

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**YAŞLANMAYA KOŞUT KALP KASI HÜCRELERİNDE
BAĞLANTI BİRİMLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK BELİRLENMESİ VE DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zeynep GÜLTEKİN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Çiğdem Elmas

ANKARA
Şubat 2009

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**YAŞLANMAYA KOŞUT KALP KASI HÜCRELERİNDE
BAĞLANTI BİRİMLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK BELİRLENMESİ VE DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zeynep GÜLTEKİN

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Çiğdem Elmas

ANKARA
Şubat 2009

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Resimler, Grafikler, Tablolar	III
Semboller, Kısaltmalar	IV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kalb'in Gelişimi.	4
2.1.1. İlkel Kalp Tüpünün Oluşumu ve Durumu	5
2.1.2. Kalp Halkasının Oluşumu	7
2.1.3. Sinüs Venozus'un Gelişimi	8
2.1.4. Pulmoner Venlerin Gelişimi	10
2.1.5. Atriyoventriküler Kanalın İkiye Ayrılması	10
2.1.6. İlkel Atriyumun Sağ Ve Sol Atriyumlara Bölünmesi	11
2.1.7. Sağ Ve Sol Ventriküllerin Septum İle Bölmelenmesi	12
2.1.8. Trunkus Anteriozusun Bölünmesi	14
2.1.9. Kalp Kapakların Gelişimi	14
2.1.10. Kalbin Uyarı İletim Sisteminin Gelişimi	15
2.2. Kalb'in Anatomisi	15
2.3. Kalbin Fizyolojisi	19
2.3.1. Aksiyon Potansiyeli	21
2.4. Kalbin Histolojisi	23
2.4.1. İnterkalat Disklerdeki Bağlantı Birimleri	27
2.5. Kalbin Yaşa Bağlı Değişimleri	30
2.5.1. Kalp Yapısının Yaşa Bağlı Değişimleri	31
2.5.2. Bağlantı Birimlerindeki Yaşa Bağlı Değişimler	33
3. GEREÇ ve YÖNTEM	36
3.1 Deney Hayvanları ve Gruplandırma	36
3.2 İmmunohistokimyasal Yöntem	36

4. BULGULAR	39
4.1. İmmunohistokimyasal Bulgular	39
4.2. İstatistiksel Bulgular	75
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇ	93
7. ÖZET	95
8. SUMMARY	96
9. KAYNAKLAR	97
10. EKLER	107
11. ÖZGEÇMİŞ	109

Resimler, Grafikler, Tablolar

A) Resimler:

Resim 1A, 1A₁: Küçük büyütmeli resimde 1 günlük sıçan kalbinde ZO1 antikoru tutulumu.

Resim 1B: Büyük büyütmeli resimde 1 günlük sıçan kalbinde ZO1 antikoru tutulumu.

Resim 2A: Küçük büyütmeli resimde 22 günlük sıçan kalbinde ZO1 antikoru tutulumu.

Resim 2B: Büyük büyütmeli resimde 22 günlük sıçan kalbinde ZO1 antikoru tutulumu.

Resim 3A: Küçük büyütmeli resimde 10 haftalık sıçan kalbinde ZO1 antikoru tutulumu.

Resim 3B: Büyük büyütmeli resimde 10 haftalık sıçan kalbinde ZO1 antikoru tutulumu.

Resim 4A, 4A₁: Küçük büyütmeli resimde 20 aylık sıçan kalbinde ZO1 antikoru tutulumu.

Resim 4B: Büyük büyütmeli resimde 20 aylık sıçan kalbinde ZO1 antikoru tutulumu.

Resim 5A, 5A₁: Küçük büyütmeli resimde 1 günlük sıçan kalbinde E-Kadherin antikoru tutulumu.

Resim 5B: Büyük büyültmeli resimde 1 günlük sıçan kalbinde E-Kadherin antikoru tutulumu.

Resim 6A: Küçük büyültmeli resimde 22 günlük sıçan kalbinde E-Kadherin antikoru tutulumu.

Resim 6B: Büyük büyültmeli resimde 22 günlük sıçan kalbinde E-Kadherin antikoru tutulumu.

Resim 7A, 7A₁: Küçük büyültmeli resimde 10 haftalık sıçan kalbinde E-Kadherin antikoru tutulumu.

Resim 7B: Büyük büyültmeli resimde 10 haftalık sıçan kalbinde E-Kadherin antikoru tutulumu.

Resim 8A: Küçük büyültmeli resimde 20 aylık sıçan kalbinde E-Kadherin antikoru tutulumu.

Resim 8B: Büyük büyültmeli resimde 20 aylık sıçan kalbinde E-Kadherin antikoru tutulumu.

Resim 9A, 9A₁: Küçük büyültmeli resimde 1 günlük sıçan kalbinde Konneksin43 antikoru tutulumu.

Resim 9B: Büyük büyültmeli resimde 1 günlük sıçan kalbinde Konneksin43 antikoru tutulumu.

Resim 10A: Küçük büyültmeli resimde 22 günlük sıçan kalbinde Konneksin43 antikoru tutulumu.

Resim 10B: Büyük büyütmeli resimde 22 günlük sıçan kalbinde Konneksin43 antikoru tutulumu.

Resim 11A, 11A₁: Küçük büyütmeli resimde 10 haftalık sıçan kalbinde Konneksin43 antikoru tutulumu.

Resim 11B: Büyük büyütmeli resimde 10 haftalık sıçan kalbinde Konneksin43 antikoru tutulumu.

Resim 12A: Küçük büyütmeli resimde 20 aylık sıçan kalbinde Konneksin43 antikoru tutulumu.

Resim 12B: Büyük büyütmeli resimde 20 aylık sıçan kalbinde Konneksin43 antikoru tutulumu.

Resim 13A: Küçük büyütmeli resimde 1 günlük sıçan kalbinde Klaudin5 antikoru tutulumu.

Resim 13B: Büyük büyütmeli resimde 1 günlük sıçan kalbinde Klaudin5 antikoru tutulumu.

Resim 14A: Büyük büyütmeli resimde 22 günlük sıçan kalbinde Klaudin5 antikoru tutulumu.

Resim 14B: Küçük büyütmeli resimde 22 günlük sıçan kalbinde Klaudin5 antikoru tutulumu.

Resim 15A: Büyük büyütmeli resimde 10 haftalık sıçan kalbinde Klaudin5 antikoru tutulumu.

Resim 15B: Büyük büyöltmeli resimde 10 haftalık sıçan kalbinde Klaudin5 antikoru tutulumu.

Resim 16A, 16A₁: Küçük büyöltmeli resimde 20 aylık sıçan kalbinde Klaudin5 antikoru tutulumu.

Resim 16B: Büyük büyöltmeli resimde 20 aylık sıçan kalbinde Klaudin5 antikoru tutulumu.

B) Grafikler:

Grafik 1 : Antikor tutulumlarının yaşa koşut değeriendirilmesi (bar)

Grafik 2: Antikor tutulumlarının yaşa koşut değeriendirilmesi (cizgisel grafik)

C) Tablolar:

Tablo 1: Tüm yaş gruplarında klaudin5, kadherin, konneksin ve Zo2 antikoru tutulumlarının istatistiksel değeriendirilmesi.

Tablo 2: Farklı yaş gruplarında antikoru tutulumlarının karşılaştırılması.

Tablo 3: 1 günlük grupta antikoru tutulumlarının karşılaştırılması.

Tablo 4: 22 günlük grupta antikoru tutulumlarının karşılaştırılması.

Tablo 5: 10 haftalık grupta antikoru tutulumlarının karşılaştırılması.

Tablo 6: 20 aylık grupta antikoru tutulumlarının karşılaştırılması.

Semboller, Kısaltmalar:

AEC: 3-amino-9-etilkarbozol

ASD: Atriyal septal defekt

AV: Atriyoventrikül

Ca⁺²: Kalsiyum iyonu

CAMP: Siklik adenosin mono fosfat

COOH: Karboksil grup

CO₂: Karbondioksit

Cx: Konneksin

JAM: Junctional adhesyon molekülü

K⁺: Potasyum iyonu

KKL: Kalp kası lifleri

M: Molar

mV: Milivolt

Na⁺: Sodyum iyonu

NH₂: Amino grup

PBS: Fosfat buffer salin

SA: Sinoatriyal

VSD: Ventriküler septal defect

Zo: Zonula okludens

β: Beta

1. GİRİŞ

Dolaşım sistemi kalp-damar ve lenfatik sistemlerden oluşur. Kalp-damar sistemi, kalp ve damarların yapılandığı bir sistemdir. Bu sistemde kalp merkezde yerleşmiştir. Damarlar kalb'den çıkarak, kapalı bir sistem ile kalb'e yeniden geri dönerler. Kan diğer sıvıların özelliklerine eşdeğer şekilde belli bir basınç farkı altında, basıncın yüksek olduğu bölgeden düşük olduğu bölgeye doğru akmaktadır. Kalb'in pompa gücü ile damar sistemi içine pompaladığı kan, önce arterlere sonra kapiller (kılcal) damarlara oradan da venlere geçerek yeniden kalb'e döner. Kanın kimyasal bileşimi ve fiziksel özellikleri kapiller damar yatağını geçerken değişime uğrar. Arterler kapiller bölgeye kanı getirici sistem olarak, venlerde kapiller bölgede değişime uğrayan kanı götürücü sistem olarak çalışmaktadır. Kardiyak döngü, iki atrium'un kasılması ardından iki ventrikül'ün kasılması ve gevşemeleri şeklinde gerçekleşir. Ventrikül'ün kasılması sistol, gevşemesi ise diastol'dur.^{16,17}

Dolaşım sistemi sinirsel, hormonal, yerel ve sistemik düzenekler ile denetlenir. Sinir sistemi kanın içeriğini denetleyemediğinden kan akımı kendini denetleyen düzenek denilen bir sistemle denetlenir. Bu sistem kalb'den ayrılan kanın basıncı ve içeriği ile kontrol edilir. Kan damarlarındaki reseptörler, beyinde medullaya iletilen sinyalleri belirler. Medulladan gelen sempatik uyarılar böbreküstü bezini uyarır, epinefrin salgılanır ve kalp atım hızı artar. Parasempatik uyarılar kalp atım hızını yavaşlatır. Arterlerdeki kan basıncının azalması ile hipotalamus tarafından vasopressin salgılanır. Diğer bir düzenekte böbreklerce renin salgılanmasıdır. Vasopressin ve renin damarların

kasılmasına, çaplarının daralmasına ve böylelikle kan basıncının artmasına neden olurlar.¹⁷

Kalb'in miyokard katmanı ritmik ve kendi kendine kasılmalar yapan bir çizgili kas türüdür. Hemotoksilen-eozin boyamalarında kalp lifleri birbirine koşut düzenlenmiş ve yan dallanmalar yapan bir düzen içindedir. Her hücrenin yan dalları diğerkleriyle ilişkidedir. Kalp kası lifleri enine çizgilenme gösterirler, çekirdek bir yada iki adettir, soluk renkte boyanır ve hücrenin merkezinde yerleşiktir. Kalp kası hücreleri zengin bir kapiler ağı içeren ince bir endomisyal bağı dokusu kılıfıyla sarılmıştır. Kalp kası hücreleri arasında karmaşık bağılantı bölgeleri olan diskus interkalarisler gözlemlenir. Bağılantılar düz bir kat yada basamak biçiminde izlenebilir. Basamaksı bağılantılarda iki bölge ayırt edilebilir; enine bölüm, lifleri dik açıyla çaprazlar, lateral bölüm ise bitişik miyofilaman'lara koşut uzanan kısımdır. Embriyolojik yaşamda miyoblast'lar mitozla çoğalıp birbirlerine bağılanmakta (dallanma düzeni) ve böylece diskus interkalaris yapısı ortaya çıkmaktadır, miyofilaman'lar daha sonra gelişmektedir. Hücrelerin birbirlerine tutundukları bu bölgelerde bağılantı birimleri sıktır. Burada bulunan sıkı bağılantı birimlerinin dışında, disklerde başlıca 3 bağılantı birimi vardır. Bunlar Fasya adherens, desmozom ve nekzus'lardır. Diskus interkalaris'lerdeki bağılantı birimlerini göstermek için yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda, fasya adherens'leri işaretlemek için N-kadherin, desmozom'lar için desmoplakin ya da plakoglobin, nekzus'ları belirlemek için çoğunlukla Cx 43 ve sıkı bağılantıları işaretlemek için de Zo1, JAM, okludin ya da klaudin antiikorları kullanmışlardır. Son zamanlarda yaşlanmanın kalp yapısı üzerindeki etkilerini araştırmak için birçok çalışma yapılmıştır. İlerleyen yaşa koşut kalp yapısı bozulmaktadır. Bu bozulmanın nedeni miyosit'lerde ve endotel yapısındaki değışikliklerdir. Endotel'i oluşturan yassı epitel hücrelerinin birbirlerine tutunmaları zamanla güçsüzleşir. İnterkalat disk'lerde yerleşik bağılantı birimlerindeki değışimlerin çalışıldığı immunohistokimyasal çalışmalar son derece azdır.

Bu nedenle bizde çalışmamızda, sıçan kalp kasının diskus interkalaris bölgelerindeki bağlantı birimlerinde yaşa koşut oluşabilecek olası değişimleri çeşitli işaretleyiciler kullanarak immunohistokimyasal olarak ortaya koymayı amaçladık. 1, 13, 41, 48, 51, 52, 53

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalb'in Gelişimi

Kalp damar sistemi, embriyoda fonksiyon gören ilk sistemdir. Gelişiminin başlangıç aşamalarında besin gereksinimini diffüzyonla sağlayabilen embriyo, kısa sürede hızla büyümesi nedeniyle oksijen ve besin gereksinimini karşılayacak ve artık ürünleri uzaklaştırabilecek bir sisteme ihtiyaç duyar. Kalp hücrelerini oluşturacak olan hücreler primitif çizgi'nin lateralindeki epiblast'da yer alırlar, buradan primitif çizgi boyunca göç ederler. İlk göç eden hücreler kalb'in kranial segmentlerini yani çıkış akım kanalı'nı oluşturacak olan hücrelerdir. Bunu izleyerek kalb'in daha kaudal parçalarını sağ ve sol ventrikül ve sinus venozus gibi bölümlerini yapacak olan hücreler göç ederler. Kalp damar sistemi embriyoda 3. haftanın sonuna doğru gelişir ve kalp gelişimin 4. haftasının başında atmaya başlar. Gelişimin 7 – 8. haftalarında embriyonun ortalama kalp atım hızı 140 – 160 atış/dak'dır. Prenatal tanı yöntemlerinde 120 atış/dak'nın altı fetal kayıp olarak tanımlanır.^{7, 8, 11, 28}

Kalp gelişimi yapısal olarak iyi açıklanmasına karşın moleküler mekanizma hakkında çok az bilgi vardır. Kalp gelişiminin moleküler düzeni incelendiğinde, kranial endoderm'den çıkan sinyallerin NKX25 transkripsiyon faktörüyle, kranial endoderm üzerinde bulunan splanknik mezoderm'de kalb'in yapılacağı bir bölge oluşturduğu belirlenmiştir. Endoderm'den çıkan bu sinyallerin başlaması için kemik morfogenetik proteinleri BMP 2 ve 4'ün ve WNT gen baskılayıcılarının salgılanmasına gereksinim vardır. WNT gen baskılayıcıları endoderm ve lateral plak mezoderm'inden salgılanır. BMP 2, 4 ve WNT gen baskılayıcıları birlikte kardiyojenik alan'ı özelleştiren NKX25 ekspresyonunu başlatırlar ve daha sonra bölmeleme ve iletim sisteminin gelişiminde yer

alirlar. Kalb'in gelişimi sırasında, retinoik asit ve n rogulin signal iletiminde önemli rol oynarlar. Vasküler endotelial büyüme faktörleri de signal üreten ve ileten moleküller içerirler. 7, 18, 29

2.1.1. İlkel Kalp Tüpü'n n Oluşumu ve Durumu:

Kalb'in gelişimi yaklaşık 19. günde başlar. Mezodem'de kan adacıkları oluşur. Bunlardan kan hücreleri ve kan damarları gelişir. Kan damarları kısa sürede birbirleriyle birleşerek damar ağlarını oluştururlar.

Embriyonik diskin nöral katmanının kranial ve lateralinde yerleşmiş at nalı biçimindeki splanknik mezoderm bölgesine kardiyojenik bölge denir. Bu alan üzerindeki intra embriyonik boşluk daha sonra perikardiyal boşluğu yapacaktır. Gelişimin 19. gününde kardiyojenik bölgede bir çift vasküler yapı olan endokardiyal kalp tüpleri gelişmeye başlar. 20. günde embriyonun lateral yönde katlanması gerçekleştikçe, bu iki kalp tüpü birbirlerine yaklaşır ve tek bir t p olan ilkel kalp tüpü'n  oluşturacak şekilde birleşir. Endokardiyal tüplerin birleşmesi; kranial uçtan başlar ve kaudale doğru sürer. Fare ve tavuk embriyolarında yapılan moleküler çalışmalar sonucunda kalp tüpü'n n oluşumu ve daha sonraki kalp gelişim aşamalarında 2 adet 6HLH genlerinin; dHAND ve eHAND 'nın varlığı gösterilmiştir. Ayrıca kalp tüpleri oluşmadan önce kardiyojenik alan'ı oluşturacak olan  nc  hücrelerde ortaya çıkan Murine MEF2c geninin erken kalp gelişiminde düzenleyici olarak gerekli olduğu bulunmuştur. MEF2c ve dHAND genlerinde yapılan heterozigot mutasyonlar sonucu sağ ventrikül oluşumu gerçekleşmemiştir, eHAND genindeki mutasyon sonucu ise extraembriyonik mezoderm oluşumunun engellendiği g r lm ştir. 7, 8, 11, 30

Embriyo, lateral katlanması ile aynı anda, sefalik yönde de katlanır. Sefalik katlanma ile ilkel kalp tüpü torasik bölgeye yerleşir ve sonuçta orofaringeal membran'ın kaudalinde ve ön bağırsağın ventralinde yer alır. Kalp uzayıp, büküldükçe perikardiyal boşluğun yanına doğru sokulur. İlk olarak dorsal mezokardiyum denilen bir mezenter ile arka duvara tutunur, daha sonra dorsal mezokardiyum'un orta kısmının dejenere olmasıyla perikardiyal boşluğun sağ ve sol kenarları arasında bir bağlantı oluşur.^{7, 8, 11}

Dolaşım ilkel kalp tüpü'nün dorsal aorta ile kaynaşması sonucu başlar. İlkel kalp tüpü dorsal aorta ile 1. aortik arkus aracılığı ile bağlanır. Kalb'in ilk kasılmaları miyojenik kökenlidir.⁸

Başlangıçta sadece endotel'den oluşan ilkel kalp tüpü gelişimin 22. gününde kalın bir splanknik mezoderm katmanının kalp tüpü'nü sarması ile iki kat halini alır. Yeni şekillenen bu katman miyokardiyum'dur ve kalb'in kas katını oluşturur. Yeni şekillenen bir diğer katman da kardiyak jel'dir. Kalın, hücresiz bir matriks olan kardiyak jel katmanı geliştirmekte olan miyokardiyum hücrelerince salgılanır ve hiyaluronik asitten zengindir. Bu hücre dışı matriks miyokardiyum'u, endokardiyal tüp'den ayırır. Epikardiyum (visseral perikardiyum) ise sinus venozus ve septum transversum bölgelerinden kalb'in dış yüzeyine doğru göç eden mezoteliyal hücrelerce oluşturulur. Mezotel hücreleri de splanknik mezoderm'den köken alırlar. Bu göçün tamamlanmasıyla kalp tüpü kalb'in iç yüzünü döşeyen endokard, kas yapılı duvarı oluşturan miyokard ve tüpün dışını döşeyen epikard ya da visseral perikard'dan oluşan 3 kat halini alır.^{7, 8, 11}

2.1.2. Kalp Halkası'nın Oluşumu:

Gelişimin 21. gününde uzamayı sürdüren ilkel kalp tüpü'nde bazı daralmalar ve genişlemeler oluşur. Gelişimin ilerleyen aşamalarında bu genişleme bölgeleri kalp odacıklarını yaparken daralma bölgeleri de olukları oluşturur. ^{7, 8, 11}

İlkel kalp tüpü'nün en alt ucunda oluşan genişleme sinüs venozus'dur. Sinüs venozus yan genişlemeler yaparak sağ ve sol sinus boynuzlarını oluşturur. Bunlara her iki yandan umblikal, vitellin ve kardinal venler ile taşınan kan boşalır. ^{7, 8, 11}

Sinüs venozus'un kraniyalinde ilkel atriyum ve ventrikül olarak adlandırılan iki genişleme yer alır. Bu yapılar atriyovenriküler oluk ile birbirlerinden ayrılmışlardır. Gelişimin ileri evrelerinde ilkel atriyum sağ ve sol atriyum'un bir kısmını biçimlendirirken ilkel ventrikül de sol ventrikül'ün büyük kısmını oluşturur. ^{7, 8, 11}

Ventrikül'den sonraki genişlemeye bulbus kordis denir. Bulbus kordis ile ilkel ventrikül arasında bulboventriküler sulkus bulunur. İleride sağ ventrikül'ün büyük kısmını oluşturacağı için Bulbus kordis'in alt kısmı bulboventriküler sulkus yada interventriküler sulkus olarak da adlandırılır. ^{7, 8, 11}

Bulbus kordisin üst ucundaki genişleme ise trunkus kanalis'dir. İlkel kalp tüpü'nün bu bölgesi sağ ve sol ventriküllerin kanlarını boşalttıkları konus kordis ve trunkus arteriozus'dan oluşur. Gelişimin ileri evrelerinde konus kordisin sağ duvarı sağ ventrikül'ün yapısına, sol duvarı ise sol ventrikül'ün yapısına katılır. Trunkus arteriozus ise çıkan aortayı ve

pulmoner traktus'u oluşturmak üzere ikiye bölünür, kranialde aort yaylarının çıktığı aortik kese ile devam eder. ^{7, 8, 11}

Kalp tüpü uzamayı sürdürür ve 23. günde bükölmeye başlar. Tüpün sefalik parçası ventrale, kaudale ve sağa doğru bükölürken, kaudaldeki atriyal parça dorsokraniale ve sola doğru yer değiştirir. Yaklaşık 28. günde tamamlanan bu hareket sonunda ilkel kalp tüpü'nü oluşturan genişleme bölgeleri yer değiştirirler ve ileride yapısına katılacakları kalp bölümlerinin anatomik yerleşimlerine otururlar. İleri evrelerde sağ ventriköl'ün yapısına katılacak olan bulbus kordis inferiyorda, önde ve sağda yerleşir. Sol ventrikölü oluşturacak olan ilkel ventriköl ise sola kayar. Atriyum'ların oluşumunda rol oynayacak olan ilkel atriyum da arkaya ve süperiyora yerleşir. Bu aşamada kalp tüpü'nün sağa doğru değil de sola doğru katlanması *dextrokardi* (sağ tarafta yerleşik kalp) gelişimine neden olur. Kalp tüpü'nün içi endotel, dışı miyokard ile örtölüdür. Miyokard zamanla kalınlaşır. Sinüs venozus bölgesindeki mezotelial hücreler epikardiumu oluşturmak için kalb'in üzerine göç ederek kalp tüpünün endokard, miyokard ve epikard'dan oluşan 3 katlı yapısını oluşturur. ^{7, 8, 11}

Yapılan çalışmalarda SCx/NKX25 geninin, kalp halkasının oluşumuyla yükömlü olan gen olduğu bulunmuştur. Gen üzerinde yapılan heterozigot mutasyonlar sonucu, genin exprese olamaması ile öölömcöl konjenital defektlerin ortaya çıktığı saptanmıştır. ²⁹

2.1.3. Sinüs Venozus'un Gelişimi:

Sinüs venozus başlangıçta ilkel atriyum'un dorsal duvarının merkezine açılır ve büyüklükleri birbirine eşit olan sağ ve sol boynuzlardan

oluşur. Ancak, sağ ve sol boynuzlara kan taşıyan umblikal, vitellin (omfalomezenterik) ve kardinal venlerde embriyonik gelişim sırasında oluşan değişiklikler sonucunda, 4. haftanın sonunda sağ boynuz sola karşın önemli derece büyür. Sağ ve sol boynuzlara kan taşıyan venlerden umblikal ven, plasenta'nın embriyonik kısmı olan kordondan oksijenden zengin kanı embriyoya getirirken, vitellin ven kanı vitellus kesesinden embriyoya taşır. Kardinal ven ise embriyo gövdesinden kanı getirir.^{7, 8}

Sağ boynuz'un büyümesi ile sino atriyal açıklık sağa doğru kayar ve ilkel atriyum'un ileride sağ atriyum'u oluşturacak kısmına açılır. Sol sinüs boynuzu ise, büyümesindeki durma sonucu kalb'in arka duvarında küçük venöz bir keseye dönüşür ve koroner sinüs ile sol atriyum'un küçük oblik venini oluşturur.^{7, 8, 11}

Sinus venosuz'un sağ boynuzunun düzenli olarak genişlemesi soldan sağa iki kan akımı sonucu olur. Bunlar; İlk kan akımı; vitellin ve umblikal ven'lerin transformasyonundan oluşur. İkinci kan akımı; vena cardinalis anterior damarlarının bir oblik anastomoz ile bağlandığı zaman oluşur.⁸

Kalp hızla büyümeyi sürdürürken, sağ sinüs boynuzu büyüme hızına ayak uydurmak için genişler. Bu genişleme sonucu, sağ sinüs boynuzu sağ atriyum'un duvarına katılarak, atriyum'un sinüs venarum olarak isimlendirilen kısmını oluşturur. Gelişimin bu aşamasında sinüs venozus'un sağ atriyum'un duvarına tam olarak katılmaması yada septum sekundum'un defektif gelişmesi atriyumlar arasındaki septum'un üst düzeylerinde, süperior vena kava'nın atriyum'a açılma bölgesinde yerleşen bir atriyal septal defekt (ASD) gelişimine neden olur. Bu tip atriyal septal defekt'e sinüs venozus tipi ASD denilir. İlkel atriyumdan köken alan ve ventrale inen sağ atriyum bölümü ise aurikula'yı oluşturur. Sinüs

venarum düz bir yapıya sahipken, aurikula'nın yapısı trabeküllüdür. Bu iki bölüm içten krista terminalis ile dıştan ise sulkus terminalis ile birbirinden ayrılır. ^{7, 8, 11}

2.1.4. Pulmoner Venler'in Gelişimi:

Sağ atriyum 4 - 5. haftalarda yeniden şekillenirken, sol atriyumda da yeniden şekillenmeye yönelik olaylar gelişir. İlkel sağ atrium sağ sinüs boynuzu'nun katılımıyla genişlerken, sol atrium'da benzer şekilde genişlemeyi sürdürür. 4. haftanın başlarında ilkel atriyum'un arka duvarından dışa büyüme şeklinde tek bir pulmoner ven gelişmeye başlar. Kısa süre sonra sağ ve sol dallara ayrılan pulmoner ven'in bir kez daha dallanması sonucunda 4 adet pulmoner ven oluşur. Akciğerlere doğru büyüyen bu damarlar burada gelişmekte olan venlerle ağızlaşırlar. ^{7, 8, 11}

