

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OLARAK MİYOKART ENFARKTÜSÜ
OLUŞTURULAN SIÇANLARIN KALP DOKUSUNDA
ZOFENOPRİL VE NEBİVOLOL'ÜN TRPM2 KATYON
KANALLARI EKSPRESYONUNA ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Murat HARMAN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet AKBULUT**

**ELAZIĞ
2014**

DEKANLIK ONAYI

Prof.Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof.Dr. Mehmet AKBULUT

Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Mehmet AKBULUT _____

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

TEŞEKKÜR

Öncelikle sürekli yanımda olan, iyi günde de kötü günde de hep benimle olan, devamlı arkamda olduklarını bildiğim sevgili eşim ve oğlum başta olmak üzere; annem, kardeşim ve babama bu eşsiz emeklerinden dolayı şükranlarımı sunarım.

Tezimi hazırlamamda büyük emekleri olan Prof. Dr. Mehmet AKBULUT, Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'ya, eğitim süresi boyunca yanımda olan değerli hocalarım; Prof. Dr. Ilgın KARACA, Prof. Dr. Mustafa YAVUZKIR, Doç. Dr. M. Necati Dağlı, Doç. Dr. Hasan KORKMAZ, Doç. Dr. Mehmet BALİN, Yrd. Doç. Dr. Orhan DOĞDU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bu eğitim süresince beraber çalıştığım doktor arkadaşlarıma, hemşire, teknisyen, sekreter, personel ve tüm measai arkadaşlarıma en derin duygularıyla teşekkür ederim.

ÖZET

Miyokart Enfarktüsü'nün (ME) patofizyolojik süreci tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada Isoproterenol (ISO) ile deneysel miyokart enfarktüsü oluşturulan sıçanların kalp dokusundaki Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) katyon kanallarına Zofenopril ve Nebivolol'ün etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, 48 adet 210-280 gr ağırlığında Sprague Dowley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Her grupta 6 hayvan olacak şekilde 8 grup oluşturuldu. Kontrol grubuna deney süresi olan 21 gün boyunca herhangi bir uygulama yapılmadı. ME grubuna 150 mg/kg Isoproterenol, 24 saat ara ile 2 kez subkutan olarak verildi. Tedavi gruplarına ise ME oluşumunu takiben deney süresince Zofenopril (ME+Z), Nebivolol (ME+N), Zofenopril+Nebivolol (ME+Z+N) oral yola verildi. Sham gruplarına ise ME oluşturmada deney süresince sadece Zofenopril (Z), Nebivolol (N) ve Zofenopril+Nebivolol (Z+N) oral yolla verildi.

Deney sonunda sıçanlar anestezi altında dekapite edilip, çıkarılan kalp dokularında Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak TRPM2 düzeylerine bakıldı.

Transient reseptör potansiyel melastatin-2 düzeyi için yapılan çalışmalar sonucu; kontrol grubu ile Nebivolol, Zofenopril ve Zofenopril+Nebivolol grupları (Sham grupları) karşılaştırıldığında TRPM2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ME grubunda TRPM2 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). Sham grupları ile karşılaştırıldığında da ME grubunda TRPM2 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). ME grubu ile karşılaştırıldığında, ME+Nebivolol, ME+Zofenopril ve ME+Zofenopril+Nebivolol gruplarında TRPM2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.

Sonuç olarak; ME'nin patofizyolojik mekanizmasına TRPM2 kanalları katkıda bulunabilir. Gelecekte bu konuda yapılacak çalışmalarla TRPM2 katyon kanallarının ME patofizyolojisindeki rolü daha iyi anlaşılabilecektir.

Anahtar Kelimeler: Miyokart Enfarktüsü, TRPM2, Zofenopril, Nebivolol

ABSTRACT
EFFECTS OF ZOFENOPRIL AND NEBIVOLOL ON TRPM2
CHANNELS EXPRESSION IN MYOCARDIAL INFARCTION

The pathophysiology of Myocardial Infarction (MI) is not clear yet. In this study, we aimed to investigate the effects of Zofenopril and Nebivolol on Transient Receptor Potential Melastatin 2 (TRPM2) cation channels in the heart tissues of rats with Isoproterenol (ISO) induced myocardial infarction.

In the study, 48 Sprague Dowley strain male rats weighing between 210 to 280 g were used. Totally 8 groups were performed as 6 animals in each group. During the 21 days test period, no application was applied to control group. 150 mg/kg of isoproterenol, 2 times for 24 hours interval were given subcutaneously to MI group. After MI induction, treatment groups received Zofenopril (MI+Z), Nebivolol (MI+N), Zofenopril+Nebivolol (MI+Z+N) orally during the experiment period. In Sham groups MI induction was not performed and they received Zofenopril (Z), Nebivolol (N), Zofenopril+Nebivolol (Z+N) orally.

At the end of the experiment the rats decapitated under anaesthesia and from removed heart tissues TRPM2 levels were measured by Polymerase Chain Reaction (PCR) and immunohistochemical methods.

TRPM2 levels were not statistically significantly different between control and Sham (Nebivolol, Zofenopril and Zofenopril + Nebivolol) groups. TRPM2 levels of MI group were found to be significantly lower in comparison with control group ($p<0.05$). TRPM2 levels of MI group were significantly lower than Sham groups ($p<0.05$). TRPM2 levels were not statistically significantly different between MI and MI+Nebivolol, MI+Zofenopril, MI+Zofenopril + Nebivolol groups.

In conclusion; TRPM2 channels may contribute to pathophysiological mechanisms of MI. With future studies we will be able to understand the role of TRPM2 cation channels on MI pathophysiology.

Keywords: Myocardial Infarction, TRPM2, Zofenopril, Nebivolol.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Miyokart Enfarktüsü	1
1.1.1. Epidemiyoloji	1
1.1.2. Tanımı	2
1.1.3. Patofizyoloji	4
1.1.3.1. Ateroskleroz	6
1.1.3.2. İskemi	8
1.1.3.3. Reperfüzyon	9
1.1.4. Miyokart Enfarktüsünün Klinik Sınıflaması	10
1.1.5. Miyokart Enfarktüsü Kliniği	12
1.1.5.1. İlk Tanı	13
1.1.5.2. Fizik Muayene	13
1.1.5.3. EKG Bulguları	14
1.1.5.4. Laboratuvar Bulguları	17
1.1.5.5. Görüntüleme	21
1.1.5.6. Ayırıcı Tanı	23
1.1.6. Miyokart Enfarktüsü Tedavisi	23
1.1.6.1. Repüfüzyon Tedavisi	25
1.1.6.2. Akut fazda diğer tedaviler	26
1.2. Isoproterenol (ISO)	27
1.3. Transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) kanalları	29

1.4. Zofenopril	33
1.5. Nebivolol	34
2. GEREÇ VE YÖNTEM	36
2.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri	36
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar	36
2.3. Örneklerin Alınması	38
2.4. Histokimyasal İnceleme	38
2.5. İmmünohistokimyasal İnceleme	38
2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Çalışması	40
2.7. İstatistiksel Analiz	43
3. BULGULAR	44
3.1. Histokimyasal Bulgular (Masson Trikrom)	44
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	48
3.2.1. TRPM2 İmmünreaktivitesi	48
3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Bulguları	53
4. TARTIŞMA	54
5. KAYNAKLAR	59
6. ÖZGEÇMİŞ	71

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Miyokart iskemisinin sunum/ihtiyaç dengesizliği ilişkili miyokart hasarı	11
Tablo 2. Miyokart hasarı nedeniyle kardiyak troponin değerlerinin yükselmesi	20
Tablo 3. Farklı kardiyovasküler hücrelerde TRPM kanallarının varlığı	30
Tablo 4. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkibi	36
Tablo 5. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü	39
Tablo 6. İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi	40
Tablo 7. cDNA karışım miktarı	41
Tablo 8. cDNA sentezi için uygulanan PZR programı	41
Tablo 9. RT-PZR’da kullanılan primerler	42
Tablo 10. RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler	42
Tablo 11. Uygulanan RT-PZR programı	43
Tablo 12. Gruplar arası bağ doku artışı ve TRPM2 immünreaktivite değerleri.	53

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	İskemi / Reperfüzyonda Serbest Radikallerin oluşumu	10
Şekil 2.	Koroner arterlerin durumuna göre Tip 1 ve 2 Miyokart Enfarktüsü	11
Şekil 3.	STYME olan hastalarda tanı ve tedavi protokolü	24
Şekil 4.	Adrenalin ve isoproterenolün yapısal benzerliği	28
Şekil 5.	TRPM kanalları alt grup ve üyeleri	30
Şekil 6.	TRPM2 kanal aktivasyonu	32
Şekil 7.	Kontrol grubunda normal kalp histolojisi. Masson Trikrom.	44
Şekil 8.	Nebivolol grubunda normal kalp histolojisi. Masson Trikrom.	45
Şekil 9.	Zofenopril grubunda normal kalp histolojisi. Masson Trikrom.	45
Şekil 10.	Zofenopril+Nebivolol grubunda normal kalp histolojisi. Masson Trikrom.	46
Şekil 11.	ME grubuna ait kalp dokusunda belirgin bağ dokusu artışı. Masson Trikrom..	46
Şekil 12.	ME+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda belirgin bağ dokusu artışı. Masson Trikrom.	47
Şekil 13.	ME+Zofenopril grubuna ait kalp dokusunda belirgin bağ dokusu artışı. Masson Trikrom.	47
Şekil 14.	ME+Zofenopril+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda belirgin bağ dokusu artışı. Masson Trikrom.	48
Şekil 15.	Kontrol grubuna ait kalp dokusunda +3 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi.	49
Şekil 16.	Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda +3 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi.	49
Şekil 17.	Zofenopril grubuna ait kalp dokusunda +3 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi.	50
Şekil 18.	Zofenopril+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda +3 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi.	50
Şekil 19.	ME grubuna ait kalp dokusunda +2 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi.	51

Şekil 20. ME+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda +2 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi.	51
Şekil 21. ME+Zofenopril grubuna ait kalp dokusunda +2 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi.	52
Şekil 22. ME+Zofenopril+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda +2 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi.	52
Şekil 23. Gruplara göre TRPM2 mRNA kısmi kat artışı	53

KISALTMALAR LİSTESİ

ADE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ADPR	: Adenozin difosfat riboz
AME	: Akut Miyokart Enfarktüsü
ARB	: Anjiyotensin reseptör blokeri
AST	: Aspartat aminotransferaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
CK	: Kreatinin kinaz
CKMB	: Kreatinin kinaz miyokardiyal band
cTn	: Kardiyak Troponin
CX	: Circumflex Arter
DMAH	: Düşük molekül ağırlıklı heparinler
HMGC_oA	: Hidroksimetil Glutaril Koenzim A
ISO	: Isoproteronol
İTT	: İlk Tıbbi Temas
KABG	: Koroner arter bypass greftleme
KAH	: Koroner arter hastalığı
KY	: Kalp Yetmezliği
LAD	: Sol anterior inen arter
LDH	: Laktat dehidrogaz
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
ME	: Miyokart Enfarktüsü
NO	: Nitrit Oksit
PKG	: Perkütan koroner girişim
RCA	: Sağ koroner arter
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SoVH	: Sol ventrikül Hipertrofisi
STYME	: ST-segment yükselmeli miyokart enfarktüsü
TRPM	: Transient reseptör potansiyel melastatin
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

İskemik kalp hastalığı, mortalite ve morbiditenin önemli sebeplerinden biri olup güncelliğini muhafaza etmektedir. Gelişmiş ülkelerde yıllık ortaya çıkan ölümlerin yarısına yakını kardiyovasküler problemlerden kaynaklanmaktadır (1).

Amerika Birleşik Devletlerinde yılda 800000 üzerinde koroner arter hastalığı kaynaklı ölüm bildirilmiştir. Avrupa’da ve Kuzey Amerika’da mortalitenin önde gelen seepelerinden biri Akut Myokart Enfarktüsü’dür (2).

Hızla artan gelişmelerle beraber, beklenen yaşam süresi giderek uzamış, kardiyovasküler hastalıkların sıklığı giderek artmış ve ülke ekonomilerinde sağlık ile ilgili harcamalar daha fazla önem kazanmıştır (3).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre yakın gelecekte, ateroskleroz tüm ülkelerde en önemli mortalite sebebi olacaktır (4). Koroner aterosklerotik hastalıkların tedavisinde kaydedilen ilerlemelere rağmen, halen tüm toplumlarda en önemli mortalite sebebi olmaya devam etmektedir. WHO verilerine göre 1998 yılı itibariyle iskemik kalp hastalığına bağlı ölümler tüm dünyadaki yıllık ölümlerin %13,7’sini oluşturmakta ve her iki cinsiyette de ölüm nedenlerinde ilk sıradadır.

Akut miyokart enfarktüsü (AME), ateroskleroza bağlı daralmış koroner arter lümeninde bir trombüs pıhtısının sebep olduğu tıkanıklık sonucu daha distale giden kan akışının aniden kesilmesi sonucunda oluşur. Kan akımının durması hücre ve hücre zarında hasar oluşturarak bazı hücre ve membran içeriklerinin dolaşıma salıverilmesine yol açar (5).

1.1. Miyokart Enfarktüsü

1.1.1. Epidemiyoloji

Amerika Birleşik Devletlerinde yılda 800000 üzerinde koroner arter hastalığı kaynaklı ölüm bildirilmiştir. Avrupa’da ve Kuzey Amerika’da mortalitenin önde gelen seepelerinden biri Akut Miyokart İnfarktüsü’dür (2). Hastaneye ulaşmadan önce ölen önemli sayıdaki hastanın ötesinde, bu sayının Amerika Birleşik Devletleri’nde yıllık yaklaşık 300.000 ile 400.000 arasında olduğu tahmin edilmektedir (6). Her yıl yaklaşık 1 milyon insanın başlıca tanısı olarak Miyokart Enfarktüsü’nün bir türü ile hastanelere başvurduğu hesaplanmaktadır (7). Bunlar içerisinde, Amerika Birleşik

Devletleri'nde yılda yaklaşık olarak 200.000 hastaya reperfüzyon tedavisi uygulandığı bilinmektedir.

Miyokart Enfarktüsü sıklığı ve buna paralel olarak mortalite gün geçtikçe azalmaktadır. Daha etkin tedavi metodlarının geliştirilmesiyle sadece mortalite oranları azalmamış aynı zamanda hasta sayısında 1970 li yıllardan bu yana düşüş görülmüştür. Bu durumun önemli bir sebebi, hipertansiyon tedavisini, sigaranın bırakılmasını, hiperkolesteroleminin tedavisini, diyet ve egzersizi ve profilaktik aspirin kullanımını içeren önleyici kardiyolojideki birçok gelişme olabilir. Her ne kadar Miyokart Enfarktüsü'nün önlenmesi koroner revaskularizasyon üzerine belirgin bir etki yapmasa da koroner aterosklerotik hastalığın erken safhalarında girişim yapılması hastalığın doğal seyrini değiştirebilir. Miyokart Enfarktüsü'nün insidansının azaltılmasında en fazla etkisi olan tedavilerden biri aynı zamanda Akut Miyokart Enfarktüsü' nün ilerleyen zamanlarda tarihe karışacağı fikrinin ortaya atılmasına sebep olan HMG-CoA redüktaz inhibitörlerinin (8) kullanımıdır (9). Açık bir biçimde, Miyokart Enfarktüsü'nde ilk uygulanacak en önemli girişim bunun önlenmesidir, çünkü plakta rüptür başladığı zaman önüne geçilmesi çok daha zor olacaktır.

Her ne kadar insidans düşüyor gibi gözükse de, batı toplumunda ölümün ana nedeni hala Akut Miyokart Enfarktüsü'dür ve 2020 yılı itibariyle dünya genelinde sorun teşkil edeceği öngörülmektedir (10).

Sonuç olarak, tüm dünyada koroner arter hastalıkları tek başına ölümün en sık nedenidir. Her yıl yedi milyondan fazla kişi koroner arter hastalığı nedeniyle hayatını kaybetmektedir ve bu oran, tüm ölümlerin %12,8'sini oluşturmaktadır (11).

1.1.2. Tanımı

Akut Miyokart Enfarktüsü (AME), ciddi ve uzun süreli iskeminin neden olduğu geri dönüşümsüz miyokart hücre hasarı ve nekrozu şeklinde ifade edilir (12). Koroner arterde yırtılmış bir aterosklerotik plak üzerine oturan trombüs; myokard infarktüsünün en sık nedenidir (13). AME, koroner arterdeki kan akımının aniden durması sonucu geri dönüşümsüz hücre hasarı ve ölümü şeklinde tarif edilir. ME'lerin çoğundan koroner arterlerdeki aterosklerotik plaklar ve genellikle bunların üzerine oturan trombüs sorumludur. Trombüs oluşumunun sebebi genellikle

aterosklerotik plağın herhangi bir sebeple yırtılmasıdır. Akut Miyokart Enfarktüsü'ndeki mekanizma, aterosklerotik plak yırtılması sürecinin nedeni ne olursa olsun sonuçta, koroner arter damarının aniden tıkanması ve distale giden kan akımının durması sonucu dokuda iskemi oluşmasıdır.

Akut miyokart Enfarktüsü (AME) terimi, akut miyokart iskemisi ile uyumlu klinik durum varlığında miyokart nekrozu kanıtları varsa kullanılmalıdır. Bu şartlar altında aşağıdaki kriterlerden herhangi biri AME tanısını karşılar (14):

1. Kardiyak biyobelirteçlerden en az bir değerin 99. persantil üst referans sınırının üzerinde olmasıyla birlikte, biyobelirteçlerde yükselme ve/veya düşüşün tespit edilmesi ve aşağıdakilerden en az birinin varlığı:

- ◆ Anjiyografi veya otopside intrakoroner trombüs tespit edilmesi.
- ◆ Yeni veya yeni olduğu düşünülen anlamlı ST-segmenti-T dalgası değişiklikleri veya yeni gelişmiş sol dal bloğu varlığı.
- ◆ Elektrokardiyografi (EKG)'de patolojik Q dalgalarının oluşması.
- ◆ Yeni canlı miyokart kaybı veya yeni segmenter duvar hareket kusurunun görüntüleme ile ispatlanması.
- ◆ İskemi belirteçleri olması.

2. Kardiyak biyobelirteçler ölçülemeyecek kadar erken veya biyobelirteç değerleri yükselmeden gerçekleşen, miyokart iskemisini düşündüren belirtiler ile beraber yeni geliştiği düşünülen EKG değişiklikleri veya yeni gelişen sol dal bloğu ile birlikte ani kardiyak ölüm olması.

3. Perkütan koroner girişimle ilişkili AME, bazal kardiyak troponin düzeyi normal sınırlarda olan hastalarda kardiyak troponin değerinin 5 kattan daha fazla yükselmesi veya bazal değerleri yüksek ve sabit ya da düşmekte olanlarda ise kardiyak troponin değerinde %20'den fazla artış olması şeklinde tanımlanır. (Ek olarak, iskemi belirtileri veya yeni iskemik EKG değişiklikleri ya da işlem komplikasyonları ile uyumlu olan anjiyografik bulgular, ya da yeni canlı myokard doku kaybı ya da yeni segmenter duvar hareket kusurunun görüntüleme kanıtları gerekmektedir.)

4. Stent trombozu ile ilişkili AME, kardiyak biyobelirteçlerde en az bir değerin 99. persantil üst referans sınırının üzerinde olmasıyla beraber artma veya

azalma tespit edilmesi ve myokard iskemisi varlığında anjiyografi ve/veya otopside trombüsün gösterilmesiyle tanımlanır.

5. Koroner arter baypas greftleme ile ilişkili AME, bazal kardiyak troponin değerleri normal sınırlarda olan hastalarda kardiyak biyobelirteçlerin 10 kattan daha fazla yükselmesi olarak ifade edilir. (Ek olarak, EKG de yeni patolojik Q dalgaları veya sol dal bloğu, veya anjiyografik olarak ispatlanan yeni greft tıkanıklığı yada yeni doğal(nativ) koroner arter tıkanıklığı, veya yeni canlı myokard doku kaybı veya yeni segmenter duvar hareket kusurunun görüntüleme ile ispatı gereklidir.)

1.1.3. Patofizyoloji

Akut miyokart enfarktüsü patolojisinde uzamış iskeminin sebep olduğu miyokart hücre ölümü yer almaktadır. Miyokart dokusunda iskeminin başlamasının ardından, histolojik hücre ölümü hemen gözlenmez, ortaya çıkması belirli bir süre (20 dakika kadar kısa) geçmesi gerekir, bu süre bazı hayvan modellerinde daha kısa olabilir (15).

Post-mortem incelemelerde miyokart nekrozunun makroskopik veya mikroskopik olarak görülebilmesi için birkaç saat gerekir. Riske maruz kalan myokard hücrelerinin tamamen nekroza uğraması için en az 2-4 saat gereklidir. Bu süre iskemik bölgenin kollateral dolaşımına, miyositlerin iskemiye karşı duyarlılığına, ısrarcı veya geçici koroner arter tıkanıklığına ve oksijen ve besin gereksinimine bağlı olarak daha da uzayabilir (16). AME iyileşmesine kadar devam eden süre genellikle 5-6 hafta sürer. Reperfüzyon, makroskopik ve mikroskopik görüntülerde değişikliklere yol açabilir.

Koroner arterler içindeki otoregülatuar mekanizmalar, aterosklerotik plaklar bulunsa dahi miyokardda yeterli oksijen sunumunu sıklıkla devam ettirirler. Fakat bu koruyucu mekanizmalar bozulduğunda uzamış iskemi veya miyokard enfarktüsü oluşabilir (17).

Enfarktüs sonucu oluşan kasılma bozukluğu saniyeler içinde gelişir ve başlangıçta sadece tutulan segmentle sınırlıdır. Sol ön inen dalın (LAD) tıkanmasıyla oluşan infarktüs, sol ventrikülün apikal ve anterior bölgelerinde, interventriküler septumda, anterolateral duvardaki papiller kaslarda ve sol ventrikülün inferoapikalinde oluşmaktadır. Sirkumfleks (Cx) artere bağlı infarktüsler sol ventrikülün lateral ve inferoposterior duvarını tutarlar. Sağ koroner arter (RCA)

tıkanıklıklarında interventriküler septumun inferior bölgesi, posteromedial papiller kas infarktüsü ve ayrıca sağ ventrikül infarktüsü gelişebilir. Beslediği miyokart segmentleri göz önüne alındığında LAD tıkanmaları ejeksiyon fraksiyonunu en fazla etkileyendir.

Akut koroner oklüzyon 15-20 dakikadan fazla sürecek olursa geri dönüşümsüz kardiyak hasar başlar. Geri dönüşümsüz hasarın endokarttan epikarda doğru yayılması 4-6 saatte tamamlanır. Bu yüzden koroner kan akımının ilk 4-6 saatte tekrar sağlanması miyokart dokusunda nekrozun yayılmasını önlemektedir. Nekroza uğrayan dokunun miktarı kollateral kan akımının varlığına bağlıdır. AME'de mortalite ve morbiditenin en önemli belirleyicisi miyokart hasarının büyüklüğüdür (17).

Akut miyokart enfarktüsü, ateroskleroza bağlı daralmış koroner arter lümeninde bir trombüs pıhtısının sebep olduğu tıkanıklık sonucu daha distale giden kan akışının aniden kesilmesi sonucunda oluşur. Kan akımının durması hücre ve hücre zarında hasar oluşturarak bazı hücre ve membran içeriklerinin dolaşıma salıverilmesine yol açar (5).

Rüptüre olan plakta fibröz kapsül daha ince, düz kas hücresi az, lipid içeriği fazla, yüksek oranda monosit ve makrofaj yer alır (18). Bu mononükleer hücrelerden salınan kimyasal mediyatörler (kemoataktik protein, matrix metalloproteinazları-kolejenaz, stromelisin, elastaz-) plak kapsülünün kimyasal sindirimine yol açarak plak rüptürünün tetiklenmesinde ana etkenler olarak düşünülürler. Hidroksi metil glutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz inhibitörlerinin AME insidansını azalttığı gösterilmiştir. Bu durum muhtemelen lipid içeriğinin azaltılması, hücresel plak bileşenleri ve kemokinler üzerinde iyileştirici antienflamatuar etkilerine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (8). AME ile ilişkili olan arter içinde kan akımının kesilmesi sonucunda arter duvar bütünlüğünün kaybı ve platelet trombüsü oluşup, miyokart iskemisi ve hasarı oluşur. Miyokart nekrozunun dalga yüzü subendokardiyumdan subepikardiyuma kadar uzanır (19) ve nekrozun büyüklüğü, kollateral akıma, kan akımının kesilmesi için geçen süreye, koroner kan akımındaki azalmanın büyüklüğüne bağlı olarak değişkenlik gösterir.

