglu, Hasan, et al. "Preconditionin effects of dexmedetomidine on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats." Current Therapeutic Research 69.2 (2008): 150-8.

138. Kelle, yrddoçd, and farmakoloji anabilim dali. "in vivo siçan kalbinde oluşturulan iskemi reperfüzyon hasarında rosuvastatin'in koruyucu etkisinin iskemik önkoşullama ile karşılaştirilmesi."
139. Özergin, ufuk, et al. "trimetazidine'in koroner bypass operasyonlarında myokard koruyucu etkisi." türk göğüs kalp damar cerrahisi dergisi 7.5 (1999): 370-3.
140. Salman, Ergun, et al. "Askorbik asit'in serbest oksijen radikal temizleyici olarak açık kalp cerrahisinde kullanımı." GKD Cer. Derg 2 (1994): 216-20.
141. Neuroprotective effects of vinpocetine and its major metabolite cis-apovincaminic acid on NMDA-induced neurotoxicity in a rat entorhinal cortex lesion model".Nyakas C, Felszeghy K, Szabó R, Keijser JN, Luiten PG, Szombathelyi Z, Tihanyi K. 2009 Summer;15(2):89-99. doi: 10,1111/j.1755-5949.2009.00078.x.
142. Hagiwara M, Endo T, Hidaka H (1984). "Effects of vinpocetine on cyclic nucleotide metabolism in vascular smooth muscle". Biochemical Pharmacology (3):453-7. doi:10.1016/0006-2952(84)90240-5. PMID 6322804.
143. Truss MC, Uckert S, Stief CG, Forssmann WG, Jonas U (1996). "Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isoenzymes in the human detrusor smooth muscle. II. Effect of various PDE inhibitors on smooth muscle tone and cyclic nucleotide levels invitro".Urological Research 24 (3):129-34. doi:10,1007/BF0030475. PMID 8839479
- 144 . Clinical and non-clinical investigations using positron emission tomography, near infrared spectroscopy and transcranial Doppler methods on the neuroprotective drug vinpocetine: a summary of evidences. (2002).J Neurol Sci.203- 204:259-62
145. Effect of parenteral or oral vinpocetine on the hemorheological parameters of patients with chronic cerebrovascular diseases. (2009).Phytomedicine 16, 111-7
146. Efficacy of cavinton in the treatment of patients with chronic blood flow insufficiency. Russian multicenter clinical epidemiological program "CALIPSO". - Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.110(12):49-52 (2010). Chukanova E.
147. Cavinton in the complex treatment of patients with chronic serebrovascular insufficiency. Zh Nevrol Psikhiatr Im S. Korsakova.109(9):35-9 (2009). Chukanova E.

148. Medina, AE (2010). "Vinpocetine as a potent antiinflammatory agent.". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107 (22): 9921-2.
149. http://tr.wikipedia.org/wiki/Küçük_Cezayir_menekşesi adresinden 20 Aralık 2014'de alınmıştır.
150. Izumi T, Saito Y, Kishimoto I. Blockade of the natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A inhibits NF-kB activation and alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury. J Clin Invest 2001; 108: 203-13
151. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 95: 351-8.
152. Sun Y, Oberley LW, Li Y, (1988). A simple method for clinical assay of superoxidodismutase. Clin Chem 34: 497-500.
153. Aebi H. (1984). Catalase in vitro assay methods. Methods Enzymol 105: 121-6.
154. Rona, G. Catecholamine cardiotoxicity. J. Mol. Cell Cardiol. 1985; 17: 291-300.
155. Thompson J.A, Hess M.L. The oxygen free radical system a fundamental mechanism in the production of myocardial necrosis. Progress in cardiovascular disease 1986; 28: 449-62.
156. Apple FS. Creatine kinase isoforms and myoglobin early detection of myocardial infarction and reperfusion. Coron Artery Dis 1999; 10: 75-9.
157. Ravel R. Cardiac Diseases."Clinical Laboratory Medicine sixth Ed, Ed S Manning Mosby St.Louis Missouri 1995; 331-41.
158. Kutay F. Enzimler. In Onat T, Emerk K, Sözmén EY, eds. İnsan biyokimyası. Ankara Palme Yayıncılık 2002; 197-220: 439.
159. Önal A, Astarçioğlu H, Örmén M, Atila K, Sarıoğlu S. S çandaki renal iskemi reperfüzyon hasarında L-karnitinin koruyucu etkisi. Ulusal Travma Dergisi
160. Walker LM, York JL, Imam SZ, Muldrew KL, Mayeux PR. Oxidative stress and reactive nitrogen species generation during ischemia. Toxicological Science 2001; 63;143-8
161. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. Br J Surg 1991;78: 651-655 2004; 10(3) :160-7.
162. Cotran R: Hücre Zedelenmesi Adaptasyon. Basic Pathology. Cotran R, Kumar V, Robbins S. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri. 1994;1: 3 -11.

163. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England Journal of Medicine*, 1985;312 (3), 159-63.
164. Elayda MA, Mathur VS, Hall RJ, Massumi GA, Garcia E, de Castro CM. Collateral circulation in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1985; 55: 58-60.
165. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 655-78. .
166. Lei SZ, Pan ZH, Aggarwal SK, Chen HSV, Hartman J, Sucher NJ: Effect of nitric oxide formation on the redox modulatory site of NMDA receptor channel complex. *Neuron* 1992; 8: 1087-8. .
167. Seigfreid MR, Erhardt J, Rider T, Ma XL, Lefer AM Cardioprotection and attenuation of endothelial dysfunction by organic nitric oxide donors in myocardial ischaemia- reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260: 668-75.
168. Sreepriya M, Porckodi M, Devaki T, Nayeem M: Anti-oxidant effects of Larginine against isoproterenol-induced myocardial stress in rats. *Med Sci Res* 1998; 26: 587-93
169. Sushamakumari S, Menon VP: Changes in levels of lipid peroxides and activities of superoxide dismutase and catalase in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Ind J Exp Biol* 1987; 25: 419-423.
170. Padmanabhan M. Stanely Mainzen P. Prince Preventive effect of S-allylcysteine on lipid peroxides and antioxidants in normal and isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats: A histopathological study *Toxicology* 2006; 224: 128-137.
171. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, et al: Oxygen free radicals and myocardial damage; Protective role of Thiol-containing agents. *Am J Med* 1991; 91: 95-105.
172. Sattler W, Malle E, Kostner GM. Methodological approaches for assessing lipid and protein oxidation and modification in plasma and isolated lipoproteins. *Method Mol Biol* 1998; 110: 167-191.