Sol atrium genişlemeyi sürdürür, bu süre içinde pulmoner venler de genişler. Genişleyen pulmoner venler gelişimin 5. haftasında atriyum'un duvarına katılır. Sonuç olarak atriyum'un bu kısmında önce 2 pulmoner ven bulunurken, duvara katılma ilerledikçe pulmoner venler'in 4'ü de atriyum'a ağızlaşır. Yapıya katılan kısımlar sol atriyum'un düzgün kısmını yaparken, ilkel atriyum'dan kaynaklanan trabeküllü kısım da ventrale ve sola yerleşerek sol aurikula'yı oluşturur. ^{7, 8, 11}

2.1.5. Atriyoventriküler Kanal'ın İkiye Ayrılması:

Dördüncü haftanın sonlarına doğru atriyoventriküler kanal bölgesinde kalp tüpü'nün dorsal ve ventral duvarlarında endokardiyal yastıklar gelişir. Beşinci haftadan sonra bu yastıklar mezenşimal hücrelerce sarılarak birbirlerine doğru büyürler ve zamanla birleşirler. Bu birleşme sonucunda oluşan septum intermediyum, atriyoventriküler kanal'ı

sağ ve sol atriyoventriküler kanallara ayırır ancak bu ayırım lümeni tam olarak ikiye bölemez arada dar bir kanal kalır. Bu kanal daha sonra komşu hücrelerin çoğalmasıyla ikincil olarak kapanır. Bu iki endokardiyal yastığın normal şekilde büyüyüp birleşememesi atriyoventriküler septal defektin (endokardiyal yastık defekti) gelişmesine neden olur. ^{7, 8, 11}

2.1.6. İlkel Atriyum'un Sağ Ve Sol Atriyum'lara Bölünmesi:

İlkel atriyum iki farklı septumun oluşması ve farklılaşması ile sağ ve sol olarak ikiye bölünür. Bu septumların ilki septum primum'dur. Septum Primum ince, alt ucu yarım ay şeklinde olan membranöz bir yapıdır, embriyonik gelişimin yaklaşık 28. gününde, 4. haftanın sonunda ortak atriyum'un çatısının kraniyodorsal duvarından gelişmeye başlar ve aşağıya endokardiyal yastıklara doğru büyür. ^{7, 8, 11}

Septum primum aşağı doğru büyümesini sürdürürken, endokardiyum'da, atriyoventriküler kanal düzeyinde, bir çift endokardiyal kalınlaşma oluşur. Ön ve arka endokardiyal yastıklar olarak adlandırılan bu yapılar, birbirlerine yaklaşırlar ve orta hatta birleşerek septum intermediyum'u oluştururlar ve ortak atrium'u kısmen sağ ve sol olarak ikiye ayırırlar. Septum intermediyum ile septum primum arasında kalan açıklığa da ostium primum (foramen primum) denir. Gelişimin daha ileri dönemlerinde, superior ve inferior endokardiyal yastıkların uzantılarının ve septum primum'un büyümesini sürdürmesiyle ostium primum'un kapanır. Septum primum, septum intermediyum ile birleşemez ise ostium primum tipi ASD gelişir. Bu birleşememenin nedeni sıklıkla ön ve arka endokardiyal yastıkların normal şekilde gelişip birleşmemesi (endokardiyal yastık defekti) ve bunun sonucunda da septum intermediyum'un defektif oluşmasıdır. ^{7, 8, 11}

Ostium primum tam olarak kapanmadan önce, septum primum'un üst ucunda delikler oluşur ve bunlar birleşerek yeni bir ostium'u, ostium sekundum'u (foramen sekundum) oluştururlar. Böylece sağ atriyum ile sol atriyum arasındaki bağlantı kesilmez, önce çok sayıdaki küçük delikler yoluyla daha sonra da ostium sekundum ile sürer. ^{7, 8, 11}

İlkel atriyum'un sağ ve sol atriyumlara bölünmesinde rol oynayan ikinci bölme septum sekundum'dur. Septum primum'un hemen sağından, atriyum'un ventrokranial duvarından gelişmeye başlayan septum sekundum, septum primum'a oranla çok daha kaslı bir yapıdır. Açıklığı yarım ay biçiminde olan septum sekundum da aynı septum primum gibi aşağıya doğru büyür ve ostium sekundum'u örter (septum sekundumun aşağı doğru büyümesinin, ostium sekundum tamamen örtülmeden durması ostium sekundum tipi ASD ile sonuçlanır). Septum primumun aksine, atriyoventriküler kanal düzeyinde gelişen septum intermediyum ile birleşmez. Septum sekundum ile septum intermediyum arasında kalan açıklığa foramen ovale denir. ^{7, 8, 11}

2.1.7. Sağ Ve Sol Ventrikül'lerin Septum İle Bölmelenmesi:

Atriyoventriküler kanal kalb'in katlanması ve kıvrılması bittikten sonra sağ ve sol ventrikül'lerin bölünmesinin başlamaması nedeniyle halen normal konumuna yerleşmemiştir. 4. haftanın sonunda atriyoventriküler kanal'ın süperior ve inferior sınırlarında iki adet mezenşimal kabarıklık halinde, atriyoventriküler endokardiyal yastıklar belirir. Üst ve alt endokardiyal yastıklar lümene doğru gelişmeyi sürdürürken, kanalın sağ ve sol sınırlarında lateral atriyoventriküler yastık adı verilen iki yastık daha oluşur. Gelişimin ilerleyen evrelerinde atriyoventriküler kanal sağa doğru yer değiştirir. Atriyoventriküler kanal'ın bu sağa hareketinin en önemli sonucu; ileride pulmoner traktus'u ve

aortayı oluşturacak olan trunkus arteriozus'un sol ventrikülle de ağızlaşmasıdır. Bu gelişme sırasında konus kordisin sağı duvarı sağı ventrikülün yapısına, sol duvarı ise sol ventrikül'ün yapısına katılır. Aynı anda ön ve arka endokardiyal yastıkların birleşmesi ile atriyoventriküler kanal sağı ve sol atriyoventriküler kanallara ayrılır. Bu sırada endokardiyal yastıklar atriyoventriküler kapaklar gibi işlev gösterir. ^{7, 8, 11}

Dördüncü haftanın sonunda iki ilkel ventrikül gelişmeye ve genişlemeye başlarlar. Genişleyen ventrikül'lerin iç duvarları karşı karşıya gelir ve birleşerek müsküler interventriküler septum'u oluştururlar. İlkel ventrikül'ün bölünmesi, ventrikül'ün apeksinde kalın, müsküler bir katlantının oluşması ile başlar. Yarım ay biçimli bu katlantı septum intermediyum'a doğru büyür ancak bu iki septum gelişimin 7. haftasının sonlarına kadar birleşmezler. Interventriküler foramen ile birbirlerinden ayrılırlar. Interventriküler septum'un müsküler kısmının üstünde bulunan interventriküler foramen'in boyutları septumun tamamlanmasıyla küçülür. Gelişimin ilerleyen evrelerinde interventriküler foramen müsküler interventriküler septum'un üst kısmı boyunca yer alan inferior endokardiyal yastıklardan taşan mezenşimal hücrelerin oluşturduğı doku tarafından kapatılır. Bu foramenin varlığı ve birleşmenin zamanlaması oldukça kritiktir. Kapanma sol ventrikül ile trunkus arteriozus arasındaki ağızlaşma oluşmadan gerçekteşir ise bu iki yapının birbirleri ile olan ilişkisi kesilir. Interventriküler septum'un membranöz kısmının gelişiminin defektif olması nedeniyle interventriküler foramen'in tam olarak kapanmaması sonucunda oluşan konjenital kalp malformasyonuna membranöz tip ventriküler septal defekt (VDS) denir. ^{7, 8, 11}

2.1.8. Trunkus Arteriozus'un Bölünmesi:

Gelişimin 5. haftasında, bulbus kordis'in duvarındaki hücrelerin aktif olarak çoğalması sonucu karşı karşıya duran bir çift tümsek belirir. Eşdeğer yapılar trunkus arteriozus'da da oluşur ve bulbar çıkıntılar ile devam ederler. Bulbar ve trunkal çıkıntılar 180 derece dönen spiral biçimindedirler. Bu yapıların birleşmesi ile oluşan aortikopulmoner septum da spiral şeklindedir ve birleşme tamamlandığında trunkus arteriozus'u, aorta ve pulmoner traktus'u oluşturacak biçimde ikiye böler. Aortikopulmoner septum'un spiral şekli nedeniyle pulmoner traktus çıkan aorta çevresinde döner. Trunkal çıkıntıların ya da aortikopulmoner septum'un gelişmemesi sonucunda trunkus arteriozus'un aorta ve pulmoner traktus'a bölünmemesine kalıcı trunkus arteriozus denir. Aortikopulmoner septum'un oluşumunda sadece bir bölgede yerleşik olarak oluşan defekt ise aortikopulmoner septal defekt adını alır. ^{7, 8, 11}

2.1.9. Kalp Kapakları'nın Gelişimi:

Trunkus'un bölünmesinin tamamlanmasına yakın yarım ay (semilunar) kapakların öncüleri aorta ve pulmoner traktus'un ağızlarında beliren subendokardiyal doku yapısındaki şişkinliklerden gelişmeye başlar. Önceleri iki çift olan kapaklar pulmoner ve aortik kanallar için oluşturulmuştur. Daha sonra birleşen trunkus şişkinliklerinin karşısında, her iki kanalda da üçüncü bir şişkinlik belirir. Zamanla bu şişkinliklerin üst yüzeyleri oyularak yeniden şekillenmesi ile 3 adet küspit kapak oluşur. Atriyoventriküler kapaklar da, benzer biçimde, atriyoventriküler kanalların çevresinde oluşan yerel doku çoğalması ve bu dokuların yeniden şekillenmesi ile oluşurlar. ^{7, 8, 11}

2.1.10. Kalb'in Uyarı İleti Sisteminin Gelişimi:

Başlangıçta atrium ve ventrikül'ün kas katmanları devamlıdır. Sol kalp tüpü'nün kaudalinde yer alan İlkel atrium, kalb'in uyarı ileti merkezi olarak hareket eder. Bunu izleyerek bu işlevi sinus venozus üstlenir. Sinoatriyal düğüm, 5. haftada sinus venozus'un sağ atrium'a katılmasıyla oluşur. Uyarı ileti merkezi dokusu vena kava süperior ağzının hemen yanına yerleşmiştir. Atriyoventriküler düğüm ve his demeti iki kaynaktan gelişir. Bunlar sinüs venozus'un sol duvarındaki hücreler ve atriyoventriküler kanal hücreleridir. Atriyoventriküler düğüm endokardiyal yastıkların hemen üstünde yer alır. Sinoatriyal ve atriyoventriküler düğüm sinir sonlanmalarından zengindir. Ancak bu sinirler, kalb'e girmeden önce kalb'in ileti sistemi iyice gelişir. Özelleşmiş bu ileti yolu sadece atriuml'ardan ventrikül'lere doğrudur.^{7, 8}

2.2. Kalb'in Anatomisi

Kalp, göğüs boşluğunda mediastinum'da yer alır. Basis cordis denilen tabanı yukarıda, apex cordis denilen tepesi ise aşağıda bulunur. Kalp (kor) dört boşluktan oluşur. Üst taraftaki iki boşluğa atrium'lar denir. Bunlardan sağda olanına atrium dextrum (sağ atrium), ve solda olanına atrium sinistrum (sol atrium) ismi verilir. Alttaki iki boşluk ise ventrikül'lerdir (ventriculus). Sağdaki ventriküle ventriculus dexter (sağ ventrikül), soldakine ventriculus sinister (sol ventrikül) adı verilir. Atriumlar arasındaki bölmeye septum interatriyale yada atriyal septum; ventriküller arasındaki bölmeye de septum interventriculare yani ventriküler septum denir. Atriumlar ile ventriküller arasında da bölme bulunur. Buna da septum interatrioventriculare, atriyoventriküler septum denir. Sağ ve sol atrium'lar ile ventrikül'ler arasında kapakcıklar (valvulae) bulunur. Sağ atrium ile sağ ventrikül arasındaki kapakcığa valva atrioventricularis dextra

(valva tricuspidalis) denir. Sol atrium ile sol ventrikül arasındaki kapakcık ise valva atrioventricularis sinistra (valva mitralis) adını alır. Sağ atrium kalb'e gelen venöz kanı, sağ ventriküll'ere geçirir. Sağ ventrikül gelen venöz kanı pompalayarak akciğerlere a. pulmonalis dexra ile gönderir. Akciğerlerde oksijenden zenginleştirilen kan, venae pulmonales'lerle sol atriuma gelir. Buradan sol ventriküle geçen kan ise aorta ile tüm vücuda gönderilir. Ventrikül duvarında bulunan kas pompalama işlevi görür. Kalb'in boşluklarındaki kasın kasılması düzenli bir sıra ile gerçekleşir. Önce atrium kasılır, bu olaya atriyal sistol denir. Daha sonra ventrikül'ler kasılır, ventriküler sistol gerçekleşir. Gevşeme yani diastol ventriküler kasılmayı izler ve dört boşluk birden gevşer. Sağ atrium oksijenden yoksundur, CO₂'den zengindir buna "venöz kan", sol atrium ve ventriküldeki kan oksijenden zengindir bunada "arteriyel kan" denir. Ventrikül'lerden atrium'lara kanın geri dönüşümünü aradaki kapakçıklar önler.

Mitral kapak, sol atrium'u sol ventrikül'e bağlayan ve tek yönlü akımın oluşmasını sağlayan bir sistemdir.

Triküspit kapak ise sağ atrium ile sağ ventrikül arasındaki sistemdir. Kanın sağ atrium'dan, sağ ventrikül'e geçmesini sağlayan delik "*ostium atrioventrikulare dextrum*," yaklaşık 3 parmak sığabilecek kadar genişliktedir. Kapak 3 parçadan yapılmıştır: cuspis anterior, cuspis posteior, cuspis deptalis. Her bir parça üçgen şeklindedir. Bu nedenle kapağa triküspit kapak adı verilmiştir.

Sağ ventrikülden çıkan a. pulmonalis'in çıkış yerinde pulmonal kapak (valva trunci pulmonalis) bulunur. Bu, yarım ay şeklinde üç parçadan oluşur: valvula semilunaris dexra, valvula semilunaris sinistra, valvula semilunaris anterior. Sol ventrikülden çıkan aorta ağzında da

valva aortae denilen kapak görülür. Bu da yarım ay şeklinde üç kapakçıktan oluşur: valvula semilunaris dextra, valvula semilunaris sinistra ve valvula semilunaris posterior. Aorta kapağı darlıkları da çocukluk yaşlarında doğumsal, genç ve erişkin çağda romatizmal, ileri yaşlarda da kalsifik – dejeneratif tip hastalıklar sık görülür.

Arterler kalpten çıkan ve vücuda arteryal kan götüren damarlardır. Kanı kalb'den alırlar ve organlara götürürler. Kalp'ten iki ana atar damar çıkar: Aorta ve arteria pulmonalis. Aorta sol ventrikülden çıkar ve oksijence zengin kanı tüm vücut dokularına dağıtan arter sisteminin ana damarıdır. Pulmoner arter ise sağ ventrikülden çıkar ve oksijenden yoksun olan CO₂'den zengin venöz kanı oksijenlenmesi için akciğerlere götüren sistemin esas damarıdır. ^{2, 31, 32, 33}

Kalb'e venöz kanı iki ana toplardamar getirir: V. cava superior ve v. cava inferior. Bu iki büyük ven sağ atrium'a açılır. Vena cava superior, venöz kanı baş ve kalb'in üst kısmından toplar, vena cava inferior ise venöz kanı bacaklardan ve kalb'in alt kısmından toplamaktadır. Vena pulmonalisler (venae pulmonales) akciğerlerde oksijenden zenginleşen arteryel kanı sol atrium'a getirirler. Bu verilerden kalb'in ikili bir pompa şeklinde çalıştığı anlaşılmaktadır. Sağ ventrikül venöz kanı akciğerlere, sol ventrikül ise oksijence zengin arteryal kanı tüm vücuda pompalamaktadır. Böylece organizmada her ikisi de kalb'den başlayıp kalb'de sonlanan iki dolaşım sistemi oluşmaktadır. Birincisine sistemik dolaşım ya da büyük dolaşım denir. Bunda kan kalb'in sol ventrikül'den çıktıktan sonra organizmayı dolaşır ve sağ atrium'a gelir. Diğer dolaşıma pulmoner ya da küçük dolaşım denir. Bunda kan sağ ventrikül'den çıktıktan sonra akciğerleri dolaşır ve sonra kalb'in sol atrium'una gelir. Bu iki dolaşımın dinamikleri açısından aralarındaki tek fark sistemik dolaşımın yüksek basınçlı, pulmoner dolaşımın düşük basınçlı olmasıdır. ^{2, 33}

Kalp, göğüs boşluğu içinde (cavithoracis) iki akciğer arasında mediastinum'da yerleşiktir. Çevresinde perikard (pericardium) denilen zarın paryetal yaprağının (laminaperietalis) yaptığı boşluk (cavitas pericardiaca) bulunur. Kalp, tepesi (apex cardis) aşağıda tabanı (basis condis) yukarıda bir koni gibidir. Üçte biri orta düzlemin sağında, üçte ikisi solundadır. Genelde göğüs kemiğinin (sternum) arkasında eğik durur. Eksenî, yukarıdan aşağıya, arkadan öne ve sağdan sola doğrudur. Yetişkin bir insan kalb'i yaklaşık olarak yumruk büyüklüğündedir. Taban tepe uzaklığı 12 cm, en geniş yerinde 8-9 cm, ön-arka çapı 6 cm'dir. Erkeklerde ağırlığı 280-340 g. kadında 230-280 g'dır. Ağırlık farkı mesleğe ve kişinin spor yapıp yapmamasına göre değişir.^{2, 34}

Kalp, kanın bütün vücudu dolaşmasını ve dokulara kan akımını sağlar, sürekli çalışır. Yaklaşık bir yumruk büyüklüğünde olan bu organ, günde ortalama altı bin litre kan pompalamakta ve gerektiğinde bu miktarı büyük ölçüde artırabilmektedir. Tüm yaşam boyunca sürekli bir şekilde atmakta, ve dakikada ortalama yetmiş, seksen kez yada günde on bin kez kasılmaktadır. Kalb'in zayıf hareketi, zayıf kan akımına yol açar ve bu da, vücudun yaşamsal organlarının işlevlerinin bozulmasına neden olmaktadır. Kalb'i besleyen arterlere koroner arterler denir. İki ana koroner arter bulunmaktadır. Bunlar sağ ve sol ana koroner arterlerdir. A. Coronaria dextra, a. Coronaria sinistra. İki ana koroner arter aorta ascendens'ten çıkar. Ana koroner arterler geniş çaplı damarlardır. Aortadan çıkan ilk dallardır. Kalb'in yüzeyinde uzanırlar ve, bunlar, daha küçük dallara ve kapillerlere ayrılarak kalb'in içerlerine sokulurlar. Kalp bu şekilde beslenir. Çapça büyük damarlarda tıkanma olduğunda beslenme durur ve ölüm olur.^{34, 35, 57}

2.3. Kalb'in Fizyolojisi

Kalp kası, hücreleri (kalp kası lifleri: KKL) aktin - miyozin filamanlarının düzeniyle tipik iskelet kası özellikleri içerirler. Kalp kasının çizgilenme yapısı iskelet kasındakilere eşdeştir bulunur. Kalp kasın hücreleri bol miktarda uzun mitokondriyon'lar içerir. Bunlar kalp kası filamanları ile yakın ilişkidir. KKL dallanmış ve birbirlerine iç içe kenetlenmiş olsalar da liflerin her biri hücre zarı ile sarılı tam bir birimdir. KKL'nin bir ucu, bir diğerine bağlandığında, her iki lifin zarları, çok geniş katlanma dizileri ile birbirlerine koşut yerleşir. Bu yerleşim daima Z çizgileri düzeyinde görülür. Bu alanlara interkalat diskler denir. İnterkalat disk'ler hücre hücre ilişkisini sürdürerek lifler arasında güçlü bir bağlantı sağlarlar, böylelikle bir kasılma biriminin çekilmesi, eksen boyunca bir diğer life aktarılabilir. Komşu liflerin hücre zarları, KKL'nin disklerin her iki yanında kalan yan yüzleri boyunca oldukça uzun bir aralığa değin kaynaşarak, nekzus'ları oluşturur. Nekzus'lar uyarımın bir kas lifinden diğerine yayılması için düşük dirençli köprüler oluşturur. Ayrıca bu bölmeler, hücreler arasında protoplazmik köprülerin bulunmamasına karşın, kalp kasının bir ağ sistemi gibi işlev görmesini sağlar. Kalp kasında T tübül sistemi, memeli iskelet kasında olduğu gibi A-I kavşağı yerine Z çizgileri düzeyinde yerleşiktir. T tübül sistemi hücre dışı sıvının miyokard hücresinin ortasına değin uzanmasını sağlayan ve sarkolemma'nın (hücre zarı) devamı olan borucuk şeklindeki yapılardan oluşur. KKL'leri çizgilenme özellikleri, çekirdeklerinin hücre ortasında yerleşimi ve fizyolojik fonksiyonlarıyla (tüm kas hücrelerinin birlikte kasılma nedeniyle) düz kas özelliği de gösterirler. Diğer kas hücre türlerinden ayrıcalı olarak, kalp kası hücreleri membranları aracılığı ile birbirlerine kaynaşarak sinsitium denilen bir ağ sistemi oluşturmuşlardır. Kalp kası lifleri arasındaki bağlantılar, hücreleri birbirlerine sıkıca bağlanmaları yanısıra, uyarımın hücreden hücreye kolay ve hızlı bir şekilde yayılarak sinsitium yapmış hücrelerin topluca kasılmalarını (hep ya da hiç ilkesi) sağlamaktadır.

Sitoplâzma'dan zengin ve uyarılar karşısında hızlı kasılma yetisine sahip olmanın yanısıra, kalp kasının yapısı sürekli ve ritmik olarak çalışmasına uygundur. Kalp kası yeterince gerilebilirse, daha çok kasılabilir. Bu aktin-miyozin çapraz köprülerinin birbiri üzerine kayma oranının en üst düzeyde olması ile olasıdır. Bu özellik iskelet kasındakilere benzer.^{10, 34}

Kalp kası uyarılması için sinirsel uyarıma gereksinimi olmayan, kendi uyarılarını kendisi oluşturabilme erkinde bir kastır ancak çalışma düzenini sempatik ve parasempatik sinirlerin oluşturduğu otonom sinir sistemi ayarlar. Otonom sinir sistemi sempatik ve parasempatik sinir sistemi olarak ikiye ayrılır. Sempatik erkler arasında; heyecan, stres, hiddet gibi psikolojik seçenekler bulunur. Parasempatik yetiler arasında ise; sevinme, şaşırma, dinlenme ve dinginlik sayılabilir. Parasempatik lifler, asetilkolin aracılığıyla kalp hızı, kan basıncı, kardiyak debi ve periferik damar direncinde azalmaya neden olurlar. Sempatik lifler ise beta adrenerjik etki ile bronşiyal düz kaslarda gevşeme ve kalp atım hızında artışa yol açarlar. Kalb'e parasempatik uyarıyı getiren sinir nervus vagus'tur.^{19, 36}

Kalp kasında uyarıların başlatıldığı ve iletiildiği özel bir sistem vardır. Bu sisteme kalb'in uyarı ve ileti sistemi denilmektedir. Kas hücrelerinin özelleşmesi ile oluşan bu yapılar; Sinoatriyal düğüm (SA), atrioventriküler düğüm (AV), his demeti, his demetinin sağ-sol dalı ile Purkinje hücre sistemi'dir. SA ve AV düğüm sağ atrium'da bulunur. His demeti AV düğümüne bağlıdır ve ventriküller arası bölmede sağ ve sol dallara ayrılır. His demetinin dalları da ventrikül'ler içine girip Purkinje sistemi ile ilişki kurar. SA düğüm dakikada 70-80, AV düğüm 40-60, his demeti ve Purkinje lifleri daha düşük hızlarda, kendiliğinden uyarı oluşturma yetisindedir. Kalb'in normal çalışmasında uyarıların çıktığı yer SA düğüm'dür. Bu nedenle SA düğüm uyarı başlatan bölge olarak tanımlanır. Kalp, SA düğüm'ün denetimi altında çalışırken diğer yapılar

uyarı oluşturmazlar, yalnızca SA düğümün gönderdiği uyarıları kalp kasına iletme görevini yaparlar. AV düğüm ve diğer yapılar ancak SA düğüm çalışmadığı veya SA'dan çıkan uyarıların iletilememesi gibi anormal koşullarda, kalb'in durmasını engellemek için görevi üstlenip uyarı oluşturmaya başlarlar. SA düğüm'den çıkan bir aksiyon potansiyeli önce atrium'ların kasını uyarır sonra AV düğüm'e gelir. Uyarılar AV düğüm'ü geçerken hızı yavaşlar ve burada 0,1 saniyelik bir gecikmeye uğrar. Daha sonra uyarı his demeti'ne, his demetinin sağ ve sol dallarına geçerek sağ ve sol ventrikül kasındaki Purkinje sistemi'ne ulaşır. Uyarının atrium kasında yayılması sonucunda, atrium sistol (kasılması), ventrikül kasında yayılması sonucunda da ventrikül sistol'ü olur. Atrium'ların sistolü ile atrium'lar içlerindeki kanı ventrikül'lere, ventrikül sistol'ü ile de ventrikül'ler içindeki kan aorta ve arteria pulmonalis içine pompalanır. Uyarının kalpte yayılması sırasında, AV düğüm'deki 0,1 saniyelik gecikme, atrium'ların ventrikül'lerden önce kasılmasına ve içlerindeki tüm kanın, ventrikül'lerin kasılmalarından önce, ventriküllere aktarılmasına neden olur. SA düğüm'den çıkan her bir uyarı kalp kasında bir sistol'ü izleyen bir diyastol'e (gevşeme) neden olur. SA düğüm dakikada kaç uyarı çıkarıyorsa atrium'lar ve ventrikül'ler o kadar sayıda sistol yaparlar. Bir kalp atımı ventrikül'lerin sistol'üdür. Kalp blokları denilen klinik tablolar SA dan çıkan uyarının kalp kasında yayılması sırasında bir noktada engellenmesi yada normal hızından daha düşük hızlarda yayılması sonucu ortaya çıkmaktadır. ^{19, 37}

2.3.1. Aksiyon Potansiyeli:

Hücre zarının iç kısmının dışına oranla daha negatif olduğu dinlenme durumundaki bir hücre, herhangi bir uyaran ile uyarıldığında; zarın dinlenme potansiyeli, milisaniyeler içerisinde değişerek pozitif bir değere ulaşmaktadır. Zar potansiyelinde, içerisinin dışa oranla daha pozitif değer kazandığı bu duruma depolarizasyon adı verilmektedir. Ancak zar

potansiyeli bu durumda kalmaz, çok kısa bir süre içerisinde yeniden eski dinlenim potansiyeline geri döner. Zar potansiyelinin depolarizasyondan yeniden dinlenim potansiyeline geri dönüşü repolarizasyon olarak tanımlanmaktadır. Aksiyon potansiyeli, depolarizasyon ve repolarizasyondan oluşmaktadır. Aksiyon potansiyeli'nin depolarizasyon ve repolarizasyon evrelerinin oluşmasından yükümlü olan iyonlar; sodyum ve potasyumdur. Aksiyon potansiyeli oluşmasındaki iyonik olayların esası kısaca şu şekilde açıklanabilir:

Dinlenim potansiyeli, sodyum iyonunun aktif taşıma ile sürekli hücre dışına, potasyum iyonunun ise hücre içine taşınması sonucunda oluşmaktadır. K^{+} 'a olan geçirgenlikce belirlenen dinlenim zar potansiyeli, aslında K^{+} 'un denge potansiyeline yakındır. Aksiyon potansiyelinin oluşumu sırasında zarın sodyum ve potasyuma olan geçirgenliği aniden değişmektedir. İçeriyel akım, artı yükü hücre içine taşır ve zar potansiyelini depolarize eder. ⁵

Depolarizasyon evresinde zarın Na^{+} iyonlarına karşı geçirgenliği artmakta ve Na^{+} iyonları hızla hücre içine girerek zar potansiyelini pozitif bir değere ulaştırmaktadır. Repolarizasyon evresinde ise zarın K^{+} iyonlarına olan geçirgenliği artarak K^{+} iyonlarının hücre dışına çıkışı ile zar potansiyeli yeniden dinlenim potansiyeli değerine ulaştırılmaktadır. Repolarizasyon evresi ile zarın yalnızca elektriksel potansiyel değeri dinlenim durumuna erişmiştir, iyon dağılımı ise henüz terstir. Daha sonra aktif taşıma sistemi ile Na^{+} iyonlarının hücre dışına, K^{+} iyonlarının hücre içine taşınması ile gerek zar potansiyeli yönünden gerekse iyonik dağılım yönünde dinlenim durumuna geri dönüş şekillenir. Aksiyon potansiyeli'ni oluşturan tüm bu olaylar 5 aşamalı gelişir: ^{5, 38}

Faz 0: Voltaj-kapılı, Na^+ kanalları açıktır, Na^+ girişi artar ve depolarizasyon gerçekleşir.