Koroner arterlerde tıkanıklığa yol açan trombüs beyaz (içeriği plateletten zengin) ve kırmızı (eritrosit ve fibrinden zengin) pıhtıların karışımından oluşur.

Bazılarında plateletlerin daha baskın rolü vardır, diğerlerinde ise koroner arterlerde hasarın olduğu alanda baskın olan fibrinden zengin trombüs bulunur. Hareketsiz olan trombüs enfarktüse sebep olan damar içerisindeki kan akımının azlığına bağlı olarak oluşur ve bu durum oklüzyonun proksimalinde kırmızı trombüs ortaya çıkmasına neden olur (20).

Ayrıca ST segment elevasyonu olmayan AME hastalarında muhtemelen mural trombüs içeriği plateletten daha zengindir ve hareketsiz değildir; çünkü sürekli kesilmiş koroner kan akımı yoktur. İskemiyin süresine ve büyüklüğüne bağlı olarak miyokart hasarı ve nekrozu gelişebileceği gibi (non ST segment elevasyonlu), hasta miyokart nekrozu ile karşı karşıya kalmayabilir (unstabil angina). Koroner arterde hasarın olduğu bölge ve proksimalinde meydana gelen olayların dışında atherom içeriklerinin veya platelet trombüsünün distale embolizasyon potansiyeli bulunur. Otopsilerde bu durum çok tipik olmamakla beraber dikkatli histolojik inceleme yapılmasını gerektirir (21).

1.1.3.1. Ateroskleroz

Koroner arterde yırtılmış bir aterosklerotik plak üzerine oturan trombüs; miyokart infarktüsünün en sık nedenidir (13). Koronerlerde kan akımının durması; genellikle aterosklerotik bir plağın yırtılması sebebiyle oluşan trombüsün damarda yola açtığı total oklüzyonun sonucudur. Kan akımının durması sonucu oluşan iskemiyin dışında, koronerlerde vazokonstriksiyon ve mikroembolizasyon da hasarın oluşmasının diğer sebepleridir. Trombüs oluşumu sık görülmemekle birlikte, endotel duvarındaki yüzeyel bir erozyona bağlı da oluşabilir.

Ateroskleroz damarın esnek yapısının bozulup sertleşmesi ve damar duvarında kalınlaşma ile karakterizedir. Ateroskleroz arter duvarında düzenli bir tutulumdan ziyade fokal tutulumla daha yatkındır (22). Ateroskleroz önce endotel disfonksiyonuna sebep olur. Bu durum son evre olan aterosklerotik plak rüptürünün önemli bir nedenidir. Önce lipid birikimi, ardından makrofajların bu lipidlerle köpük hücrelerine dönüşmesi, daha sonra hasarlı endotel içerisine düz kas hücrelerinin taşınması ve bu hücrelerin burada çoğalarak kollajen sentezlemeleri, son olarak plateletlerin ve onların ürettiği pıhtılaşma faktörlerinin oluşumu gibi ateroskleroz oluşum sürecinin her safhasında endotel yer alır (23). Bu sürecin önemli bir kısmı

intimada olmasına rağmen, arter duvarının diğer katmanları da hastalıktan etkilenir. Etkilenen arterin media tabakasında çoğunlukla düz kas hücre kaybı ile beraber atrofi oluşur. Bunun sebebi media tabakasındaki hücrelerin beslenmesinin azalması ile birlikte buradaki birçok hücrenin intima bölgesine migrasyonudur. Medial tabakadaki hücrelerin azalması sonucunda arterde dilatasyon oluşur. Bunun nedeni lümen darlığını adapte etmek içindir. Bazen anjiyografik görüntülerde arterde ciddi darlık olmasına rağmen normal olarak gözükebilir (24).

Ateroskleroz oluşumunda 3 evre karşımıza çıkmaktadır:

1. Yağlı çizgilenme: En erken ateroskleroz lezyonu sayılan bu çizgilenmeler erken çocukluk döneminde ortaya çıkmaktadır. Bu lezyonlar köpük hücrelerinden zengin ve bu köpük hücreleri nedeniyle damar yüzeyinden kabarıktır. Bu yağlı çizgilere zamanla LDL-K girişi artarsa lezyon daha ileri safhalara doğru ilerler (25).

2. Fibroz (stabil) plak: Risk faktörlerinin devam etmesi ile subendotelyal depolanma zamanla giderek artar. Makroskopik olarak beyaz renklidir, lümene doğru büyür ve lümeni daralmaya yol açar. En dışta endotel hücreleri, altında düz kas hücreleri, makrofajlar ve T lenfositler yer alır. Bu evrede mediadan intimaya göç eden düz kas hücreleri fibröz bir başlık oluşturmak üzere dizilirler. Bu başlığın temel görevi lümendeki kan ile lezyonun merkezindeki aterojenik lipid çekirdeğini birbirinden ayırmaktadır. Arter lümeninde kısmi tıkanıklık ve klinik olarak semptomlar ortaya çıkabilir.

3. Komplike lezyon (zedelenebilir plak): Aterosklerotik plak dıştan mekanik stres ve risk faktörlerinin devam etmesi ile yıpranırken, bir yandan da içten yıpranır. Devam eden inflamatuvar süreç ile birlikte plak içindeki makrofajlar metalloproteinazlar salarak plağın fibröz çatısını yıpranmaya yol açar. Normalde fibröz çatıda yapım ve yıkım denge halindedir. Plağın lipid içeriği % 40'ı aştığında plağın zedelenebileceğinden bahsedilir. Plağın fissüre veya rüptüre olması ile klinik kardiyovasküler olaylar oluşmaya başlar. Plağın üstündeki endotel ayrılınca, subendotelyal doku kan ile temas eder. Subendotelyal doku, lipoprotein (a) ve faktör VII zengin olup trombojenik özellik taşır. Bu temas sonucunda trombüs oluşur. Oluşan bu trombüs damar lümenini tam veya kısmi olarak tıkayarak akut kardiyovasküler olaylara sebep olur (25).

1.1.3.2. İskemi

Dokulara kan akımını sağlayan damarların, pıhtıyla veya mekanik bir nedenle tıkanması sonucu meydana gelen doku beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. İskemi, dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının dolaşım tarafından karşılanamaması ve ortaya çıkan artık ve toksik ürünlerin yine dolaşım tarafından ortamdaki uzaklaştırılamaması şeklinde tarif edilir (26).

Dokuya giden kan akımı kesildiği zaman, o dokuda bulunan hücrelerin fonksiyon bozukluğu ile başlayan ve hücrelerin ölümüne kadar devam eden bir dizi kimyasal olay meydana gelir. Hücrede enerji eksikliğinin ortaya çıkması iskemik hasarın oluşmasında merkezi bir rol oynamaktadır. Normal hücre işlevleri için gerekli olan yüksek enerjili fosfat bağları aerobik metabolizma ile sağlanmaktadır. Hücresel işlevlerin gerçekleşebilmesi temel yakıt olan oksijene bağlıdır. İskemi oluştuğunda, oksijen eksikliğine bağlı olarak, mitokondrial elektron transport zincirinde ve oksidatif fosforilasyon kapasitesinde giderek azalma meydana gelmektedir (27). İskemi hücrede oksidatif fosforilasyonda bozulmaya yol açarak hücrede adenosin trifosfat (ATP) ve fosfokreatin üretiminde azalmaya sebep olur. Bu durum hücre membranındaki ATP'ye bağımlı iyon pompa fonksiyonunu bozarak hücreye daha fazla kalsiyum (Ca^{2+}), sodyum (Na^{+}) ve su (H_2O) girmesine yol açmaktadır. Bunun sonucu olarak miyokart pH'sı asit yönüne kayar. Oksidatif metabolizma, elektron transportu ve mitokondrilerdeki ATP üretimi giderek azalmaya başlar. Bu durumda anaerobik metabolizma devreye girer. Anaerobik glikolizle ATP üretimi başlatılır. Fakat bu hem doku asidozunun daha da derinleşmesine hem de göreceli olarak yetersiz enerji üretimine sebep olur. Sonuçta laktik asit ve benzeri toksik metabolitlerin birikimi artar. İskemide enerji eksikliğine bağlı olarak meydana gelen biyokimyasal olaylar sırasıyla asidoz, hücre için gerekli makromolekül (fosfolipid, polisakkarid gibi) sentezinin durması, iyon dengesinin bozulması (hücre içi kalsiyum girişi gibi) ve ATP yıkım ürünlerinin birikmesi şeklinde sıralanabilir.

İyon dengesinin bozulmasının yanı sıra hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun artışına bağlı olarak, membran geçirgenliğinin artması ile meydana gelen iyon kaçakları oluşmaktadır. İskemiyle beraber zaten azalmakta olan ATP bu iyon kaçaklarının önlenmesi için daha da fazla harcanmakta ve bir kısır döngü içinde

gidrek tüketilmektedir (28). İskemi / reperfüzyon hasarının gelişmesinde son derece önemli olan hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu artışı temelde üç yoldan oluşmaktadır:

I. Hücre dışından Ca^{2+} girişi

II. Hücre içi Ca^{2+} depolarından Ca^{2+} salınımı

III. Hücre içi Ca^{2+} düzeyini kontrol eden mekanizmaların bozulması

Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu artışı ile beraber hücrede lipoliz, proteoliz, DNA hasarı ve Mitokondrial Elektron Transport Zinciri Hasarı oluşmaktadır.

1.1.3.3. Reperfüzyon

Reperfüzyon, iskemi sebebi olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuda kan akımının tekrar oluşmasıdır. İskemiye maruz kalmış bir dokunun yeniden kanlanması dokunun oksijen ve diğer metabolik ihtiyaçlarını karşılarken aynı zamanda paradoksal olarak dokularda hasar da oluşturur (29).

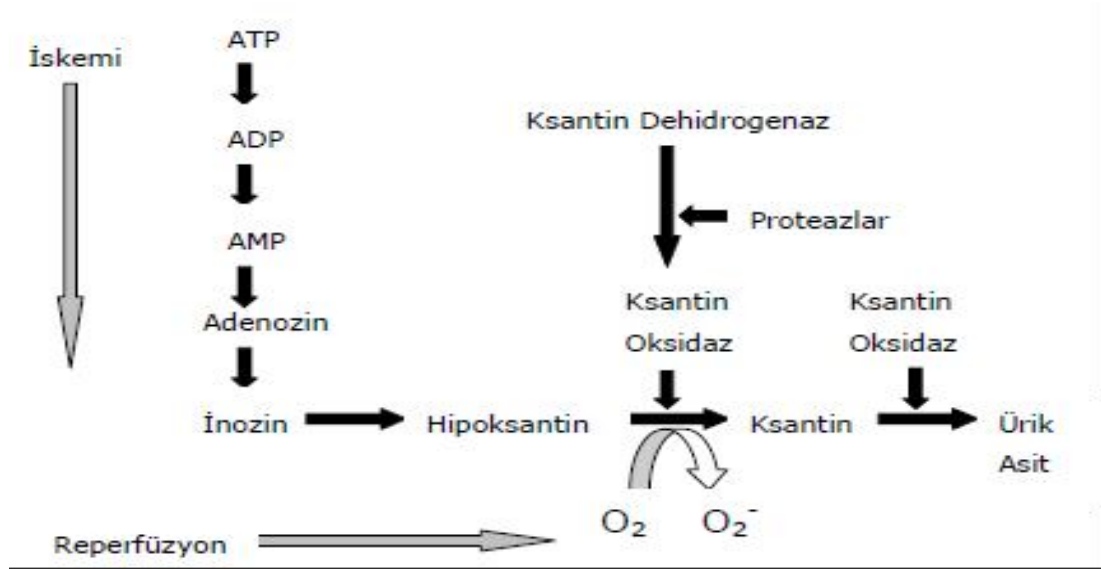
Reperfüzyon sırasında gözlemlenen hasarda, hücreye oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR) başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır (Şekil-1). Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı olan hücresel yapılar, membran lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (30). Aerobik solunum yapan organizmalarda serbest radikal oluşumunu kontrol altında tutmak ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olmak için antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Fakat bazı durumlarda mevcut olan bu antioksidan savunma sistemi serbest radikallerin etkisini tamamiyle önleyemez duruma gelir ve oksidatif stres olarak adlandırılan durum oluşur. Bu durum vücudun paslanması diye de tanımlanabilir. Antioksidanlar dört farklı şekilde etkilerini gösterirler:

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları yakalama veya daha zayıf yeni moleküllere dönüştürme şekli toplayıcı etkileridir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu şekilde etki ederler.

2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşerek onlara bir hidrojen aktarım aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkileridir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engellemek zincir kırıcı etkileridir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın tamir edilmesi onarıcı etkidir.



Şekil 1. İskemi / Reperfüzyonda Serbest Radikallerin oluşumu

1.1.4. Miyokart Enfarktüsünün Klinik Sınıflaması

Reperfüzyon tedavisi gibi acil tedavi stratejilerinin uygulanabilmesi adına, göğsünde rahatsızlık ya da diğer iskemik belirtileri olan ve birbirleri ile ilişkili olan iki derivasyonda ST segment yükselmesi gelişen AME hastalarının “ST yükselmeli AME” (STYME) olarak tanımlanması olağan uygulamadır. Buna karşın, başvuru esnasında ST segment yükselmesi olmayan hastalar genellikle “ST yükselmesiz AME” (Non ST elevasyonlu AME) olarak adlandırılır. AME geçiren hastaların çoğunda EKG de Q dalgası gelişir (Q dalgalı miyokart enfarktüsü), ancak bazılarında gelişmez (Q dalgası olmayan miyokart enfarktüsü). Biyobelirteç değerleri yüksek olmayan hastalara kararsız angina (unstabil angina) tanısı konabilir. Bu kategorilere ek olarak, AME patolojik, klinik ve prognostik farklılıklara ve farklı tedavi stratejilerine göre çeşitli tiplere sınıflandırılmaktadır (14):

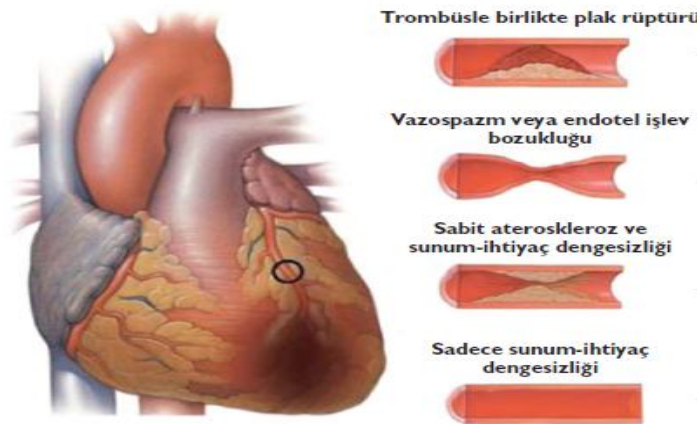
1. Spontan Miyokart Enfarktüsü (Tip 1): Bir veya daha fazla koroner arterde, miyokart kan akımında azalma ya da distal trombosit embolisine neden olarak miyositlerde nekroza sebep olacak şekilde lümende trombüs oluşumu ile sonuçlanan aterosklerotik plak rüptürü, ülserasyonu, fissürü, erozyonu veya diseksiyonu ile ilişkili olan klinik olaydır. Hastalarda altta yatan önemli düzeyde koroner arter hastalığı olabileceği gibi bazı durumlarda (%5-20) özellikle de

kadınlarda koroner anjiyografide tıkalı olmayan koroner arter hastalığı tespit edilebilir veya hiç koroner arter hastalığı bulunmaz (31, 32).

2. İskemik bir dengesizliğe bağlı Miyokart Enfarktüsü (Tip 2): Miyokart dokusunda oksijen sunumu ve/veya ihtiyaç dengesizliğine sebep olabilecek koroner arter hastalığı (KAH) dışındaki bir durumun neden olduğu nekrozlu miyokart hasarı oluşması durumu şeklinde tarif edilir (14). Örneğin koroner endotel işlev bozukluğu, koroner arter spazmı, koroner emboli, taşı-/bradi-aritmi, anemi, solunum yetersizliği, hipotansiyon ve sol ventrikül hipertrofisi (SoVH) ile birlikte olsun ya da olmasın hipertansiyon gibi (Tablo 1) durumlar bu klinik tabloya yol açabilir (Şekil-2).

Tablo 1. Miyokart iskemisinin sunum/ihtiyaç dengesizliği ilişkili miyokart hasarı

Klinik Durum
Taşı-/bradi-aritmiler
Aort diseksiyonu veya ciddi aort kapak hastalığı
Hipertrofik kardiyomiyopati
Kardiyojenik, hipovolemik veya septik şok
Ciddi solunum yetersizliği
Ciddi anemi
SoVH olsun olmasın hipertansiyon
Koroner spazm
Koroner emboli veya vaskülit
Belirgin KAH olmadan koroner endotel disfonksiyonu



Şekil 2. Koroner arterlerin durumuna göre Tip 1 ve 2 Miyokart Enfarktüsü ayırımı. (En üstteki Tip 1, altındakiler Tip 2 Miyokart Enfarktüsü)

3. Miyokart Enfarktüsü'ne bağlı kardiyak ölüm (Tip 3): Yeni ortaya çıktığı düşünülen iskemik EKG değişiklikleri veya yeni gelişmiş sol dal bloğunun bulunduğu miyokart iskemisini düşündüren belirtilerle (ancak biyobelirteç değerleri olmayan) birlikte kardiyak ölüm gelişen hastalar tanı açısından zorlayıcı bir grubu oluştururlar. Bu hastalar biyobelirteçler için daha kan örnekleri alınamadan veya kardiyak biyobelirteçler yükselmeden önce ölmüş olabilirler. Eğer hastalar miyokart iskemisinin klinik özellikleri veya yeni olduğu düşünülen iskemik EKG değişiklikleri ile karşımıza çıkarlarsa, AME'nin kardiyak biyobelirteç kanıtı olmasa da, ölümcül AME olarak sınıflandırılmalıdırlar (14).

4. Revaskülarizasyon işlemleri ile ilişkili Miyokart Enfarktüsü (Tip 4 ve 5): Girişimsel işlemler sırasında miyokart hasarı veya enfarktüsü, perkütan koroner girişim (PKG) veya koroner arter baypas greftleme (KABG) gibi mekanik revaskülarizasyon işlemleri sırasında gerekli cihazlarla müdahale yapılırken herhangi bir safhada ortaya çıkabilir. Bu girişimler sırasında, nekrozlu miyokart hasarı ile sonuçlanabilecek çeşitli işlemlere bağlı olarak, yüksek kardiyak troponin (cTn) düzeyleri saptanabilir (33, 34).

Perkütan koroner girişim (PKG) ilişkili Miyokart Enfarktüsü Tip 4a, stent trombozu ile ilişkili Miyokart Enfarktüsü Tip 4b, Koroner arter baypas greftleme (KABG) ile ilişkili Miyokart Enfarktüsü Tip 5 olarak sınıflandırılmaktadır (14).

1.1.5. Miyokart Enfarktüsü Kliniği

Akut Miyokart Enfarktüsü hastaların kliniğinde çeşitli semptomlar saptanabilmektedir. Bu semptomlar genellikle anjina ve benzeri göğüs rahatsızlığı ile karşımıza çıkabilir. Ağrı AME'nün en önemli klinik semptomudur. Ağrının şiddeti değişken olmakla birlikte çoğu hastada çok şiddetlidir. Ağrının süresi genellikle yarım saatten fazla olup çoğunlukla birkaç saat sürer. Ağrı tipik olarak göğüs kafesinde sıkışma ve baskı tarzında olup, genellikle retrosternal bölgededir, sıklıkla ön göğüsün her iki yanına olmak üzere genellikle sol tarafa doğru yayılım gösterebilir. Ağrı sol kolda genellikle aşağı doğru yayılır. Bazen ağrı atipik yerleşimde gösterebilir. Özellikle inferior bölge AME'lerde ağrı epigastriyuma lokalize olup gastrointestinal hastalıkları taklit edebilir. Yine ağrı, boyuna, çeneye, omuzlara, üst ekstremitelere ve interskapuler bölgeye yayılır ve genelde sol tarafı

tercih eder. Önceden göğüs ağrısı olanlarda ağrının şiddet ve yerleşimi önceki ağrılarıyla benzerlik gösterse de AME ağrısı çok daha şiddetlidir ve uzun sürelidir.

Akut miyokart enfarktüsünde kendini sol ventrikül yetmezliği semptomları, terleme, bulantı, kusma, dispne, senkop, konfüzyon ve hatta stroke ile belli edebilir. İleri derecede halsizlik, baş dönmesi, solukluk, soğuk terleme ağrıya eşlik eden diğer semptomlardır.

1.1.5.1. İlk Tanı

Tanı ve tedaviyi kapsayan AME yönetimi, genellikle hastane dışı bir ortamda hastanın hastane öncesi süreçte bir paramedik, hekim veya başka bir tıbbi personel tarafından değerlendirildiği ya da hastanın acil servise ulaştığı konum olarak tanımlanan ilk tıbbi temas sırasında başlar (35). Öncelikle Miyokart Enfarktüsü'nde tanıya yönelik hızlı bir analiz yapılmalıdır. Hastalarda genellikle 20 dakika ya da daha uzun süren, nitrata yanıt vermeyen göğüs ağrısı öyküsü bulunmaktadır. KAH öyküsü, ağrının boyna, alt çeneye ve sol kola yayılması önemli olabilecek bazı ipuçlarıdır. Ağrı genellikle şiddetlidir ancak her zaman olmayabilir. Bazı hastalar bulantı, kusma, nefes darlığı, halsizlik, senkop veya çarpıntı gibi belirtilerle de başvurabilir veya bu belirtiler göğüs ağrısına eşlik edebilir. Bu grup hastalar daha geç başvurma eğiliminde olup daha sıklıkla diyabetik, yaşlı ve kadın hastalardır. Bu hastalar tipik göğüs ağrısı ile başvuran hastalarla karşılaştırıldığında reperfüzyon tedavisi ve diğer kanıta dayalı tedavileri daha az sıklıkta almaktadırlar. Elde edilen kayıtlar STYME hastalarının %30'a kadarının atipik belirtilerle başvurduğunu göstermektedir (36).

Akut miyokart enfarktüsü geçiren hastalar fazla miktarda endişeli, sıkıntılı ve rahatsız görünümde olurlar. Ağrıyı azaltabilmek için sürekli hareket edip pozisyon değiştirirler ve ölüm korkusu ve kaygısıyla karşı karşıyadırlar. Kalp yetmezliği ve sempatik stimülasyonu olan hastalarda soğuk bir ter ile beraber eşlik eden cilt soğukluğu olabilir ve bu hastalar sırt üstü yatmakta zorlanırlar.

1.1.5.2. Fizik Muayene

Fizik muayene genellikle normaldir. Kalp yetersizliği veya hemodinamik bozukluk hekimi tanı ve tedaviyi hızlandırma konusunda uyarıcıdır. Fizik

muayenenin diğerk bir amacı da göğüs ağrısına yol açabilecek pulmoner emboli, aort diseksiyonu, perikardit, kalp kapağı hastalıkları, pnomotoraks, pnomoni, plevra efuzyonu gibi klinik durumları dışlamaktır. Dolayısıyla ekstremitelerden ölçülen kan basınçları arasında farklılıklar, üfürümler, düzensiz nabız, perikaridyal veya plevral sürtünme sesi, palpasyonla ağrı ve palpabl kitleler gibi miyokart infarktüsü dışı tanılara işaret edebilen fiziksel bulgular saptanabilir. Soluk deri, aşırı terleme ve tremor gibi bulgular anemi ve tirotoksikoz gibi durumu ağırlaştırıcı patolojileri gösterebilir (37).

Akut miyokart enfarktüsünde solunum sayısında hafifçe artış görülür. Kalp yetmezliği olmayan hastalarda solunum sayısının artmasının sebebi ağrı ve anksiyetedir. Kalp yetmezliği ilerledikçe solunum sayısında artar.

Akut miyokart enfarktüsünde ilk 48 saati içinde ateş görülebilir. Genellikle 38-38,5 derece civarındadır. AME de ateş, dokuda oluşan nekroz ve inflamasyona nonspesifik cevap olarak ortaya çıkar. Sıklıkla vucüt sıcaklığı ilk 4-8 saat içinde yükselmeye başlar ve bir hafta içinde normalleşir.

Kalp hızı, temeldeki ritime, AME'nin lokalizasyonuna ve kalp yetmezliğinin derecesine göre bradikardiden taşikardiye kadar değişkenlik gösterebilir. AME'de hastaların çoğu normotansif olmakla beraber, eşlik eden klinik durum, infarktüs lokalizasyonu ve genişliğine bağlı olarak hipotansif ya da hipertansif olabilirler.

Enfarktüsün ardından, 1. kalp sesi (S1) sol ventrikül kontraktilesinin azalmasına bağlı olarak hafiflerken, atriyal kontraksiyonu ve sol ventrikül kompliyansının azalması sonucu ortaya çıkan 4. kalp sesi (S4) sinüs ritmi olan AME'li hastalarda duyulabilir. Kalp yetmezliği geliştiğinde veya yaygın sol ventrikül disfonksiyonunda 3. kalp sesi (S3) genellikle duyulmaktadır. S3 genellikle geniş anterior bölge ME'lerde duyulur. Sistolik üfürümler, geçici ya da kalıcı karakterde olup AME'li hastalarda sıklıkla duyulur. Yeni gelişen bir üfürümün tespit edilmesi mekanik bir komplikasyonun göstergesi olabilir.

1.1.5.3. EKG Bulguları

Miyokart enfarktüsü'nün tanısının zamanında konulması başarılı bir tedavinin anahtarıdır. EKG görüntülenmesi, ölümcül aritmileri saptamak ve gerektiğinde hemen defibrilasyonu gerçekleştirmek için, STYME'den şüphelenilen her hastada

mümkün olan en kısa zamanda yapılmalıdır. Bir 12 derivasyonlu EKG, ilk tıbbi temas esnasında mümkün olan en kısa süre içinde elde edilip değerlendirilmelidir (38). AME de tanı ve tedavi süreçlerini başlatan ilk belirti göğüs ağrısı olmasına rağmen hastaların sınıflandırılması elektrokardiyografiye (EKG) dayanmaktadır. İki hasta grubu görülebilir (37):

1. Akut göğüs ağrısı ve ısrarcı (>20 dk) ST segment yükselmesi olan hasta grubu: ST segment yükselmeli Miyokart Enfarktüsü (STYME) denilmekte olup sıklıkla akut total koroner tıkanıklığı göstermektedir. Tedavide amaç fibrinolitik tedavi veya birincil anjiyoplastiyle erken, hızlı, tam ve devamlı bir reperfüzyon sağlamaktır.

2. Akut göğüs ağrılı, ancak ısrarcı ST segment yükselmesi olmayan hasta grubu: Bu grupta ise daha çok ısrarcı veya geçici ST segment çökmesi veya T dalga değişiklikleri (negatif T dalgası, düz T dalgaları, yanıltıcı normalleşmiş T dalgaları) ya da tamamen normal EKG bulgularıyla başvuran hastalar vardır. Bu hastalardaki strateji ise iskemi ve semptomları hafifletmek, seri EKG takibi yapmak, miyokart nekrozu biyobelirteçlerinin ölçümelerini aralıklı tekrarlayıp hastaları risk derecelerine göre sınıflandırarak erken ve hızlı medikal ve girişimsel tedaviyi başlatmak şeklinde özetlenebilir.

Akut miyokart iskemisi atakları sırasında EKG dalgalarındaki dinamik değişiklikler, özellikle ilk başvuruda EKG'nin tanısal olmadığı hallerde sıklıkla çok sayıda EKG çekilmesini gerektirir. İlk EKG'si tanısal 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 tekrarlaması 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 olanak verir. Birçok derivasyonu/bölgeyi içeren daha belirgin ST-segmenti değişiklikleri veya T dalga inversiyonu daha ileri derecede miyokart iskemisi ve daha kötü prognozla ilişkilidir. Akut miyokart iskemisi ile iliş-

kili diğer EKG değişiklikleri kardiyak aritmiler, intraventriküler ve atriyoventriküler ileti gecikmelerini ve prekordiyal R dalga genlik kaybını içermektedir (14).

Erken evrelerde, EKG nadiren normal olabilir. Tipik olarak, akut miyokart infarktüsünde, birbiri ile ilişkili iki derivasyonda J noktasında ölçülen ST-segment yüksekliği, 40 yaşın altındaki erkeklerde ≥ 0.25 mV, 40 yaşın üstündeki erkeklerde ≥ 0.2 mV ya da kadınlarda V2-V3 derivasyonlarında ≥ 0.15 mV ve/veya diğer derivasyonlarda ≥ 0.1 mV (sol ventrikül hipertrofisi veya sol dal bloğu yokken) bulunmalıdır (16). İnferior Miyokart Enfarktüsünde, eşlik eden sağ ventrikül infarktüsünü saptamak için sağ göğüs derivasyonların (V3R ve V4R) kaydedilmesi önerilir. (16, 39) Ayrıca, V1-V3 derivasyonlarında ST-segment çökmesi, özellikle de terminal T dalga pozitifliği varsa (ST-yükselmesi eşdeğeri) miyokart iskemisini düşündürür ve beraberindeki V7-V9 derivasyonlarındaki ≥ 0.1 mV ST yükselmesi ile doğrulanabilir (16).

İki ilişkili derivasyonda yeni horizontal veya aşağı doğru $\geq 0,05$ mV ST çökmesi ve/veya R dalgası hakimiyeti veya R/S oranı >1 olan iki ilişkili derivasyonda $\geq 0,1$ mV T dalga tersleşmesi (sol ventrikül hipertrofisi veya sol dal bloğu yokken) de akut miyokart iskemisinin bir diğer EKG bulgusudur (14). İlişkili derivasyonlar, anterior derivasyonlar (V1-V6), inferiyor derivasyonlar (II, III, aVF) veya lateral/apikal derivasyonlar (I, aVL) gibi derivasyon gruplarını ifade eder. V3R ve V4R gibi ek derivasyonlar sağ ventrikül serbest duvarını ve V7-V9 gibi ek derivasyonlar infero-bazal duvarı yansıtır.

Başvuru anındaki EKG eğer varsa eski EKG kayıtları ile karşılaştırılmalıdır. ST değişiklikleri akut perikardit, Brugada Sendromu, sol ventrikül hipertrofisi, stres kardiyomiyopatisi ve erken repolarizasyon gibi diğer durumlarda da görülebildiğinden tek başına EKG, akut miyokart iskemisi ya da enfarktüsü tanısını koymakta yetersiz kalabilir (40). Uzamış yeni gelişen ST-segment yükselmesi (>20 dak), özellikle resiprokal ST-segment çökmesi ile ilişkili ise, sıklıkla akut koroner tıkanıklığı yansıtır ve miyokart nekrozu ve hasarı ile sonuçlanır.

ST segment elevasyonuna göre enfarktüs lokalizasyonu şu şekilde yapılabilir:

Anteroseptal	: V1-3
Anteroapikal	: V2-4
Lateral	: D1, aVL, V6

Yüksek Lateral	: D1, aVL
Anterolateral	: D1, aVL, V3-6
Yaygın Anterior	: D1, aVL, V1-6
İnferior	: D2, D3 ve aVF
Posterolateral	: D2, D3, aVF + V5-6
Sağ Ventrikül	: V1, V3R, V4R
Posterior	: V1-2 (ST depresyonu) (17).

1.1.5.4. Laboratuvar Bulguları

Biyokimyasal belirteçler miyokart nekrozunun ve hasarının tanısında ve prognozun belirlenmesinde yardımcıdırlar. İskemi sonucunda miyokardial hücrelerde membran bütünlüğünü bozulur, hücre içi makromoleküller önce hücre dışına, sonra da dolaşıma geçer ve sonuçta periferik dolaşımda bu moleküller ölçülecek düzeye ulaşırlar.

Bu biyokimyasal belirteçler miyokart nekrozu dışında birçok hastalık, klinik durum veya ağır egzersiz sonucunda da kanda yüksek düzeylere ulaşabilirler. Bu yüzden AME tanısında bu belirteçlerin, klinik ve EKG bulgusu ile birlikte değerlendirilip yorumlanması gerekir. EKG bulguları ya da tipik semptomların varlığıyla beraber olan kardiyak biyobelirteç yüksekliğinde tanıya varmak daha doğru olacaktır.

1. Kardiak troponin ve Kreatin Kinaz ve İzoenzimleri: Kreatin kinaz (CK), uzun yıllardır pek çok laboratuarda ölçülmektedir. CK'nın önemi gün geçtikçe giderek azalmaktadır. Çünkü kardiyak hasarı göstermede spesifitesi düşüktür. CK'nın üç adet izoenzimi ve bir de mitokondriyal formu bulunmaktadır. Üç izoenzim, M ve B zincirlerinden oluşur. Birçok dokuda MM izoenzimi ön planda olup CK-MM yüksekliği AME tanısında güvenilirliği yoktur. BB izoenzimi genellikle beyinde ve gastrointestinal sistemde bulunur. MB izoenzimi ise kalp için oldukça spesifiktir. Diğer dokularda özellikle iskelet kasında da az miktarda CK-MB bulunur.

Troponinlerin tespitiyle beraber kardiyak hasar tanısında önemli bir yere gelinmiştir. Tespit edilen troponin izoformları, kardiyak hasar tanısı açısından yüksek düzeyde spesifiteye sahiptir. Üç adet kardiyak troponin(cTn) tespit edilmiştir: Troponin I(cTnI), Troponin T (cTnT) ve Troponin C (cTnC). Bu Troponinler, kalp

kasında aktin ve miyozinin kalsiyuma bağılı etkileşimini düzenlerler. cTnC'nin düz kasta bulunduğundan kardiyak spesifisitesi yok denecek kadar azdır. Ancak, cTnI ve cTnT nin kardiyak özgüllükleri yüksektir.

Miyokardial hasar kardiyak troponin ya da kreatin kinaz MB fraksiyonu (CK-MB) gibi duyarlı ve özgül biyokimyasal belirteçlerin kandaki yüksek düzeyleri ile tespit edilir (16). Kardiyak troponin I ve T miyokart hücrelerinin kontraktıl aygıtının parçalıdır ve hemen hemen sadece kalp dokusunda bulunurlar. Bu biyobelirteçlerin düzeylerinin kanda yüksek saptanması miyokart hücrelerinde nekrozu ve hasarı yansıtmısına rağmen, alttaki temel mekanizmayı göstermezler (41).

Kreatinin kinaz miyakardiyal band değeriinde yükselme enfarktüstten yaklaşık 4-6 saat sonra başlar, 24. saatte pik değeriine ulaşır ve 36-72 saatte tekrar normal düzeylere gelir. Dolayısıyla AME şüphesi olanlarda CK-MB bakılacaksa kan genellikle 8-12. saatlerde alınmalıdır. CK-MB yükselmesi ile beraber tipik semptomlar da olursa tanı değeri oldukça yüksektir (42). CK-MB'nin erken pik yapması başarılı revaskülarizasyonun önemli göstergesidir.

Nekrozlu miyokart hasarının histolojik kanıtları, iskemik nedenli olmayan miyokart hasarı ile ilişkili klinik durumlarda da tespit edilebilir. Küçük miktarda nekrozlu miyokart hasarı, kalp yetersizliği (KY), böbrek yetersizliği, miyokardit, aritmiler, pulmoner emboli veya başkaca olaysız perkütan ya da cerrahi koroner işlemlerle ilişkili olarak da saptanabilir (14).

Miyokart dokusuna olan yüksek özgüllüğü ve yine yüksek klinik duyarlılığı sebebiyle tercih edilen biyobelirteç kardiyak troponin (I veya T)'dir. Ölçümlerde bir artma ve/veya azalmanın saptanması AME nin tanısının temelini oluşturur (43).

Yüksek cTn konsantrasyonu toplumun normal referansının 99. persantilini [üst referans sınırı (ÜRS)] aşan değeri olarak ifade edilir. Ayırt edici 99. persantil, AME tanısı için karar verdirici düzey olarak saptanır ve tüm laboratuvarlarda her özel kit için uygun kalite kontrolleri ile tespit edilmelidir (44, 45).

Tam sayılarla gösterebilmek için, değeriiler litre başına nanogram (ng/L) veya mililitre başına picogram (pg/mL) olarak sunulmalıdır. cTn değeriilerinin yükselme kriterleri kite bağımlıdır fakat yüksek duyarlı kitler de dahil olmak üzere her bir kitin duyarlılık profilinden tanımlanabilir (46, 47).

Kardiyak troponin ölçümleri için kan örnekleri ilk karşılaşmada alınmalı ve 3-6 saat sonra tekrar edilmelidir. Daha sonraki örnekler eğer yeni iskemik hadiseler oluşursa ya da semptom ve belirtilerin başlangıç zamanı belli değilse gereklidir (48). AME tanısını koymak için, ölçüm öncesi güçlü bir olasılık ile beraber, en az bir değerin karar seviyesinin üstünde olması ve değerlerde yükselme ve/veya azalmanın tespit edilmesi gerekmektedir. Yükselme ve/veya düşmenin gösterilmesi, cTn değerlerindeki akut yükselme ile yapısal kalp hastalıkları ile ilişkili kronik yükseklikleri ayırt etmede gereklidir (46, 47, 49, 50). Örnek olarak kalp yetmezliği veya böbrek yetersizliği olanlarda kardiyak troponin değerlerinde belirgin kronik yükseklikler görülebilir. Bu yükseklikler, pek çok AME hastasında olduğu gibi ciddi olabilir ama akut olarak değişmez (43). Bununla birlikte, eğer ölçüm öncesi AME açısından yüksek riskli bir hasta geç dönemde yani belirtilerin başlangıcından uzun zaman sonra karşımıza çıkarsa, AMİ tanısı koymak için bir yükselme veya düşme paterni her zaman gerekli değildir; örneğin cTn zaman-konsantrasyon eğrisinde eğrinin yavaş-düşüş kısmında veya zirveye yakın kısmında bir değişim paterninin saptanması sorun oluşturabilir. Miyosit nekrozu başlangıcından sonra takip eden 2 hafta boyunca veya daha uzun süreyle cTn değerleri yüksek seviyelerde kalabilir (46).

Yüksek duyarlılıklı troponin kitleri için cinsiyete bağımlı referans değerler kullanılması önerilebilir (51, 52). İskeminin klinik belirti ve bulgularının yokluğunda, yükselmiş bir cTn değeri varlığında miyokardit, kalp yetmezliği, aort diseksiyonu, pulmoner emboli gibi miyokart hasarı ile ilişkili diğer tanıların araştırılması gerekir.

Kardiyak troponin kitinin olmadığı durumlarda, ölçülebilecek en iyi alternatif biyobelirteç CKMB (kütle kiti ile ölçülen)'dir. AME tanısı için yüksek bir CKMB değeri, karar düzeyi olarak belirlenen 99. persantil ÜRS' nin üstü olarak tanımlanır ve cinsiyete özgü değerler kullanılması önerilir (53).

Miyokard hücresinde hasar oluşturabilecek herhangi bir durum CK-MB düzeylerinin artmasına neden olur. CK-MB iskelet kasında da bulunduğundan iskelet kası hasarında da düzeyleri yükselebilir. CK-MB miyokardda daha fazla bulunduğundan, kandaki CK-MB oranının total CK miktarına göre daha yüksek tespit edildiği durumlarda kardiyak hasardan şüphelenilmelidir. CK-MB düzeyleri

kronik böbrek yetmezliğinde de yüksek düzeylerde saptanmıştır. Bunun sebebi olarak da kalsiyum, fosfor ve paratiroid hormonunun, protein kas hücreleri üzerindeki etkileri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (54).

Tablo 2. Miyokart hasarı nedeniyle kardiyak troponin değerlerinin yükselmesi

Birincil olarak miyokart iskemisi ilişkili hasar

Plak rüptürü

Koroner arterde lümen içi trombüs oluşumu

Miyokart iskemisinin sunum/ihtiyaç dengesizliği ilişkili miyokart hasarı

Taşı-/bradi-aritmiler

Aort diseksiyonu veya ciddi aort kapak hastalığı

Hipertrofik kardiyomiyopati

Kardiyojenik, hipovolemik veya septik şok

Ciddi solunum yetersizliği

Ciddi anemi

SoVH olsun olmasın hipertansiyon

Koroner spazm

Koroner emboli veya vaskülit

Miyokart iskemisi ile ilişkili olmayan hasar

Kardiyak kontüzyon, cerrahi, ablasyon, pacing veya defibrilatör şokları

Kardiyak tutulumlu rabdomiyoliz

Miyokardit

Kardiyotoksik ajanlar, örn. antrasiklinler, herseptin

Çok faktörlü-belirlenemeyen miyokart hasarı

Kalp yetersizliği

Stres (Takotsubo) kardiyomiyopatisi

Ciddi pulmoner emboli veya pulmoner hipertansiyon

Sepsis ve kritik derecede hasta olanlar

Böbrek yetersizliği

Ciddi akut nörolojik hastalıklar, örneğin inme, subaraknoid kanama

2. Miyogloblin: Miyogloblin, AME tanısında duyarlılığı varken, özgüllüğü olmayan, kalp ve iskelet kasında bulunan düşük molekül ağırlıklı bir proteindir. Miyogloblin miyokard hasarı sırasında hücrelerden hızlı bir şekilde salınır ve sonra da böbrekten elimine olur. Bu nedenle, akut bir olaydan sonra kısa sürede yükselir ve

miyokard infarktüsünde en erken yükselen moleküldür. Fakat özgüllüğünün olmamasından dolayı negatif prediktif değeri pozitif prediktif değerden daha önemlidir. Akut bir olaydan sonra 4-6 saatlik süreç sonrası miyogloblin düzeyinde yükselme veya artış tespit edilmezse büyük olasılıkla kardiyak olay dışlanmış olur (55). Özgüllüğünün olmaması ve nisbeten maliyetinin yüksek olması rutinde kullanımının kısıtlanmasına sebep olmuştur.

3. Laktat Dehidrogenaz: Laktat dehidrogaz (LDH) kalp, beyin, iskelet kası, böbrek, eritrosit, mide ve karaciğer gibi birçok dokuda bulunur. LDH'nin 5 izoenzimi vardır. Bunlardan LDH-1 ve LDH-2 miyokard nekrozunun tanısında kullanılanlardır.

Akut olaydan 8-12 saat sonra LDH yükselmeye başlar ve 24-48 saat sonra pikini yapar ve yaklaşık bir hafta veya daha uzun süre sonra normal değerine düşer. LDH-1/LDH-2 oranının >1 olması miyokard nekrozunun veya hasarının göstergesi kabul edilir.

4. Aspartat Aminotransferaz: Aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri, kardiyak olaylar dışında birçok klinik durumda yükselebilmektedir. Miyokart hasarından 8-12 saat sonra yükselmeye başlar ve 24-72 saatte pik değerine ulaşır. 2-5 gün kadar kanda yüksek seviyede kalır. AST düzeylerinin tanıdan ziyade hasarın yaygınlığı ve klinik takip açısından faydası olabilmektedir.

1.1.5.5. Görüntüleme

Girişimsel olmayan görüntüleme yöntemlerinin bilinen veya şüphelenilen ME'li hastalarda birçok rolleri vardır. Temel mekanizma, bölgesel miyokart hipoperfüzyon ve iskemisinin miyokart işlev bozukluğu, hücre ölümü ve fibrozis sonrası iyileşme ile seyreden olaylar kaskadını başlattığıdır. Dolayısıyla, önemli görüntüleme değişkenleri, perfüzyon, miyosit canlılığı, miyokart kalınlığı, kalınlaşma ve hareket ile fibrozisin radyoopak ve paramanyetik kontrast maddelerin kinetiği üzerine etkilerinin gösterilmesidir.

1. Ekokardiyografi: Ekokardiyografinin önemi, kardiyak yapı ve fonksiyonunu, özellikle de miyokart kalınlığı, kalınlaşması ve hareket kusurunu değerlendirmesidir. Bununla birlikte ekokardiyografik kontrast maddeler, endokart sınırının tespit edilmesini kolaylaştırıp miyokart perfüzyonu ve mikrovasküler

oklüzyonları değerlendirmede kullanılabilir. Strain görüntüleme ve doku doppler miyokardın global ve segmenter fonksiyonlarının kantitatif olarak değerlendirilmesine imkan verir (56).

2. Radyonüklit görüntüleme: Talyum-201, tekniyum-99m MIBI ve tetrafosmin gibi SPECT işaretleyicileri ile F-2-fluorodeoksiglukoz (FDG) ve rubidyum-82 gibi PET işaretleyicileri gibi çeşitli radyonüklid işaretleyiciler canlı olan miyokardın görüntülenmesine olanak sağlarlar(57, 58).

3. Manyetik rezonans görüntüleme: Kardiyak manyetik rezonans görüntülemenin yüksek doku kontrastı miyokart fonksiyonlarının hassas bir şekilde değerlendirilmesine imkan tanır. Kardiyak manyetik rezonans görüntüleme AME şüphesinde ekokardiyografiyle benzer yeterliliktedir. Paramanyetik kontrast ajanlar miyokart perfüzyonunun ve hücre dışı boşlukta önceki ME'ye bağlı fibrozis artışının görüntülenmesinde ve tespitinde kullanılabilir. Bu teknikler AME sırasında kullanılmaktadır (59, 60).

Görüntüleme yöntemleri, kardiyak biyobelirteçlerin arttığı durumlarda, duvar hareket anormalliklerini ya da canlı miyokart kaybını tespit etmedeki yetenekleri nedeniyle AME tanısında kullanışlı olabilirler. Öyle ki; biyobelirteçler ölçülmemiş ya da normal değerlerine düşmüşlerse, noniskemik nedenlerin yokluğunda miyokart canlılığında yeni kaybın gösterilmesi, AME kriterlerini karşılar. Normal miyokart fonksiyon ve canlılık belirtisinin güçlü negatif prediktif değeri vardır ve uygulamada miyokart infarktüsünü ekarte eder (61). Dolayısıyla, bu görüntüleme yöntemleri AME şüphesi olan hastalarda erken ayırıcı tanıda ve taburcu edilmelerinde kullanışlıdır. Ancak, biyobelirteçler uygun zamanlarda ölçülmüş ve normal düzeylerde tespit edilmişlerse, bu durum AME'yi dışlar ve görüntüleme kriterlerine de üstünlük sağlar.

Ekokardiyografi, perikardit, kapak hastalıkları, kardiyomiyopati, miyokardit, pulmoner emboli veya aort diseksiyonu gibi ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken, akut göğüs ağrısının iskemik olmayan nedenlerinin değerlendirilmesini sağlamaktadır (56).

Radyonüklit görüntüleme akut miyokart revaskülarizasyonu ile kurtarılan miyokart miktarının değerlendirilmesinde kullanılabilir.

Görüntüleme yöntemlerinin ulaşılabilirliği, maliyeti ve uygulanabilirliği gibi birçok faktöre bağlı olarak kullanımları nisbeten kısıtlıdır.

1.1.5.6. Ayırıcı Tanı

Birçok kalp veya kalp dışı rahatsızlıklar AME ayırıcı tanısında akla getirilmelidir. Bunlar; miyokardit, perikardit, kardiyomiyopati, kapak hastalığı, kalp travmaları gibi kalp ile ilgili rahatsızlıklar, pulmoner emboli, pnömoni, pnömotoraks, plörit gibi akciğer ilişkili rahatsızlıklar, aort diseksiyonu, aort anevrizması, serebrovasküler hastalık gibi damarsal rahatsızlıklar, özefajit, peptik ülser, kolesistit, pankreatit gibi gastrointestinal sistem ilişkili rahatsızlıklar, servikal diskopati, kosta kırığı, kas-tendon yaralanmaları gibi ortopedik rahatsızlıklar olarak sınıflandırılabilir.

1.1.6. Miyokart Enfarktüsü Tedavisi

Tanı ve tedavi protokolünü içeren AME yönetimi, genellikle hastane öncesi dönemde hastane dışındaki bir ortamda hastanın bir paramedik, hekim veya başka bir sağlık personeli tarafından değerlendirildiği ya da hastanın acil servise ulaştığı nokta olarak tarif edilen ilk tıbbi temas (İTT) esnasında başlar (35).

Tanı konulduktan sonra spesifik tedaviyle beraber, ağrının giderilmesi, yalnızca insani nedenlerle değil, aynı zamanda ağrının vazokonstriksiyona neden olan ve kalbin iş yükünü arttıran sempatik aktivasyon ile ilişkili olması nedeniyle büyük önem taşır. Titre edilmiş i.v. opiyatlar (örn. morfin) bu koşullarda en yaygın kullanılan analjeziklerdir. Oksijen (maske veya nazal uçlarla) nefes darlığı, hipoksik veya kalp yetersizliği olanlara uygulanmalıdır.

Akut Miyokart Enfarktüsü'nün en kritik zamanı, genellikle hastanın şiddetli ağrısının olduğu ve kardiyak arrest olasılığının bulunduğu çok erken dönemdir. Miyokart Enfarktüsü şüphesi olan bir hastada, acil defibrilasyon gerekliliği sebebiyle, mümkün olan en kısa süre içinde bir defibrilatör temin edilmelidir. Bununla birlikte, STYME tedavisinde özellikle de reperfüzyon tedavisinin erkenden sağlanması, yararı açısından kritik derecede önemlidir (62).