Faz 1: Aksiyon potansiyeli en yüksek değeri olan +20 mV değerine ulaştığında voltaj-kapılıdır ve Na^+ kanalları kapanır. K^+ kanallarının açılması ile K^+ çıkışı artar.

Faz 2: Plato fazıdır, bu evrede hızla K^+ kanalları kapanır ve K^+ çıkışı azalır. Ca^{+2} kanallarının açılması ile Ca^{+2} geçirgenliği artar.

Faz 3: Plato fazıdır. Ca^{+2} kanallarının kapanması ve yavaşça K^+ kanallarının açılması ile sona erer.

Faz 4: K^+ 'un dışarı çıkması ile membran potansiyeli -90 mV düzeyine geri döner. ¹⁰

2.4. Kalb'in Histolojisi

Kalp kası dokusu enine çizgilenme gösteren, birbirine koşut düzenlenmiş, aynı zamanda esas life koşut yan dallanmalar yapan silindirik ve tek çekirdekli hücrelerden oluşur. ¹⁴

Kalp kası hücreleri (Myocytus cardiacus) yada kalp kası lifler, (KKL) 15 mikron çapında, 80 mikron uzunluğunda, ortada yerleşik tek çekirdekli hücrelerdir. Kalp kasını oluşturan kas hücreleri bazı yönleriyle iskelet, bazı özellikleriyle de düz kas hücrelerine benzerler. Kalp kası hücrelerinde miyofibriller enine çizgilenme ve bantlaşma gösterirler. Bu özellikleriyle iskelet kası hücrelerine benzerler, ancak kalp kası hücreleri, iskelet kası hücrelerinin aksine birbirleriyle bağlantısı olmayan bağımsız birimler oluşturmazlar. Kalp kası hücreleri dallanır ve bu dallar aracılığı ile

birbirleriyle bağlantı kurarak 3 boyutlu bir kas ağı oluştururlar. Kas hücrelerinin tek çekirdek içermeleri ve bu çekirdeklerin liflerin merkezine yerleşik olmasıyla da düz kaslara benzer^{14, 15, 22}

Kalp kası liflerinde sarkoplazmik retikulum azdır, ancak iskelet kası liflerinden daha fazla mitokondrion içerirler. Bunların bir bölümü çekirdeğin iki ucuna yakın olarak, diğer bölümü ise miyofibrillerin aralarına yerleşmişlerdir. Çekirdek iri, oval yada köşeli şekilde kas liflerinin ortasında izlenir. Sarkoplazma bol glikojen, lipit, miyogloblin, lipofuskin ve potasyum gibi inorganik elementler içerir. Kalp kası ağının aralarında, gevşek bağ dokusu içinde bol miktarda kan, lenf damarı ve sinirler bulunur.^{15, 22, 27}

Kalp kası lifleri hücre zarları dışında oldukça iyi gelişmiş bir bazal membran ile çevrelenmişlerdir. Miyofibriller ince ve kalın miyofilamanlardan yapılmış ancak iskelet kasında olduğu kadar kuvvetli gelişmemişlerdir. Miyofibriller yan dal anastomozları ile birbirlerine bağlanarak, ağ biçiminde düzenlenmiş tubuluslar sistemini oluştururlar. İskelet kası hücrelerinde T tubulus ve buna komşu gelen iki sarkoplazmik retikulum'un oluşturduğu triad yapısı gözlenirken, kalp kasında terminal sisternalar yaygın olmadığı ve düzenli yayılım göstermediği için diad yapısı bulunmaktadır. Kalp kası hücrelerinin birbirlerine bağlandıkları yerler, ışık mikroskobunda Z bantlarından daha kalın diskler halinde görünürler, Z bandı hizasına yerleşir ve lifin periferik kısmında sarkolemma ile devam ederler. Bu diskler interkalat diskler (Discus intercalatus) olarak isimlendirilir. Uç uca gelen kas lifleri pek ender olarak düz bir interkalat disk ile birbirlerine bağlanırlar. Bağlantı yerlerinden herbiri çoğunlukla merdiven basamakları görünümünde olan birkaç disk içerirler.

^{1, 15, 22, 23, 27}

Ritmik ve otomatik olarak çalışan kalp kası özel bir biçimde uyarılır. Uyarım üreten ve ileten özel bir sistemi vardır. Bu sistem de kalp kası liflerinden yapılmıştır, esas görevleri kalb'in kasılması için uyarı üretmek ve iletmektir. Yapıları kalb'in kasılmasında işlev alan hücrelerden biraz farklıdır. Bu lifler miyofibrillerden yoksun sarkoplazmadan zengin olan liflerdir. Miyofibriller liflerin kenarlarında bulunurlar. Bu liflerden bir kısmı kalb'in uyarım üreten merkezleri olan sinoatriyal ve atrioventriküler düğüm'leri oluştururlar. Bu merkezlerde bulunan kas lifleri KKL'den daha küçüktür. Merkezlerden çıkan ve gittikçe irileşen kas lifleri his demetleri'ni oluştururlar. Bu demetlerdeki kas lifleri kalp kası liflerine yaklaştıkça daha da irileşirler. Bunlara Purkinje lifleri denir. ^{15, 22}

Kalb'in duvar yapısı 3 katmandan oluşur. Bunlar içte endokardiyum, ortada miyokardiyum ve dışta perikardiyum'dur. ^{1, 24, 25}

Endokardiyum endotel, subendotel, miyoelastik ve subendokardial katmanlardan oluşmuştur. Endotel, kalb'in iç boşluklarını döşeyen tek katlı yassı epiteldir. Tek katlı epiteli oluşturan hücreler bir sıra halinde bazal membran üzerine oturmuş, ince yada alçak boylu poligonal hücrelerden oluşmuştur. Hücreler ince olduğundan çekirdekleri lümene doğru çıkıntı yapar. Tek katlı yassı epitel madde geçişine olanak verdiğinden hücre sitoplazmalarında bol miktarda vezikül bulunur. Endotel katman kandaki besinlerin tüm dokulara iletiminde ilk ve en önemli engel olduğundan biyolojik ve patolojik olarak önemlidir. Subendotel katman elastik ve kollajen liflerden oluşan az sayıda düz kas hücresi içeren bağ dokusudur. Kollajen lifler insan vücudunun kuru ağırlığının %30'unu oluşturur. Beyaz renkte gözlendiklerinden beyaz lifler olarak da adlandırılırlar. En çok izlenen tipleri tip I, II ve III'dür. Tip I, kemik , dentin, organ kapsülleri, dermis ve fibröz kıkırdakta yaygındır. Demetleşme gösterir. Kollajen tip II hiyalin ve elastik kıkırdakta çok ince fibriller oluşturur. Kollajen tip III, genellikle dokularda kollajen tip I ile birlikte

bulunur. Retiküler fibrillerin ana bileşenidir. Kollajen tipleri ile birlikte polimerize olabilir. Kollajen tip IV, bazal laminada izlenir. Bu tip kollajen, fibriller yada lifler oluşturmaz. Kollajen tip V, fetal membranlarda, kan damarlarında ve az miktarda diğer dokularda bulunur. Fibrilleri oluşturan Tip I,II ve III kollajen'e interstisyel kollajen denilir. Mikrofibriller başlangıçta daha çoktur. Yaş ilerledikçe elastin kapsamı artar. Miyoelastik katman, endokardium'un en kalın tabakasını oluşturur, elastik lifler arasına yerleşmiş düz kas hücrelerinden yapılıdır. Subendokardial kat, küçük kan damarları, sinirler ve ventriküllerde uyarı ileten sistemin dallarını (purkinje lifleri) içeren gevşek bağ dokusudur. ^{1, 13, 14, 15, 22}

Miyokardiyum tabakaların en kalınıdır ve başlıca kalp kası hücrelerinden oluşur. Uyarı ileten sistem ve kalp iskeleti'nin bazı bölümlerini içerir. Damarların tunika media'sı ile eşdeştir. Her bir kas lifi endomisyum'la ve her demet perimisyum'la çevrilmiştir. Miyokardiyum'un kalb'in farklı bölmelerindeki kalınlığı değişkenlik gösterir. Ventrikül'lerde, atrium'lara karşın daha kalındır, en kalın olduğu yer sol ventrikül'dür. Bunun nedeni sol ventrikülün yüksek basınçlı bir sisteme karşı kan pompalamasıdır. Kalp kası hücreleri, kalp boşluklarını karmaşık bir spiral biçimde sarar. Bu şekilde çok sayıda katman fibröz kalp iskeleti içine gömülmüştür. Kalp kası lifleri atrium'larda kafes görünümünde kümeler oluşturacak şekilde yayılmışken, ventrikül'lerde bazen lif demetlerinden daha ayırık, bazen de daha yakın olacak şekilde düzenlenmişlerdir. Kalp kası hücreleri 2 grupta sınıflandırılır: Kasılabilen hücreler ve kalp atımını sağlayan elektrik uyarısını üreten ve ileten iletici hücreler. ^{24, 25, 26}

Epikardiyum (visseral perikardiyum) kalb'i saran seröz zardır. Kalb'in en ince katmanıdır. En dış tabaka tek katlı mezotel hücreleri, altında ince bir bazal lamina ve epikard'ı miyokard'a bağlayan subepikardial bağ dokusundan oluşur. Bu tabakada ayrıca koroner damarlar, sinirler, yağ hücreleri ve ganglionlar bulunur. ^{24, 25, 26}

Kalb'in merkezindeki fibröz bölge, fibröz kalp iskeleti hücrelerinin kökenini aldığı ve yerleştiği bir alan olmasının yanı sıra kapakçıkların da temelini oluşturur. Fibröz iskelet yoğun bağ dokusundan yapılmıştır. Başlıca bileşenleri; Septum membranaseum, Trigonum fibrosum ve Annuli fibrozi'dir. Septum membranaseum, İnterventriküler septum'un üst fibröz kısmıdır. Burada kollajen lifler birbirlerine koştur düzenlenmiştir. Kalb'in tabanında atriumlar ile ventriküllerin arasına bulunan deliklerin ve damarların çıkış deliklerinin çevresinde bulunan fibröz dokudur. Annuli fibrosi ise fibröz iskeletin deliklerin ve damarların çevresini saran kısımdır. Burada kıkırdak doku adaları bulunur. . Bu yapılar değişik yönlerde doğru giden kalın kollajen liflere eşlik eden yoğun bağ dokusundan oluşmaktadır. Bazı yerlerde fibröz kıkırdak nodülleri gözlemlenir. Kalp kapakçıkları her iki yüzde endotel katmanı içeren yoğun bağ dokusundan yapılmıştır. Buradaki bağ dokusu elastik ve kollajen lifler kapsar. Kapakçıkların tabanı fibröz iskelet'in anuli fibrozus'larına bağlanmıştır. ^{1, 24, 25, 26}

2.4.1. İnterkalat Disklerdeki Bağlantı Birimleri:

İnterkalat diskler ilk kez 1958 yılında Sjöstrad ve arkadaşlarının kurbağ, fare ve domuz kalp dokularının yapılarını inceledikleri bir çalışmada bulunmuştur. Bu yapılar ilk başta 3 koyu çizgi halinde görülen özelleşmiş yapılar olarak tanımlanmışlardır. Kalp kası, diğer kaslardan ayıran en önemli farklılık, hücreler arasında diskus interkalaris' lerin bulunmasıdır. Bunlar, komşu hücrelerin arasındaki yüzlerde bulunan oldukça karmaşık bağlantılardır. Bağlantılar düz bir hat şeklinde ve basamak gibi gözlenebilir. Olgunlaşmış hücrelerde interkalat disk yapısı düzensiz basamaklar şeklindedir. Basamaksı bağlantılarda iki bölge ayırılır, bunlar lifleri dik açı ile çaprazlayan yatay bölüm ve miyofilamanlara koştur uzanan lateral bölümdür. İnterkalat diskler birbirini

izleyen kalp kasılmalarının düzenlenmesinde, böylelikle kalb'in ritmik kasılmalarının sağlanmasında görevlidir. Son zamanlarda hızla önem kazanan kök hücre çalışmalarında, miyositler arasına verilen kök hücrelerin kalp kası hücresi özellikleri kazandığı belirlenmiştir. Kök hücreler arasında interkalat diskler gözlemlenmiştir ve nekzus'lar izlenmiştir. Bir diğer kök hücre çalışmasında, nakledilen hücreler ile doğal hücreler arasında konneksin içeren yapısal bağlantıların olmadığı da bildirilmiştir. Kalp hücreleri arasında, nekzus'lar bulunur. konneksin (Konneksin 43, Cx43) ise bu bağlantıların ana proteinidir. Bir dokuda Cx 43 ekspresyonunun saptanması, o dokunun kalp kası işlevini yürütebilecek önemli bir yapısal elemana sahip olduğunu gösterir. Miyokard iskemisi, sıkar yada hipertrofisi gibi aritmojenik durumlarda nekzus'ların azaldığı ya da kaybolduğu görülmüştür. Kardiyak hücre nakillerinde de, nakledilen hücre topluluklarında Cx 43 ekspresyonunun düşük olduğu gösterilmiştir. Bu durum en azından, nakledilen hücrelerin, doğal hücrelerle elektriksel ağ (sinsityum) oluşturmakta çokda başarılı olmadığı düşünülmektedir. ^{9, 20, 21, 39, 40, 41}

Disklerde başlıca 3 bağlantı kompleksi bulunur. Bunlar fasya adherens'ler, desmozom'lar ve nekzus'lardır. Bu bağlantı birimleri kalb'in ileti sistemini oluşturan S.A düğüm, A.V. düğüm, his demetleri ve Purkinje lifleri çevresinde, sayıca ve boyut olarak artış gösterir. Nekzus'ların sayısındaki ve boyutlarındaki azalma hem akım hızının azalmasına, hem de kalb'in biyoritminin bozulmasına neden olur. Nekzus'ların sayıca ve boyutça artması ise iletim hızının artmasına ve hücre içinde cAMP'nin gereğinden fazla olmasının nedenidir. ^{41, 42}

Fasya adherens, diskin transvers bölümlerinde özelleşmiş membran çıkıntılarıdır. Terminal sarkomerlerde aktin filamanları için kanca işlevi görürler. Aslında yarı Z bantları olarak da bilinirler, Aktin filamanlarının birbirlerine tutundukları noktalardır ve en yakın sarkomer ile

bağlantı kurarlar. Interkalat diskin yatay kısımlarında, geniş intermembran alanlara yayılmışlardır. Yaklaşık olarak 25 nm kadar bir alan kaplarlar. ^{1, 41}

Makula adherens (desmozom'lar), her iki bölgede de bulunabilirler ancak desmozom'ların çoğu diskin paralel kısımlarında geniş membran alanlarına yayılmışlardır. Sabit kasılma durumunda birbirinden tamamen uzaklaşmamaları için kalp kası hücrelerini birbirine bağlarlar. Hücre zarlarının birbirlerine yapışmasını sağlayan glikoprotein filamanlardır. İki çeşit kadherin (desmoglein ve desmokolin) komşu hücreleri birbirine bağlar. Sitoplazmik plak (desmoplakin ve plakoglobin) kadherinlere bağlanır. Desmozom'lar intermedier filamanlara bağlanırlar, bu bağlanmalar nedeniyle kasılma sırasında aksiyon potansiyeli'nin duraklatıldığı noktalardır. ^{9, 12, 41}

Nekzus'lar (Gap Junction'lar), komşu hücreler arasında iyonik süreklilik sağlarlar. Kalb'in ritmik kasılmalarında önemli rolleri vardır. Konneksion denilen bir kanaldan oluşur. Konneksion 6 konneksin proteininden yapılmıştır ve hücreler arası elektrik akımının ve kimyasal maddelerin geçişini sağlar. Konneksinler, kolleştrolen zengin proteinlerdir. Yapı olarak 1 adet amino sitoplazmik NH₂ sonlanımları, 4 adet membran içine uzanmış bölge olarak tanımlanan kısım, bir adet sitoplazmik halka, 2 hücre dışı kısım ve 1 adet sitoplazmik karboksil (COOH) sonlanımdan oluşur. Nekzus'lar komşu hücreyle sinyal bilgilerinin paylaşılmasına olanak verir. Bunlar özelleşmiş hücre arası bağlantılardır ve sıkıca birbirine yanaşmış plazma zarları arasında yerleşmişlerdir, bu iki zar arasındaki açıklık yaklaşık 2 nm kadardır. Nekzus'lar iki komşu hücrenin stoplazmalarını içi su ile dolu çok dar kanallarla birbirine bağlarlar. Nekzus kanalları sadece Ca⁺², cyclic AMP gibi küçük intrasellüler sinyal moleküllerinin değişimine olanak verir. Nekzus'lar ile bağlanan hücreler küçük hücre içi sinyal moleküllerini paylaşırlar Böylece, hücre dışı sinyallere uyumlu şekilde yanıt verebilirler. Proteinler gibi

makromoleküllerin nekzus'lar arasından geçme yetenekleri yoktur. Lateral nekzus'ların atriyal dokularda ventriküler dokulara karşın daha çok oldukları bilinmektedir. ^{1, 3, 9, 12, 41, 43, 44, 45}

Kalp damar sisteminde endotel'de bulunan sıkı bağlantılar kan ve dokular arasındaki madde alışverişini denetler. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla birlikte sıkı bağlantı birimlerini oluşturan integral proteinlerin 16 farklı molekülden oluştuğu bulunmuştur. Okludin, klaudin, JAM (Junctional adhesion molecule), kadherin, Zo1, Zo2, Zo3 ve AF-6 başlıca sıkı bağlantı birimleri proteinlerindendir. Okludin ve klaudin'nin her ikisinde hücreiçi kısımda N ve C terminallerinden ve hücredişı kısma doğru çıkıntı yapmış iki halka'dan oluşur. Jam'ın ise, C terminalleri hücreiçi alanda, N terminalleri hücredişı alanda diğer hücrelerin Jam'lerinin N terminalleriyle ilişkidir. Desmozom'lar ve fasia adherens'ler hücreler arası ara bağlantıları oluşturur. Ara bağlantılar 2 kısımdan yapılmıştır. Bunlar aktin filamanına tutunan kısım ve intermedier filamanlara tutunan kısımdır. Nekzus'lar ise kanal kümeleri olarak hücreler arası madde geçişini ayarlarlar ve bunlar haberleşme bağlantıları olarak bilinirler. ^{4, 44, 46}

2.5. Kalb'in Yaşa Bağlı Değişimleri

Kalp hastalıkları yaşlı insanlarda en sık görülen ölüm nedenidir. Kalp damar yaşlanması ilerleyici ve geri dönüşü olmayan bir süreçtir. İnsanlarda yaşa koşut olarak kardiyovasküler performansın tümü dinlenme sırasında dikkate degecek kadar değişmemekle beraber fiziksel streste sağlıklı yaşlı bireyler daha genç olanlara karşın farklı bir hemodinamik yapı gösterirler. Yaşlanma süreci herkeste aynı değildir. Bireysel farklılıklar çok fazladır. Yaşlılarda oluşan fonksiyonel bozukluklar yaş dağılımı çok geniş alınarak veri ortalamalarına göre değerlendirilip ortaya konulmuştur. Fizyolojik yaşlanmanın kalp damar sistemi üzerinde yaptığı değişiklikler şöyle sıralanabilir: Kalp hızı düşer, miyokard esnekliği

azalır, kalp pompalama yeteneği %1 azalır, aritmiler oluşabilir, kalp çevresindeki yağ dokusu artar, periferik damar direnci artar, kan basıncı yükselir, baroreseptörlerin duyarlılığı azalır, β reseptör erki azalır ve venöz kapaklar değışime uğrar.^{31, 34, 47}

2.5.1. Kalp Yapısının Yaşa Bağlı Değışimleri:

Kalb'in doğum sonrası değışiklikleri foramen ovale'nin artan kan dolaşımının ve basıncın etkisiyle kapanmasıyla başlar. Sağ ve sol atrium böylece birbirinden ayrılır. Daha sonra duktus venozus'da (sol umblikal ven ile sağ hepotokardiyak arasındaki kanal) kollajen birikimi başlar, geriler ve kapanır.^{7, 8}

Yaşın ilerlemesiyle birlikte ergenliğe değin kalb'in boyutu ve ağırlığı artar. Bu artış kollajen birikmesi, miyositlerin genişlemesi ve yağ dokusunun artması ile ilişkilidir. Bu değışimler erkeklerde kadınlardan daha belirgindir.¹³

Yaşlanan miyokard'da, miyositlerin boyutu artar ve dejeneratif değışiklikler hızlanır. Dejeneratif değışikliklerin nasıl olduğu halen açıklanamamıştır ancak bundan mitokondriyonların oksidatif fosforilasyonunun azalması sorumlu tutulmaktadır. Mitokondriyonların zarında, lipit peroksidasyonu sonucu, lipofuskin granüllerinin belirmesi dejenerasyonun gösterdesidir. Mitokondriyonlarda lipit peroksidasyonu malonaldehit oluşmasına neden olur. Malonaldehit DNA'yı geri dönüşümsüz olarak denatüre eder. Sonuçta ribozomal RNA ve protein yapımı azalır. Protein yapımının azalması miyosit içindeki kasılabilir fibrillerin yenilenmesini geciktirir. Her iki ventriküldeki miyositlerin boyutları artmakla birlikte sayıları azalır. Yiten miyositlerin yerini bağ dokusu alır. Bir basınç yüklenmesi olmasa bile kalp kasında hafif bir hipertrofi görülür.

Hipertrofik bir miyokard'ın hemodinamik yüklenmelere uyum sağlama yeteneği azalır. Kalp kapakçıklarının yapısı da yaşla birlikte değişikliğe uğrar. Kapakçıklardaki elastik liflerde herhangi bir değişiklik olmaz. Kollajen lifler azalır ve çözünürlüğü artar. Yağ dokusu birikmesi çoğalır. Miyokardiyum'da miyositlerin apoptosizi artar, sol ventriküler duvar kalınlığı artar ve hücrelerin sarkoplazmik retikulum'ları azalır. Sarkoplazmik retikulum'da kalsiyum alımı azalır.^{6, 48}

Yaşla birlikte endotel yapısı bozulmaya başlar, hücrelerin birbirlerine tutunmaları güçsüzleşir ve endotel katmanının oluşturduğu bariyer kırılmaya başlar. Arter duvarlarında kollajen birikimi artarken, elastin birikimi hızlı bir şekilde azalır.¹³

Yaşlanma ile birlikte vücudun tüm damarlarında, proksimal'den başlayarak bir dizi değişiklikler olur. Periferik damarlarda oluşan değişimler, besledikleri organların iskemisine neden olmanın yanında ardyükün de artmasına neden olurlar. Ardyük kalp kasının, kanı damar sistemi içine verebilmek için yenmesi gereken dirençtir. Koroner arter hastalıklarındaki değişiklikler ise, yaşlılarda daha sık olarak, iskemik kalp hastalıklarının ortaya çıkmasına neden olurlar. Koroner arter'lerdeki değişiklikler genç yaşlardan başlayarak oluşur. İlk değişiklik genellikle sol koroner arterdedir. Sağ koroner arter'in değişimi ise 50 yaşından sonra ortaya çıkmaya başlar. İntima katmanında endotel hücrelerinin biçim, boyut ve aksiyel dizilişleri değişerek heterojen bir yapı belirir. Bu yapısal değişim kanın laminar akımını bozar. Sonuç olarak daha çok sayıdaki bölgede ve daha kolay lipid birikmesi oluşur. Subendotel katman kalınlaşır. Bu kalınlaşmadan, özellikle internal elastik membran çevresinde kalsiyum ve lipid birikmesi ile bağ dokusu artışı sorumludur. Düz kas hücresi katmanında kalınlaşma, elastinde parçalanma ve kalsiyum birikimi yaşlanma ile medya katmanında görülen değişikliklerdir.⁴⁹

2.5.2. Bağlantı Birimlerindeki Yaşa Bağlı Değişimler:

Yaşlanmaya koşut kalb'in miyositlerinde ve endotel yapısında değişiklikler olur. Endotel'i oluşturan yassı epitel hücrelerinin birbirlerine tutunmaları güçsüzleşir. ^{13, 48}

Son yıllarda, bağlantı birimleri üzerinde yapılan araştırmalar sonucu, embriyogenez sürecinde özellikle plakoglobin, plakophilin-2 gibi desmozomal proteinleri kodlayan genlerin kayıplarının ölümcül olabilen kalp hasarlarına neden olabildiği bildirilmektedir. ⁶

Yapılan çalışmalarda nekzus ve fasya adherens yayılımlarının birbirleriyle uyum olduğu gösterilmiştir. Desmozoml'ar için aynı şeyi söylemek olası değildir. Desmozom yayılımları nekzus ve fasya adherenslerden bağımsızdır. ilerleyen yaşa koşut desmozom, nekzus ve fasya adherens'lerin boyutlarının çizgisel bir şekilde arttığı kanıtlanmıştır.