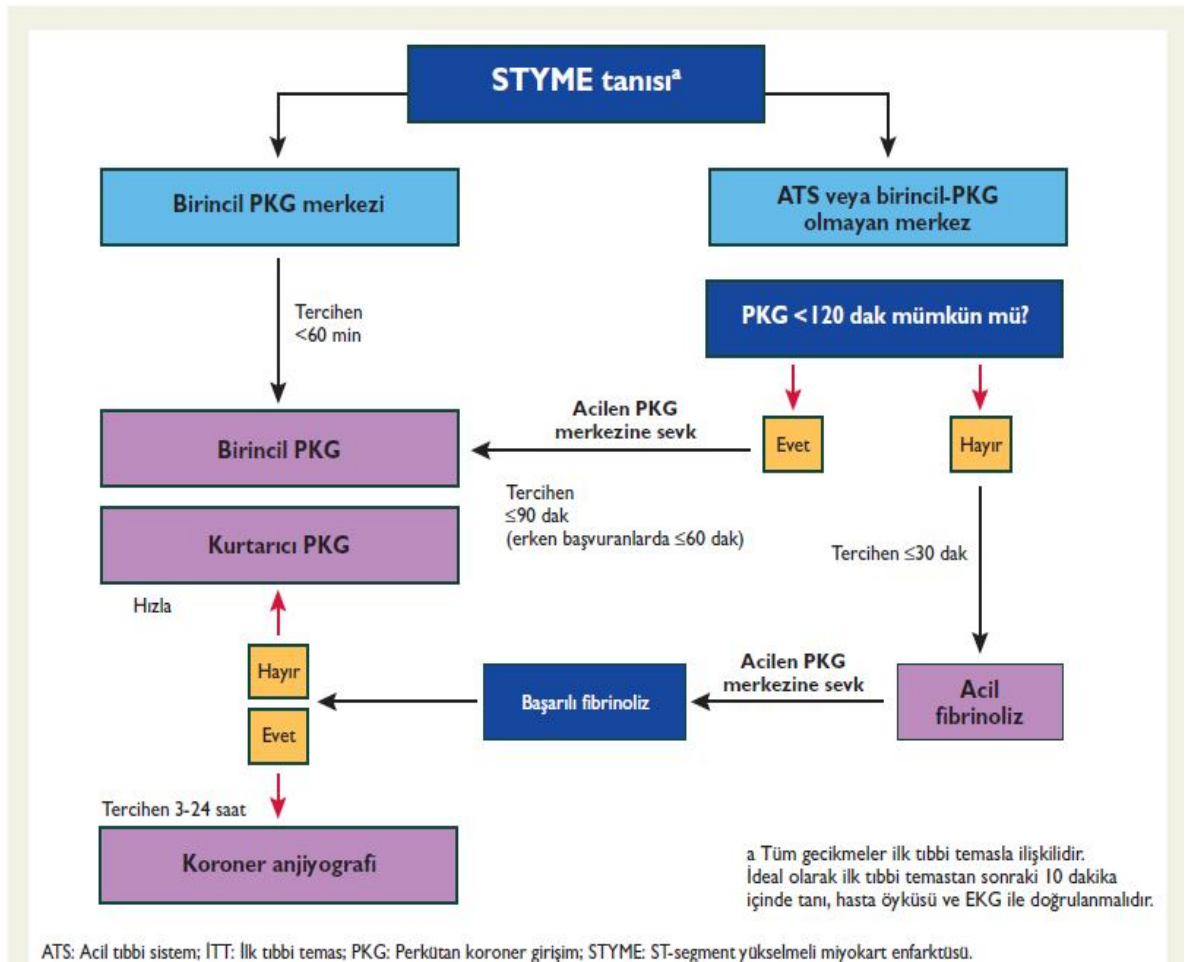
Akut ST-segment elevasyonlu miyokard enfarktüsü tedavisinde, hastalar hastaneye ulaştığında, özellikle tanı ve endikasyon dahilinde fibrinolitik ajanların uygulanması ya da birincil perkütan koroner girişimin (PKG) gerçekleştirilmesi

konusunda gerekli hazırlıklar ve işlemler hızla tamamlanmalıdır. Fibrinoliz adayı olan hastaların doğrudan hastane öncesi ortamda, acil serviste ya da koroner bakım ünitelerinde tedavi edilmesi gerekirken, birincil PKG adayları, mümkün olan en kısa sürede, acil servise ve/veya koroner yoğun bakım ünitesine uğramadan doğrudan kateterizasyon laboratuvarına ulaştırılmalıdır (63, 64).

Yeni başlayan göğüs ağrısıyla başvuran hastalarda erken girişimlerle sonlanımın iyileştirilebileceği hastaları saptayabilmek için, hızla tanı konulması ve erken evrede risk sınıflandırılmasının yapılması önemlidir.

Bununla birlikte ST segment yükselmesi olmayan AME hastalarında ilk tıbbi temas sonrası medikal tedaviyle birlikte hızlıca risk skorlaması yapılmalı ve yüksek riskli hastalara kısa sürede erken perkütan koroner girişim uygulanmalıdır.

Bu tanı ve tedavi ile ilgili süreç aşağıdaki şekilde özetlenmiştir (14):



Şekil 3. STYME olan hastalarda tanı ve tedavi protokolü

1.1.6.1. Repürfüzyon Tedavisi

1. Perkütan koroner girişimler (PKG): Akut ST-segment yükselmeli miyokard enfarktüsünü izleyen erken saatlerdeki PKG uygulamalarını üç başlık altında toplayabiliriz: Birincil PKG, kolaylaştırılmış PKG (farmakolojik reperfüzyon tedavisiyle beraber uygulanan PKG) ve kurtarıcı PKG (farmakolojik reperfüzyon ile başarılı sonuç alınamaması durumunda uygulanan) (65). Birincil PKG daha önce fibrinolitik tedavi uygulanmaksızın yapılan anjiyoplasti ve/veya stent uygulaması şeklinde tarif edilir. Tecrübeli ve deneyimli bir ekip tarafından hızlı uygulanabilmesi durumunda tercih edilen tedavi seçeneğidir. PKG uygulama sayısının fazla olduğu merkezlerde birincil PKG uygulanan hastalarda mortalite oranlarının daha düşük olduğu gözlemlenmektedir (66, 67). PKG olanağı bulunmayan hastanelerdeki hastalar, PKG yapılabilen bir merkeze hızlıca nakledilmeli eğer bu nakledilme süresi 120 dakikanın üzerinde olarsa hastaya beklemeden hızlı bir şekilde fibrinolitik tedavi verilmelidir. Fibrinolitik tedavi uygulanan hastalarda hızlı bir şekilde PKG uygulanan merkeze transfer edilmeli ve bu hastalarda mümkün olan en kısa sürede (3-24 saat) koroner anjiyografi laboratuvarına alınmalıdır.

Fibrinolitik tedavinin verilemediği ya da kontrendike olduğu hastalarda fibrinolitik tedavi yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olacağından, bu hastalarda hızlıca primer PKG uygulanmalıdır (68).

2. Fibrinolitik Tedavi: Fibrinolitik tedavi, özellikle önerilen süre içerisinde birincil PKG uygulanamayan veya yapılmayan STYME hastaları için önemli bir reperfüzyon stratejisidir. STYME ile başvuran hastalarında fibrinolitik tedavinin faydaları iyi bilinmektedir (69): 146 plasebo ile karşılaştırıldığında, semptomlar başladıktan sonra 6 saat içinde tedavi edilen her 1000 hastada yaklaşık 30 kadar erken ölüm önlenmektedir.

İlk 2 saat içinde fibrinolitik tedavi uygulanan hastalarla daha geç saatlerde tedavi edilenler karşılaştırıldığında çok daha yüksek oranda bir mortalitede azalma tespit edilmiştir (70). Bu veriler doğrultusunda, reperfüzyon stratejisi olarak endikasyonu olması durumunda, fibrinolitik tedavinin hastane öncesinde başlatılması desteklenmektedir.

Semptomlardan sonraki ilk 12 saat içinde ST elevasyonu ya da göğüs ağrısı ile beraber yeni gelişen sol dal bloğu ile başvuran 75 yaş ve üzerindeki 3300 hastayı

içeren bir çalışmada fibrinolitik tedavi sonrası mortalitede önemli miktarda azalma tespit edilmiştir (71). Fibrinolitik tedavi olarak uygulanan ajanlar; streptokinaz (SK), alteplaz (t-PA), reteplaz (r-PA), tenekteplaz (TNK-tpa)'dır. Fibrinolitik tedavinin başarılı olduğuna dair işaretler varsa (60.–90. dakikalar arasında ST-segment yükselmesinde %50'nin üzerinde gerileme olması, tipik reperfüzyon aritmi, göğüs ağrısının kaybolması) ve kontrendikasyon yoksa, stabil hastalarda tedaviden sonraki 3 ile 24 saat içerisinde anjiyografi tavsiye edilmektedir.

1.1.6.2. Akut fazda diğer tedaviler

Belirtilerin başlangıcından sonraki 12 saat içinde başvuran ve reperfüzyon tedavisi yapılamayan veya 12 saat sonrası gelen hastalara mümkün olan en kısa zamanda aspirin, klopidoğrel ve bir antitrombin ajan (unfraksiyone heparin, enoksaparin veya fondaparinux) verilmelidir (72-74).

Miyokart enfarktüsü şüphesiyle başvuran bütün hastalara olabildiğince erken sürede aspirin verilmelidir. Aspirin çiğnenebilir tablet olarak 150–300 mg dozunda başlanmalıdır. Daha sonra ömür boyunca oral yoldan günlük daha düşük doz (75–100 mg) aspirin verilmelidir. Aspirine ek olarak bu hastalara klopidoğrel verilmelidir. (Hasta yaşı ≤ 75 ise yükleme dozu oral yolla 300 mg, ardından idame dozu olarak 75 mg/gün.)

Perkütan koroner girişim uygulanacak hastalara en kısa sürede aspirin ve klopidoğrel tedavisi başlanmalıdır. Klopidoğrel yükleme dozu olarak en az 300 mg ile başlanmalı, ancak 600 mg'lık yükleme dozuyla beraber trombosit agregasyonunun daha hızlı ve güvenilir bir şekilde inhibe edildiği de bilinmektedir (75, 76). Klopidoğrel'in yükleme dozu PKG'den önceki 2 saat içinde yapılacaksa 600mg, 6 saatten daha uzun bir zamanda yapılacaksa 300 mg şeklindedir. Daha sonra günlük doz olarak 75 mg ile idame tedavi olarak devam edilmelidir. STYME hastalarında klopidoğrel tedavisine en az 1 yıl devam edilmesi önerilmektedir. Ayrıca prasugrel ve tikagrelor gibi yeni antitrombosit ajanların da STYME hastalarında kullanılabileceği bilinmektedir. STYME sonrası aspirin ve bir oral ADP reseptör antagonisti (klopidoğrel, prasugrel, tikagrelor) ile ikili antitrombositler tedavi 12 aya kadar sürdürülmelidir.

Antikoagülan tedavi olarak unfraksiyone heparin (UFH), enoksaparin ve bivaluridin gibi ajanlar kullanılır. Heparin PKG sırasında uygulanan standart antikoagülan tedavidir. Enoksaparin intravenöz, daha sonra subkutan uygulamayla devam edilirken, UFH intravenöz bolus ve infüzyon olarak hasta kilosuna göre ayarlanmış dozda verilir. Yine seçilmiş hastalarda endikasyon varlığında Glikoprotein IIb/IIIa antagonistleri de (Absiksimab, tirofiban) kullanılabilir.

Kontrendikasyonları olmayan tüm STYME hastalarında hastanede yatarken beta-blokerlerle oral tedavi düşünülmeli ve bu tedaviye daha sonra da devam edilmelidir. Kalp yetersizliği veya sol ventrikül işlev bozukluğu olan hastalarda beta-blokerlerle oral tedavi gereklidir. Hipotansiyon veya kalp yetersizliği olan hastalarda intravenöz beta-blokerlerden kaçınılmalıdır (14).

Tüm STYME hastalarında, kontrendikasyon veya entolerans öyküsü yoksa başlangıçta kolesterol düzeyleri ne olursa olsun, hastaneye kabulden hemen sonra erken dönemde yüksek dozda statinlere başlanması ve devam edilmesi önerilir (14).

Anjiyotensini dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri, kalp yetersizliği, sol ventrikül sistolik işlev bozukluğu, diyabet veya bir anterior enfarkt kanıtı olan hastalarda (STYME'nin ilk 24 saati içinde başlamak üzere) gereklidir (14). Bir Anjiyotensin reseptör blokeri (ARB), tercihen valsartan, kalp yetersizliği veya sol ventrikül sistolik işlev bozukluğu olan, özellikle ADE inhibitörlerini tolere edemeyen hastalarda ADE inhibitörlerinin bir alternatifidir.

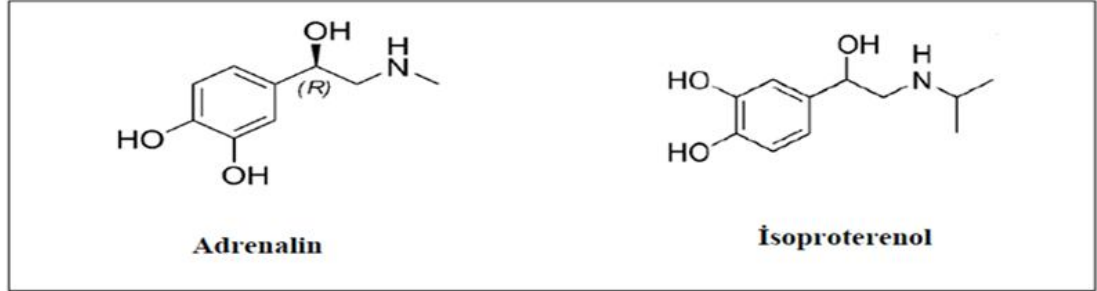
Aldosteron antagonistleri (örn. epleronon), böbrek yetersizliği veya hiperkalemisi olmayan, ejeksiyon fraksiyonu $\leq 40\%$, kalp yetersizliği veya diyabeti olan hastalarda gereklidir (14).

İntravenöz nitratlar, akut dönemde hipertansiyonu veya kalp yetersizliği olan hastalarda, hipotansiyon, sağ ventrikül enfarktüsü veya son 48 saat içinde fosfodiesteraz tip 5 inhibitörü kullanımı olmaması koşuluyla, kullanılabilir. Akut ve stabil evrede, anginal belirtileri kontrol etmede nitratlar kıymetli ajanlar olarak kullanılmaya devam etmektedir (14).

1.2. Isoproterenol (ISO)

Isoproterenol (ISO), ratlarda deneysel olarak miyokard enfarktüsü oluşturmak için yaygın olarak kullanılan sentetik bir katekolamin türevidir (77, 78). Sistemik

adı 4-[1-hidroksil-2-(1-metiletilamino) etil] benzen-1,2-diol hidro-klorit olan Isoproterenol Hidroklorid, ayrıca isoprenaline olarak da bilinir. Kapalı formülü $C_{11}H_{17}NO_3 \cdot HCl$ olup molekül ağırlığı 242,72 g'dır (79). Yapı olarak adrenaline benzerlik gösterir. β_1 ve β_2 reseptörlerini etkiler ve α reseptörlerini uyarmaz.



Şekil 4. Adrenalin ve isoproterenolün yapısal benzerliği

İsoproterenol adrenalin gibi barsakta inaktive edildiğinden oral kullanım şekli yoktur. Koroner arter hastalığında kullanılması önerilmemektedir (80). Yüksek dozlarda vazokonstriktör, düşük dozlarda vazodilatör etkisi vardır.

Deneyisel olarak miyokart enfarktüsü oluşturmak amacıyla genelde ISO kullanılır. Sıçanlarda ISO ile oluşturulmuş miyokard enfarktüsündeki patofizyolojik değişikliklerle, insan kalbindeki STYME sonucu oluşan değişiklikler arasında önemli fark olamamakla beraber benzerlikler saptanmıştır (81). ISO' nun etkileri güçlü kronotrop ve inotrop özelliklerine bağlı olarak miyokard oksijen tüketim miktarını arttırmasına ve beraberinde diastolik arter basıncı ile koroner perfüzyon basıncını düşürmesine bağlıdır. Bunlara ilave olarak katekolamin ile uyarılmış nekrozda, siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeylerindeki artışın (82), hücre içi kalsiyum düzeylerinin artışıyla beraber yüksek enerjili fosfatların tüketilmesinin (83) önemli düzeyde rol aldığı tespit edilmiştir. Hücre içi kalsiyum miktarı artınca yüksek enerjili fosfat üretimi engellenir, çünkü mitokondride kalsiyuma bağlı ATPaz (adenozin trifosfataz) çalışamaz düzeye gelir. ATP (adenozin trifosfat) azalması miyokartta geri dönüşümsüz hasara sebep olan olaylar dizisini başlatır (84). Katekolaminler ile indüklenen miyokardiyal nekrozun patogenezi multifaktöryel olmasına rağmen oksidatif stresin önemli düzeyde rol oynadığı gösterilmiştir (85,86). ISO ile oluşturulmuş denyesel miyokard enfarktüsü modellerinde kalp dokusundaki hasarının bir başka mekanizması da hücre içi lizozomal enzimlerin ortaya çıkmasıdır.

Bunun sonucunda hücrede direkt hasar oluşurken hem de serbest oksijen radikallerinin artmasıyla ikincil olarak hasar meydana gelir (87, 88).

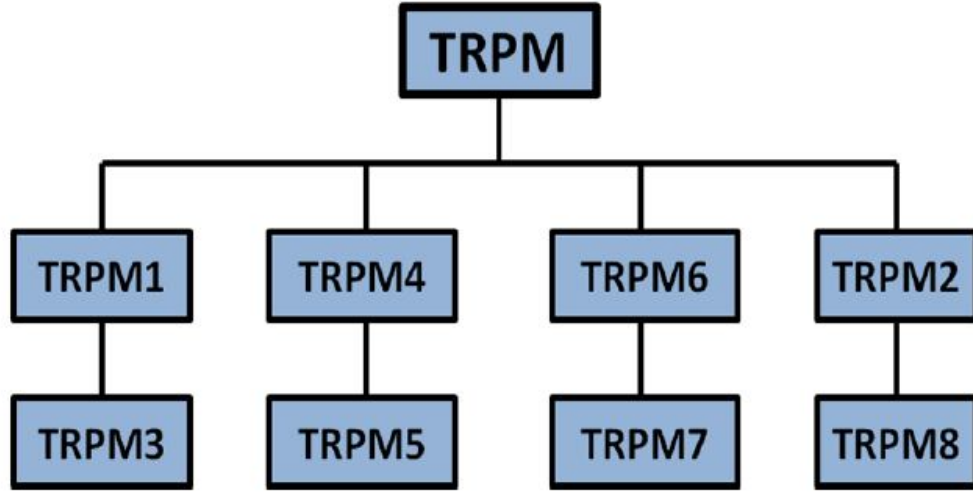
1.3. Transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) kanalları

Transient reseptör potansiyel (TRP) kanalları ilk kez *Drosophila* türü sirke sineklerinin gözlerinde bulunan fotoreseptörler ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda 1989 yılında keşfedilmiştirler. Mutasyona uğramış bu kanalların devamlı bir ışığa karşı, gelip geçici (kesik kesik) bir gerilim oluşturmasıyla karakterize olduğu tespit edilmiştir (89).

Transient reseptör potansiyel kanalları, memelilerden omurgasızlara, canlı organizmalarının çeşitli dokularında proteinlerin çeşitli bir grubunu oluşturmaktadır (90). Kalsiyum sinyalinde TRP kanalları, iyon kanallarının yeni bir sınıfının prototip üyeleridir. İlk kez fotoreseptör hücrelerinde tespit edilen bu TRP kanallarının, omurgalılarda yaygın olarak bulunan voltaj kapılı kalsiyum kanallarıyla yapısal olarak benzerlikleri olduğu anlaşılmıştır (91). TRP katyon kanalları üst ailesi voltaja duyarlı Ca^{+2} 'a geçirgen katyon kanallarının geniş bir yelpazesini içine almaktadır.

Transient reseptör potansiyel kanalları ya direkt olarak plazma membranındaki kalsiyum (Ca^{+2}) giriş kanalları gibi davranmakta ya da Ca^{+2} giriş kanallarının modülasyonu için itici güç olan membran potansiyelini değiştiren sitozolik serbest Ca^{+2} kanallarında değişime yardımcı olmaktadır (92, 93). Karakterize edilmiş tüm işlevsel TRP kanalları - bir istisna olarak TRPM4 ve TRPM5 dışında - Ca^{+2} için geçirgendirler. Bu durum sadece monovalent (tek değerliğe sahip) katyonlar için geçerli değil, aynı zamanda Ca^{+2} ve Mg^{+2} içinde geçerli olacaktır.

Transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) alt ailesinin isimlendirilmesi ilk üyesinin kanser hücrelerinde (melastatin) tespit edilmesiyle olmuştur. TRPM alt ailesinin biyofiziksel ve fizyolojik özelliklerine göre birbirinden farklı 8 üyesi vardır (94). Bu sekiz üye 4 ana grup halinde sınıflandırılır: Bunlar TRPM1 ve 3, TRPM6 ve 7, TRPM4 ve 5 ve TRPM2 ve 8 dir (95).



Şekil 5. TRPM kanalları alt grup ve üyeleri

Değişik kardiyovasküler hücrelerde TRPM kanallarının varlığı Tablo 3 de gösterilmiştir.

Tablo 3. Farklı kardiyovasküler hücrelerde TRPM kanallarının varlığı

KANAL	HÜCRELER
TRPM2	Kalp kası, pulmoner arter ve aort düz kası
TRPM4	Kardiyomiyosit, atrial ve ventriküler miyokard, beyin arter hücreleri
TRPM6	Beyin arteri
TRPM7	Damar düz kas hücreleri, kalp hücre membranları, miyokard

Farklı katyon kanalları ailelerine ait kanallar değişik uyaranlara karşı cevap oluştururlar (95). Bazıları kimyasal ve sıcaklık değişimi, ozmotik stres ve mekanik uyarım gibi fiziki uyarılara karşı direkt cevap oluştururken bazıları da dolaylı yoldan fosfolipaz c yolağının işlemesiyle reseptörlerin uyarılmasının ardından cevap oluşturmaktadırlar. Merak edilen esas durum ise; TRP kanallarının uyaranlara karşı oluşturduğu cevaptır ve ortaya çıkan bu cevabın birkaç TRP kanalının ortak bir özelliği olduğundan bahsedilebilir. TRP kanallarının aktive olması farklı yapıdaki (kimyasal veya fiziksel) ve farklı kaynaklardaki (intraseküler veya ekstraselüler) uyaranların bir etkileşimi sonucu meydana gelir (96).

Transient reseptör potansiyel melastatin-6 ve TRPM7 kanalları fonksiyonel karboksil (-COOH) terminal serin/treonin kinaz içerirken, TRPM2 kanalları ise Adenozin difosfat riboz (ADPR) pirofosfataz faaliyeti gösteren fonksiyonel

enzimatik bölge olan NUDT9 homoloji alanı içerir. TRPM kanallarının Ca^{+2} geçirgenliği farklılıklar gösterir. TRPM6 ve TRPM7 kanalları Ca^{+2} 'u çok geçirirken, TRPM4 ve TRPM5 gibi Ca^{+2} 'u geçirmeyen kanallarda vardır. TRPM4 ve TRPM5 kanalları ısıya duyarlı Ca^{+2} aktif kanallarıdır (95). TRPM2 kanalları ADPR, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve sıcaklıkla aktifleşir. TRPM3 kanalları TRPM6 ve TRPM7 kanallarına benzer biçimde intrasellüler magnezyum (Mg^{+2}) seviyesi vasıtasıyla düzenlenir.

Transient reseptör potansiyel melastatin-2 katyon kanallarının aktive olup açılmasında üç hücre dışı etken (aktivatör) bilinmektedir. Bunlar; oksidatif stres, ADPR/NAD⁺ metabolizması ve tümör nekroz faktörü alfa' dır (97). TRPM2 için vücut ısısının endojen bir ko-faktör gibi davranmasından dolayı TRPM2 kanallarının sıcaklığa da duyarlı olabileceği konusunda tahmin yürütülmektedir (98).

Metabolik olaylar sonucu oluşan H_2O_2 'nin hücre içine girmesi sonucu TRPM2 kanalları aktifleşir. Bu kanalların aktivasyonu sonucunda hücre içine Ca^{+2} iyon girişinin arttığı düşünülmektedir (91). Hücre içinde kalsiyum iyonu artışı hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin bozulmasından, hücre hasarı ve ölümüne kadar varabilen çeşitli patofizyolojik bir dizi olayların başlamasına sebep olmaktadır. Apoptotik hadise, mitokondrial membran hasarı, sitokrom C açığa çıkması ve kaspaz-3 bağımlı kromatin yoğunlaşması/ayrışması ile sonuçlanan mitokondriyal Na^{+} ve Ca^{+2} 'un fazla yüklenmesini içeren klotrimazol-sensitif NAD⁺/ADP riboz/poli ADPR polimeraz (PARP)-bağımlı TRPM2 kanallarının aktivasyonu sonucunda meydana gelir. Bununla birlikte, TRPC7'nin; AT1-aktivasyonunu miyokardiyal apoptozise bağlayan, bu nedenle de kalp yetmezliği sürecine katkıda bulunan bir ana tetikleyici olduğu bildirilmektedir (99).

Miyokartta iskemi-reperfüzyon hasarının oksidatif stres neticesinde akut inflamasyonla karakterize olduğu ve Nötrofil TRPM2 kanallarının miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarının şiddetlenmesinde sorumlu olduğu bildirilmektedir (100).

Transient reseptör potansiyel melastatin kanallarının kardiyovasküler rahatsızlıklarda rol oynaması kardiyovasküler sistemlerdeki Ca^{+2} girişine engel olmasına fırsat tanıdığı için ilgi çekicidir. Çoğunlukla; TRPM kanallarının aktivasyonuna potansiyel olarak, klinik olarak, faydalı bir etkisi olacak ilaç

Ischemia, Radiation, Seizure, Trauma, etc.

ANTIOXIDANTS $\ominus$ $\rightarrow$ Oxidative Stress

Oxidative Stress $\rightarrow$ TRPM2

TRPM2 $\rightarrow$ Open TRPM2

Open TRPM2 $\rightarrow$ Ca^{2+}

Ca^{2+} $\rightarrow$ ER Ca^{2+} store

ER Ca^{2+} store $\rightarrow$ Ca^{2+}

Ca^{2+} $\rightarrow$ ADPR

ADPR $\rightarrow$ AMP

ADPR $\rightarrow$ Pyrophosphatase (NUDT9) $\rightarrow$ AMP

ADPR $\rightarrow$ Ribose 5-phosphatase

ADPR $\rightarrow$ Nucleus

Nucleus $\rightarrow$ PARP1 $\rightarrow$ Poly(ADPR) $\rightarrow$ PARG

PARG $\rightarrow$ Nitric Oxide Peroxynitride

Nitric Oxide Peroxynitride $\rightarrow$ Oxidative Stress

Oxidative Stress $\rightarrow$ Mitochondria Depolarization

Mitochondria Depolarization $\rightarrow$ O_2 $\rightarrow$ NAD^+

NAD^+ $\rightarrow$ ADPR

Transient reseptör potansiyel melastatin-2 kanallarının meydana gelen oksidatif stresle ve bunun neticesi olan NAD⁺ dan üç farklı yolla oluşan ADPR ile aktive olma mekanizmalarını göstermektedir. Hücrede lipit peroksidasyonu sonucu NAD⁺ dan üç farklı yolla ADPR üretilir: 1. NAD⁺ poli ADPR polimeraz (PARP) aktivasyonu yoluyla poli-ADPR oluşur. Poli-ADPR ise poli-ADPR glikohidrolaz (PARG) enzimi aracılığıyla ADPR'a dönüşür. 2. NAD⁺ CD38 reseptöründe bulunan NADase enzimi aracılığıyla, 3. NAD⁺ dan siklik ADPR (cADPR) oluşur ve cADPR

hidrolaz enzimi aracılığıyla da ADPR oluşur. TRPM2 katyon kanallarının C ucunun Nudix alanında (NUDT9) bulunan ADPR pirofosfataz enzimi aracılığıyla, ADPR, riboz-5 fosfat ve AMP'ye ayrışıp TRPM2 kanallarının açılmasına neden olur (94).

1.4. Zofenopril

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri birçok kardiyovasküler hastalığın tedavisinde kullanılmaktadırlar. ADE inhibitörleri Anjiyotensin I den Anjiyotensin II üreten enzim üzerinde etki göstererek Anjiyotensin II oluşumunu engellerler. Anjiyotensin II ise resptörlerine (anjiyotensin resptörleri: AT-1, AT-2) bağlanarak aldosteron salınımı, vazokonstriksiyon, miyosit hipertrofisi, fibrozis, hücre büyümesi kontrolü gibi bir dizi hücreyel olaylarda rol oynar. Anjiyotensin II' nin oluşumunun engellenmesiyle antihipertansif, antiadrenerjik gibi etkilerin ortaya çıkmasının dışında hücreyel hasar sonrası meydana gelen hücreyel yeniden şekillenme (remodelling) üzerinde düzenleyici ve olumlu etkiler ortaya çıkar. Bu etkiler ADE inhibitörlerinin hipertansiyon, miyokart enfarktüsü ve sonrasındaki sol ventrikül disfonksiyonu, kalp yetmezliği gibi birçok klinik durumda kullanımlarını sağlamıştır.

Zofenopril kardiyak ADE için yüksek afiniteli, sülfidril içeren lipofilik bir ADE inhibitörüdür. Zofenopril'in nitrik oksit (NO) üretimini ve biyoetkinliğini arttırdığını ve beraberinde endotel hücre oksidatif stresini de azalttığı gösterilmiştir (101). Zofenopril'in bu etkileri lipofilitesinin yüksek oluşu ve serbest radikal temizleyici özelliği ile de ilişkilidir. Özellikle sülfidril grubu içeren ADE inhibitörleri serbest radikal süpürücüsü gibi davranırlar (102). Dolayısıyla antioksidan etkileri olduğundan bahsedilebilir.

Miyokard Enfarktüsü'nde reperfüzyon sonrası oluşan hücre hasarında ortaya çıkan serbest radikaller ve benzeri oksidan ajanlar başrol oynarlar. Zofenopril gibi sülfidril gubu içeren ADE inhibitörlerinin ortaya çıkan bu radikalleri süpürücü etkileri gösterilmiştir.

Myokart Enfarktüsü oksidatif stres mekanizmalarının ortaya çıktığı akut inflamasyonla karakterizedir. TRPM2 katyon kanalları da oksidatif stres mekanizmaları sonucu aktive olup ekspresyonu artmaktadır. Bu çalışmamızda

Zofenopril'in bilinen antioksidan etkilerinin TRPM2 katyon kanalları ekspresyonu ile ilişkili olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.5. Nebivolol

Nebivolol'un başlıca etkileri beta-adrenerjik reseptör blokajı ve Nitrik Oksit (NO) salınımını arttırmasıdır. Beta-bloker etki güçlüdür ve yüksek oranda beta-1 selektiviteye sahiptir. Nebivolol'un beta-1 adrenerjik reseptör selektivitesinin beta-2 adrenerjik reseptöre kıyasla 321 kat daha fazla olduğu ve bu selektivitenin diğer birçok beta blokerlerden çok daha üstün olduğu gösterilmiştir (103). Bu etki sonucu myokardın kasılma hızı ve gücünde nispeten azalma (negatif inotrop etki) ve kalp hızında düşme (negatif kronotrop etki) meydana gelir.

Nebivolol'un hayvan deneylerinde ve insanlarda vazodilatasyon oluşturduğu ve bu vazodilatasyonun başlıca sebebinin de endotelial NO artışının olduğu görülmüştür (104, 105).

Yapılan geniş çaplı klinik çalışmalarda Nebivolol'un plaseboya göre belirgin antihipertansif etkisinin olduğu tespit edilmiştir (106). Nebivololün periferik vasküler direnci düşürdüğü, atım volümünü artırdığı ve sonuçta negatif inotropik etkisinin olmasına rağmen sol ventrikül kontraktilitesini koruduğu bildirilmektedir (107). Başka bir çalışmada nebivololün atenolol, propranolol ve pindolole göre istirahatte kalp hızını daha az düşürdüğü, ön-yük (preload) ve ard-yük (afterload) üzerine olumlu etkileri neticesinde sol ventrikül fonksiyonlarında daha belirgin bir düzelmeye yol açtığı tespit edilmiştir (108). Bununla birlikte, kalp yetersizliğinin varlığında söz konusu olumlu etkilerin daha belirginleştiği bildirilmektedir (109).

Nebivolol'un antihipertansif, antiiskemik etkilerinin yanı sıra serebral iskemi-reperfüzyon hasarı ile ilgili yapılan bir çalışmada NO aracılı antioksidan etkilerinin olduğu da gösterilmiştir (110). Dolayısıyla bir diğer etki olarak antiokasidan etkiden bahsedilebilir.

Miyokard Enfarktüsü'nde reperfüzyon sonrası oluşan hücre hasarında ortaya çıkan serbest radikaller ve benzeri oksidan ajanlar başrol oynarlar. Nebivolol'un NO aracılı antioksidan etkileri olduğu da bilinmektedir. Bununla birlikte myokard enfarktüsü oksidatif stres mekanizmalarının ortaya çıktığı akut inflamasyonla karakterizedir. TRPM2 katyon kanalları da oksidatif stres mekanizmaları sonucu

aktive olup ekspresyonu artmaktadır. Bu çalışmamızda Nebivolol'ün bilinen antioksidan etkilerinin TRPM2 katyon kanalları ekspresyonu ile ilişkili olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun 04.04.2013 tarih 54 nolu kararıyla onay alınan çalışmamızda Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen erişkin, 210-280 gr ağırlığında Sprague Dowley ırkı erkek sıçanlar kullanıldı. 21⁰C oda ısısında 12 saat ışık (7: 00–19: 00) ve 12 saat karanlıkta (19: 00–7: 00) tutulan sıçanlar her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Hayvan yemleri Yem Sanayi T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlandı. Yemlerin bileşimi aşağıdaki tabloda gösterilmektedir (Tablo 4).

Tablo 4. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkibi

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%) *	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6

*1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0.006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0.32 mg Folic acid, 0.02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0.06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.

**% 18 fosfor, %25 kalsiyum, %0,2 flor'dan oluşur.

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar

Deneysel çalışmalar, toplam 48 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Tüm sıçanlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu ve aynı standart sıçan yemi verilerek add-libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Deney hayvanları her grupta 6 hayvan olacak şekilde 8 gruba ayrıldı:

Kontrol grubu (K): Bu grupta 6 adet sıçan, deney süresi olan 21 günlük çalışmanın kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı.

Myokard Enfarktüsü grubu (ME): Bu grupta 6 adet sıçana, 150 mg/kg isoproterenol (Isoproterenol hydrochloride, I5627, Sigma-Aldrich Corporation St. Louis, USA), 24 saat ara ile 2 kez subkutan (s.c.) olarak verilip, deney süresince başka hiçbir uygulama yapılmadı.

Myokard Enfarktüsü + Zofenopril grubu (ME+Z): Bu grupta 6 adet sıçana, 150 mg/kg isoproterenol (Isoproterenol hydrochloride, I5627, Sigma-Aldrich Corporation St. Louis, USA), 24 saat ara ile 2 kez subkutan (s.c.) olarak verilip, myokard enfarktüsü oluşturulduktan sonra deney süresi boyunca (21 gün) 15mg/kg/gün dozunda zofenopril oral yolla verildi.

Myokard Enfarktüsü + Nebivolol grubu (ME+N): Bu grupta 6 adet sıçana, 150 mg/kg isoproterenol (Isoproterenol hydrochloride, I5627, Sigma-Aldrich Corporation St. Louis, USA), 24 saat ara ile 2 kez subkutan (s.c.) olarak verilip, myokard enfarktüsü oluşturulduktan sonra deney süresi boyunca (21 gün) 6 mg/kg/gün dozunda nebivolol oral yolla verildi.

Zofenopril grubu (Z): Bu grupta 6 adet sıçana, deney süresi boyunca (21 gün) 15mg/kg/gün dozunda zofenopril oral yolla verilip başka hiçbir uygulama yapılmadı.

Nebivolol grubu (N): Bu grupta 6 adet sıçana, deney süresi boyunca (21 gün) 6mg/kg/gün dozunda nebivolol oral yolla verilip başka hiçbir uygulama yapılmadı.

Myokard Enfarktüsü + Zofenopril + Nebivolol grubu (ME+Z+N): Bu grupta 6 adet sıçana, 150 mg/kg isoproterenol (Isoproterenol hydrochloride, I5627, Sigma-Aldrich Corporation St. Louis, USA), 24 saat ara ile 2 kez subkutan (s.c.) olarak verilip, myokard enfarktüsü oluşturulduktan sonra deney süresi boyunca (21 gün) 15mg/kg/gün dozunda zofenopril ve 6 mg/kg/gün dozunda nebivolol oral yolla verildi.

Zofenopril + Nebivolol grubu (Z+N): Bu grupta 6 adet sıçana, deney süresi boyunca (21 gün) 15mg/kg/gün dozunda zofenopril ve 6 mg/kg/gün dozunda nebivolol oral yolla verilip başka hiçbir uygulama yapılmadı.

2.3. Örneklerin Alınması

Tüm gruplardaki sıçanlar deney sonunda ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların kalp dokuları hızla çıkarılıp histolojik çalışma için % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Polimeraz Zincir Reaksiyonu çalışması için çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı.

2.4. Histokimyasal İnceleme

Her gruptan alınan kalp dokuları, % 10'luk formaldehit tespit solüsyonunda 24 saat süresince tespit edildikten sonra musluk suyu altında yıkamaya alındı. Musluk suyunda 24 saat yıkanan dokular daha sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirilip parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan alınan 5µm'lik kesitlere Masson Trikrom boyası yapıldı. Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

2.5. İmmünohistokimyasal İnceleme

Kalp dokusunda TRPM2 immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleksi yöntemi uygulandı. Boyama metodu aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 5).

Parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 12 dakika kaynatıldı. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu ile 5 dakika muameleden sonra primer antikor (Rabbit Anti-TRPM2 antibody, ab101738, Abcam, Cambridge, UK) ile 60 dakika inkübe edildi.

Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Sekonder antikor uygulanmasından sonra Streptavidin Alkaline Phosphatase (TS-060-AP, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra distile su içerisine alındı. Dokulara Fast Red Substrate

System (TA-125-AF, Lab Vision Corporation, USA) solusyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak distile su ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilin ile zıt boyaması yapılan dokular distile sudan geçirilerek uygun kapatma solusyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX 50 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

Tablo 5. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü

Sıra	İşlem	Süre
1	Xylol I	10 dakika
2	Xylol II	10 dakika
3	Xylol	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PBS (Phosphate Buffered Saline)	3X5 dakika
11	H ₂ O ₂	10 dakika
12	PBS	3X5 dakika
13	Normal blok solüsyonu	5 dakika
14	Primer antikor	60 dakika
15	PBS	3X5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3X5 dakika
18	Streptavidin Alkalın Fosfataz	30 dakika
19	PBS	3X5 dakika
20	Fast red	5 dakika
21	Distile su	5 dakika
22	Zıt boya olarak Mayer's hematoksilin	10 saniye
23	Akarsu	5 dakika
24	Özel kapatma maddesi ile kapatma	

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın yaygınlığı 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 6).

Tablo 6. İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Az
+2	Orta
+3	Şiddetli

2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Çalışması

Deneyin Yapılışı:

Kalp dokularından RNA izolasyonu için PureLink™ RNA Mini Kiti kullanıldı. Çalışma prosedürü aşağıdaki gibidir:

Kit içerisindeki lizis buffer'dan 1ml ve 2-merkaptoetanol'dan 10 µl falkon tüpüne alınıp karıştırılarak Lizis tampon çözeltisi elde edildi. Kalp dokusu, doku ile eşit miktarda homojenizatör boncuğu ve hazırladığımız çözeltiden 600µl alınarak kilitli eppendorf tüplere bırakıldı. Homojenizatörde 6 dakika (dk) 9. hızda parçalama işlemi yapıldı. Örnekler 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. RNA içeren sıvı fazın hepsi yeni bir eppendorfa alınarak üzerine 500 µl %70'lik etanol eklendi ve vortekslendi. Örneklerden 700 µl alınarak kit içerisindeki kolonlara aktarıldı ve 12.000xg'de 15 saniye(sn) oda sıcaklığında santrifüj edildi. Kalan örneklerde kolonlara aktarılarak aynı şekilde santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpünün altında biriken sıvı boşaltıldı. Yıkama işlemleri kitin içindeki Wash I ve Wash II ile yapıldı. Örnekler 700 µl Wash I eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi. Toplam tüpü değiştirildi. Örnekler 500 µl Wash II eklenerek 12.000xg'de 15 sn santrifüj edildi ve bu işlem iki defa tekrarlandı. Tüpün altındaki sıvı boşaltılarak hiçbir şey eklenmeden 12.000xg'de 2 dk santrifüj edildi. Kolonlar alınarak yeni eppendorf tüplere bırakıldı ve üstüne 30 µl RNase içermeyen su eklenerek oda sıcaklığında 1 dk bekletildi ve 12.000xg'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Eppendorf tüpün dibindeki sıvı kısım bu aşamadan sonra RNA içermektedir. RNA örnekleri kullanılmaya kadar -80°C'de saklandı.

Spektrofotometrik RNA Ölçümü:

Bu çalışmada RNA ölçümü için Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen/Molecular Probes) kullanıldı. RNA miktarı µg/ml olarak ölçüldü. cDNA sentezi için RNA miktarlarının eşitlenmesi amacıyla okunan en düşük RNA değeri standart alındı. Komplementer DNA sentezi (cDNA) için her bir gruptaki örneklerden RNA havuzu hazırlandı.

Komplementer DNA Sentezi

Deneyin Yapılışı:

Çalışmamızda cDNA sentezi için havuz yapılan RNA örneklerinden 10 µl kullanıldı. cDNA sentezi toplam 20µl hacimde gerçekleştirildi. Sentez için 10µl RNA örneği, 2 µl 10XRT random primer, 2 µl 10XRT buffer, 0.8 µl 25XdNTP mix, 4.2 µl nükleaz içermeyen su ve en son olarak 1µl MultiScribe™Reverse Transcriptase enzimi kullanıldı. Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. 25°C'de 10 dk, 37°C'de 120 dk, 85°C'de 5 dk ve 4°C'de ∞ olacak şekilde cihazda bekletildi. Oluşan cDNA örnekleri -20°C'de saklandı.

Tablo 7. cDNA karışım miktarı

Bileşik	Hacim (µl)	Katalog No
10X RT Tamponu	2.0	4319981
25X dNTP karışımı (100mM)	0.8	4367381
MultiScribe™Revers Transkriptaz	1.0	4319983
10XRT Random Primer	2.0	4319979
Nükleaz içermeyen H ₂ O	4.2	
Reaksiyon toplamı	10.0	

Tablo 8. cDNA sentezi için uygulanan PZR programı

PZR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	25°C	37°C	85°C	4°C
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk	∞

Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu:

Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA'lar sekans spesifik primerlerin varlığında Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) ile amplifiye edildi. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz(GAPDH) ve TRPM2 genlerinin belirlenmesi için aşağıdaki tabloda verilen primerler kullanıldı.

Tablo 9. RT-PZR'da kullanılan primerler

TaqMan Gene Expression Assay Gex: AB Applied Biosystems, ABD, 250µl	
Test	Katalog Numarası
Gapdh	Rn-01775763-g1
TRPM2	Rn-01429417-m1

Real Time PZR 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. RT-PZR Plate hazırlanırken cDNA örneklerinde her bir kuyucuğa 2µl kondu. Buz üzerinde her bir örnek için 5µl TaqMan Master Mix, 2.5 µl nükleaz içermeyen su ve 0.5 µl primer hibridizasyon probu olacak şekilde örnek sayısına göre hesaplanan bileşen miktarları ependorflara kondu ve vortekslendi. Plate'deki cDNA örneklerinin üzerine 8µl hazırlanan karışımdan bırakılarak plate'in üzeri optik yapıştırıcı filmle kapatıldı. Plate örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla Mini plate spin cihazında 1 dakika santrifüj edildi.

Tablo 10. RT-PZR için her bir kuyucuğa konan bileşikler

Bileşikler	Hacim(µl)X Örnek Sayısı
cDNA	2.0
Primer	0.5
TaqMan Mix	5.0
Nükleaz içermeyen H ₂ O	2.5
Toplam	10.0

Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems 7500 Real-Time PZR sistemi ile ölçüldü. Çalışmada GAPDH kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Isı koşulları 50°C'de 2 dakika, 95°C'de 10 dakika X 40 siklüs, 95°C'de 15 saniye ve 60°C'de 1 dakika olacak şekilde ayarlandı.

Tablo 11. Uygulanan RT-PZR programı

RT-PCR X 40 döngü				
	1. Adım	2.Adım	3.Adım	4.Adım
Sıcaklık	50 ⁰ C	95 ⁰ C	95 ⁰ C	60 ⁰ C
Zaman	2dk	10dk	15sn	1dk

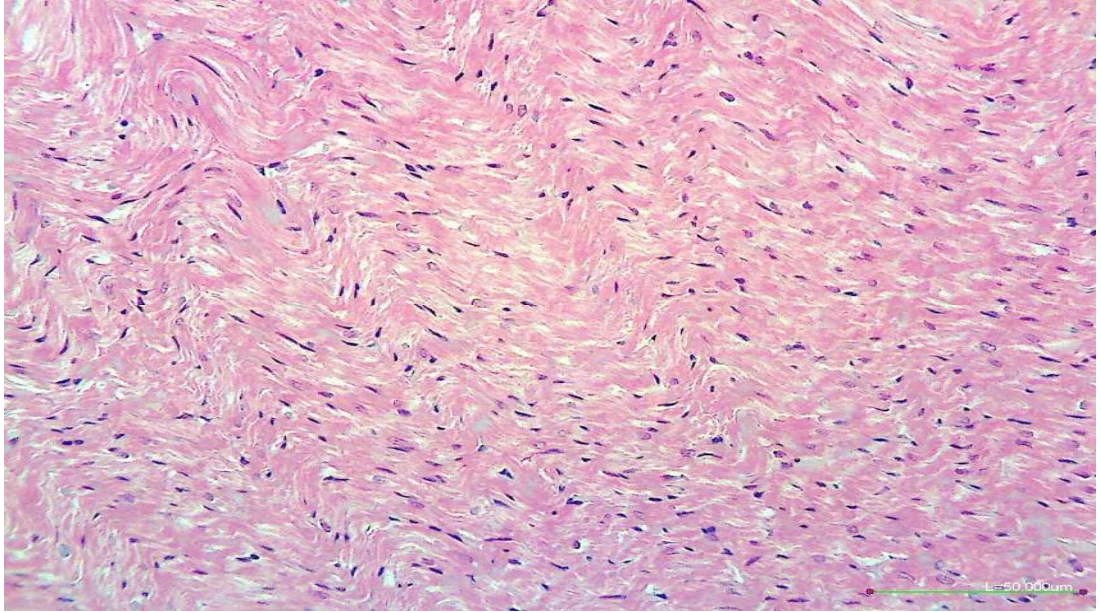
2.7. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler SPSS version 21 programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA testi sonrasında Post-hoc Tukey testi ile yapılp, grup içi değerlendirmede ise paired t testi kullanıldı. $p<0,05$ olanlar anlamlı kabul edildi.