50

Konneksin 43, memelilerde ventriküller ve atriyal kardiyositlerde en çok bulunan konneksin'dir. İmmunohistokimyasal yöntemlerde nekzus'ların işaretlenmesinde kullanılırlar. Konneksin 40 ve konneksin 45'inde özellikle kalb'in ileti sistemini oluşturan S.A. düğüm, A.V. düğüm, His demeti ve Purkinje lifleri gibi özelleşmiş yapıların nekzus'larında bulunur. Geçirgenliği fazla olan kanallarda konneksin 40 ekspresyonu etkiliyken, geçirgenliği daha az kanallarda konneksin 45 ekspresyonu daha yaygındır. ⁵¹

Yaşın ilerlemesiyle nekzus'ların hücrelerin yan yüzlerinin transvers kısımlardaki azaldığı ve lateral kısımlarda ise hiç gözlemlenmediği bildirilmiştir. 6 yaşa kadar nekzus'ların dağılımlarının

çizgisel şekilde artış gösterdiği gözlenmiştir. Cx43, N-kadherin primer antikorları uygulanarak yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda fasya adherens'lerin dağılımının nekzus'lar ile benzerlik eşdeşlik farkedilmiştir. ⁵²

Olgun miyokardiyal interkalat diskler'de desmozom benzeri yapılar ve diğer bağlantı birimleri birlikte düzenlenmişlerdir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte bağlantı birimlerinin oluşturdukları düzen bozulur. Birlikte oluşturdukları hibrid yapılar yiter ve karmaşık alan denilen çok parçalı bölge oluşur. Yapılan çalışmalarda; doğum öncesi gelişim sürecinde, yenidoğanda ve doğum sonrası dönemin erken evrelerinde birbirleriyle ilişkili dağılımlar gösteren bağlantı birimleri gelişimin geç evrelerinde bozularak karmaşık alanları oluştururlar. ⁵³

Bağlantı proteinlerini belirlemek için en çok Konneksin 43 ekspresyonu kullanılmaktadır. Nekzus'ların dağılımı diğer bağlantı birimlerinin dağılımıyla uyum gösterir. Yaşa koşut Cx 43 tutulumu azalır. SA düğümün'de Cx 40 ekspresyonu da yaşla birlikte azalmaktadır. SA düğüm fonksiyonları yaşlılarda ciddi oranda azalır. Kalp atımı hızı düşer ve aksiyon potansiyelinin iletimi yavaşlar. ⁵⁴

Cx 37, Cx 40 ve Cx 43 nekzus'ları oluşturan konneksin ailesinden, en sık bulunan proteinlerdir. Yeni doğan canlılarda Cx 37, Cx 40 ve Cx 43 ekspresyonları doğumdan hemen sonra önce biraz artış gösterir, genç bireylerde ekspresyon en yüksek düzeye ulaşır ve yaşın ilerlemesiyle birlikte azalır. ⁵⁵

Zo1 çok bilinen bir sıkı bağlantı proteindir ve aktin bağlanan protein olan Zo1 dağılımı konneksin 43 yayılımı ile benzerlik gösterir. Geçirilen kalp hastalıkları sonucu Zo1 ekspresyonu %95 oranında azalır.

Sıkı bağlantı birimlerindeki bu ciddi azalma sonrasında Cx 43 proteinlerinin nekzus'ların yeniden yapılanmasında görev alırlar.⁵⁶

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Çalışmamızda kalb'de yaşa koşut yapısal değişimlerin ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi amacıyla Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi ile Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan 1 günlük, 22 günlük, 10 haftalık ve 20 aylık yaş gruplarının her birinden altışar olarak toplam 24 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı.

Sıçanlar 44 mg/kg intraperitoneal ketamin enjeksiyonu ile uyutularak ötenazi gerçekleştirildi. Ötenazi sonrası deneklerin karın ve göğüs bölgeleri orta hat boyunca açılarak kalb'leri alındı. Dokular ışık mikroskobunda incelenmek için %10'luk nötral formalinde 72 saat süreyle tespit edildi. Tespit edilen dokular alışılacelmiş ışık mikroskop izleme yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklar elde edildi.

3.2 İmmunohistokimyasal Yöntem

Hazırlanan parafin bloklardan polilizinli camlara 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak immunohistokimyasal yöntem uygulandı.

Çalışmada kalb'deki bağlantı birimlerini belirleyebilmek için Zo1 (H300) tavşan poliklonal antikoru (sc-10804, Lot ≠ E505, Santa Cruz Biotechnology), Klaudin-5 (H52) tavşan poliklonal antikoru (sc-28670, Lot ≠ B2805, Santa Cruz Biotechnology), Cx43 (H150) tavşan poliklonal antikoru (sc-9059, Lot ≠ D1805, Santa Cruz Biotechnology) ve E-Kadherin

(Ab-4) fare monoklonal antikoru (Lot ≠ 1862S704A, Thermo Scientific) uygulandı.

Kesitler 37°C'deki etüvde bir gece bekletildiler sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak için etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak bu ısıda 1 saat bırakıldılar.

Camlar deparafinizasyonu tamamlamak ereğiyle 2 kez 15'er dakika ksilol'e etkin bırakıldı. Daha sonra 10'ar dakika sırasıyla %100'lük, %96'lık ve % 80'lik alkol serilerinden geçirildiler.

Sudan kurtarılan edilen dokular alkolden arındırılmak ereğiyle iki kez 5'er dakika distile sudan geçirildikten sonra doku içerisinde formaldehit'in kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak için 1 M sitrat tamponuna (pH: 6.0) (Cat= AP-9003-500, Lot= 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) mikrodalga fırında retriiver işlemi gerçekleştirildi.

Daha sonra, 15 dakika %3'lük hidrojen peroksit (Cat= TA-125-HP, Lot= 125HP14119, Lab Vision, Fremont, USA) ile etkin bırakılan dokulardan endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. İşlem sonrasında PBS pH: 7,4 (Phosphate Buffer Saline) (Lab Vision) ile camlar yıkandı.

Yıkanan camlara 5 dakika UltraV Block (Cat= TA-125-UB, Lot= AUB70803, Lab Vision, Fremont, USA) uygulanarak özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemten sonra dokular yıkanmadan primer antikor aşamasına geçildi.

Zo1 (H300) tavşan poliklonal antikoru (sc-10804, Santa Cruz Biotechnology) ve klaudin-5 (H52) tavşan poliklonal antikoru (sc-

28670, Santa Cruz Biotechnology) uygulanan kesitler primer antikör ile 1 gece +4°C 'da bekletildi.

Cx43 (H150) tavşan poliklonal antikörü (sc-9059, Santa Cruz Biotechnology) ve E-Kadherin (Ab-4) fare monoklonal antikörü (Thermo Scientific) uygulanan kesitler, primer antikör ile 60 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Daha sonra PBS ile yıkanan camlara sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikör (Cat= TR-125-BN, Lot= RBN70115, Lab Vision, Fremont, USA) uygulanarak primer antiköre bağlanması sağlandı. PBS ile yıkanan camlar 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat= TS-125-HR, Lot= SHR70515, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı, böylece dokularda enzimin biyotin'e bağlanması sağlandı.

Son olarak ortama kromojen olan AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) (Cat= TA-007-HAC, Lot= 007HAC13565, Lab Vision, Fremont, USA) eklenerek yaklaşık 10 dakika bekletildi ve gözle görülebilen immün tepkimenin açığa çıkması sağlandı.

Zemin boyası olarak Mayer'in hematoxilen'i (OB24092, Merck) kullanıldı. Negatif boyama primer antikör aşaması atlanarak yapıldı. Bu şekilde boyanan camlar ultramount (Cat= TA-125-UG, Lot= VM13518, Lab Vision, Fremont, USA) ile lamelle kapatılıp bilgisayar donanımlı foto-ışık mikroskopta (DCM 4000, Leica, Germany Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

4. BULGULAR:

4.1. İmmunohistokimyasal Bulgular

Zo1:

Doğumu izleyen 1 günlük deneklerde, Zo1 antikör tutulumunun özgün olmadığı genelde kas hücrelerinde minimal tutulumun varlığı dikkat içerken diskus İnterkalaris bölgelerinin henüz tam olarak farklanmadığı, farklanan bölgelerde ise özgün tutulumun olmadığı ayırdedildi. Bu görünüm büyük büyültmelerde de yaygındı. Kas lifleri genelde erişkinlere karşı daha ince, yan dallanmalar dar ve hücrelerarası aralıklar azdı. Damarlarda ve ara bağ dokuda belirgin bir tutulum izlenmiyordu. Enine çizgilenmeler ayırt edilemiyordu. (Resim 1A, 1A₁, 1B)

Yirmiikinci günde kas liflerinin oldukça erişkin yapıya ulaştığı buna koşut Zo1 tutulumunun özgünleştiği dikkati çekti. Diskus interkalaris'lerin enine kesitlerinde tutulum yaygındı. Kas liflerinin yan dallarının birbirine koşut uzandığı gözlemlendi. Çekirdek yuvarlak şekilli, hücre ortasında yerleşikti. Sitoplazmik tutulum bir önceki gruba karşı oldukça belirgindi. Enine çizgilenmeler azda olsa ayırdediliyordu. (Resim 2A, 2B)

On haftalık grupta yapının tümüyle erişkin hale dönüştüğü, yan dallarla birlikte kas liflerinin birbirine koşut uzandığı, hücrelerarası aralığın azaldığı gözlemlendi. Enine çizgilenme özgün yapısıyla gözlemleniyordu. Diskus interkalaris'ler belirgindir. Zo1 tutulumu özgündü, ancak büyük büyültmelerde kas liflerinde orta düzeyde sitoplazmik tutulum dikkati çekiyordu. (Resim 3A, 3B)

Yirmi aylık deneklerde Zo1 antikor tutulumunun bazı diskus interkalaris bölgelerinde hiç izlenmediği, buna karşın bazı bölgelerde ise yoğun, yaygın tutulumun olduğu gözlemlendi. Genelde yapının yenidoğan grupla özdeş olduğu dikkati çekti. Kas lifleri ve yan dallar düzensizdi. Sitoplazmik tutulum son derece azalmıştı. Enine çizgilenmeler ayırtediliyordu. (Resim 4A, 4A₁, 4B)

KADHERİN:

Bir günlük kadherin antikoru ile immunohistokimyasal boyama yapılan grupta antikor tutulumunun diskus interkalaris'lerin transvers bölgelerinde yerleştiği, yer yer yoğun, yer yer zayıf olduğu ayırt edildi. (Resim 5A, 5A₁, 5B)

Yirmiiki günlük grupta kas liflerinde enine çizgilenmenin belirgin olduğu, fasya adherens yerleşimli diskus interkalaris bölgelerinde antikoru oldukça özgün tutulum sergilediği ve yoğun olduğu ayırt edildi. Damar endotelinde de tutulum pozitif olarak değerlendirildi. (Resim 6A, 6B)

On haftalık grupta, kadherin antikoru tutulumunun fasya adherens bölgelerinde son derece yoğun olduğu ilgiyi çekti. (Resim 7A, 7A₁, 7B)

Yirminci aylık grubun kadherin immunohistokimyasal incelemelerinde, fasya adherens'lerde izlenen yapısal bozulmaya koşut olarak tutulumun orta dereceli ve dağınık, yer yer güçlü yer yer zayıf olduğu dikkati çekti. (Resim 8A, 8B)

KONNEKSİN:

Konneksin antikoruna ile yaptığımız immün boyamalarda 1. günde antikorun tutulumunun sitoplazmik düzeyde olduğu, büyük büyütme fotoğraflarında ise bu tutulumun daha çok granüler düzeyde olduğu dikkati çekti. Damar düz kas ve endotel hücrelerinde herhangi bir immünoteknikmeye rastlanmadı. (Resim 9A, 9A₁, 9B)

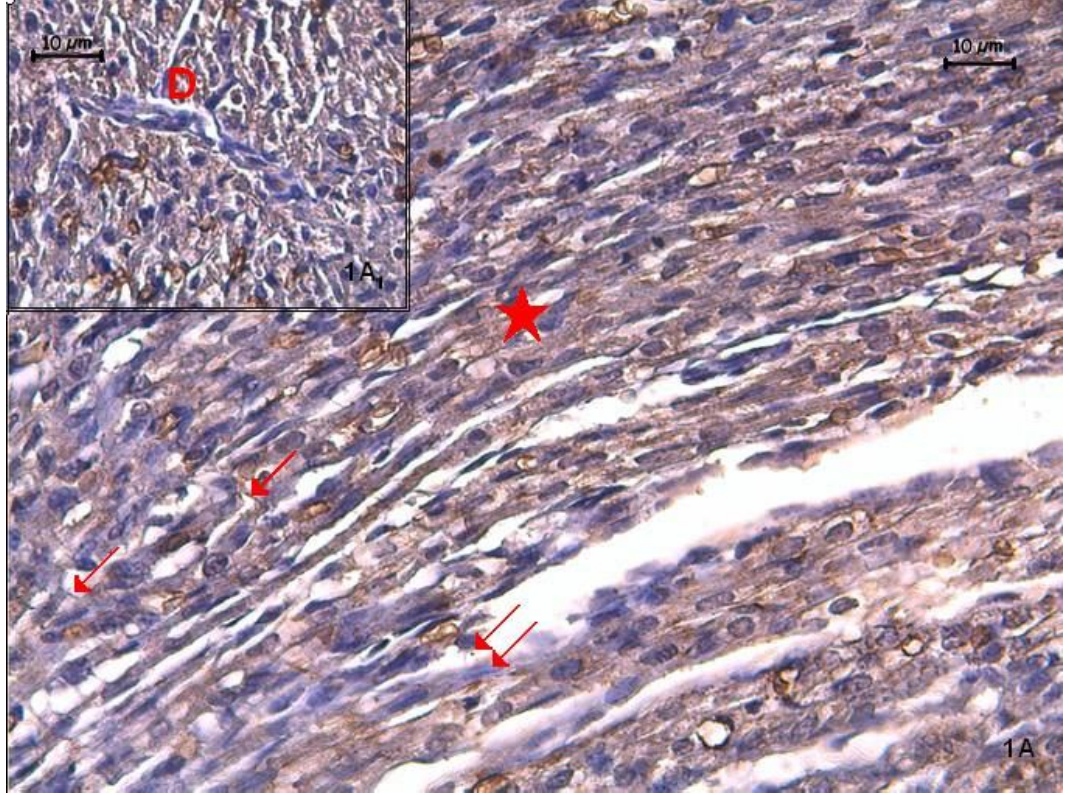
Yirmiiki gün, 10 hafta ve 20 aylık gruplarda ise konneksin tutulumunun zayıf sitoplazmik ancak kuvvetli oranda bağlantı birimlerinde olduğu dikkati çekti. Bu gruplar arasında antikor reaktivitesi açısından bir farklılık izlenmedi. 3 grupta da tutulum oldukça kuvvetliydi. Reaktivite diskus interkalaris'lerin boyuna kesitlerinde izlendi. Damar endotel ve duvarında immünoreaktiviteye rastlanmadı. (Resim 10A, 10B, 11A, 11A₁, 11B, 12A, 12B)

KLAUDİN:

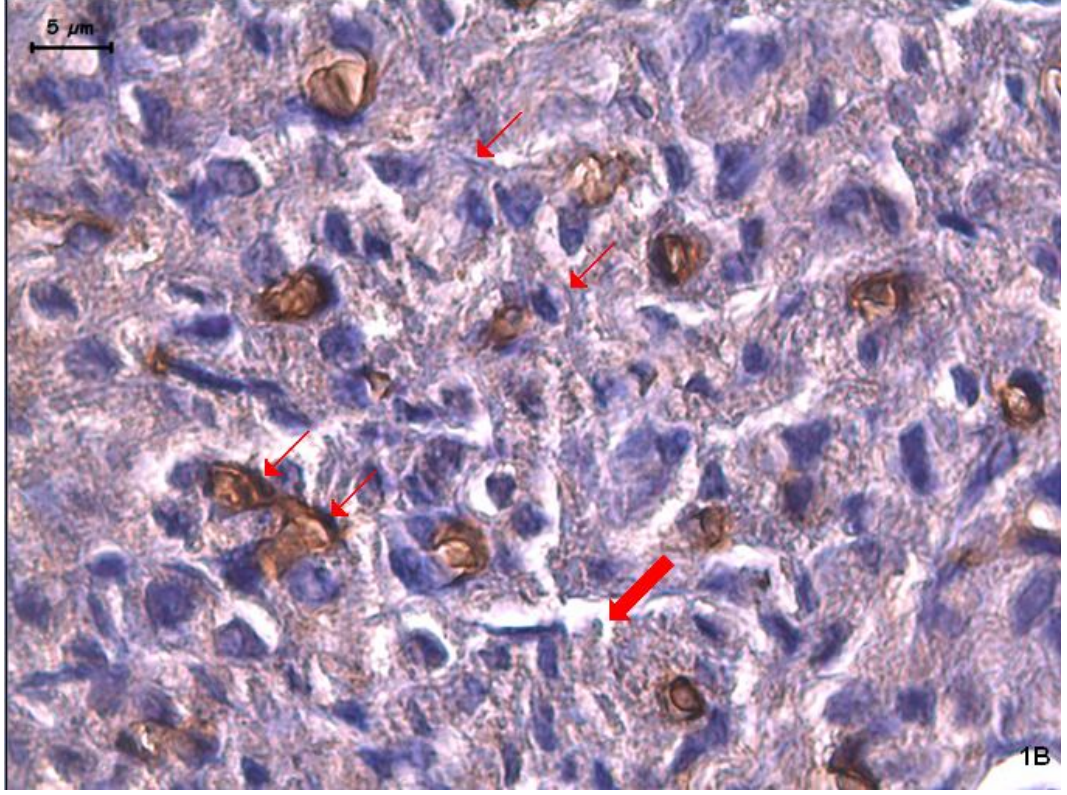
Klaudin 5 antikoruna ile yaptığımız immünohistokimyasal boyamada, 1 günlük grupta tutulumun oldukça zayıf olduğu dikkati çekti. 1 günlükten başlayarak 20 aya kadar tutulum yaygın ve boyanma özelliği olarak birbirine eşdeşti. (Resim 13A, 13B, 14A, 14B, 15A, 15B, 16A, 16A₁, 16B)

Yirmiiki günlük ve 10 haftalık gruplarda Zo1'in tutulum gösterdiği bölgelerde, orta derecede klaudin 5 tutulumu izlendi. 20 aylık grupta ise klaudin 5 tutulumu, konneksin'in immünoreaktif olduğu bölgelerde orta dereceliydi. Bu reaksiyon diskus interkalaris'lerin boyuna bölgelerinde izleniyordu, enine bölgelerde tutulum gözlenmedi. Tüm

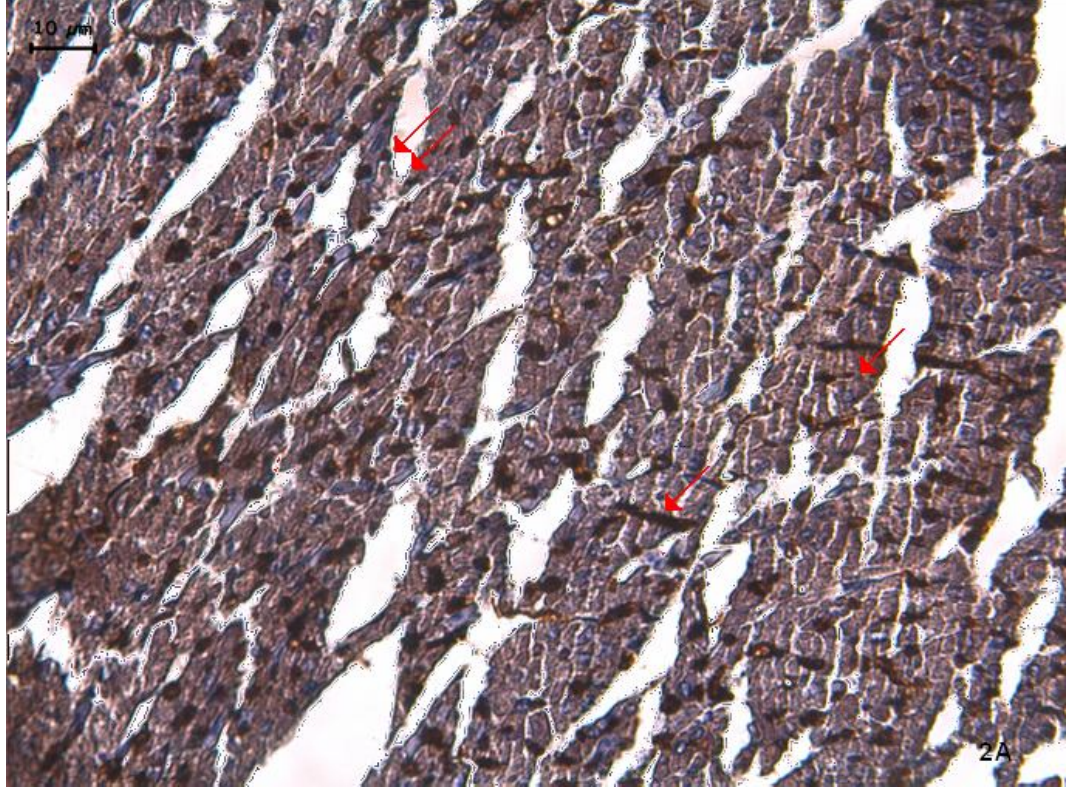
gruPlarda damar duvarında ve endotel hücrelerinde immunreaktivite izlenmedi. (Resim 14A, 14B, 15A, 15B, 16A, 16A₁,16B)



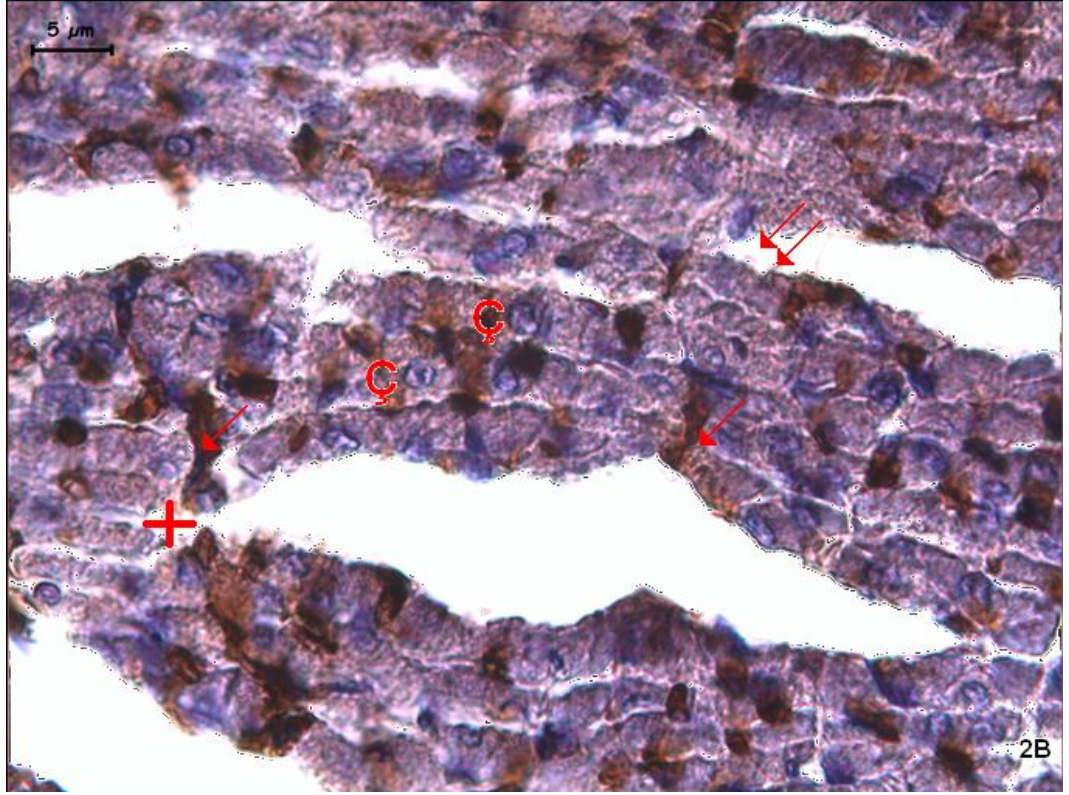
Resim 1A, 1A₁: 1 günlük sıçan kalb'inde Zo1 antikor tutulumu (Küçük büyültme). Kalp Kası hücreleri (★), diskus interkalarisler (→), yan dallar (⇒), damarlar (D). (İmmünoperoksidaz ve hematoksilin)



Resim 1B: Aynı grubun büyük büyöltmeli resminde Zo1 antikoru tutulumu. Diskus interkalarisler (→), Hücreler arası aralıklar (→)(İmmünoperoxidaz ve Hematoksilan)

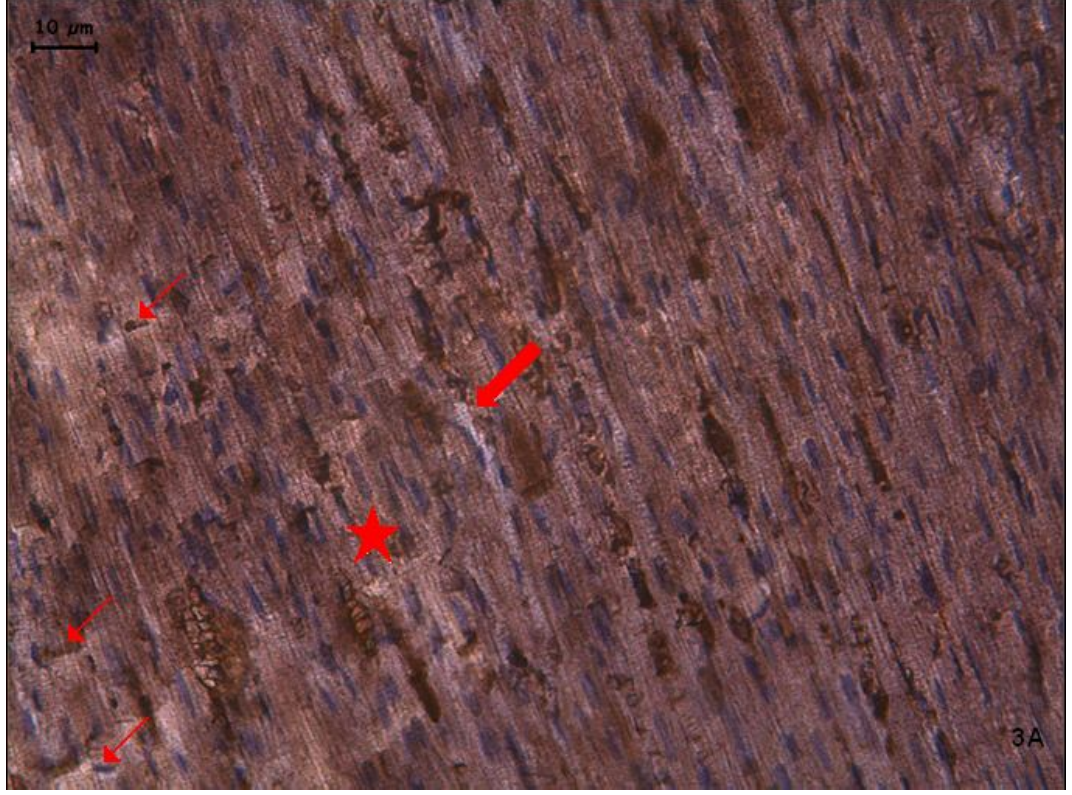


Resim 2A: 22 günlük sıçan kalb'inde ZO1 antikoru tutulumu. (Küçük büyültme) Diskus interkalarisler (→), yan dallar (⇨) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)

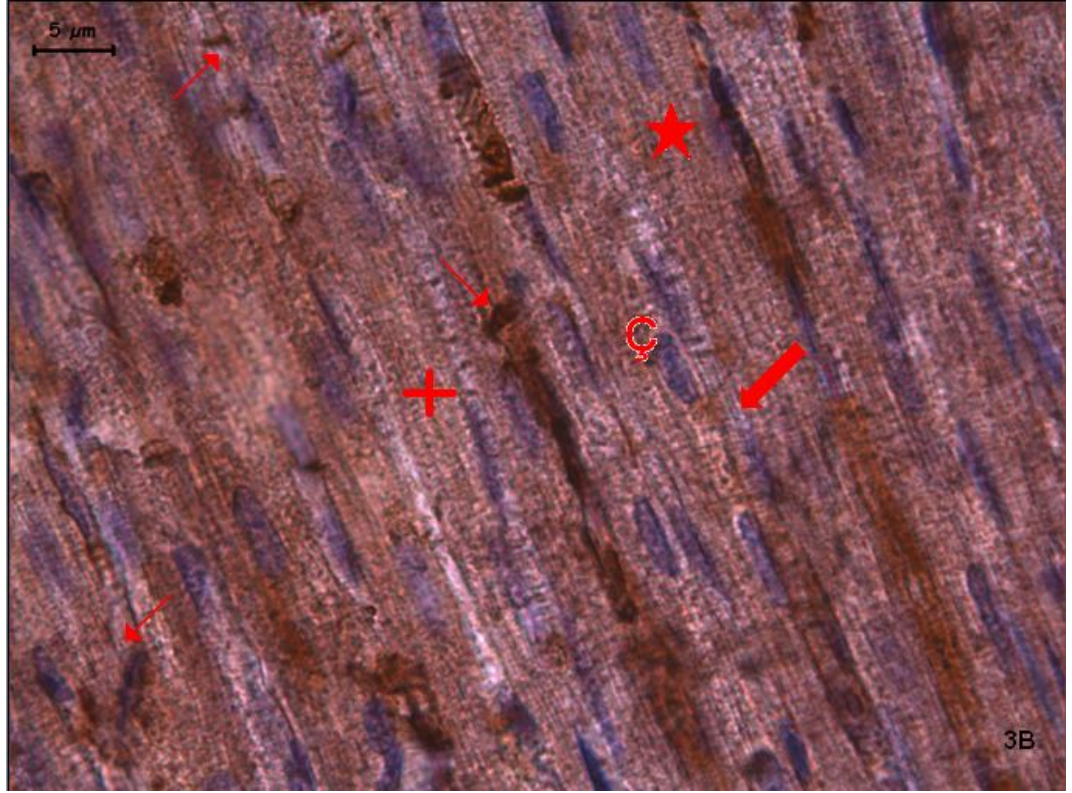


Resim 2B: Aynı grubun büyük büyütmeli resminde ZO1 antikor tutulumu.

Diskus interkalarisler (→), yan dallar (⇒), çekirdekler (Ç), enine çizgilenmeler (+)
(İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)

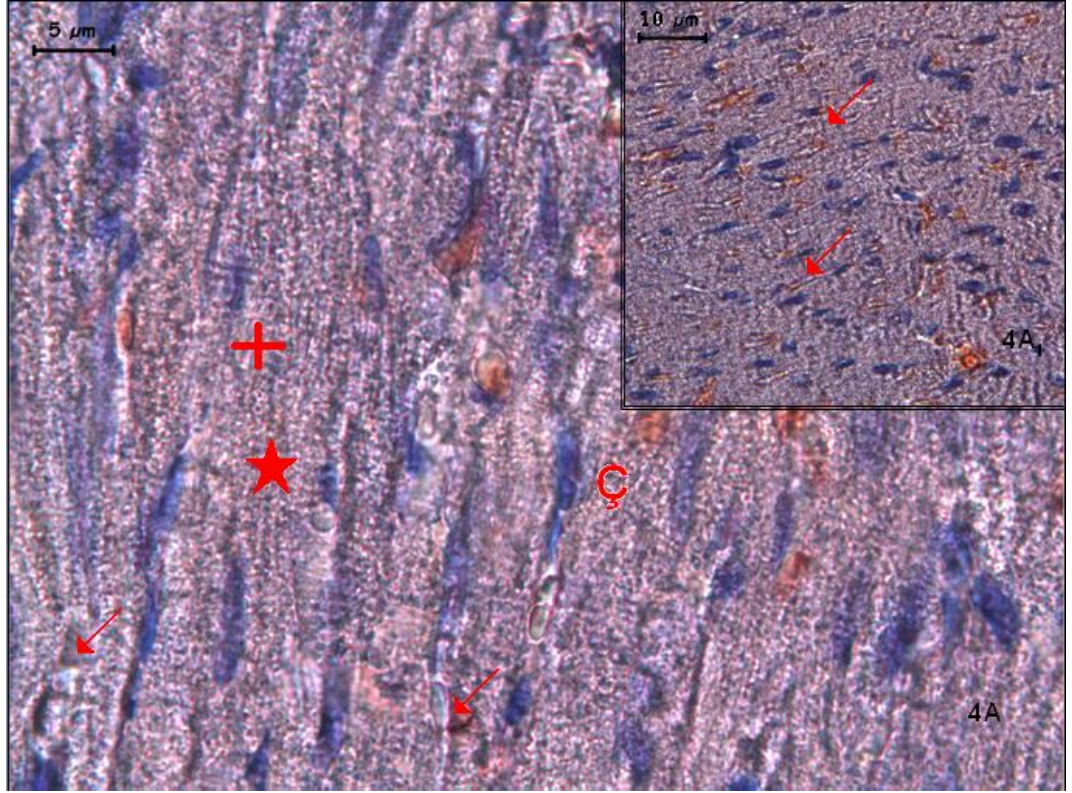


Resim 3A: 10 haftalık sıçan kalb'inde Zo1 antikoru tutulumu. (Küçük büyültme) Kalp Kası hücreleri (★), diskus interkalarisler (→), hücreler arası aralıklar (→) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)

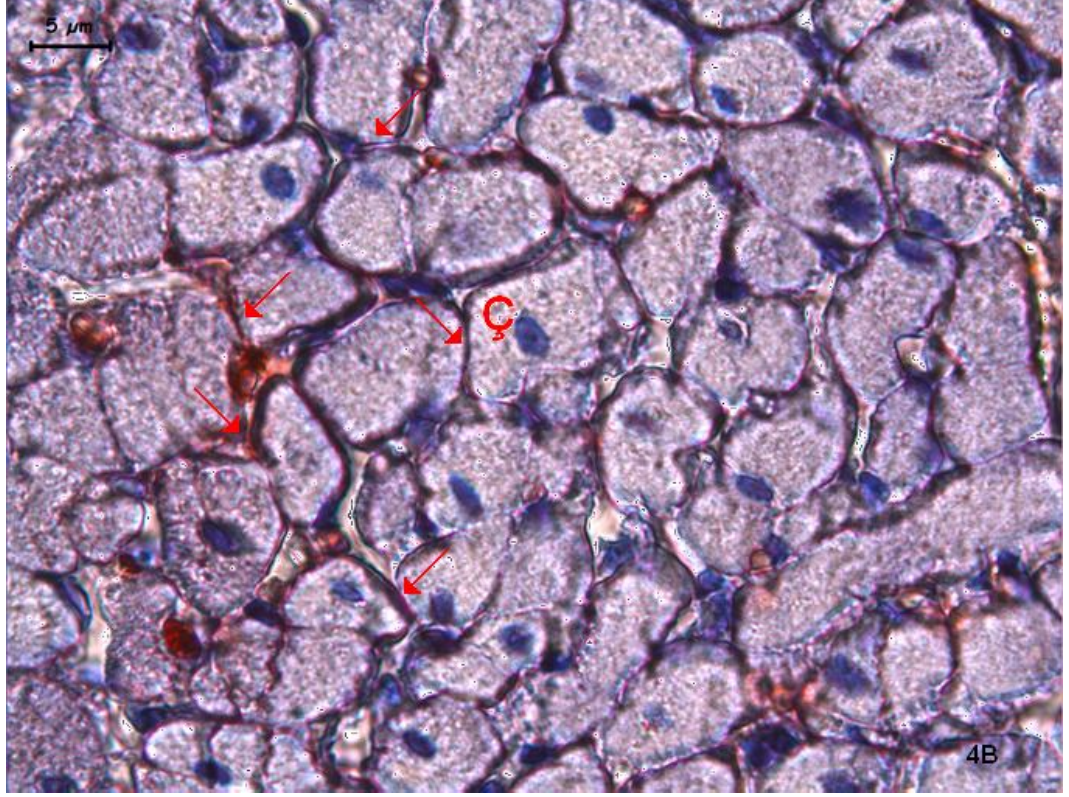


Resim 3B: Aynı grubun büyük büyültmeli resminde Zo1 antikorunun tutulumu.

Kalp Kası hücreleri (★), diskus interkalarisler (→), hücreler arası aralıklar (➔), çekirdekler (Ç), enine çizgilenmeler (+) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)

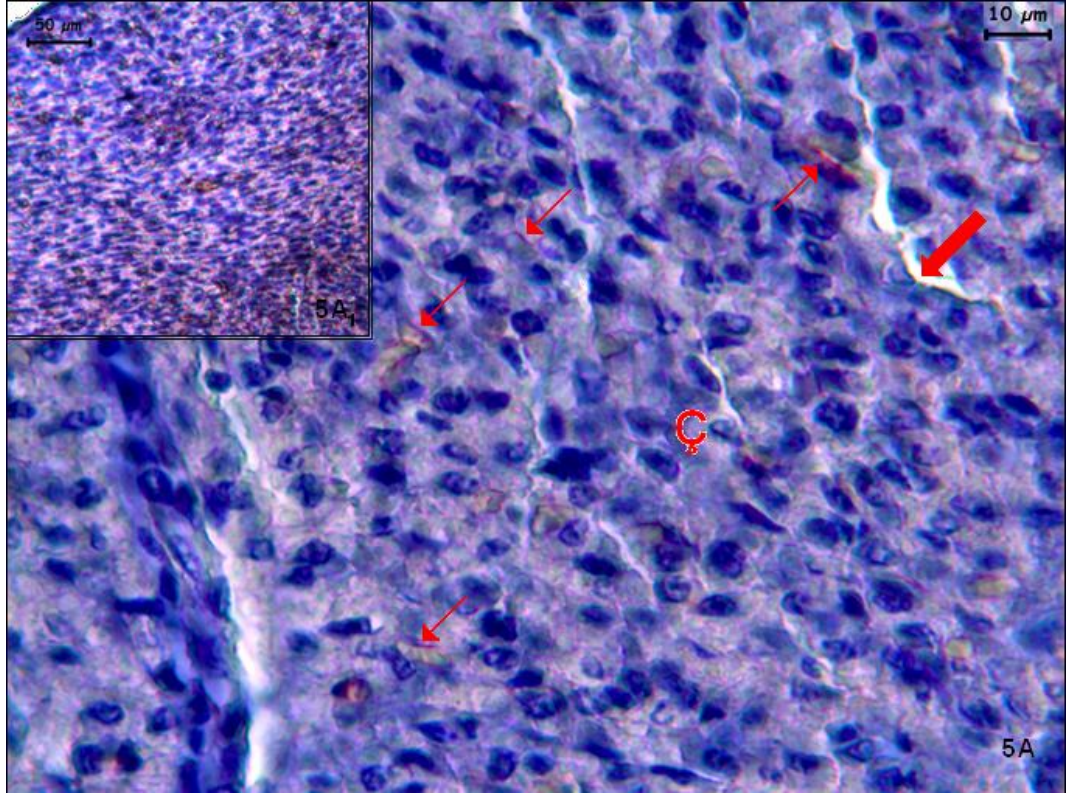


Resim 4A, 4A₁: 20 aylık sıçan kalb'inde Zo1 antikoru tutulumu. (Küçük büyültme) Kalp Kası hücreleri (★), diskus interkalarisler (→), çekirdekler (Ç), enine çizgilenmeler (+) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)

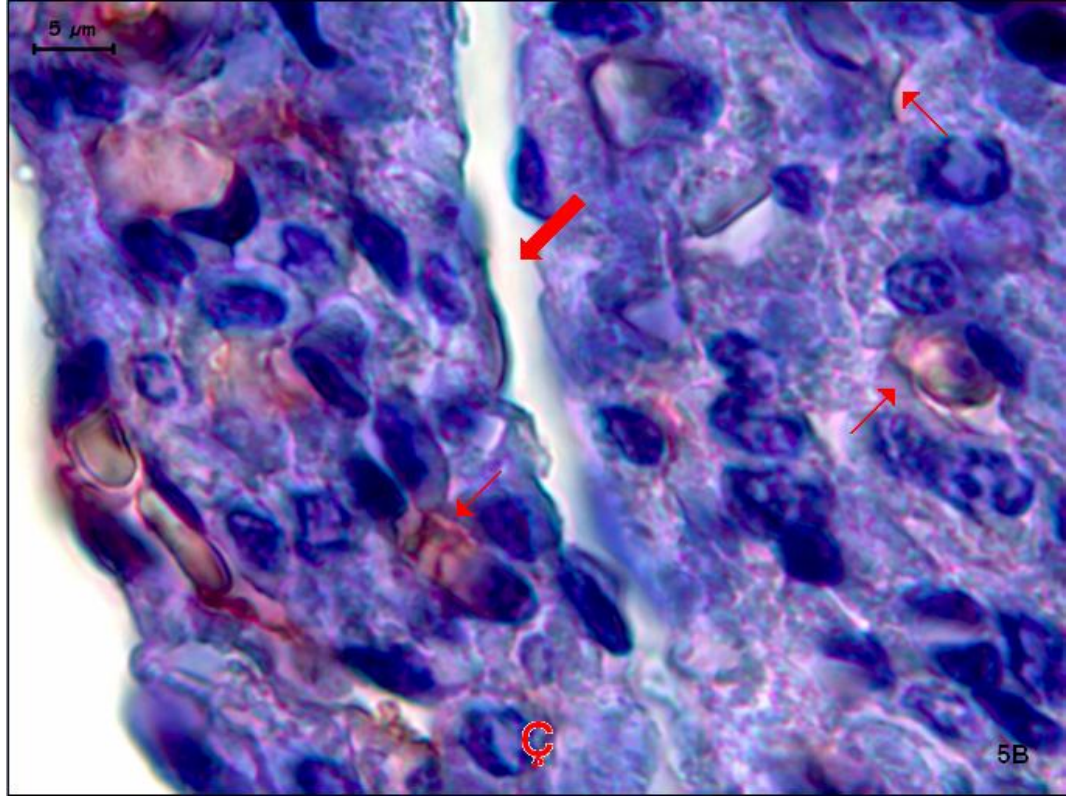


Resim 4B: Aynı grubun büyük büyültmeli resminde Zo1 antikoru tutulumu.

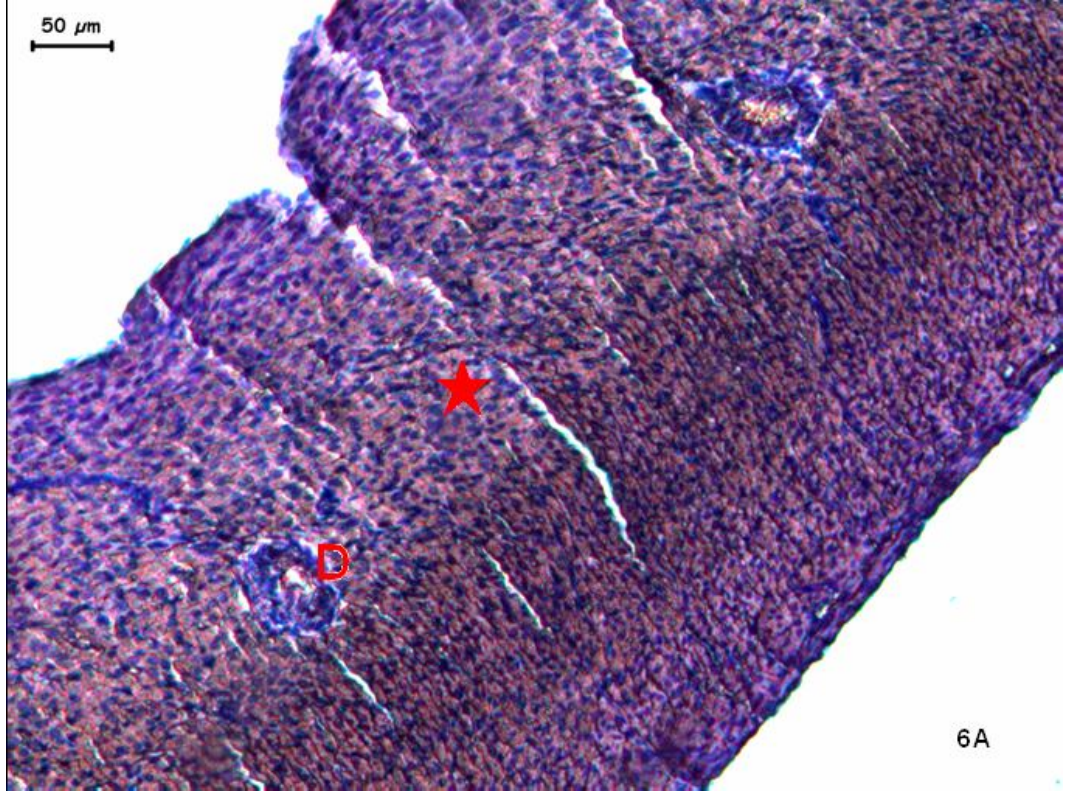
Diskus interkalarisler (→), çekirdekler (Ç) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



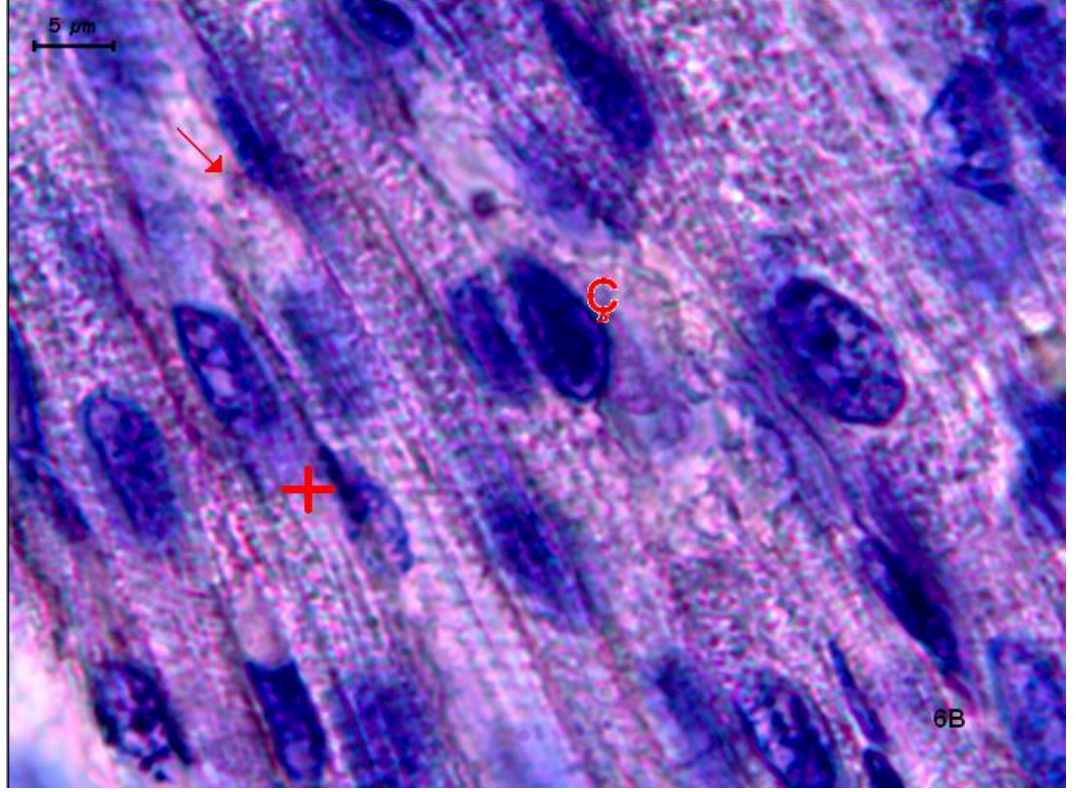
Resim 5A, 5A₁: 1 günlük sıçan kalb'inde E-Kadherin antikor tutulumu. (Küçük büyültme)
Diskus interkalarisler (→), hücreler arası aralıklar (→), çekirdekler (Ç)
(İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



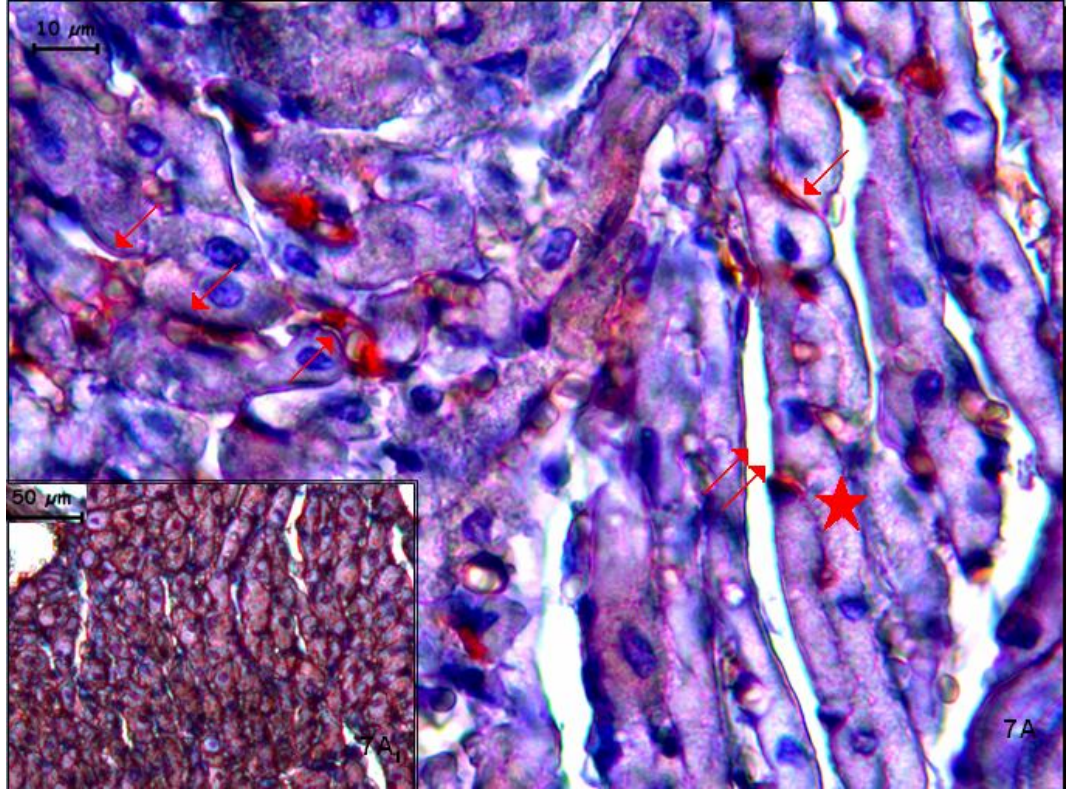
Resim 5B: Aynı grubun büyük büyütmeli resminde E-Kadherin antikorunun tutulumu. Diskus interkalarisler (→), hücreler arası aralıklar (→), çekirdekler (Ç) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



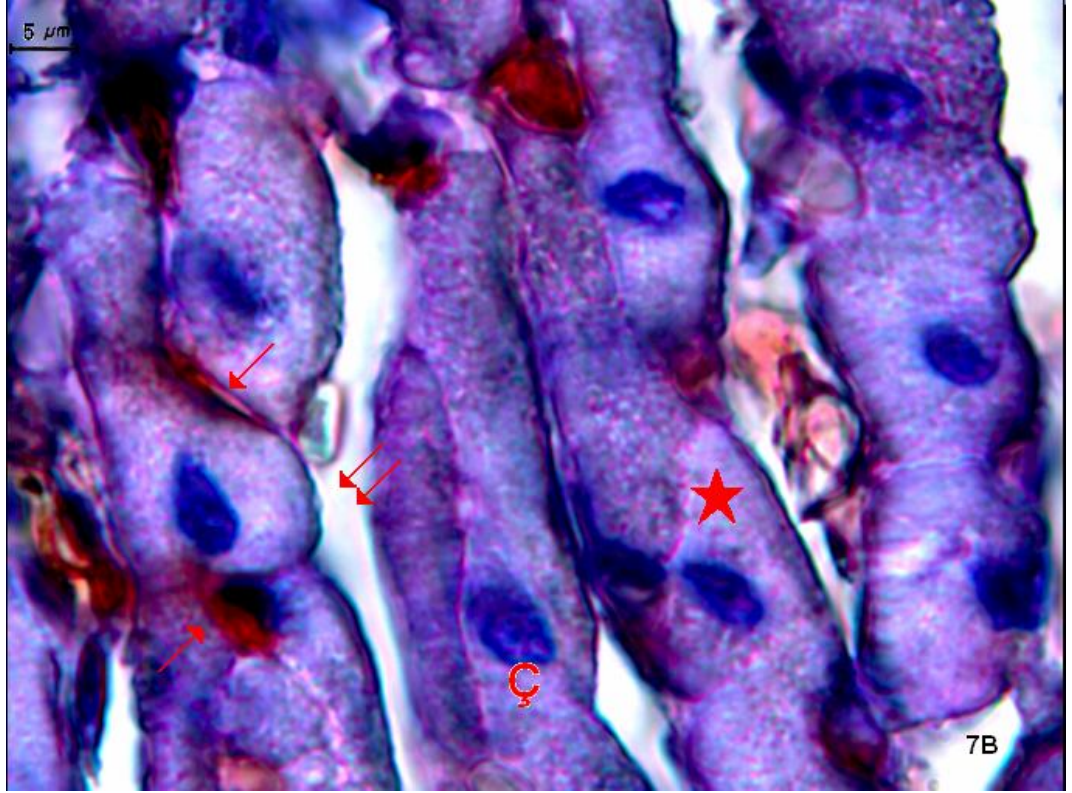
Resim 6A: 22 günlük sıçan kalb'inde E-Kadherin antikoru tutulumu. (Küçük büyültme)
Kalp Kası hücreleri (★), damarlar (D) (İmmünoperoxidaz ve Hematoksilen)



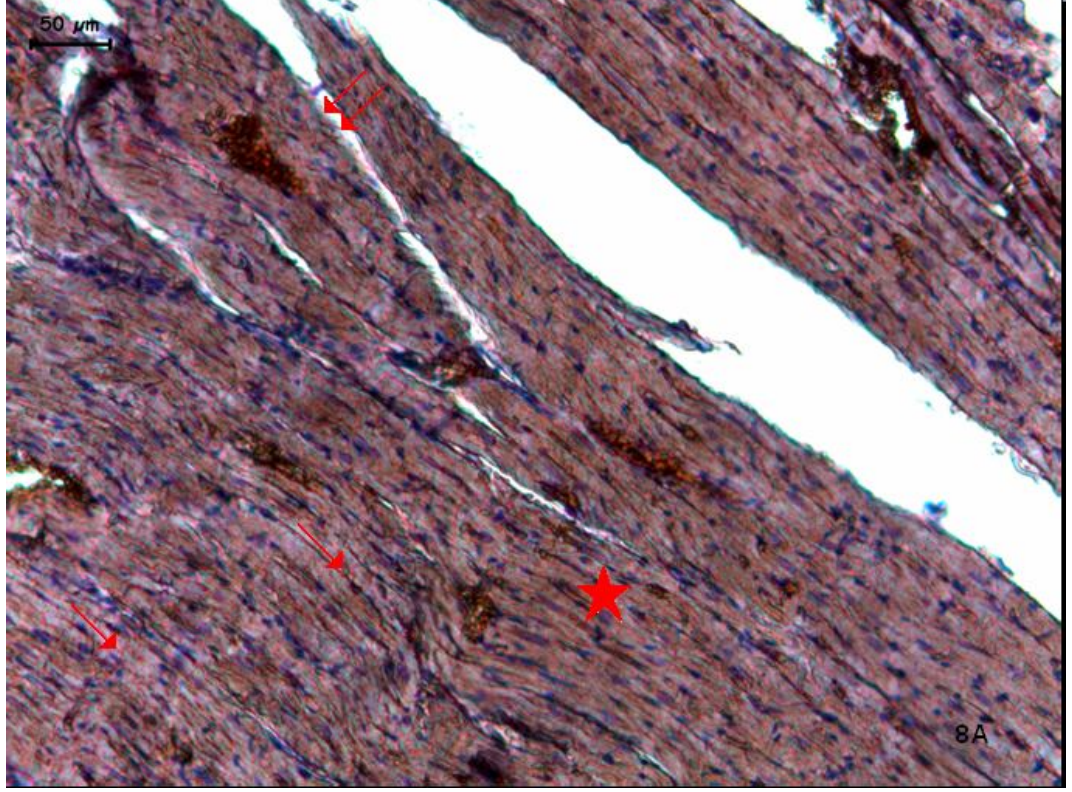
Resim 6B: Aynı grubun büyük büyütmeli resminde E-Kadherin antikor tutulumu. Diskus interkalarisler (→), çekirdekler (Ç), enine çizgilenmeler (+) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