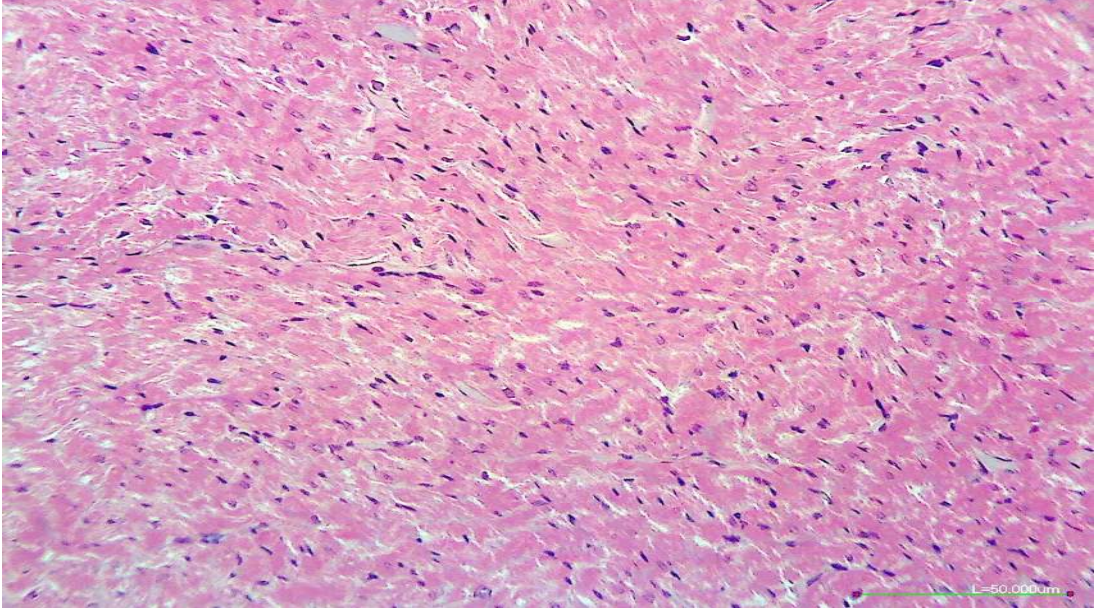
3. BULGULAR

3.1. Histokimyasal Bulgular (Masson Trikrom)

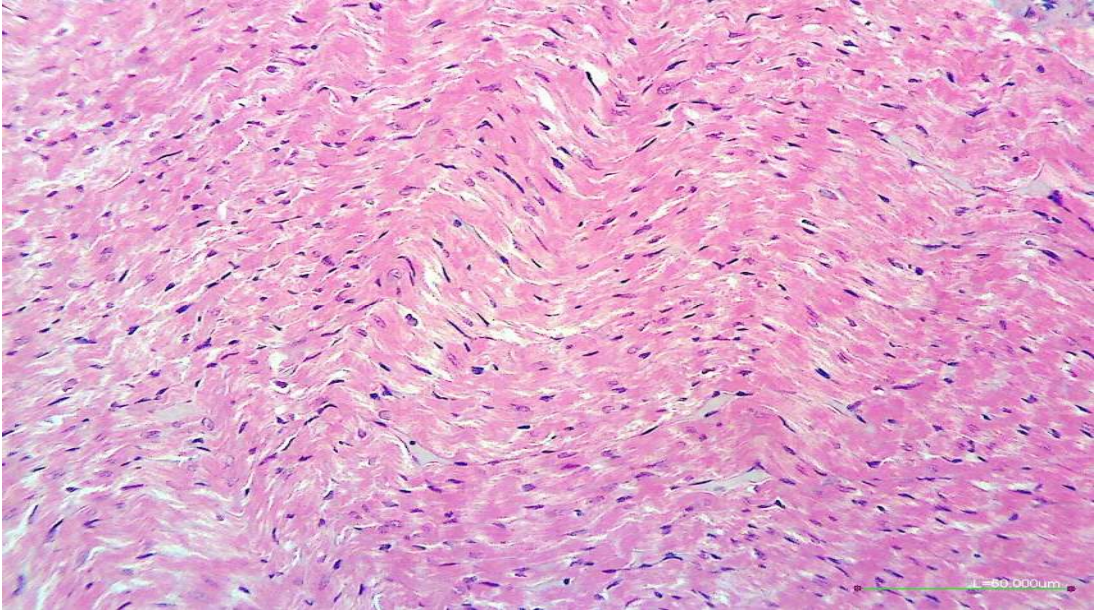
Deney sonunda kalp dokusunda bağ dokusu oluşumunu göstermek için uygulanan Masson Trikrom boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; kontrol (K) (Şekil 7), Nebivolol (N) (Şekil 8), Zofenopril (Z) (Şekil 9) ve Zofenopril+Nebivolol (Z+N) (Şekil 10) grupları normal histolojik görünümdeydi. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında ME grubunda bağ dokusundaki (kırmızı yıldız) artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p<0,05$). (Şekil 11). ME grubu ile karşılaştırıldığında Miyokart Enfaktüsü+Nebivolol (M+N) (Şekil 12), Miyokart Enfaktüsü +Zofenopril (ME+Z) (Şekil 13) ve Miyokart Enfaktüsü + Zofenopril + Nebivolol (ME+Z+N) (Şekil 14) gruplarında bağ dokusunda (kırmızı yıldız) değişiklik gözlenmedi, ME grubuna benzerdi ve istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi (Tablo 12).



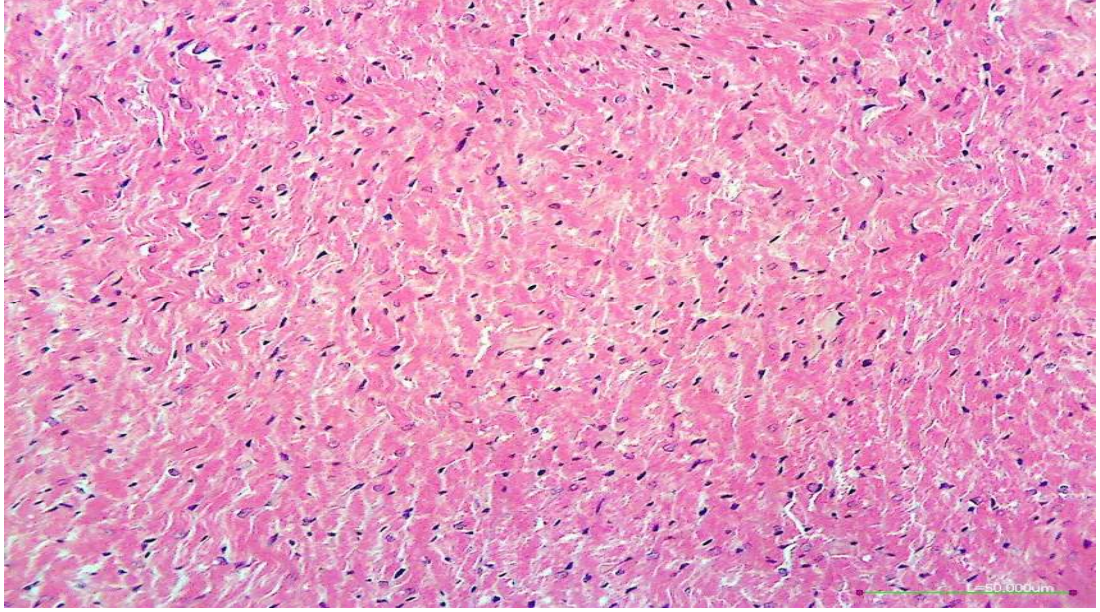
Şekil 7. Kontrol grubunda normal kalp histolojisi. Masson Trikrom. Skala bar: 50µm



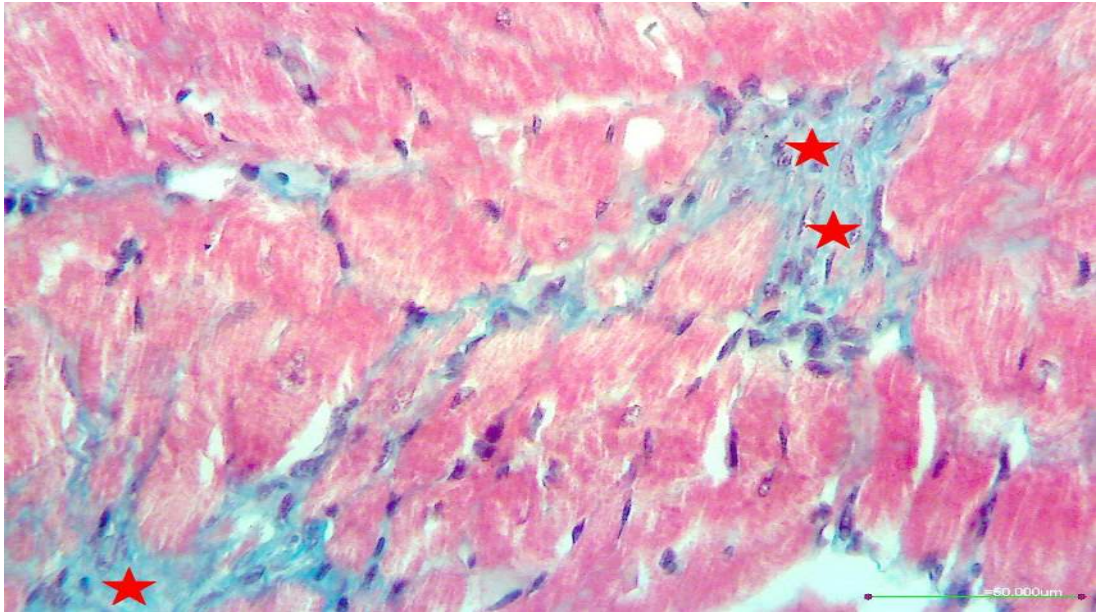
Şekil 8. Nebivolol grubunda normal kalp histolojisi. Masson Trikrom. Skala bar: 50µm



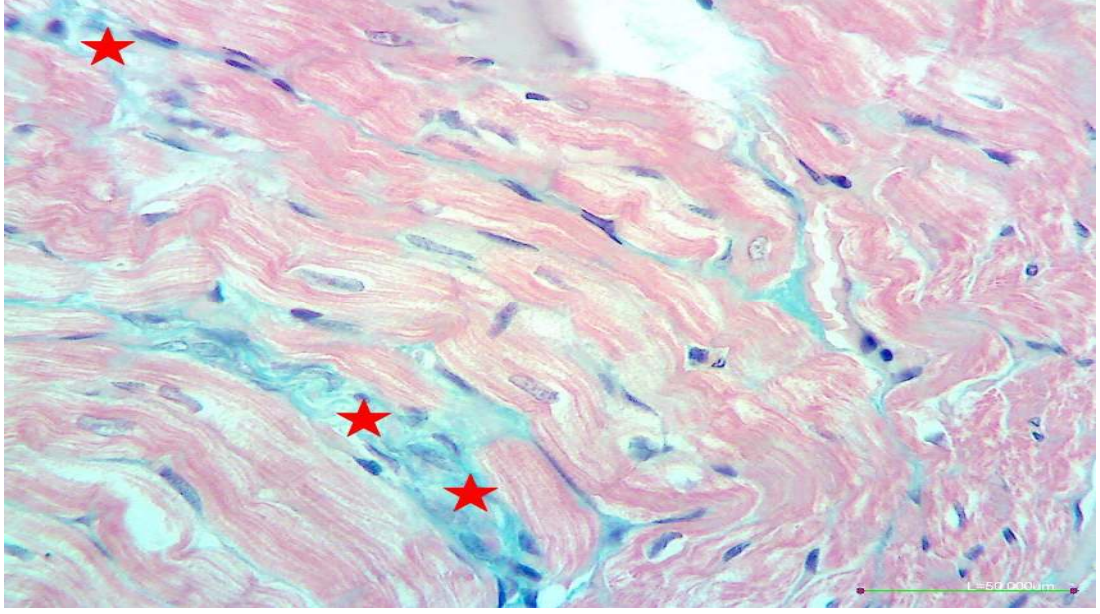
Şekil 9. Zofenopril grubunda normal kalp histolojisi. Masson Trikrom. Skala bar: 50µm



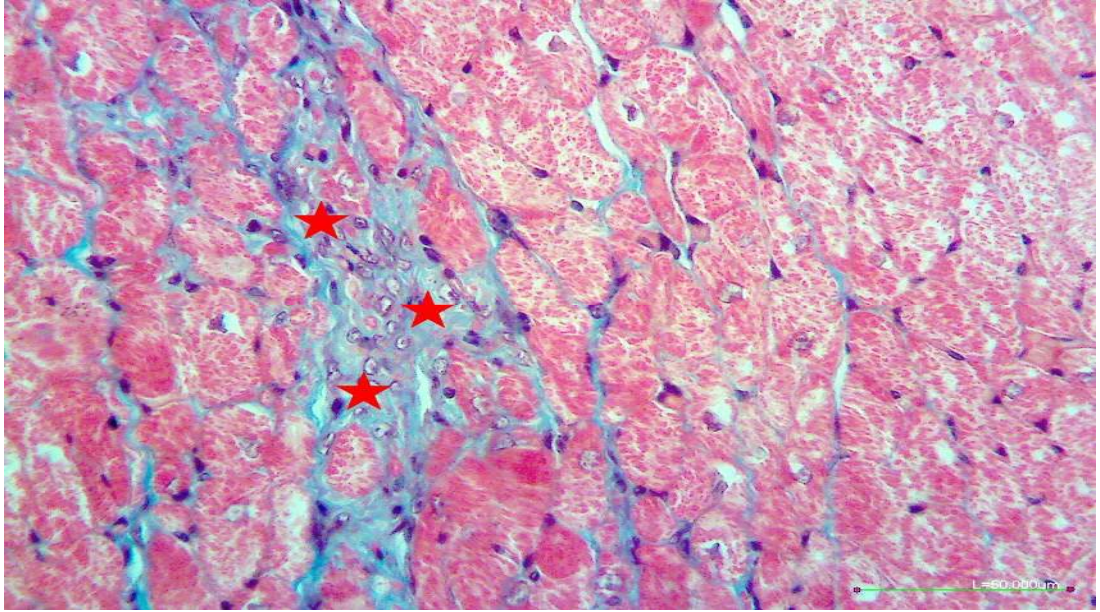
Şekil 10. Zofenopril+Nebivolol grubunda normal kalp histolojisi. Masson Trikrom. Skala bar: 50µm



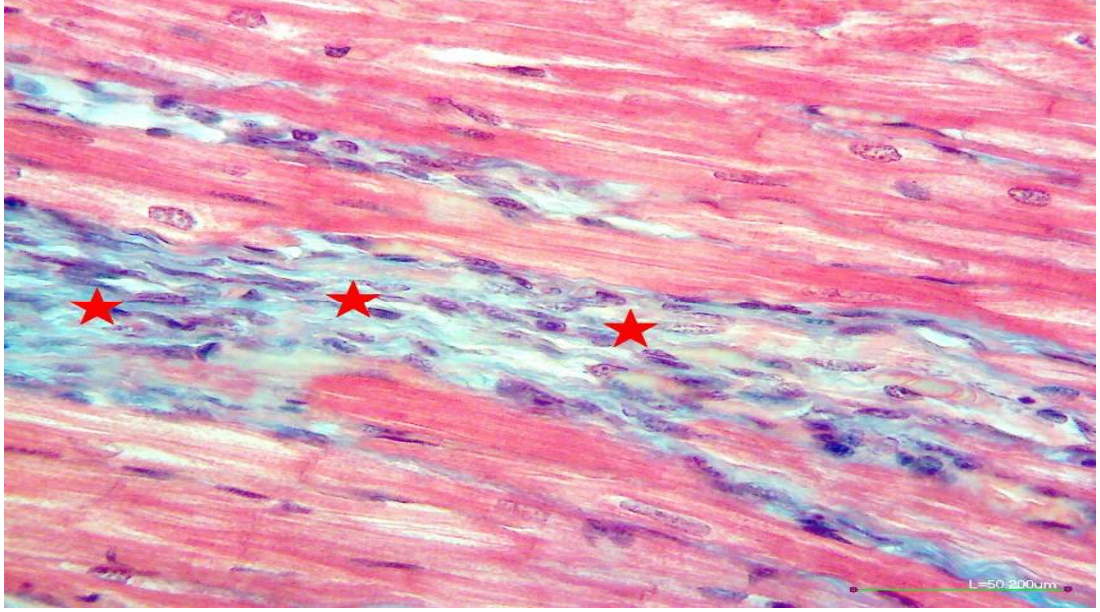
Şekil 11. ME grubuna ait kalp dokusunda belirgin bağ dokusu artışı. Masson Trikrom. Skala bar: 50µm.



Şekil 12. ME+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda belirgin bağ dokusu artışı. Masson Trikrom. Skala bar: 50µm.



Şekil 13. ME+Zofenopril grubuna ait kalp dokusunda belirgin bağ dokusu artışı. Masson Trikrom. Skala bar: 50µm.

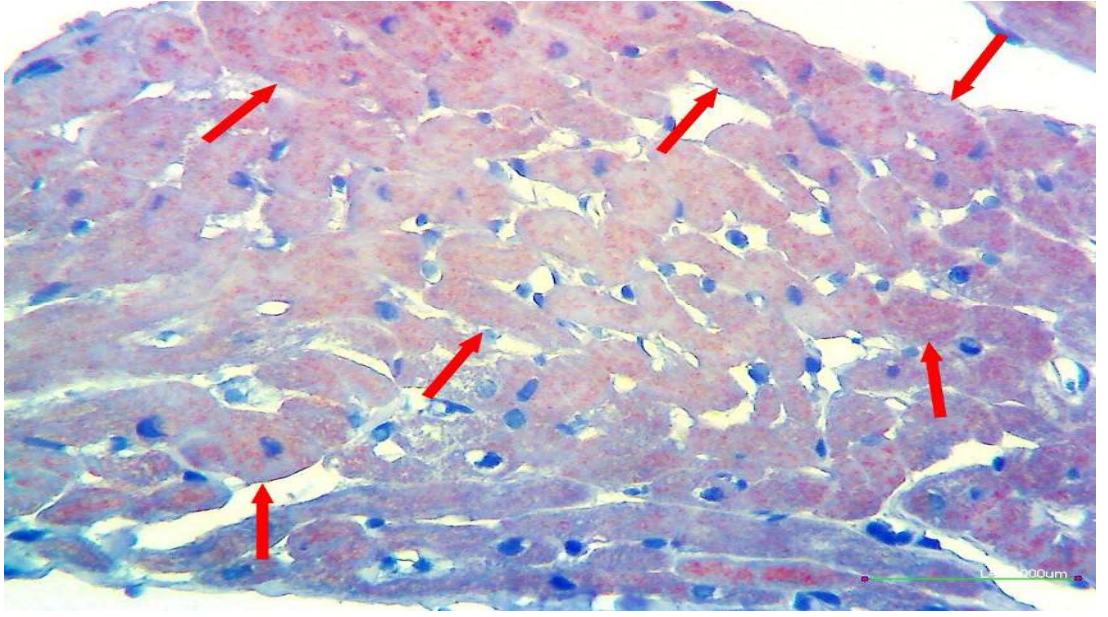


Şekil 14. ME+Zofenopril+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda belirgin bağ dokusu artışı. Masson Trikrom. Skala bar: 50µm.

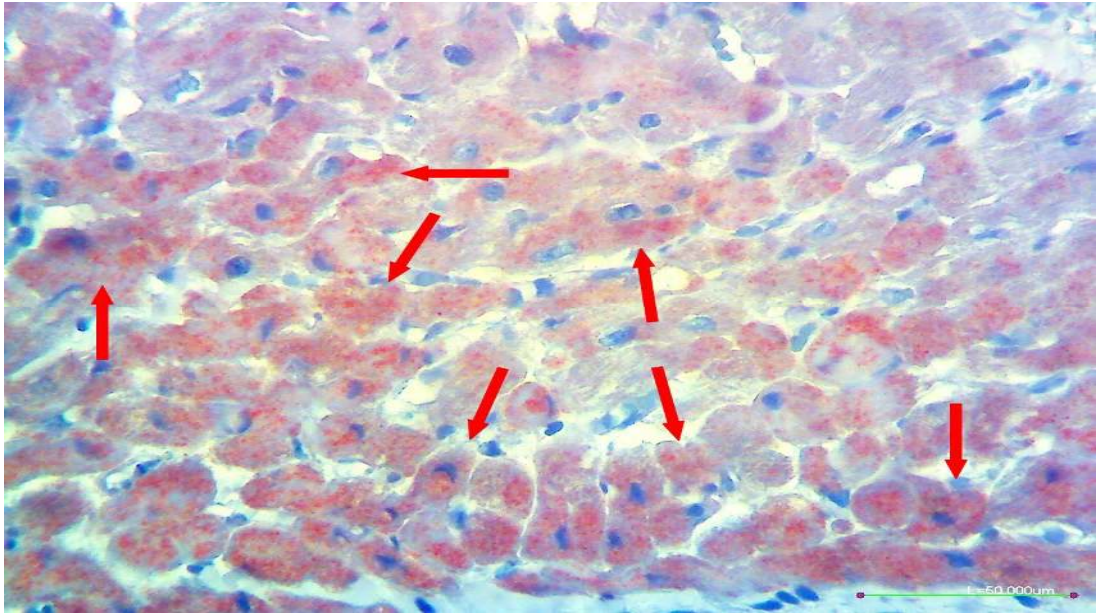
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.2.1. TRPM2 İmmünreaktivitesi

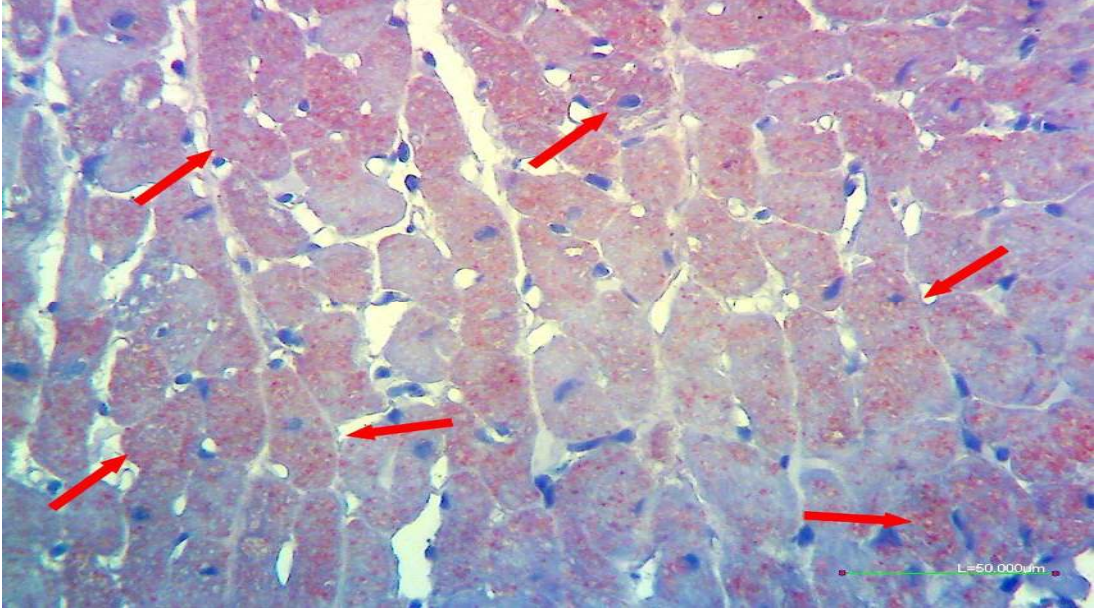
Transient reseptör potansiyel melastatin-2 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPM2 immünreaktivitesi (kırmızı ok) kontrol (Şekil 15), Nebivolol (Şekil 16), Zofenopril (Şekil 17) ve Zofenopril+ Nebivolol (Şekil 18) gruplarında +3 şiddetinde ve yaygınlığında izlendi. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında ME grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde belirgin azalma gözlemlendi (+2 şiddetinde ve yaygınlığında) ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p<0,05$) (Şekil 19). ME grubu ile karşılaştırıldığında Miyokart Enfaktüsü + Nebivolol (Şekil 20), Miyokart Enfaktüsü + Zofenopril (Şekil 21) ve Miyokart Enfaktüsü Zofenopril + Nebivolol (Şekil 22) gruplarında TRPM2 immünreaktivitesi ME grubuna yakın olduğu izlendi (+2 şiddetinde ve yaygınlığında) ve istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmedi. (Tablo 12).



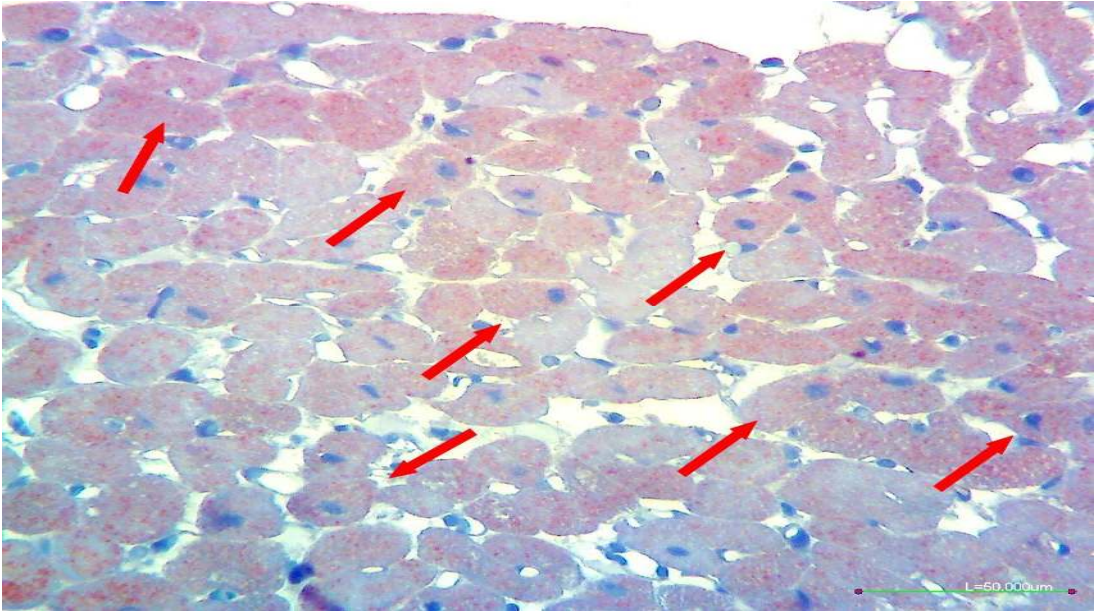
Şekil 15. Kontrol grubuna ait kalp dokusunda +3 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi. Skala bar: 50µm.