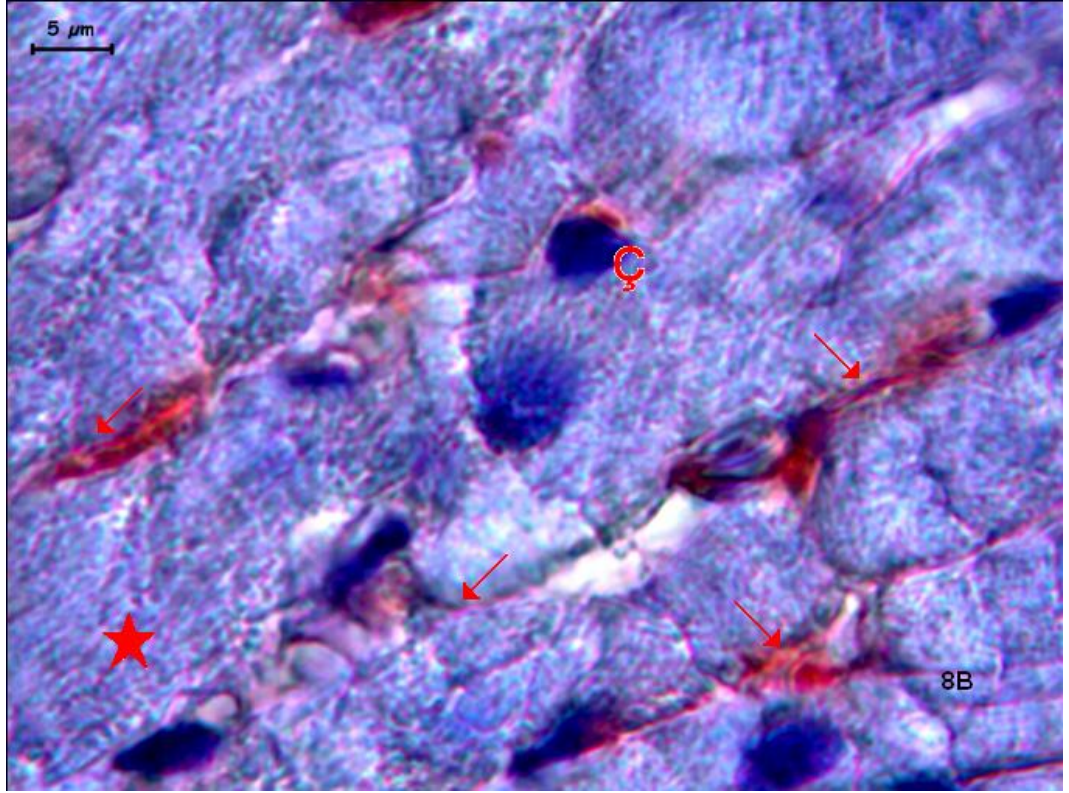
Resim 7A, 7A₁: 10 haftalık sıçan kalb'inde E-Kadherin antikor tutulumu. (Küçük büyültme) Kalp Kası hücreleri (★), diskus interkalarisler (→), yan dallar (⇒) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



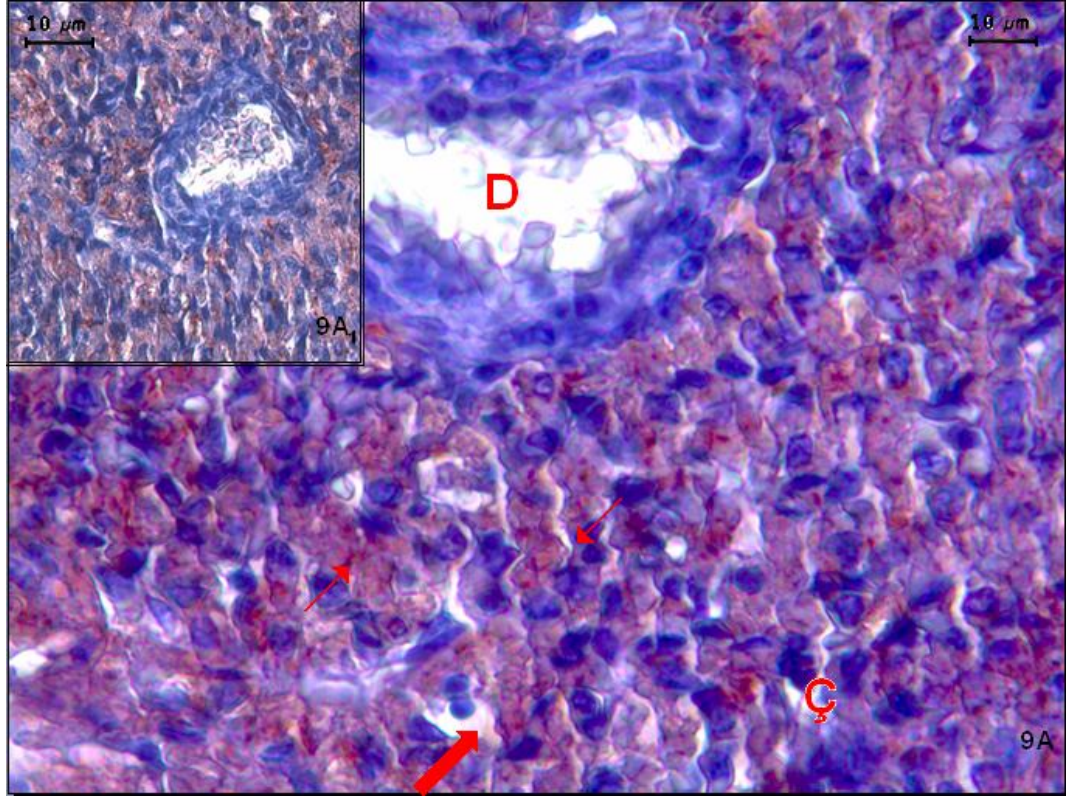
Resim 7B: Aynı grubun büyük büyütmeli resminde E-Kadherin antikoru tutulumu. Kalp Kası hücreleri (★), diskus interkalarisler (→), yan dallar (⇒), çekirdekler (Ç) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



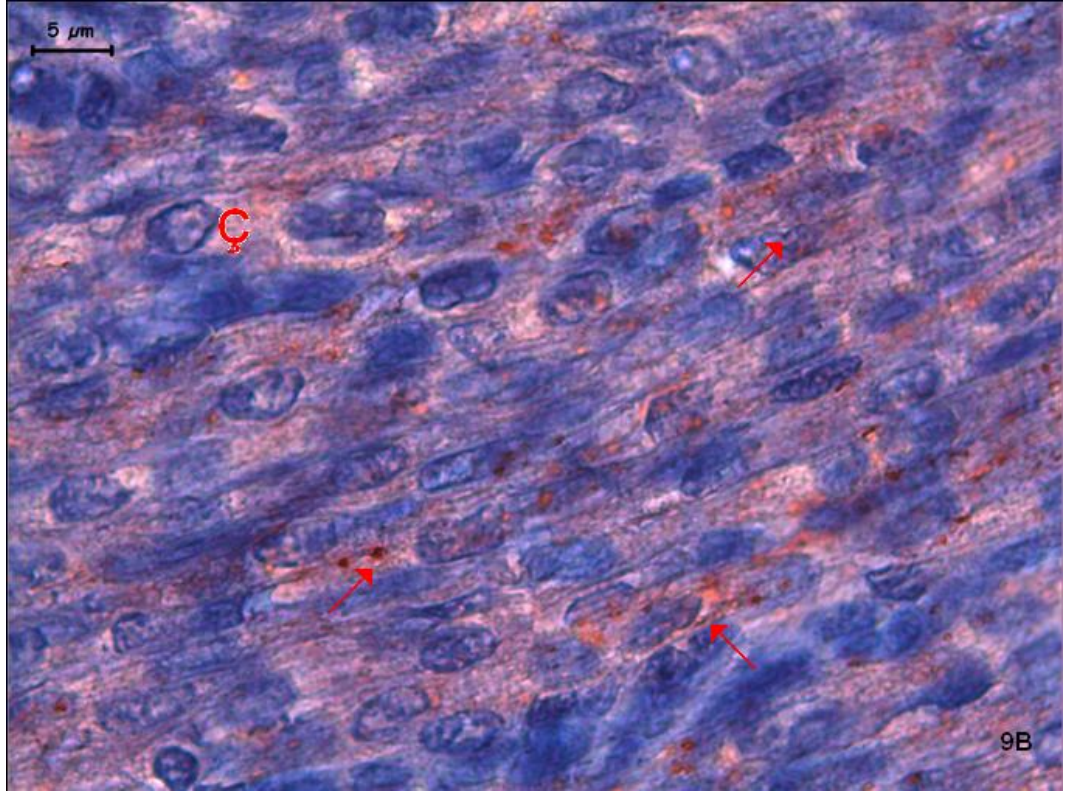
Resim 8A: 20 aylık sıçan kalb'inde E-Kadherin antikor tutulumu. (Küçük büyütme) Kalp Kası hücreleri (★), diskus interkalarisler (→), yan dallar (⇒) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



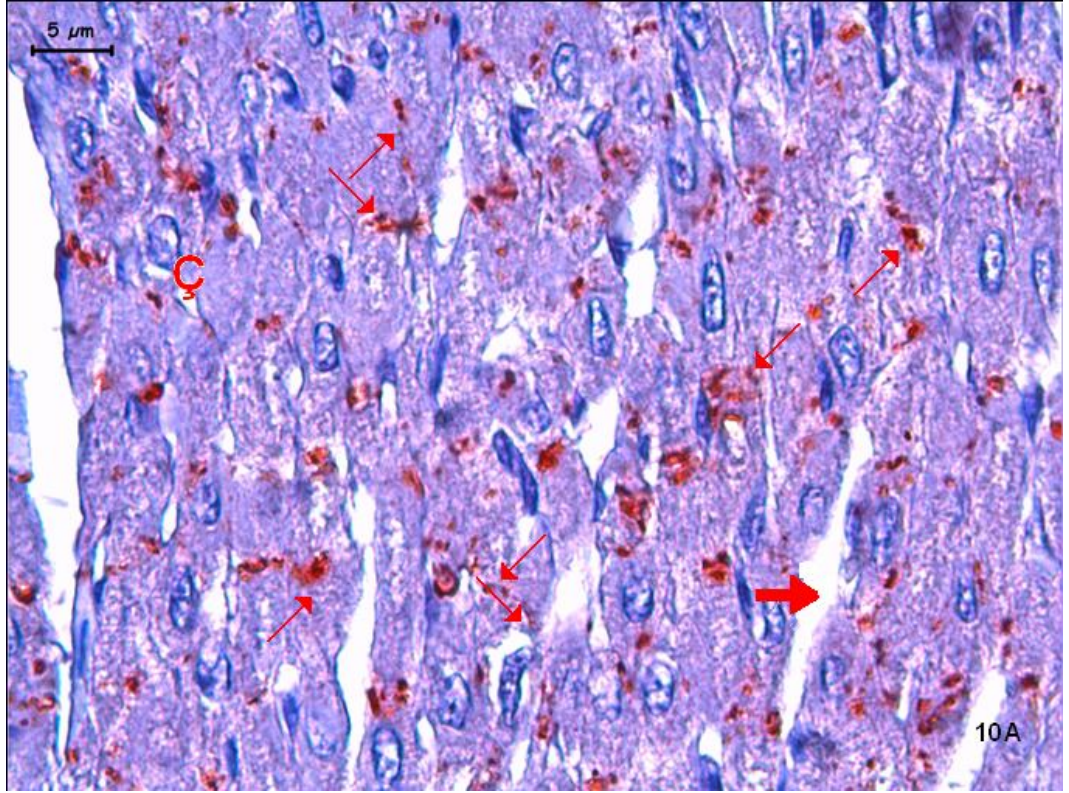
Resim 8B: Aynı grubun büyük büyültmeli resminde E-Kadherin antikoru tutulumu. Kalp Kası hücreleri (★), diskus interkalarisler (→), çekirdekler (Ç) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



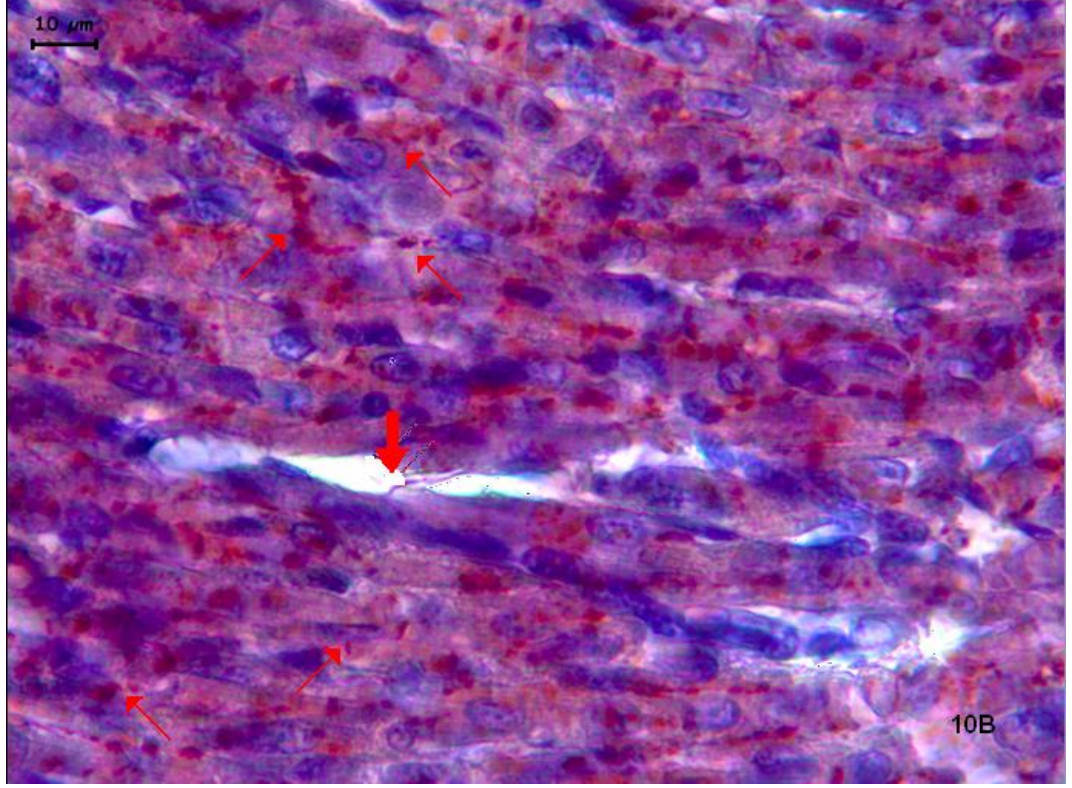
Resim 9A, 9A₁: 1 günlük sıçan kalb'inde Konneksin43 antikoruna tutulumu. (Küçük büyültme) Konneksin43 tutulumu (→), hücreler arası aralıklar (→), çekirdekler (Ç), damarlar (D) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



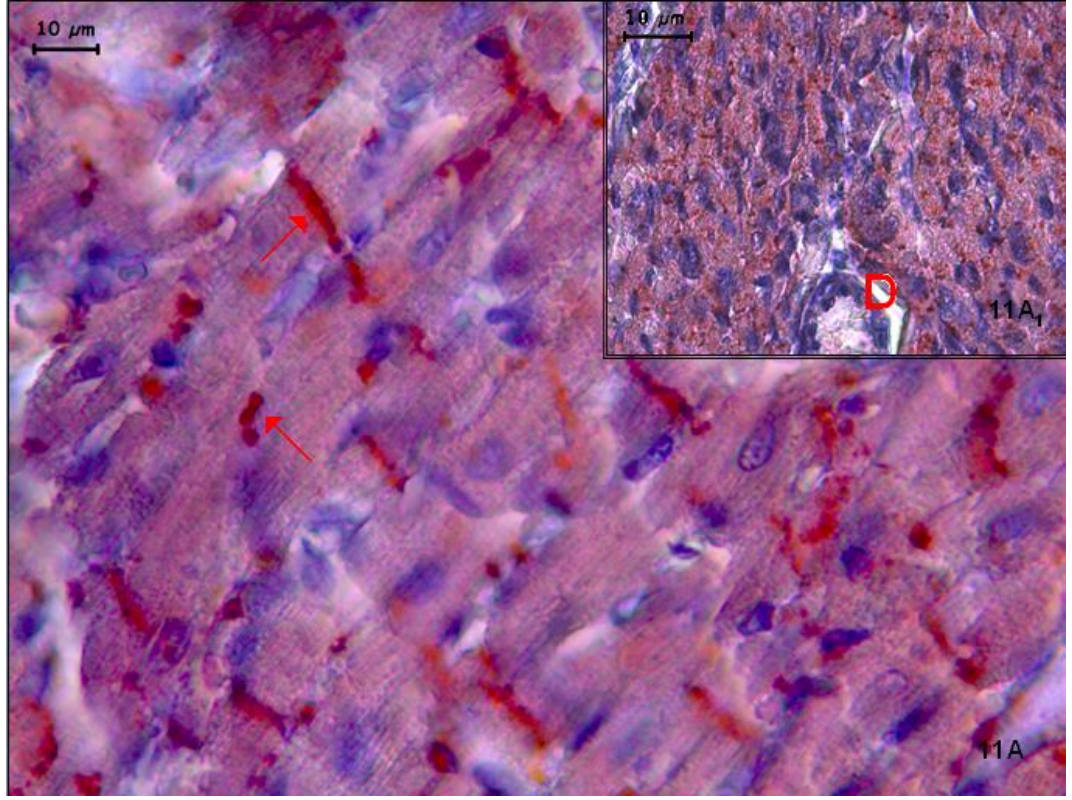
Resim 9B: Aynı grubun büyük büyütmeli resminde Konneksin43 antikoruna tutulumu. Konneksin43 tutulumu (→), çekirdekler (Ç) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



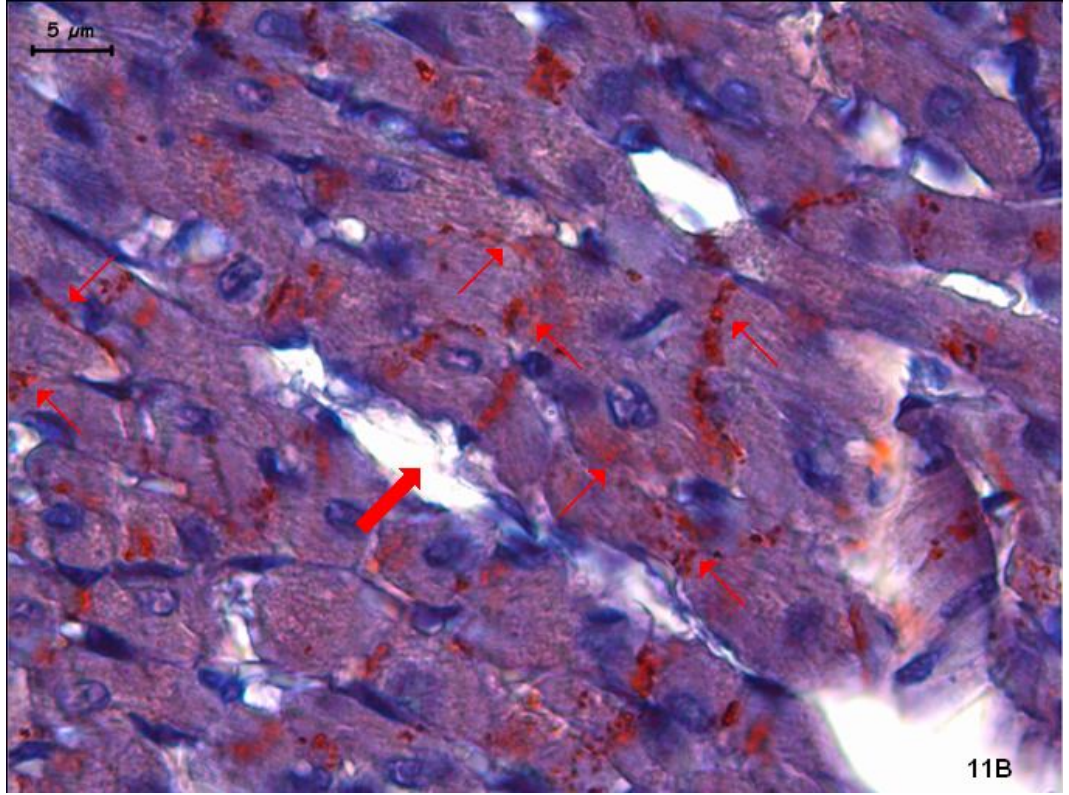
Resim 10A: 22 günlük sıçan kalb'inde Konneksin43 antikoruna tutulumu. (Küçük büyütme)
Konneksin43 tutulumu (→), çekirdekler (Ç), hücreler arası aralıklar (➔)
(İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



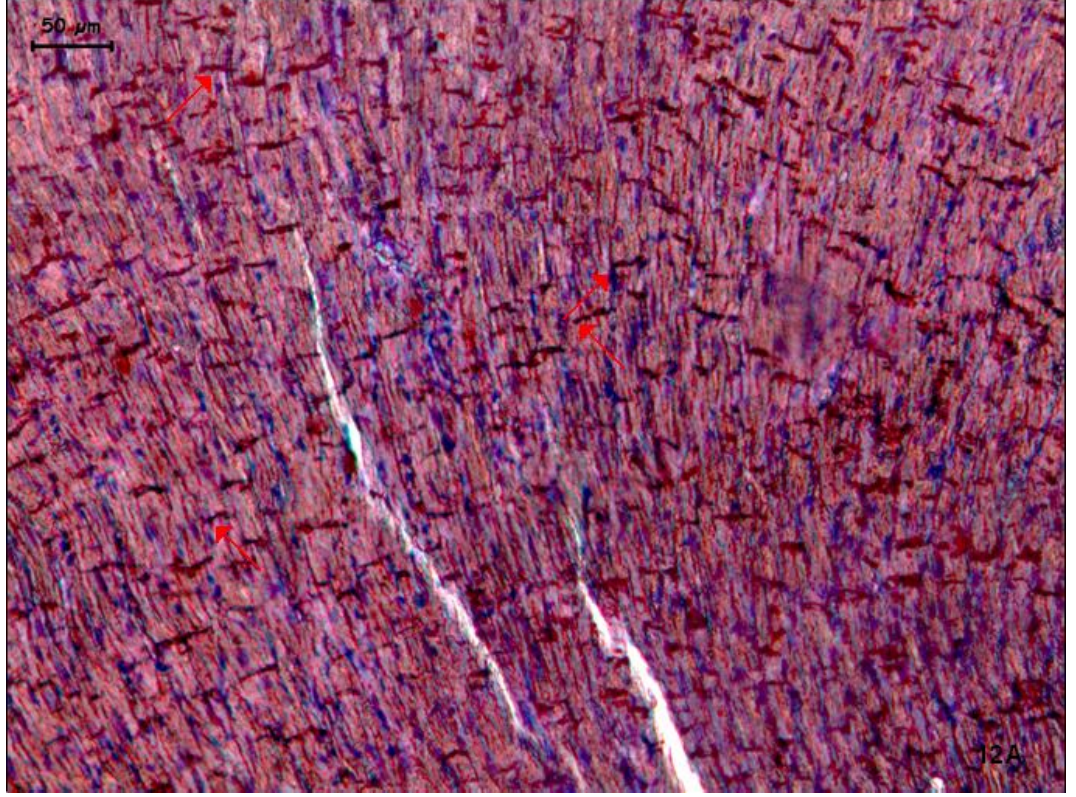
Resim 10B: Aynı grubun büyük büyültmeli resminde Konneksin43 antikorunun tutulumu. Konneksin43 tutulumu (→), hücreler arası aralıklar (→) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



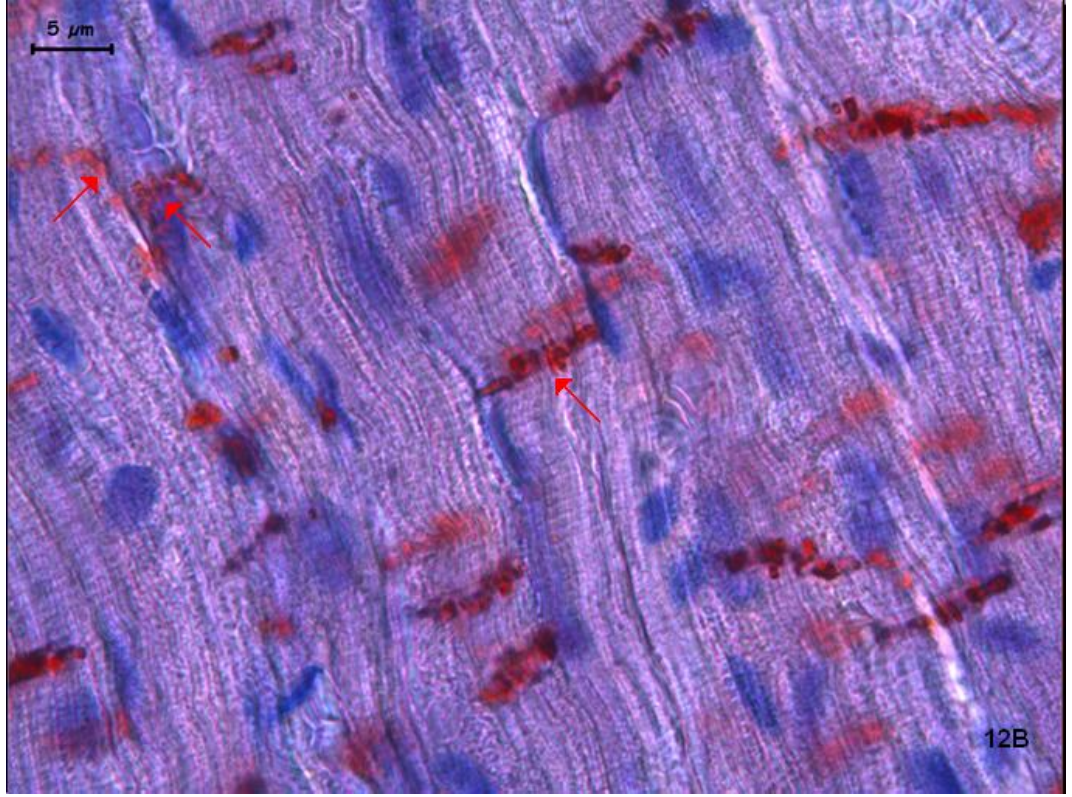
Resim 11A, 11A₁: 10 haftalık sıçan kalb'inde Konneksin43 antikoru tutulumu. (Küçük büyültme) Konneksin43 tutulumu (→), damarlar (D) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



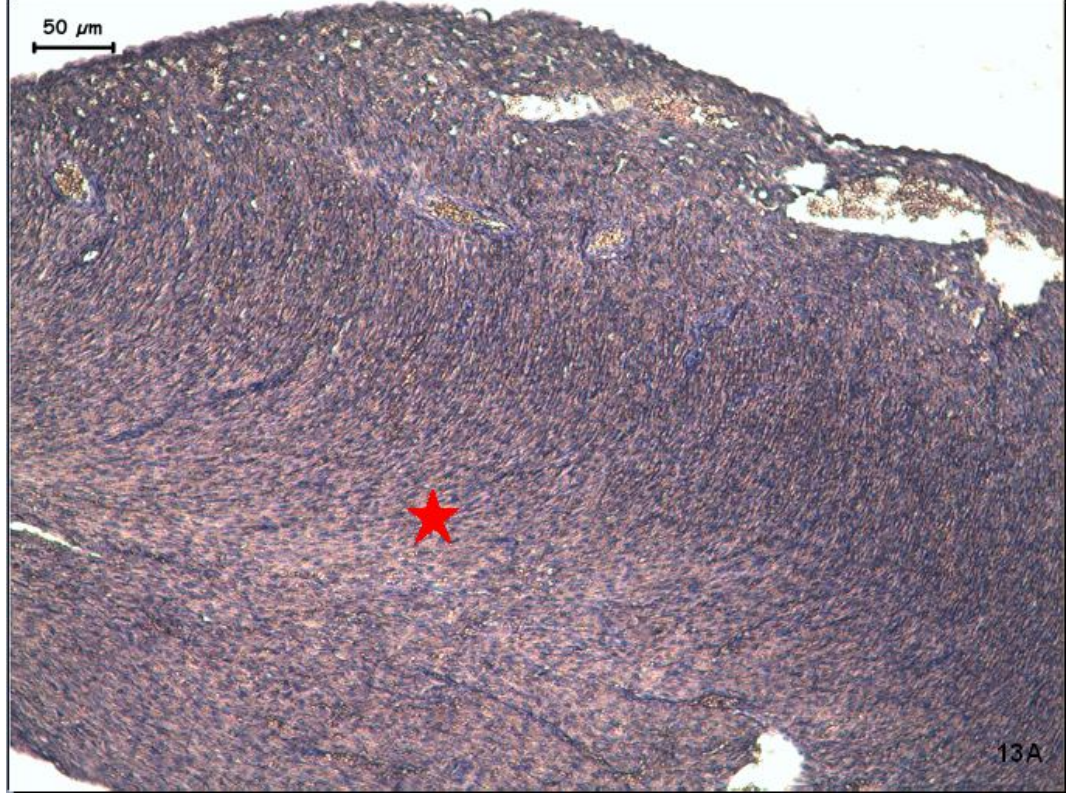
Resim 11B: Aynı grubun büyük büyültmeli resminde Konneksin43 antikoru tutulumu. Konneksin43 tutulumu (→), hücreler arası aralıklar (→) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



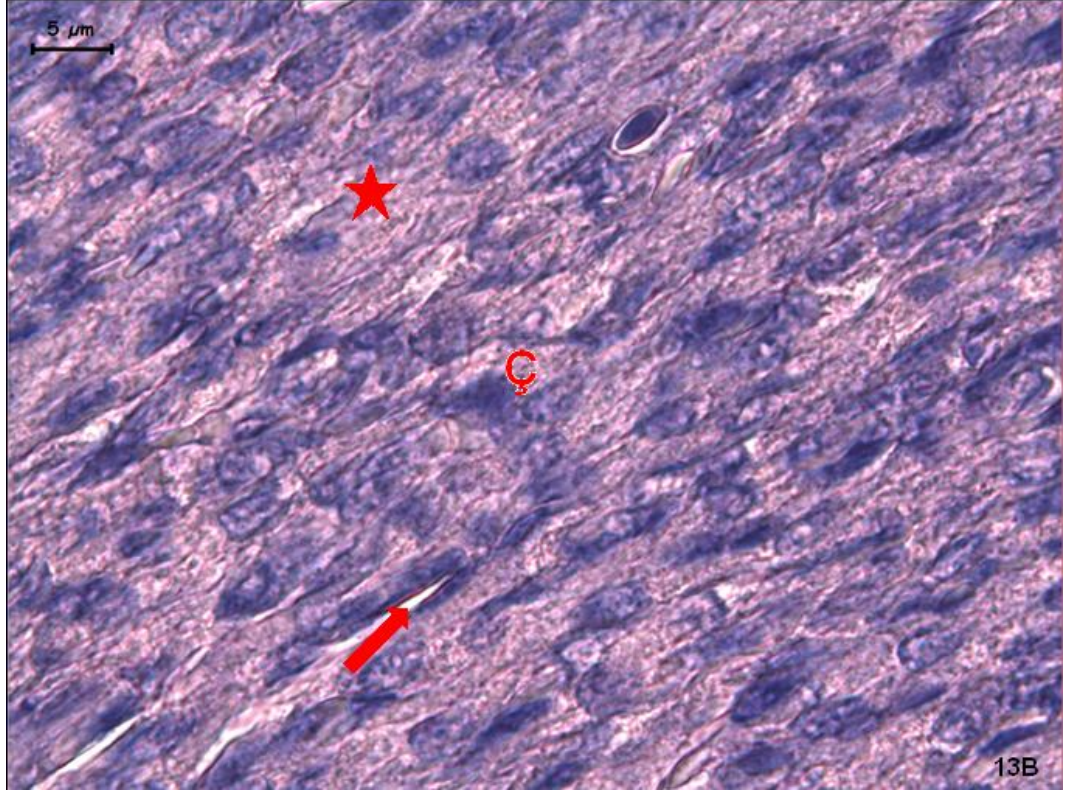
Resim 12A: 20 aylık sıçan kalb'inde Konneksin43 antikoru tutulumu. (Küçük büyültme)
Konneksin43 tutulumu (→) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



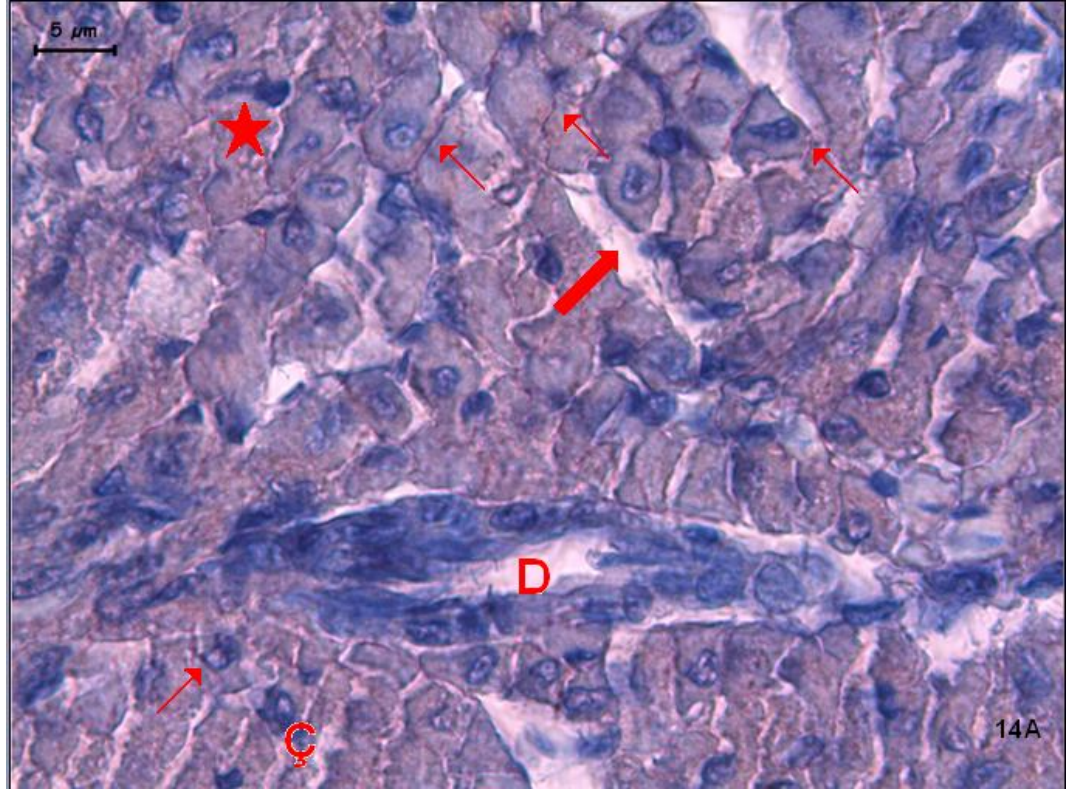
Resim 12B: Aynı grubun büyük büyültmeli resminde Konneksin43 antikoru tutulumu. Konneksin43 tutulumu (→) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



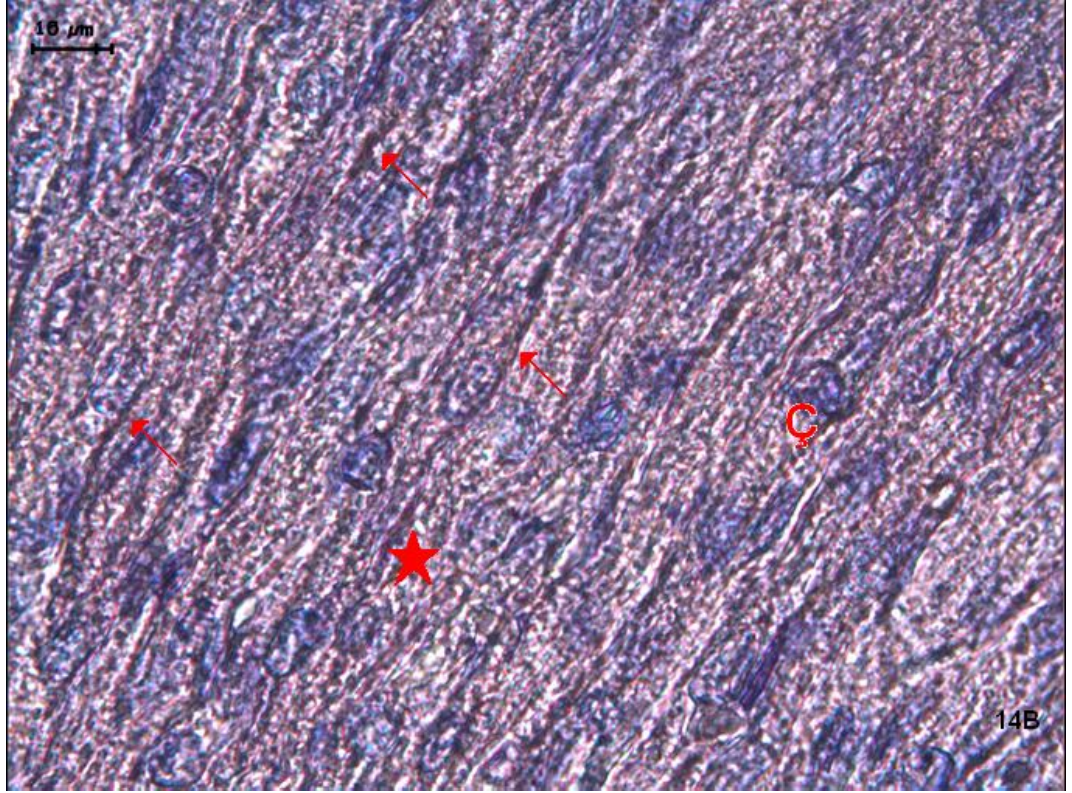
Resim 13A: 1 günlük sıçan kalb'inde kladin5 antikoru tutulumu. (Küçük büyültme) Zayıf ve yaygın sitoplazmik reaktivite izleniyor. Kalp Kası hücreleri (★) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



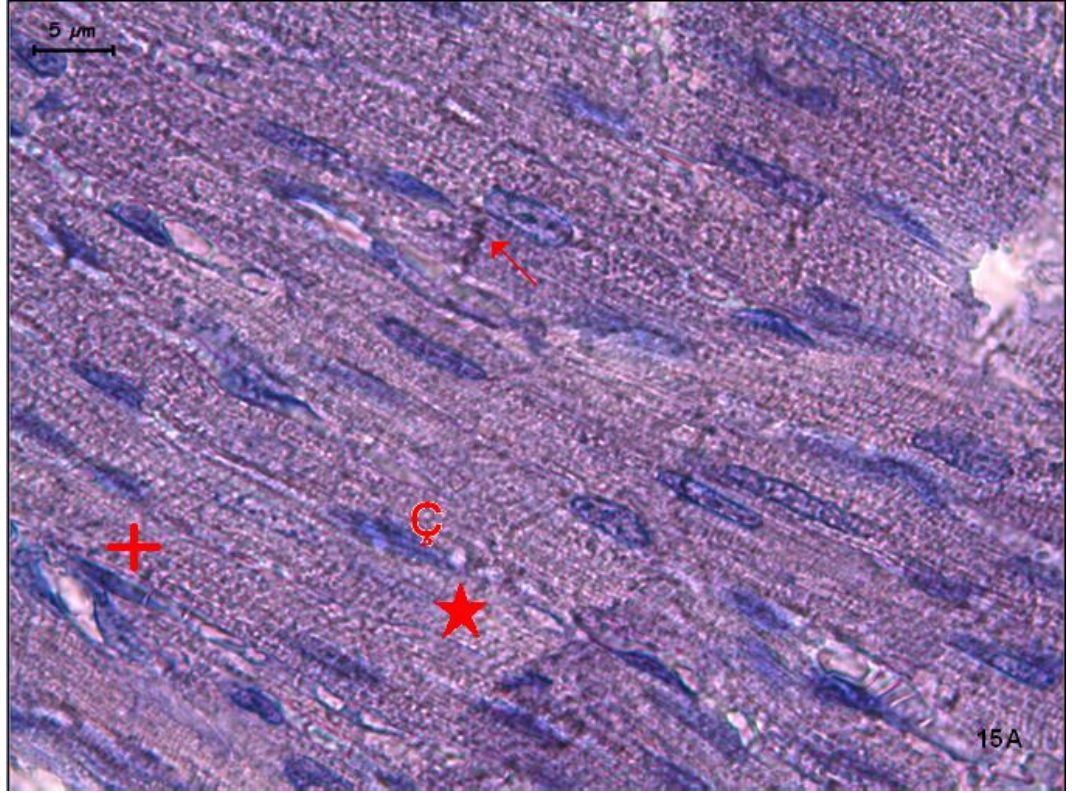
Resim 13B: Aynı grubun büyük büyültmeli resminde kladin5 antikoru tutulumu. Kalp Kası hücreleri (★), çekirdekler (Ç), hücreler arası aralıklar (→) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



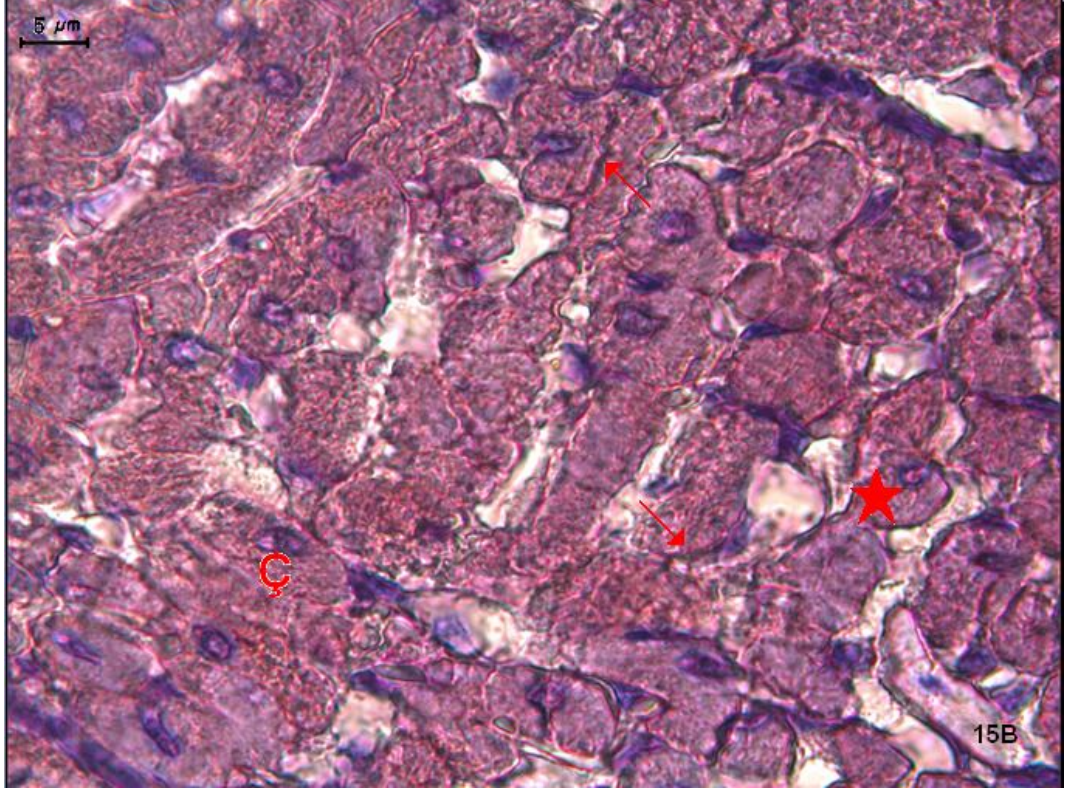
Resim 14A: 22 günlük sıçan kalb'inde kladin5 antikor tutulumu. (Büyük büyültme)
Bağlantı birimlerinde (→) ve kalp kası hücre (★) sitoplâzmasında orta dereceli tutulumlar izleniyor. Kalp Kası hücreleri (★), çekirdekler (Ç), hücreler arası aralıklar (→), bağlantı birimleri (→), damarlar (D). (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



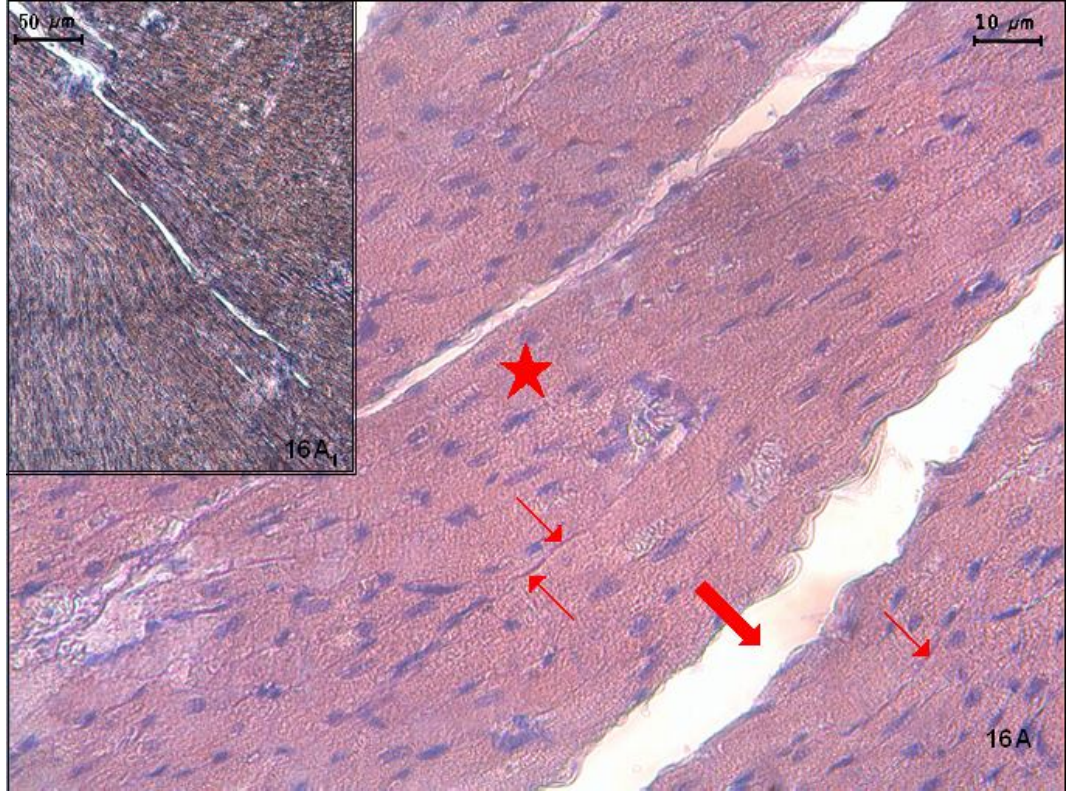
Resim 14B: Aynı grubun küçük büyültmeli resminde klaudin5 antikoru tutulumu. Kalp Kası hücreleri (★), çekirdekler (Ç), bağlantı birimleri (→) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



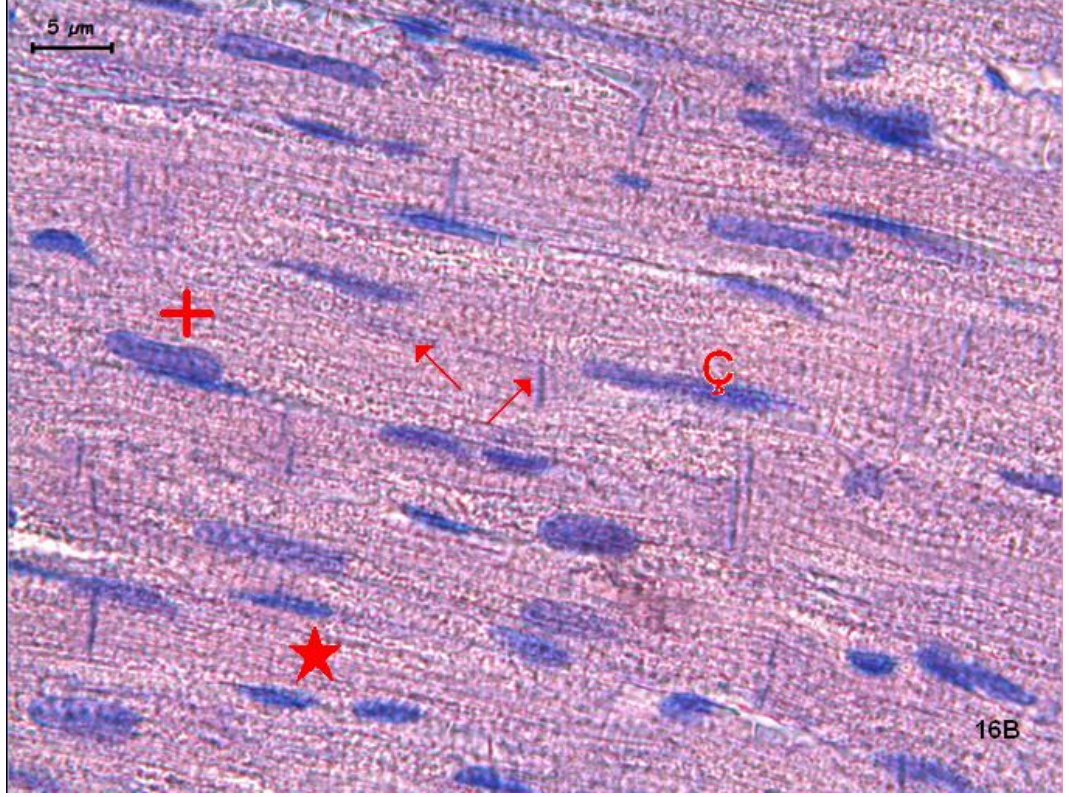
Resim 15A: 10 haftalık sıçan kalb'inde kladin5 antikoru tutulumu. (Büyük büyültme)
Kalp Kası hücreleri (★), çekirdekler (Ç), bağlantı birimleri (→), enine çizgilenmeler (+)
(İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



Resim 15B: Aynı grubun bir başka büyük büyütmeli resminde klaudin5 antikoru tutulumu. Kalp Kası hücreleri (★), çekirdekler (Ç), bağlantı birimleri (→) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



Resim 16A, 16A₁: 20 aylık sıçan kalb'inde kladin5 antikor tutulumu. (Küçük büyültme)
Kalp Kası hücreleri (★), bağlantı birimleri (→), hücreler arası aralıklar (→→)
(İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)



Resim 16B: Aynı grubun büyük büyültmeli resminde klaudin5 antikoru tutulumu. Kalp Kası hücreleri (★), bağlantı birimleri (→),çekirdekler (Ç), enine çizgilenmeler (+) (İmmünoperoksidaz ve Hematoksilen)

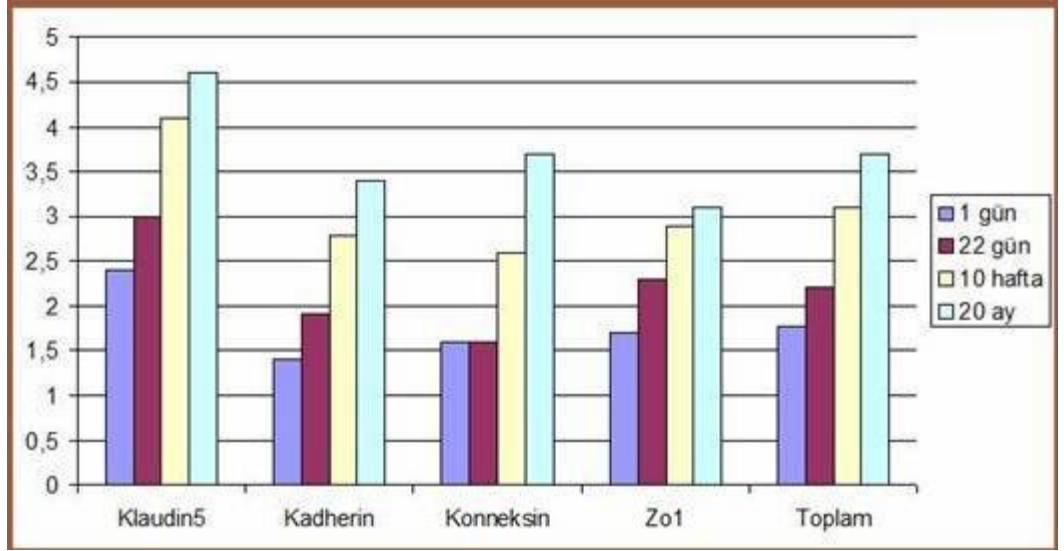
4.2. İstatistiksel Bulgular

Bir günlük, 22 günlük, 10 haftalık ve 20 aylık gruplarda Zo1, Kadherin, Konneksin ve Klaudin antikor tutulumları immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak işaretlenmiş ve yoğunlukları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. (Tablo 1)