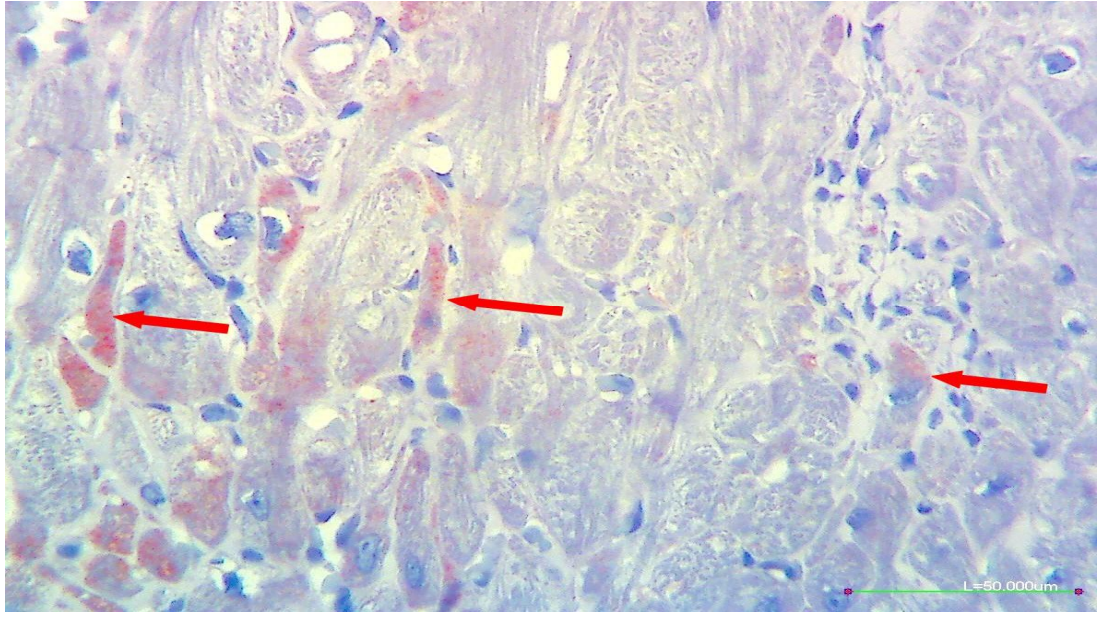
Şekil 16. Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda +3 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi. Skala bar: 50µm.



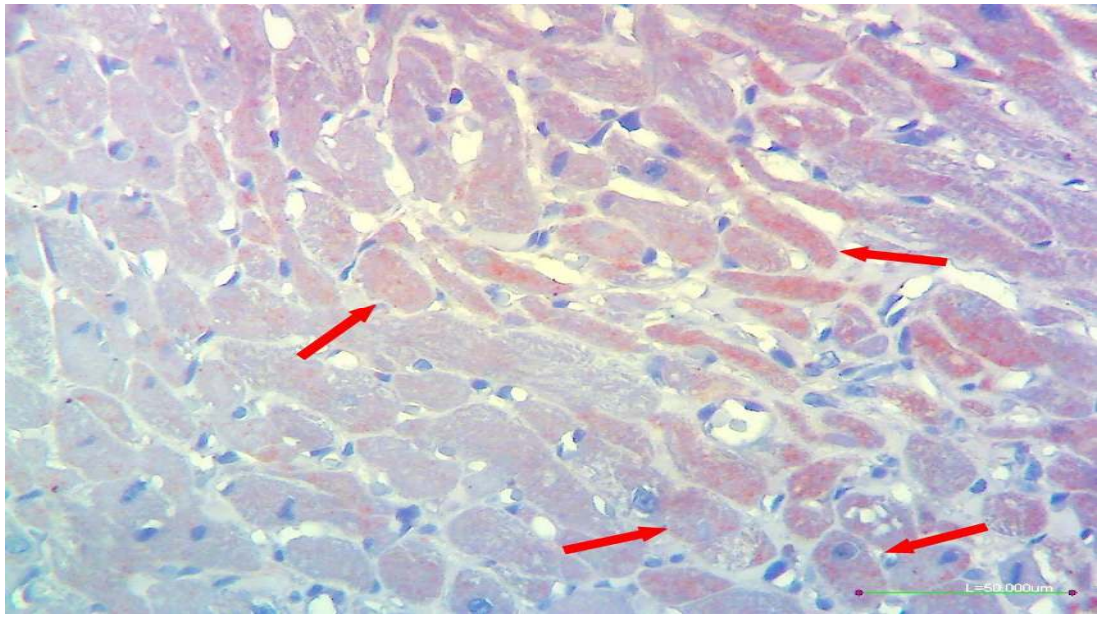
Şekil 17. Zofenopril grubuna ait kalp dokusunda +3 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi. Skala bar: 50µm.



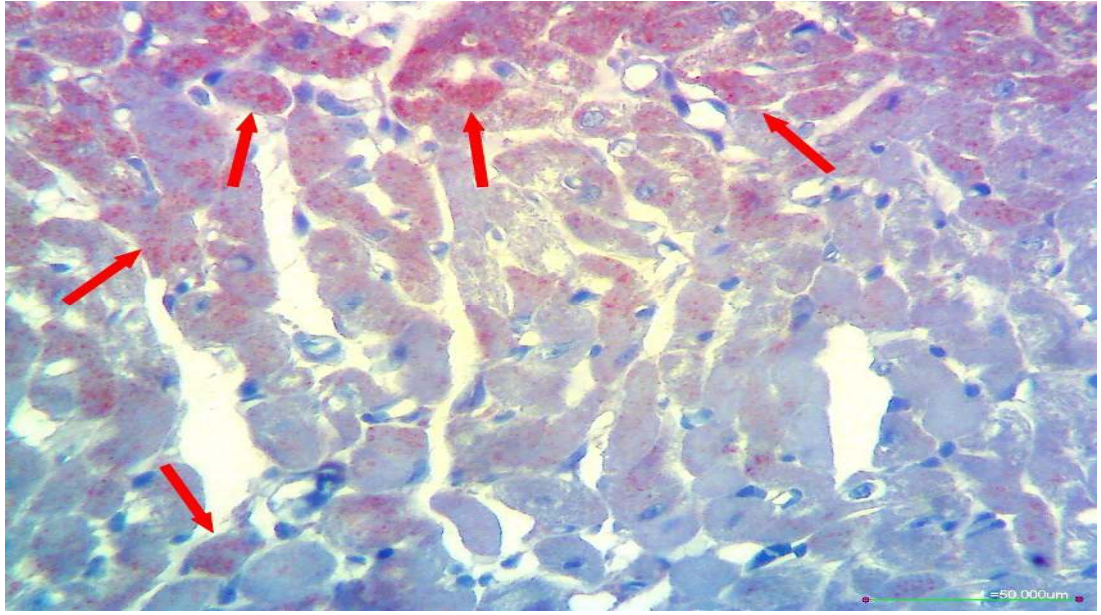
Şekil 18. Zofenopril+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda +3 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi. Skala bar: 50µm.



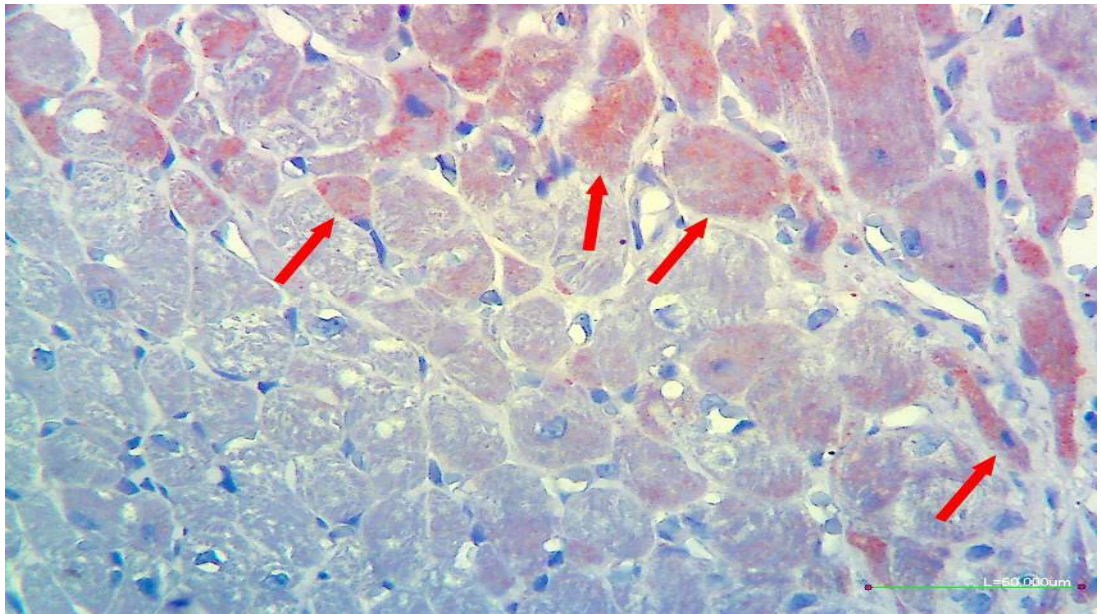
Şekil 19. ME grubuna ait kalp dokusunda +2 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi. Skala bar: 50µm.



Şekil 20. ME+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda +2 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi. Skala bar: 50µm.



Şekil 21. ME+Zofenopril grubuna ait kalp dokusunda +2 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi. Skala bar: 50µm.



Şekil 22. ME+Zofenopril+Nebivolol grubuna ait kalp dokusunda +2 şiddetinde ve yaygınlığında TRPM2 immunreaktivitesi. Skala bar: 50µm.

Tablo 12. Gruplar arası bağ doku artışı ve TRPM2 immünreaktivite değerleri.

	K (n=6)	N (n=6)	Z (n=6)	Z+N (n=6)	ME (n=6)	ME+N (n=6)	ME+Z (n=6)	ME+Z+N (n=6)
BAĞ DOKU ARTIŞI	0,16±0,40	0,16±0,40	0,16±0,40	0,16±0,40	2,83±0,40 ^a	2,66±0,51 ^a	2,66±0,51 ^a	2,66±0,51 ^a
TRPM2 İMMÜN REAKTİVİTE	2,83±0,40	2,66±0,51	2,83±0,40	2,83±0,40	1,66±0,51 ^a	1,50±0,83 ^a	1,66±0,51 ^a	1,50±0,83 ^a

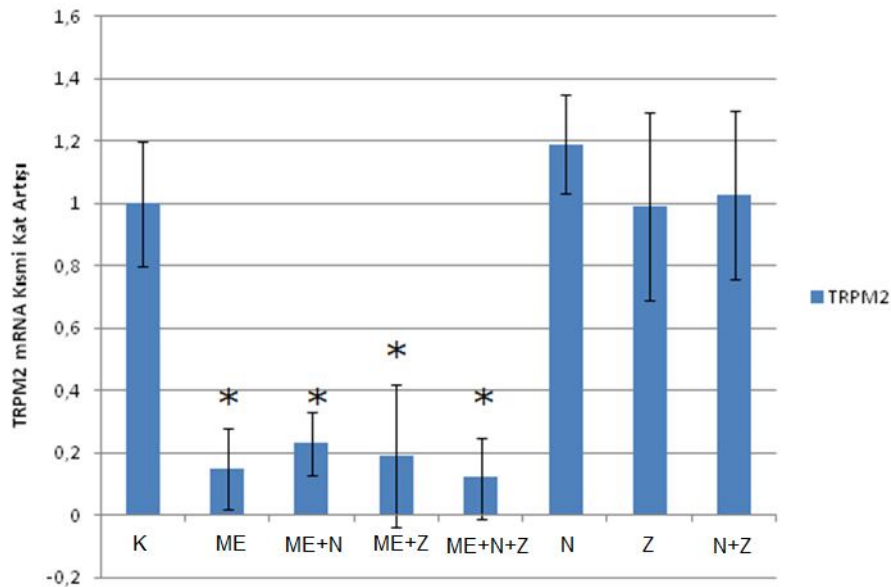
Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre, anlamlı olarak farklı (p<0.05).

(K: Kontrol grubu, N: Nebivolol grubu, Z: Zofenopril grubu, Z+N: Zofenopril+ Nebivolol grubu, ME: Miyokart enfartüsü grubu, ME+N: Miyokart enfartüsü+ Nebivolol grubu, ME+Z: Miyokart enfartüsü+ Zofenopril grubu, ME+Z+N: Miyokart enfartüsü+Zofenopril+ Nebivolol grubu)

3.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Bulguları

Transient reseptör potansiyel melastatin-2 mRNA düzeyi için yapılan PZR çalışması sonucu; kontrol grubu ile Nebivolol, Zofenopril ve Zofenopril+Nebivolol grupları karşılaştırıldığında TRPM2 mRNA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında ME grubunda TRPM2 mRNA düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. ME grubu ile karşılaştırıldığında, ME+Nebivolol, ME+Zofenopril ve ME+Zofenopril+Nebivolol gruplarında TRPM2 mRNA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 23).



*, kontrole(K) göre anlamlı fark vardır (one-way ANOVA).

(K: Kontrol grubu, N: Nebivolol grubu, Z: Zofenopril grubu, Z+N: Zofenopril+ Nebivolol grubu, ME: Miyokart enfartüsü grubu, ME+N: Miyokart enfartüsü+ Nebivolol grubu, ME+Z: Miyokart enfartüsü+ Zofenopril grubu, ME+Z+N: Miyokart enfartüsü+Zofenopril+ Nebivolol grubu)

Şekil 23. Gruplara göre TRPM2 mRNA kısmi kat artışı

4. TARTIŞMA

Akut Miyokart Enfarktüsü (AME), ciddi ve uzun süreli iskeminin neden olduğu geri dönüşümsüz miyokart hücre hasarı ve nekrozu şeklinde ifade edilir (12). Akut Miyokart Enfarktüsü'ndeki mekanizma, aterosklerotik plak yırtılması sürecinin nedeni ne olursa olsun sonuçta, koroner arter damarının aniden tıkanması ve distale giden kan akımının durması sonucu dokuda iskemi oluşmasıdır.

Dokulara kan akımını sağlayan damarların, pıhtıyla veya mekanik bir nedenle tıkanması sonucu meydana gelen doku beslenmesinin bozulmasına iskemi denir. İskemi, dokunun oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının dolaşım tarafından karşılanamaması ve ortaya çıkan artık ve toksik ürünlerin yine dolaşım tarafından ortamdaki uzaklaştırılamaması şeklinde tarif edilir (26).

Reperfüzyon, iskemi sebebi olan etkenin ortadan kaldırılarak dokuda kan akımının tekrar oluşmasıdır. İskemiye maruz kalmış bir dokunun yeniden kanlanması dokunun oksijen ve diğer metabolik ihtiyaçlarını karşılarken aynı zamanda paradoksal olarak dokularda hasar da oluşturur (29). Reperfüzyon sırasında gözlemlenen hasarda, hücreye oksijen girişi ile hızla oluşan serbest oksijen radikalleri (SOR) başta olmak üzere birçok mekanizma rol oynamaktadır.

Akut Miyokart Enfarktüsü patolojisinde uzamış iskeminin sebep olduğu miyokart hücre ölümü yer almaktadır. Miyokart dokusunda iskeminin başlamasının ardından, histolojik hücre ölümü hemen gözlenmez, ortaya çıkması belirli bir süre (20 dakika kadar kısa) geçmesi gerekir, bu süre bazı hayvan modellerinde daha kısa olabilir (15).

Isoproterenol (ISO), ratlarda deneysel olarak miyokard enfarktüsü oluşturmak için yaygın olarak kullanılan sentetik bir katekolamin türevidir (77, 78). Öyle ki; Davies (81) yaptığı bir çalışmada sıçanlarda ISO ile oluşturulmuş miyokard enfarktüsündeki patofizyolojik değişikliklerle, insan kalbindeki Miyokart Enfarktüsü sonucu oluşan değişiklikler arasında önemli fark olamamakla beraber benzerlikler saptamıştır. Çalışmamızda da ISO kullanılarak deneysel miyokart enfarktüsü oluşturuldu. Miyokart Enfarktüsü tespiti için ise, enfarktüs oluşturulmak istenen ratlara 24 saat arayla subkutan iki doz ISO uygulandı ve ikinci doz uygulamadan yaklaşık 6 saat sonra tüm ratların kuyruk veninden alınan kan örneklerinden elde

edilen serumda troponin, CK ve CK-MB düzeylerinin belirgin yükseldiği gözlemlendi. Çalışmamızla benzer olarak Nirmala ve Puvanakrishnan (111), miyokart hasar göstergesi olan biyokimyasal belirteçlerden CK, CK-MB ve LDH'nin, sıçanlarda ISO'nun yol açtığı miyokart enfarktüsü sonrası önemli oranda yükseldiğini göstermişlerdir. Yine York ve ark. (112) ISO'nun sıçanlarda sebep olduğu miyokart enfarktüsü sonrası sıçanların serum troponin I ve T düzeylerinde önemli bir miktarda artışın görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Singal ve ark. (113) miyokart hasarı oluşmasında katekolaminlerin otooksidasyonu neticesinde meydana gelen sitotoksik etkili serbest radikallerin önemli bir rolünün olduğunu tespit etmişlerdir. ISO'nun neden olduğu miyokardiyal nekrozun patogeneğinde birden fazla mekanizma olmakla birlikte, oksidatif stresin en önemli rolü üstlendiği oldukça belirgindir (114, 115).

Transient reseptör potansiyel kanalları, memelilerden omurgasızlara, canlı organizmalarının çeşitli dokularında proteinlerin çeşitli bir grubunu oluşturmaktadır (90). Kalsiyum sinyalinde TRP kanalları, iyon kanallarının yeni bir sınıfının prototip üyeleridir. TRP kanalları ya direkt olarak plazma membranındaki kalsiyum (Ca^{+2}) giriş kanalları gibi davranmakta ya da Ca^{+2} giriş kanallarının modülasyonu için itici güç olan membran potansiyelini değiştiren sitozolik serbest Ca^{+2} kanallarında değişime yardımcı olmaktadır (92, 93). Transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) alt ailesinin isimlendirilmesi ilk üyesinin kanser hücrelerinde (melastatin) tespit edilmesiyle olmuştur. TRPM alt ailesinin biyofiziksel ve fizyolojik özelliklerine göre birbirinden farklı 8 üyesi vardır. Kalp kasında varlığı gösterilen katyon kanalı ise TRPM2 dir.

Transient reseptör potansiyel melastatin-2 katyon kanallarının aktive olup açılmasında üç hücre dışı etken (aktivatör) bilinmektedir. Bunlar; oksidatif stres, ADPR/NAD⁺ metabolizması ve tümör nekroz faktörü alfa' dır (97). Metabolik olaylar sonucu oluşan H₂O₂'nin hücre içine girmesi sonucu TRPM2 kanalları aktifleşir. Bu kanalların aktivasyonu sonucunda hücre içine Ca^{+2} iyon girişinin arttığı düşünülmektedir (91). Hücre içinde kalsiyum iyonu artışı hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin bozulmasından, hücre hasarı ve ölümüne kadar varabilen çeşitli patofizyolojik bir dizi olayların başlamasına sebep olmaktadır.

Myokard Enfarktüsü oksidatif stres mekanizmalarının ortaya çıktığı akut inflamasyonla karakterizedir. TRPM2 katyon kanalları da oksidatif stres mekanizmaları sonucu aktive olup ekspresyonu artmaktadır. Hiroi ve ark. (100) Nötrofil TRPM2 katyon kanallarının miyokardial iskemi-reperfüzyon hasarının şiddetlenmesinde sorumlu olduğunu tespit etmişlerdir.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibitörleri birçok kardiyovasküler hastalığın tedavisinde kullanılmaktadırlar. Zofenopril kardiyak ADE için yüksek afiniteli, sülfidril içeren lipofilik bir ADE inhibitörüdür. Zofenopril'in nitrik oksit (NO) üretimini ve biyoetkinliğini arttırdığını ve beraberinde endotel hücre oksidatif stresini de azalttığı gösterilmiştir (101). Zofenopril'in bu etkileri lipofilitesinin yüksek oluşu ve serbest radikal temizleyici özelliği ile de ilişkilidir. Chopra ve ark. (102) sülfidril grubu içeren ADE inhibitörleri serbest radikal süpürücüsü gibi davrandıklarını tespit etmişlerdir.

Nebivolol'ün başlıca etkileri beta-adrenerjik reseptör blokajı ve Nitrik Oksit (NO) salınımını arttırmasıdır. Nebivolol'ün hayvan deneylerinde ve insanlarda vazodilatasyon oluşturduğu ve bu vazodilatasyonun başlıca sebebinin de endotelial NO artışının olduğu görülmüştür (104, 105). Uzar ve ark. (110) serebral iskemi-reperfüzyon hasarı ile ilgili ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada Nebivolol'ün NO aracılı antioksidan etkilerinin de olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda deneyin 2. gününde ME grubuna ait deney hayvanlarının kuyruk veninden alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda troponin I düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin olarak arttığı ve Miyokart Enfarktüsü ile uyumlu olduğu tespit edildi. ISO ile Miyokart Enfarktüsü oluşturulmuş sıçan kalp dokusunun histopatolojik olarak değerlendirilmesi sonucu, Miyokart Enfarktüsü ile uyumlu olarak, 3. haftada miyokart içerisinde belirgin bağ doku artışı ve neticesinde fibrozis gözlemlendi. Tedavide verilen ve antioksidan etkileri olduğu bilinen Zofenopril ve Nebivolol'ün 3. Haftadaki bu bağ doku artışına belirgin olarak etki etmedikleri tespit edildi. Her ne kadar Zofenopril ve Nebivolol'ün antioksidan etkileri olduğu bilinse de ME'nin geç döneminde yani bağ doku oluşumunun gözlemlendiği evrede elde edilen bu bulgular ışığında oluşan miyokart hasar yüzeyi ve neticesindeki fibrozis üzerine azaltıcı belirgin etkileri olmadığı gözlemlendi. Bu bulgu Uzar ve ark. (110) yapmış olduğu serebral iskemi-reperfüzyon çalışmasıyla

kısmen tezat oluşturmaktaysa da asıl bu tezatın ME'nin erken (akut) ve geç dönemlerinde oksidatif hasarın farklı şiddet ve yaygınlıkta ortaya çıkabileceğiyle ilişkili olduğu düşünüldü ancak sonuç itibariyle verilen tedavilerle ilişkili olarak hasar boyutunda belirgin bir azaltıcı etki gözlenmediği tespit edildi.

Çalışmamızda, oksidatif hasarla aktive olan TRPM2 kanalları için yapılan TRPM2 immünreaktivitesi, immünohistokimyasal boyama ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) bulguları incelendiğinde, histolojik bulgularla paralel sonuçlar ele edildi. Öyle ki; kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında ME grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde belirgin azalma ve PZR çalışması sonucu TRPM2 mRNA düzeyinde de istatistiksel olarak anlamlı düşme olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte ME grubu ile karşılaştırıldığında ME+Nebivolol, ME+Zofenopril ve ME + Zofenopril + Nebivolol gruplarında TRPM2 immünreaktivitesinin ME grubuna yakın olduğu izlendi. Yine PZR çalışması sonucu TRPM2 mRNA düzeylerinde ME grubu ile karşılaştırıldığında, ME+Nebivolol, ME+Zofenopril ve ME+Zofenopril+Nebivolol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmediği tespit edildi. Bu bulgular incelendiğinde ME oluşturulan sıçanların kalp dokusunda 3.hafta sonunda TRPM2 düzeylerinin düşük bulunduğu, beraberinde tedavi için verilen Zofenopril ve Nebivolol'un de TRPM2 düzeylerine belirgin bir etki etmedikleri görüldü. Miller ve ark. (116) kalp üzerinde 2 saat hipoksi sonrası yarım saat reoksijenizasyonun ardından serbest oksijen radikallerinin ortamda yüksek seviyelere çıktığını tespit etmişlerdir. Yine bu çalışmanın sonunda TRPM2 kanallarının kalbi iskemi-reperfüzyon hasarından koruduğunu göstermişlerdir. Bu bulgular ışığında çalışmamızdaki TRPM2 düzeyinin ME oluşturulan sıçanlarda geç dönemde düzeyinin düşük olmasının sebebi olarak, ME'nin erken döneminde oksidatif hasarın fazla olabileceği ve neticesinde TRPM2 kanallarının paralel olarak erken dönemde artışı ve aşırı ekspresyonu, iyileşme yani geç dönemde de tüketilmişliğin ve kullanımın neticesiyle düzeyinin düşmüş olabileceği düşünüldü. Bununla beraber; Hiroi ve ark. (100) yaptıkları bir çalışmada sıçanların sol ana koroner arterini bağlayıp ardından reperfüze etmişler ve AME oluşturmuşlar. Bu çalışmanın sonucunda Miyokartta iskemi-reperfüzyon hasarının oksidatif stres neticesinde akut inflamasyonla karakterize olduğu ve Nötrofil TRPM2

kanallarının miyokardial iskemi-reperfüzyon hasarının şiddetlenmesinde sorumlu olduğunu tespit etmişlerdir.

Miyokart Enfarktüsü'nün patofizyolojisinde oksidatif mekanizmaların rolü birçok çalışmayla ortaya konulmuştur. Oksidatif stresin ME patofizyolojisindeki yerinin belirlenmesi ve bu patofizyolojik mekanizmalara TRPM2 kanallarının katılabileceği düşüncesi, hastalığın oluşumunda hücresel düzeyde yeni tedavi hedefleri ortaya çıkmasına ve ayrıca bu tedavilerin gelecekte klinik uygulamalarda yer bulmasına sebep olabilir.

Sonuç olarak; ISO ile deneysel olarak miyokart enfarktüsü oluşturulmuş ratlarda TRPM2 kanallarına Zofenopril ve Nebivolol'ün etkisini incelemek amacıyla Sprague Dowley ırkı erkek ratlarla yaptığımız bu çalışmada;

1. Deneysel ME oluşturmak için ISO'nun uygun farmakolojik bir ajan olduğu;
2. ME grubunda bağ dokusu ve fibrozis oluşumu kontrol grubuna göre belirgin olarak arttığı, tedavi amacıyla verilen Zofenopril ve Nebivolol'ün bu bağ doku ve fibrozis artışını belirgin olarak etkilemediği ve ME grubuyla benzer olduğu;
3. ME grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde belirgin azalma olduğu, ME grubu ile karşılaştırıldığında ME+Nebivolol, ME+Zofenopril ve ME+Zofenopril+Nebivolol gruplarında TRPM2 immünreaktivitesinin ME grubuna yakın olduğu;
4. ME grubunda PZR çalışması sonucu TRPM2 mRNA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı düşme olduğu, ME grubu ile karşılaştırıldığında, ME+Nebivolol, ME+Zofenopril ve ME+Zofenopril+Nebivolol gruplarında TRPM2 mRNA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmediği tespit edildi.

Bu sonuçlara göre, Zofenopril ve Nebivolol'ün ISO'nun yaptığı ME'de oksidatif hasara karşı belirgin düzeltici veya tedavi edici etkilerinin olmadığı; ME'nün geç döneminde TRPM2 düzeylerinin düştüğü ve tedavi için verilen Zofenopril ve Nebivolol'ün TRPM2 düzeylerine belirgin bir etkilerinin olmadığı, ME patofizyolojisine TRPM2 kanallarının katkıda bulunabileceği ve tedavi yaklaşımlarında gelecekte yapılacak çalışmalara da ışık tutabileceği kanaatine varılmıştır.

5. KAYNAKLAR

1. Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: a novel protective agent against oxidative injury of the ischemic-reperfused heart. *Cardiovascular Res* 2003; 58: 10-19.
2. Rosamond W, Flegal K, Friday G, Furie K, Go A, Greenlund K, et al. Heart disease and stroke statistics -2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2007; 115: 69-171
3. The Framingham Heart Study. High density lipoprotein cholesterol and mortality. *Arteriosclerosis* 1998; 8: 737-741.
4. Murray CL, Lopez AD. Global mortality, disability and the contribution of risk factor. Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349: 1436-1442.
5. Chapman JF, Christenson RH, Silverman LM. Cardiac and muscle disease. Kaplan LA, Pesce AJ, (editors). *Clinical Biochemistry*. 3rd ed. USA: Mosby, 1996: 593-612.
6. Zipes DP, Wellens HJJ. Sudden cardiac death. *Circulation* 1998; 98: 2334-2351.
7. American Heart Association. Heart and stroke facts. Available: www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=3000333. Eriřim tarihi 13/03/2014
8. Vaughan CJ, Murphy MB, Buckley BM. Statins do more than just lower cholesterol. *Lancet* 1996; 348: 1079-1082.
9. Brown MS, Goldstein JL. Heart attacks: gone with the century. *Science* 1996; 272: 629.
10. Murray CL, Lopez AD. Evidence - based health policy—lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science* 1996; 274: 740-743.
11. WHO Fact sheet N8310, updated June 2011, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html>.
12. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. Akut Miyokart İnfarktüsü. İç Hastalıkları, İkinci Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 2003: 474-495.

13. DeWood MA, Stifter WF, Simpson CS. Coronary arteriographic findings soon after non-Q-wave myocardial infarction. *N Engl J Med* 1986; 315: 417-423.
14. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Bernard RC, Harvey DW. Üçüncü Evrensel Miyokart Enfarktüsü Tanımı Türk Kardiyol Dern Arş 2013; 3: 129-145,
15. Jennings RB, Ganote CE. Structural changes in myocardium during acute ischemia. *Circ Res* 1974; 35: 156–172.
16. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007; 28: 2525–2538.
17. Gök H. Akut Miyokard İnfarktüsü. Klinik Kardiyoloji. İkinci Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapları, 2002: 273-321.
18. Libby P. Molecular basis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844-2850.
19. Reimer KA, Jennings RB. The wavefront phenomenon of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab Invest* 1979; 40: 633-644.
20. Falk E. Morphologic features of unstable atherothrombotic plaques underlying acute coronary syndromes. *Am J Cardiol* 1989; 63: 114-120.
21. Topol EJ, Yadav J. Recognition of the importance of embolization in atherosclerotic vascular disease. *Circulation* 2000; 101: 570-580
22. Libby P. The Pathogenesis of Atherosclerosis. Braunwald E (ed). Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th Edition, New York: McGraw Hill, 2005: 1425-1427.
23. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801.
24. Schwenke DC, Carew TE. Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbit. II. Selective retention of LDL vs. selective increases in LDL permeability in susceptible sites of arteries. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 908-918.

25. Tokgözoğlu L. Ateroskleroz patogenezi. *Hiperlipidemi ve Ateroskleroz Dergisi* 2002; 26: 22-27.
26. Majino G, Jorris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of the cell death. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-9.
27. Winyard PG, Morris CJ, Winrow VR, Zaidi M, Blake DR, Rice-Evans CA, Burdon RH. Free radical damage and its control. England: Elsevier Science Press, 1994: 361-381.
28. Siesjö BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia part I: Pathophysiology. *J Neurosurg* 1992; 77: 169-184.
29. Zimmerman BJ, Granger N. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.
30. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med Monogr* 1990; 137: 1-53.
31. Roe MT, Harrington RA, Prosper DM, Pieper KS, Bhatt DL, Lincoff AM, et al. Clinical and therapeutic profile of patients presenting with acute coronary syndromes who do not have significant coronary artery disease. The Platelet glycoprotein IIb/IIIa in Unstable angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy (PURSUIT) trial Investigators. *Circulation* 2000; 102: 1101–1106.
32. Reynolds HR, Srichai MB, Iqbal SN, Slater JN, Mancini GB, Feit F, et al. Mechanisms of myocardial infarction in women without angiographically obstructive coronary artery disease. *Circulation* 2011; 124: 1414–1425.
33. Harris BM, Nageh T, Marsden JT, Thomas MR, Sherwood RA. Comparison of cardiac troponin T and I and CK-MB for the detection of minor myocardial damage during interventional cardiac procedures. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 764–769.
34. Miller WL, Garratt KN, Burritt MF, Reeder GS, Jaffe AS. Timing of peak troponin T and creatine kinase-MB elevations after percutaneous coronary intervention. *Chest* 2004; 25: 275–280.
35. Tubaro M, Danchin N, Goldstein P, Filippatos G, Hasin Y, Heras M, et al. Pre-hospital treatment of STEMI patients. A scientific statement of the working group

acute cardiac care of the european society of cardiology. *Acute Card Care* 2011; 13: 56-67.

36. Brieger D, Eagle KA, Goodman SG, Steg PG, Budaj A, White K, Montalescot G. Acute coronary syndromes without chest pain, an underdiagnosed and undertreated high-risk group: insights from the global registry of acute coronary events. *Chest* 2004; 126: 461-469.
37. Christian W H, Jean-Pierre B, Stefan A, Jeroen B, Eric B, Hector B, et al, Israrıcı ST-segment yükselmesi belirtileri göstermeyen hastalarda Akut Koroner Sendromların (AKS) Tedavi kılavuzları *Türk Kardiyol Dern Arş* 2011; 3: 73-128.
38. Diercks DB, Peacock WF, Hiestand BC, Chen AY, Pollack CV, Kirk JD, et al. Frequency and consequences of recording an electrocardiogram. 10 minutes after arrival in an emergency room in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes (from the CRUSADE Initiative). *Am J Cardiol* 2006; 97: 437-442.
39. Lopez-Sendon J, Coma-Canella I, Alcasena S, Seoane J, Gamallo C. Electrocardiographic findings in acute right ventricular infarction: sensitivity and specificity of electrocardiographic alterations in right precordial leads V4R, V3R, V1, V2, and V3. *J Am Coll Cardiol* 1985; 6: 1273-1279.
40. Wang K, Asinger RW, Marriott HJ. ST-segment elevation in conditions other than acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003; 349: 2128–2135.
41. Jaffe AS, Babuin L, Apple FS. Biomarkers in acute cardiac disease. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1–11.
42. Zimmerman J, Fromm R, Meyer D, Boudreaux A, Wun CC, Smalling R. Diagnostic markercooperative study fort he diagnosis of myocardial infarction. *Circulation* 1999; 99: 1671-1677.
43. Jaffe AS. Chasing troponin: how low can you go if you can see the rise? *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1763–1764.
44. Apple FS, Jesse RL, Newby LK, Wu AHB, Christenson RH. National academy of clinical biochemistry and ifcc committee for standardization of markers cardiac

damage laboratory medicine practice guidelines: analytical issues for biochemical markers of acute coronary syndromes. *Circulation* 2007; 115: 352–355.

45. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storrow AB, et al. National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines: clinical characteristics and utilization of biochemical markers of acute coronary syndromes. *Circulation* 2007; 115: 356–375.
46. Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, et al. Study group on biomarkers in cardiology of the ESC working group on acute cardiac care. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2010; 31: 2197–2204.
47. Thygesen K, Mair J, Giannitsis E, Mueller C, Lindahl B, Blankenberg S, et al. Study group on biomarkers in cardiology of the Esc working group on acute cardiac care. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. *Eur Heart J* 2012; 33: 2252-2257.
48. MacRae AR, Kavsak PA, Lustig V, Bhargava R, Vandersluis R, Palomaki GE, et al. Assessing the requirement for the six-hour interval between specimens in the American Heart Association classification of myocardial infarction in epidemiology and clinical research studies. *Clin Chem* 2006; 52: 812–818.
49. de Lemos JA, Drazner MH, Omland T, Ayers CR, Khera A, Rohatgi A, et al. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. *JAMA* 2010; 304: 2503–2512.
50. Kavsak PA, Xu L, Yusuf S, McQueen MJ. High-sensitivity cardiac troponin I measurement for risk stratification in a stable high-risk population. *Clin Chem* 2011; 57: 1146–1153.
51. Apple FS, Simpson PA, Murakami MM. Defining the serum 99th percentile in a normal reference population measured by a high-sensitivity cardiac troponin I assay. *Clin Biochem* 2010; 43: 1034–1036.
52. Giannitsis E, Kurz K, Hallermayer K, Jarausch J, Jaffe AS, Katus HA. Analytical validation of a high-sensitivity cardiac troponin T Assay. *Clin Chem* 2010; 56: 254–261.

53. Apple FS, Quist HE, Doyle PJ, Otto AP, Murakami MM. Plasma 99th percentile reference limits for cardiac troponin and creatine kinase MB mass for use with European Society of Cardiology/American College of Cardiology consensus recommendations. *Clin Chem* 2003; 49: 1331–1336.
54. Jaffe AS, Ritter C, Meltzer V, Harter H, Roberts R. Unmasking artifactual increases in creatine kinase isoenzymes in patients with renal failure. *J Lab Clin Med* 1984; 104: 193-202.
55. Martin GS, Becker BN, Schulman G. Cardiac troponin-I accurately predicts myocardial injury in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 1709.
56. Flachskampf FA, Schmid M, Rost C, Achenbach S, deMaria AN, Daniel WG. Cardiac imaging after myocardial infarction. *Eur Heart J* 2011; 32: 272–283.
57. Saunders JT, Nambi V, de Limos JA, Chambless LE, Virani SS, Boerwinkle E, et al. Cardiac troponin T measured by a highly sensitive assay predicts coronary heart disease, heart failure, and mortality in the atherosclerosis risk in communities study. *Circulation* 2011; 123: 1367–1376.
58. Stillman AE, Oudkerk M, Bluemke D, Bremerich J, Esteves FP, Garcia EV, et al. North American society of cardiovascular imaging; european society of cardiac radiology. *Int J Cardiovasc Imaging* 2011; 27: 7–24.
59. Kim HW, Faraneh-Far A, Kim RJ. Cardiovascular magnetic resonance in patients with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 1–16.
60. Beek AM, van Rossum AC. Cardiovascular magnetic resonance imaging in patients with acute myocardial infarction. *Heart* 2010; 96: 237–243.
61. Amsterdam EA, Kirk JD, Bluemke DA, Diercks D, Farkouh ME, Garvey JL, et al. Testing of low-risk patients presenting to the emergency department with chest pain. *Circulation* 2010; 122: 1756–1776.
62. Luepker RV, Raczynski JM, Osganian S, Goldberg RJ, Finnegan JR, Hedges JR, et al. Effect of a community intervention on patient delay and emergency medical service use in acute coronary heart disease: The rapid early action for coronary treatment (REACT) trial. *JAMA* 2000; 284: 60-67.

63. Ting HH, Krumholz HM, Bradley EH, Cone DC, Curtis JP, Drew BJ, et al. Implementation and integration of pre-hospital ECGs into systems of care for acute coronary syndrome: a scientific statement from the American heart association interdisciplinary council on quality of care and outcomes research, emergency cardiovascular care committee, council on cardiovascular nursing, and council on clinical cardiology. *Circulation* 2008; 118: 1066-1079.
64. Amit G, Cafri C, Gilutz H, Ilia R, Zahger D. Benefit of direct ambulance to coronary care unit admission of acute myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous intervention. *Int J Cardiol* 2007; 119: 355-358.
65. Silber S, Albertsson P, Aviles FF, Camici PG, Colombo A, Hamm C, et al. Task force for percutaneous coronary interventions of the European society of cardiology. guidelines for percutaneous coronary interventions. The task force for percutaneous coronary interventions of the european society of cardiology. *Eur Heart J* 2005; 26; 804–647.
66. Spaulding C, Morice MC, Lancelin B, El Haddad S, Lepage E, Bataille S, et al. Is the volume-outcome relation still an issue in the era of PCI with systematic stenting? Results of the greater Paris area PCI registry. *Eur Heart J* 2006; 27; 1054–1060.
67. Canto JG, Every NR, Magid DJ, Rogers WJ, Malmgren JA, Frederick PD, et al. The volume of primary angioplasty procedures and survival after acute myocardial infarction. National registry of myocardial infarction 2 investigators. *N Engl J Med* 2000; 342; 1573–1580.
68. Kastrati A, Mehilli J, Nekolla S, Bollwein H, Martinoff S, Pache J, et al. A randomized trial comparing myocardial salvage achieved by coronary stenting versus balloon angioplasty in patients with acute myocardial infarction considered ineligible for reperfusion therapy. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43; 734–741.
69. Fibrinolytic Therapy Trialists (FTT) Collaborative Group. Indications for fibrinolytic therapy in suspected acute myocardial infarction: collaborative overview of early mortality and major morbidity results from all randomised trials of more than 1000 patients. *Lancet* 1994; 343: 311-322.

70. Boersma E, Maas AC, Deckers JW, Simoons ML. Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour. *Lancet* 1996; 348: 771-775.
71. White H. Thrombolytic therapy in the elderly. *Lancet* 2000: 356; 2028–2030.
72. Van de Werf F, Bax J, Betriu A, Crea F, Falk V, Filippatos G, et al. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the task force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the european society of cardiology. *Eur Heart J* 2008; 29: 2909-2945.
73. Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, Xie JX, Pan HC, Peto R, et al. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005; 366: 1607-1621.
74. Cohen M, Gensini GF, Maritz F, Gurfinkel EP, Huber K, Timerman A, et al. The safety and efficacy of subcutaneous enoxaparin versus intravenous unfractionated heparin and tirofiban versus placebo in the treatment of acute ST-segment elevation myocardial infarction patients ineligible for reperfusion (TETAMI): a randomized trial. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1348-1356.
75. Montalescot G, Sideris G, Meuleman C, Bal-dit-Sollier C, Lellouche N, Steg PG, et al. A randomized comparison of high clopidogrel loading doses in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: the ALBION (assessment of the best loading dose of clopidogrel to blunt platelet activation, inflammation and ongoing necrosis) trial. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 931–938
76. Von Beckerath N, Taubert D, Pogatsa-Murray G, Schomig E, Kastrati A, Schomig A. Absorption, metabolism and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE (intracoronary stenting and antithrombotic regimen: choose between 3 high oral doses for immediate clopidogrel effect) trial. *Circulation* 2005; 112: 2946–2950.
77. Sree Priya M, Saravanan N, Devaki T, Nayeem M. Protective effects of larginine on experimental myocardial injury induced by-adrenergic stimulation in rats. *J Clin Biochem Nutr* 1999; 27: 19–26.

78. Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Co K, Weber KT, Clare WA. Isoproterenol induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ Res* 1989; 65: 657-670.
79. Maynard RL, The Merck Index, 12th ed. *Occup Environ Med* 1997; 54: 288.
80. Tipnis UR, He GY, Li S, Campbell G, Boor PJ. Attenuation of isoproterenol mediated myocardial injury in rat by an inhibitor of polyamine synthesis. *Cardiovasc Pathol* 2000; 9-5: 273-280.
81. Davies MJ. The pathology of myocardial ischaemia. *J Clin Pathol Suppl* 1977; 11: 45-52.
82. 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: 465-470.
83. 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: 563-580.
84. Janke J, Fleckenstein A, Doring HJ, Leder O. Key role of intracellular calcium overload in acute necrosis of the myocardium. Cardioprotection with verpamil. *Minerva Med* 1975; 66: 1846-1858.
85. Banerjee SK, Sood S, Dinda AK, Das TK, Maulik SK. Chronic oral administration of raw garlic protects against isoproterenol-induced myocardial necrosis in rat. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003; 136-4: 377-386.
86. Kumari SS, Menon VP. Changes in levels of lipid peroxides and activities of superoxide dismutase and catalase in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Indian J Exp Biol* 1987; 25-6: 419-423.
87. Ravichandran LV, Puvanakrishnan R, Joseph KT. Influence of isoproterenol induced myocardial infarction on certain glycohydrolases and cathepsins in rats. *Biochem Med Metab Biol* 1991; 45: 6-15.
88. Hoffstein S, Gennaro DE, Weissmann G, Hirsch J, Streuli F, Fox AC. Cytochemical localization of lysosomal enzyme activity in normal and ischemic dog myocardium. *Am J Pathol* 1975; 79: 193-206.

89. Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature*. 2003; 4; 426: 517–524
90. Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. *J Membr Biol* 2006; 209: 31-41.
91. Hardie RC, Minke B. The trp gene is essential for a light-activated Ca²⁺ channel in *Drosophila* photoreceptors. *Neuron* 1992; 8: 643-651.
92. Nazıroğlu M, Özgül C, Çelik Ö, Çiğ B, Sözbir E. Aminoethoxydiphenyl borate and flufenamic acid inhibit Ca²⁺ influx through TRPM2 channels in rat dorsal root ganglion neurons activated by ADP-ribose and rotenone. *J Membr Biol* 2011; 241: 69-75.
93. Nazıroğlu M, Özgül C, Çiğ B, Doğan S, Uğuz AC. Glutathione modulates Ca(2+) influx and oxidative toxicity through TRPM2 channel in rat dorsal root ganglion neurons. *J Membr Biol* 2011; 242: 109-118.
94. Nazıroğlu M. TRPM2 cation channels, oxidative stress and neurological diseases: where are we now? *Neurochem Res* 2011; 36: 355-366.
95. Nilius B. TRP channels in disease. *Biochem Biophys Acta* 2007; 1772: 805-812.
96. Clapham DE. Calcium signaling. *Cell* 2007; 14; 131: 1047-1058.
97. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, Maeno E, Nishida M, Yoshida T, et al. LTRPC2 Ca²⁺-permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002; 9: 163-173.
98. Togashi K, Hara Y, Tominaga T, Higashi T, Konishi Y, Mori Y, Tominaga M. TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion. *EMBO J* 2006; 25: 1804-1815.
99. Satoh S, Tanaka H, Ueda Y, Oyama J, Sugano M, Sumimoto H, et al. Transient receptor potential (TRP) protein 7 acts as a G protein-activated Ca²⁺ channel mediating angiotensin II-induced myocardial apoptosis. *Mol Cell Biochem* 2007; 294: 205-215.

100. Hiroi T, Wajima T, Negero T, Ishii M, Nakano Y, Kiuchi Y, et al. Neutrophil TRPM2 channels are implicated in the exacerbation of myocardial ischaemia/reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2013; 97: 271-281.
101. Scribner AW, Forde P, Dial R. Prevention of hypertension and renal dysfunction in Dahl rats by alpha-tocopherol *Eur J Pharmacol* 2003; 42: 82-88.
102. Chopra M, Beswick H, Clapperton M, Dargie HJ, Smith WE, McMurray J. Antioxidant effects of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors: free radical and oxidant scavenging are sulfhydryl dependent, but lipid peroxidation is inhibited by both sulfhydryl and nonsulfhydryl-containing ACE inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 19: 330-340.
103. Bristow MR, Nelson P, Minobe W, Johnson C. Characterization of beta-1-adrenergic receptor selectivity of nebivolol and various other beta-blockers in human myocardium. *Am J Hypertens* 2005; 18: 51-52.
104. Cockcroft JR1, Chowienczyk PJ, Brett SE, Chen CP, Dupont AG, Van Nueten L, et al. Nebivolol vasodilates human forearm vasculature: evidence for an L-arginine/NO-dependent mechanism. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274: 1067-1071.
105. Bowman AJ, Chen CP, Ford GA. Nitric oxide mediated venodilator effects of nebivolol. *Br J Clin Pharmacol* 1994; 38: 199-204.
106. Fallois JV, Faulhaber HD. Nebivolol, a beta-blocker of the third generation: the current treatment of arterial hypertension: results of a multicenter observational study. *Praxis* 2001; 90: 435– 441.
107. Himmelman A, Hedner T, Snoeck E, Lundgren B, Hedner J. Haemodynamic effects and pharmacokinetics of oral d- and l-nebivolol in hypertensive patients. *Eur J Clin Pharmacol* 1996; 51: 259–264.
108. De Cree J, Cobo C, Geukens H, Verhaegen H. Comparison of the subacute hemodynamic effects of atenolol, propranolol, pindolol, and nebivolol. *Angiology* 1990; 41: 95–105.

109. Nodari S, Metra M, Dei Cas L. β -Blocker treatment of patients with diastolic heart failure and arterial hypertension. A prospective, randomized comparison of the long-term effects of atenolol vs. nebivolol. *Eur J Heart Fail* 2003; 5: 621– 627.
110. Uzar E, Acar A, Evliyaoğlu O, Fırat U, Kamasak K, Göçmez C, et al. The anti-oksıdant and antiapoptotic effects of nebivolol and zofenopril in a model of cerebral ischemia/reperfusion in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012 Jan 10; 36: 22-28.
111. Nirmala C, Puvanakrishnan R. Isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: functional and biochemical alterations. *Med Sci Res* 1994; 22: 575-577.
112. York M, Scudamore C, Brady S, Chen C, Wilson S, Curtis M, et al. Characterization of troponin responses in isoproterenol-induced cardiac injury in the Hanover Wistar rat. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 606-617.
113. 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.
114. Bors W, Michel C, Saran M, Lengfelder E. The involvement of oxygen radicals during the autoxidation of adrenalin. *Biochim Biophys Acta* 1978; 540: 162-172.
115. Dhalla NS, Yates JC, Lee SL, Singh A. Functional and subcellular changes in the isolated rat heart perfused with oxidized isoproterenol. *J Mol Cell Cardiol* 1978; 10: 31-41.
116. Miller BA, Wang J, Hirschler-Laszkiewicz I, Gao E, Song J, Zhang X, et al. The second member of transient receptor potential-melastatin channel family protects hearts from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2013; 304: 1010–1022.

6. ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Elazığ'ın Maden İlçesi'nde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'ın Sivrice İlçesi'nde tamamladım. 2003 yılında Elazığ Ahmet Kabaklı Anadolu Öğretmen Lisesi'nden mezun oldum. 2003 yılında girdiğim Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 2009 yılında mezun oldum. 2010 yılında evlendim ve bir erkek çocuk babasıyım. Haziran 2010 tarihinden itibaren Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'nda ihtisasa devam etmekteyim.