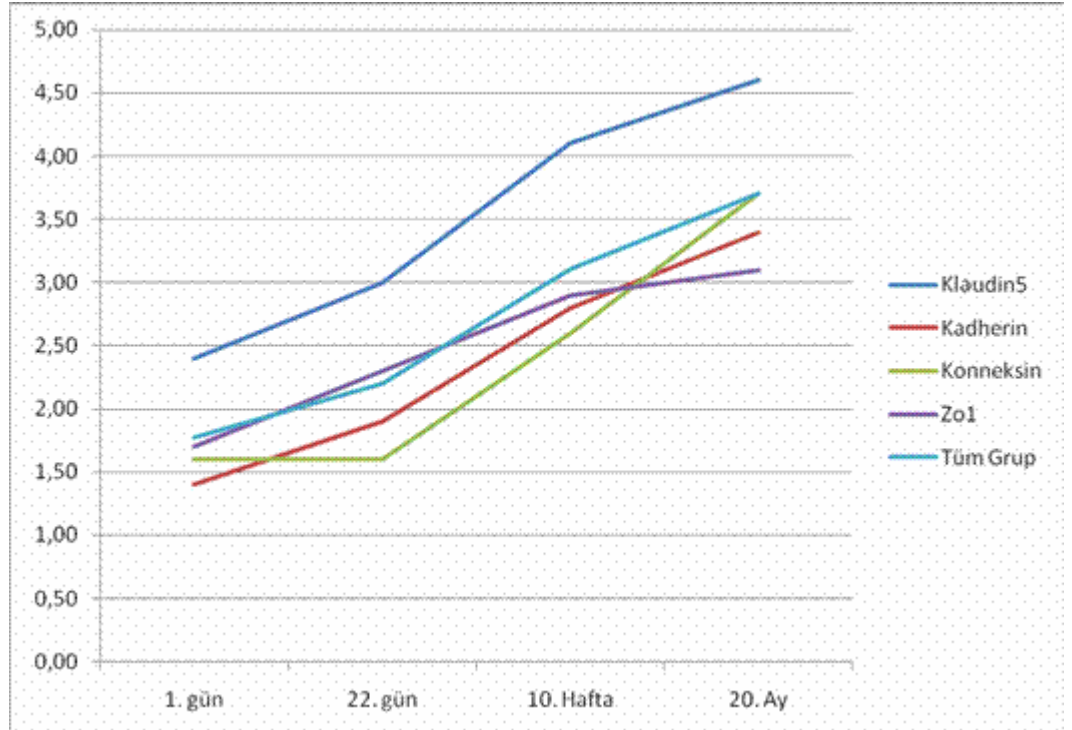
Tablo 1. Antikor tutulumlarının istatistiksel değerlendirmeleri:

Antikor Türü		N	Mean	Median	Std. Deviation	Minimum	Maximum	P
Klaudin5	1. gün	10	2,40	2	0,52	2	3	<0,001
	22. gün	10	3,00	3	0,67	2	4	
	10. Hafta	10	4,10	4	0,74	3	5	
	20. Ay	10	4,60	5	0,52	4	5	
Kadherin	1. gün	10	1,40	1	0,70	1	3	<0,001
	22. gün	10	1,90	2	0,57	1	3	
	10. Hafta	10	2,80	3	0,42	2	3	
	20. Ay	10	3,40	3	0,52	3	4	
Konneksin	1. gün	10	1,60	2	0,52	1	2	<0,001
	22. gün	10	1,60	2	0,52	1	2	
	10. Hafta	10	2,60	3	0,52	2	3	
	20. Ay	10	3,70	4	0,48	3	4	
Zo1	1. gün	10	1,70	2	0,48	1	2	<0,001
	22. gün	10	2,30	2	0,48	2	3	
	10. Hafta	10	2,90	3	0,74	2	4	
	20. Ay	10	3,10	3	0,57	2	4	
Tüm Grup	1. gün	40	1,78	2	0,66	1	3	<0,001
	22. gün	40	2,20	2	0,76	1	4	
	10. Hafta	40	3,10	3	0,84	2	5	
	20. Ay	40	3,70	4	0,76	2	5	

Antikor tutulumları farklı yaş gruplarında incelenmiş ve istatistiksel olarak tutulumların yaşa koşut arttığı belirlenmiştir. (Grafik1, Grafik2)



Grafik 1: Yaş gruplarındaki antikor tutulumlarının bar grafiği



Grafik 2: Yaş gruplarındaki antikor tutulumları çizerge grafiği

Antikor tutulumlarındaki yaşa koşut artışın istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını anlamak için Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Bu testin sonucunda; Klaudin tutulumunda 1 günlük ve 22 günlük gruplar ve 10 haftalık ve 20 aylık gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. 1 günlük ve 10 haftalık grupların, 22 günlük ve 10 haftalık grupların karşılaştırılmasında ve 22 günlük ve 20 aylık grupların karşılaştırılmasında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Kadherin tutulumunda tüm yaş gruplarındaki antikor tutulumu istatistiksel olarak anlamlıdır. Konneksin tutulumunda 1 günlük ve 22 günlük gruplarındaki antikor tutulumları dışında, diğer tüm yaş gruplarındaki antikor tutulumu istatistiksel olarak anlamlıdır. Zo1 antikor tutulumu incelendiğinde 1 günlük ve 22 günlük gruplar ve 1 günlük ve 10 haftalık gruplar karşılaştırıldığında, 1 günlük ve 20 aylık gruplar karşılaştırıldığında ve 22 günlük ve 10 haftalık gruplar karşılaştırıldığında sonuçlar yaş gruplarının istatistiksel olarak farklı olduklarını göstermektedir. (Tablo2)

Tablo2: Antikor tutulumlarının farklı yaş gruplarında ikili karşılaştırılması

Karşılaştırılan Grup	Klaudin5	Kadherin	Konneksin	Zo1	Tüm Grup
1 gün Vs. 22 gün	0,084	0,025	1,000	0,014	0,002
1 gün Vs. 10 hafta	0,004	0,009	0,015	0,010	<0,001
1 gün Vs. 20 ay	0,004	0,005	0,002	0,006	<0,001
22 gün Vs. 10 hafta	0,027	0,021	0,015	0,058	<0,001
22 gün Vs. 20 ay	0,006	0,007	0,004	0,011	<0,001
10 hafta Vs. 20 ay	0,129	0,034	0,009	0,480	<0,001

Antikor tutulumlarının birbirleri ile bağlantılarını anlayabilmek için Kruskal Wallis testi antikorlar arasında yinelenmiş, bunun sonucunda ise 1 günlük grupta klaudin5 ile kadherin tutulumları istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir. Diğer antikorların karşılaştırılmaları sonucunda belirgin farklılıklar bulunmamıştır. (Tablo3)

Tablo3: 1 günlük grupta antikorların Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılması

Karşılaştırılan Antikorlar	P*
Klaudin5 – Kadherin	0,005
Klaudin5 – Konneksin	0,015
Klaudin5 - Zo1	0,029
Kadheri – Konneksin	0,393
Kadherin - Zo1	0,218
Konneksin - Zo1	0,739

Yirmiiki günlük grupta ise klaudin5 ile kadherin ve konneksin tutulumları istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir. (Tablo4)

Tablo4: 22 günlük grupta antikorların Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılması

Karşılaştırılan Gruplar	P*
Klaudin5 – Kadherin	0,003
Klaudin5 – Konneksin	0,000
Klaudin5 – Zo1	0,035
Kadheri – Konneksin	0,353
Kadherin - Zo1	0,218
Konneksin - Zo1	0,029

On haftalık grupta Klaudin5 ile kadherin, konneksin ve Zo1 tutulumları istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir. (Tablo5)

Tablo5: 10 haftalık grupta antikorların Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılması

Karşılaştırılan Gruplar	P*
Klaudin5 – Kadherin	0,001
Klaudin5 – Konneksin	0,000
Klaudin5 – Zo1	0,005
Kadheri – Konneksin	0,481
Kadherin - Zo1	0,853
Konneksin - Zo1	0,436

Yirmi aylık yaşlı grupta yine aynı şekilde klaudin5 ile kadherin, konneksin ve Zo1 tutulumları istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir. (Tablo6)

Tablo 6 : 20 aylık grupta antikorların Kruskal Wallis testi ile karşılaştırılması

Karşılaştırılan Gruplar	P*
Klaudin5 – Kadherin	0,001
Klaudin5 – Konneksin	0,005
Klaudin5 – Zo1	0,000
Kadheri – Konneksin	0,280
Kadherin - Zo1	0,353
Konneksin - Zo1	0,043

5. TARTIŞMA

Kalp ve damar hastalıkları günümüzde yaşlılarda en sık görünen hastalıklardan biridir ve hala en önemli ölüm nedenlerinin başında gelir. Son yıllarda insan yaşamını uzatmayı ve daha kalitelileştirmeyi amaçlayan ve kalp hastalıklarının neden ve tedavilerine yönelik birçok araştırma yapılmaktadır. Kalp dokusunun yapısı, fizyolojisi, anatomisi ve insanların yaşama biçimleri ve beslenme alışkanlıklarının kalp ve damar sistemi üzerine etkileri araştırılmaktadır.

Gottwald ve arkadaşları, 1997 yılında yaşlanmanın oluşturduğu elektrofizyolojik ve yapısal değişikliklerin ventriküler aritmilere neden olabileceğini bildirmişlerdir. Yaşlanmanın kalp üzerindeki elektrofizyolojik ve yapısal değişimlerdeki etkilerini gözleyebilmek için genç ve yaşlı olarak 2 grup tavşan üzerinde çalışmışlardır. Yaptıkları analizlerin sonucunda; yaşlı grupta bulunan tavşanların kalbi besleyen damarlarındaki kan akımının yavaşladığı ve atriyoventriküler kasılma süresinin uzadığı belirlenmiştir. Yaşlı grubun kalp ağırlığının gençlere karşın 3 kat kadar arttığı gözlemlenmiştir. Yapısal incelemeler AV düğüm dokusunda yağ hücrelerinin arttığını, ventrikül'ler arasındaki bağ dokusunun yerleşiminde artış olduğunu göstermiştir. En belirgin bulgu yaşlanmış tavşan kalb'indeki ventriküler kas liflerinin hipertrofisi olmuştur. Bu veriler sonucunda araştırmacılar kalp kası hücreleri arasında bulunan bağ dokusundaki artışın, kalp kası hücrelerinin düzenli dağılımlarını engellediğini ve bunun da kalp atım hızının yavaşlamasına neden olabileceğini bildirmişlerdir.⁵⁸

Kalp dokusundaki yağ birikiminin artması, kalp ve damar sistemi üzerinde yapılan ayrıntılı çalışmaların kalp hastalıklarının kesin nedenlerini açıklayamaya yeterli olmayışı ile farklı fikirler ortaya çıkmıştır.

Ho-Joo Lee ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada kalp dokusunda yağ depolanmasının yaşa bağlı değişimlerini ve bu değişimlerin kalp hastalıklarının nedeni olup olamayacağını araştırmışlardır. Çalışmaları sırasında 4, 12 ve 24 aylık sıçanlardan alınan kalp dokusu örnekleri üzerinde çalışmışlar ve kardiyolipin denilen kalp hücrelerinin iç mitokondriyal zarında bulunan fosfolipit depolarını ve deneklerin plazma sıvılarında bulunan yağ asidi yoğunluklarını incelemişlerdir. Sonuçta kardiyolipin içindeki palmitik asit yoğunluğunun yaşla birlikte azaldığı buna karşın plazma sıvısı içindeki yoğunluğunun arttığı gözlenmiştir. Diğer yağ asitlerinin, kardiyolipin ve plazma sıvısı içindeki yoğunluk değişimleri arasında anlamlı benzerliklere rastlanmamıştır. Palmitik asit, stearik asit, oleik asit, linoleik asit ve aradonik asit işaretleyicileri ile yapılan çalışmaların sonucu olarak kardiyolipin içerik yapısının, yaşlanmayla birlikte yeniden yapılanma gösterdiği, bazı yağ asitlerin yoğunlukları artarken, bazılarının da azaldığı saptanmıştır. Artış gösteren yağ asitlerinin özellikle doymamış yağ asitleri düzeyinde olduğu vurgulanmıştır. Ancak bu artışın yaşlanmayla artış gösteren kalp hastalıklarının nedeni olduğu belirlenememiştir.⁶⁰

Helen ve Norman, 2003 yılında yaptıkları çalışma ile artan kalp hastalıklarının kalp, damar yaşlanmasıyla ilişkisini araştırmışlar ve tüm kalp, damar yapılarını ayrıntılı olarak incelemişlerdir. Arterlerin duvar kalınlıklarının, miyokard yapısının, hücresel ve moleküler değişikliklerin, sol ventrikül yapısının, sistolik işlevlerin, miyokardiyal diyastolik hızın ve egzersiz ile kardiyovasküler işlev değişikliklerinin farklı yaş gruplarında ayrıntılı olarak çalışıldığı araştırmada, yaşlanmaya koşut izlenen tüm yapısal, fizyolojik ve moleküler değişimler sıralanmış, ancak kalp rahatsızlığının nedeni olarak kesin bir sonuca varılamamıştır.

Araştırmacılar özellikle damar yapısındaki değişimler üzerinde durmuşlar ancak belirgin bir yorum getirmemişlerdir. Yaşlanmaya koşut artış gösteren kalp hastalıklarının nedenlerini ortaya koyabilmek için daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerektiği kanısına varmışlardır. ⁶

Carnes ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptığı çalışmada, kalb'in kasılımlarındaki yaşa bağlı değişikliklerin, miyokard miyozin filamanlarında bulunan ağır zincir izoformlarından kaynaklanıp kaynaklanmadığı araştırılmıştır. Farklı yaş gruplarındaki sıçanlarda yaptıkları incelemeler sonucunda, yaşla birlikte miyozin ağır zincir yoğunluğun arttığını ve en belirgin artışın olgunlaşma sırasında gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak, kalp kasılmalarındaki değişikliklerin nedeninin miyozin ağır zincir düzeylerindeki değişimle ilişkili olmadığını bildirmişlerdir. ⁵⁹

Bir grup araştırmacı da çalışmalarında kardiyomiyositler arasında bulunan interkalat disklerde yerleşik bağlantı birimlerinin yapılarını, özelliklerini ve yaşlanma ile kalp hastalıkları gibi olgular karşısında gösterdikleri değişimleri incelemişlerdir.

Thomas ve arkadaşları 2000 yılında fare kardiyak miyosit'lerinin yapısını incelemek için bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada, nekzus'lar ve kalp impulsları arasındaki bağlantı araştırılmıştır. Yeni doğan farelerden alınan ventriküler örnekler sentrifüj yöntemiyle fibroblast bulunduran içeriğinden arındırılıp miyositlerce zengin hale getirildikten sonra, örnekler 14 adet kültür ortamında çoğaltılmışlardır. Voltaja duyarlı bir boya ile RH237 kültür ortamındaki hücreler boyanmış. Elektrofizyolojik değişiklikleri belirlemek için mikroelettrot ölçümleri 4'üncü, 6'ıncı, 7'inci ve 8'inci günlerde yapılmıştır, İmmunohistokimyasal boyama için Cx43 ve N-kadherin kullanılmıştır. 4, 6, 7 ve 8 günlük farelerde

yapılan deneyler sonucu aksiyon potansiyel süresinde azalma gözlenmiştir. Çalışmanın bir diğer aşaması olan Cx43 ve N-kadherin kullanılarak yapılan immunohistokimyasal belirleme ile nekzus'lar ile fasya adherens'lerin yayılımlarının birbirlerinden çok bağımsız olmadığı saptanmıştır.⁵⁰

Jeffrey ve arkadaşlarının 2000 yılında yapmış oldukları çalışmada konneksin 43 gen kodlamasının engellenmesiyle sol ventrikül miyokard'ındaki iletimin azaldığını göstermek amaçlanmıştır. Bunun için null mutasyonu uygulanarak Cx43 kodlaması tek yanlı bloke edilmiş (Cx+/-), kontrol grubu olarak da mutasyona uğramamış Cx43+/+ tipi miyositler kullanılmıştır. Deneyler 5 Cx+/-, 5 Cx+/- tipi yetişkin (18.5 $\pm$ 7 haftalık) farelerde yapılmıştır. İmmunohistokimyasal boyamalar için Cx 43 ve N-kadherin işaretleyicileri kullanılmıştır. Çalışmalarında uyguladıkları mikroskopik ve istatistiksel yöntemlerin sonucunda Cx43 genindeki mutasyonun nekzus ve fasya adherens'lerin oluşumunu etkilediğini ve bunda kalb'in iletim hızını yavaşlattığını bildirmişlerdir.⁶³

Bizim çalışmamızda da kadherin antikor tutulumunu özellikle diskus interkalaris'lerin transvers bölümlerinde gözlemlendi, konneksin tutulumu ise diskus interkalaris'lerin hem transvers, hem de enine bölümlerindeydi. Literatür bilgileri ile uyumlu olarak Transvers bölümlerde her iki antikorun tutulumları birlikte görüldü ve yapmış olduğumuz istatistiksel değerlendirmeler (Kruskal Wallis Testi) sonucunda kadherin ve konneksin antikor tutulumunun anlamlı farklılıklar göstermediği belirlendi. (Tablo 3, 4, 5, 6)

Nicholas J. Severs ve arkadaşları 2000 yılında membranın mekanik yükümlülüğünü, plazma proteinlerini, sarkoplazmik retikulum ve plazma membran bağlantılarını inceleyen ayrıntılı bir çalışma yapmışlardır.

Desmozomlar ve fasya adherens'lerin hücrelerarası sıkı bağlantılar oluşturduğunu ve nekzus'ların hücrelerarası madde geçişini düzenlediğini belirtmişlerdir. Konneksin 43'ün memelilerde ventriküller ve atriyal kardiyosit'lerde en çok bulunan konneksin tipi olduğunu ancak konneksin 40 ve 45'inde özellikle kalb'in ileti sistemini oluşturan S.A. , A.V. düğümleri, His demeti ve Purkinje lifleri gibi özelleşmiş yapılarda bulunduğunu saptamışlardır. Çalışmada geçirgenliği fazla olan kanallarda konneksin 40'ın etkili olduğunu gözlemlediklerini, geçirgenliği daha az olan kanallarda ise konneksin 45 antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamaların etkili olduğunu vurgulamışlardır. ⁵¹

Heather S.Duffy ve arkadaşları 2002 yılında yapmış oldukları çalışmada nekzus oluşumunu, konneksin proteinlerinin bağlanma yapılarını ve nekzus'lar ile ilişkili olan diğer proteinleri açıklamaya çalışmışlardır. Çalışmada sıkı bağlantı birimlerini oluşturan Z01, okludin ve klaudin proteinlerinin, nekzus'ları oluşturan (konneksin) proteinleri ile ilişkili oldukları bulunmuştur. Aynı zamanda fasya adherens'leri oluşturan katenin gibi proteinlerinde konneksin proteinleri ile ilişkileri belirlenmiştir. Bu çalışma ile nekzus'ları oluşturan konneksin proteinlerinin yerine ve komşu bağlantı biriminin tipine göre farklı konneksin proteinlerince oluşturuldukları saptanmıştır. Örneğin Z01 ile ilişkili olan konneksin 45, sıkı bağlantı birimi yapısının hemen komşuluğunda bulunan nekzus'u oluşturan proteinlerden biridir. Konneksin 26'nın okludin ile, konneksin 32'nin klaudin ve Zo1 ile, konneksin 43'nin ise katenin proteinleri ile sıkı ilişkide oldukları saptanmıştır. ³

Bizde istatistiksel değerlendirmelerimiz sonucunda (Kruskal Wallis Testi) Zo1 ve konneksin antikor tutulumunun istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermediğini saptadık. ($P=0.739>0.05$). Mikroskop görüntülerinin değerlendirilmesi sonucunda ise Zo1 antikoru tutulumunun diskus interkalaris'lerin enine bölümlerinde yaygın olduğunu gözlemledik.

Konneksin tutulumu ise diskus interkalaris'lerin hem transvers, hem de enine bölümlerindeydi. Literatür bilgileri ile uyumlu olarak diskus interkalaris'lerin enine bölümlerde her iki antikorun tutulumları birbirleri ile bağlantılı idi. Kruskal Wallis testi ile konneksin ve klaudin antikorlarını tutulumları arasında anlamlı bir farklılık olmadığını belirledik ($P=0.015>0.05$). Özellikle 20 aylık yaşlı grubumuzun mikroskop görüntülerinde konneksin ile klaudin antikor immüntepekimleri eşdeşti. (Tablo6)

CX43 ve ZO1 arasındaki ilişki birçok çalışmada araştırılmıştır.

Toshihiko ve arkadaşlarının 1997 yılında yapmış oldukları ikili imminohistokimyasal boyama sonucu CX43 ve Zo1 proteinlerinin birbirleriyle bağlantılı oldukları bulunmuştur. Kardiyak miyositlerde bulunan interkalat diskler'de Zo1 ve CX43 tutulumları incelenmiş ve CX43'ün C-sonlanım parçası ile Zo1'in N-sonlanım parçası arasında doğrudan bir bağlantı kurulduğu gözlenmiştir. Bu bağlantıdan yola çıkan araştırmacılar Zo1 proteininin nekzus oluşumunda ve yerleşiminde yer aldığı sonucuna varmışlardır.⁶⁶

David ve arkadaşları, 2003 yılında kardiyak interkalat diskler'de bulunan fasya adherens bağlantılarının ve desmozom'ların yapılanmasının nekzus'lardan bağımsız gerçekleştiğini ortaya koymak için bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında konneksin 43 kodlayan genin knock-out mutasyonu ile engellendiği fareler ve konneksin 43 proteini sentezleyebilen kontrol grubu fareler kullanmışlardır. İmmünohistokimyasal boyamalarda CX43'e ek olarak kadherin, desmoplakin, katein, plakoglobin, vinkulin, Zo1 ve tubulin antijenleri kullanılmıştır. Elektromikroskop görüntüleri sonucu mutant farelerde hiç

CX43 tutulumu gözlenmezken, diğer antijen tutulumlarının kontrol grubu farelerdeki tutulumlardan farklılık göstermediği gözlemlenmiş ve fasya adherens bağlantılarının ve dezmozom oluşumunun nekzus oluşumundan bağımsız gerçekleştiği saptanmıştır.⁶⁴

Ralph ve arkadaşlarının 2002 yılında yapmış oldukları çalışma ile nekzusların yeniden yapılanması sırasında CX43'ün Zo1 ile yaptığı bağlantıların arttığı gözlenmiştir. Araştırmacılar yetişkin sıçan kalb'indeki miyokard'da CX43 ve Zo1 ilişkisinin az ya da orta düzeyde olmasına karşın, miyositler arasındaki hücre içi bağlantıların hasar görmesine neden olan nekzus endositozunu azaltan işlemler sonucunda CX43 ve Zo1 arasındaki bağlantının belirgin farklılıklar gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Bu bulgulardan yola çıkan araştırmacılar, nekzus endositozu sırasında CX43 döngüsünün Zo1 proteinlerince düzenleniyor olabileceğini bildirmişlerdir.⁶⁷

Gemma ve arkadaşları sıkı bağlantı birimi proteinlerinden okludinin yapısı, işlevi ve düzenlenmesi üzerine çalışmışlardır. 2004 yılında tamamladıkları çalışmalarında okludin ile Zo1, Zo2, Zo3 ve JAM molekülleri arasında bağlantılar kurulduğunu saptamışlardır. Çalışmanın bir diğer sonucu olarak da okludin tutulumunun farklı organ ve dokularda, farklı miktarlarda olduğunu bulmuşlardır. Kalp, damar sistemi içinde okludin yoğunluğunun oldukça fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bunun en önemli nedeni olarak damarlardaki geçirgenliğinin kontrollü olmasını göstermişlerdir. Sıkı bağlantı birimlerinin üstlendiği bariyer görevi nedeniyle okludin'in yapısı ve dağılımlarının birçok hastalık için önemli olduğunu vurgulamışlardır.⁶⁸

Alan ve arkadaşları 1998 yılında yaptıkları çalışmada sıkı bağlantı proteinlerinden ZO1' in okludin ve aktin arafilamanları arasında

bağ kurduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmaları sırasında; in vitro ve in vivo deneylerde ZO1 de bulunan prolinden zengin C sonlanımında aktin'e bağlanan amino asitleri bulmuşlardır. ZO1'in N sonlanımı ile okludin proteinine bağlandığını bildirmişlerdir. Yaptıkları immünohistokimyasal boyamalar sonucunda aktin, okludin ve ZO1 tutulumlarının eşdeğer dağılımlar gösterdiğini belirtmişlerdir.⁷¹

Tokuyasu ve arkadaşlarının, 1981 yılında yapmış oldukları ikili elektron mikroskopik immunohistokimyasal işaretleme sonucu fasya adherens'lerde vinkulin ve α -aktinin antijenlerinin dağılımları araştırılmıştır. α -aktininin z-bantlarında ve fasya adherens'lere yakın bölgelerde bulunduğunu, vinkulin'in ise interkalat diskler'de fasya adherens'lerin yapısında olduğunu göstermişlerdir.⁶¹

Cecillia ve arkadaşları 1996 yılında yaptıkları çalışmada N-kadherin proteininin hücre-hücre bağlantısındaki önemini göstermeyi amaçlamışlardır. Çalışmada tavuklardan alınan N-kadherinler, kültür ortamında yetişkin sıçan kardiyomiyositlerine uygulanmış ve bölünmeyen bu hücreler arasında, hücre içindeki proteinlerin bir araya gelerek, plazma zarındaki N-kadherinlerle ilişki kurmaları ile bir bağlantı noktası oluştuğu gösterilmiştir. Kültür ortamındaki yetişkin sıçan kardiyomiyositlere N-kadherin proteini sentezleme yeteneğini mutasyonla yok eden baskın gen parçaları uygulandığında hücrelerarası bağlantıların ortadan kalktığı izlenmiştir.⁷³

Kalb'in ileti sistemi yapılarından sinoatriyal düğüm, kalp atışını başlatması işleviyle önemlidir. 2004 yılında yaptıkları çalışmayla, SA düğümdeki konneksin proteinlerinin iletkenliğinin yaşa bağlı değişimlerini inceleyen Sandra ve arkadaşları, bu değişimleri izleyebilmek için farklı yaş gruplarından domuzlar kullanmışlardır. Yeni doğandan

başlayarak, yaşlı deneklerin sinoatriyal düğüm'lerindeki Cx43 tutulumları incelediklerinde yaşlanma ile birlikte konneksin 43 dağılımının belirgin bir şekilde azaldığını ve konneksin 43 bulunmayan bölgelerin yüzey olarak arttığını gözlemlemişlerdir.⁵⁴

Hung ve arkadaşları 2000 yılında yapmış oldukları çalışmada sıçanların aorta endotel'lerinde bulunan nekzus'ların yaşa bağlı değişimlerini ve yaşla birlikte dokuların konneksin tutulumundaki değişiklikleri incelenmiştir. Çalışmada Cx37, Cx40 ve Cx43 tutulumları immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak gözlemlenmiştir. Yaptıkları incelemelerin sonucunda aort endotel'inde bulunan nekzus'ların farklı yaş gruplarında farklı yapılar gösterdiğini, ancak yaşlanmayla birlikte 3 antijen tutulumunda da azalma olduğunu saptamışlardır. Doğumun hemen ardından, yaşlı bireylere değin incelediklerinde, nekzus'larda bulunan Cx43'ün düzenli olarak azaldığını, Cx37'nin yeni doğandan, yetişkine değin azalma gösterdiğini, yetişkinde arttığını ancak yaşlılarda en düşük düzeye ulaştığını izlemişlerdir. Cx40'ın ise yeni doğan-genç arası evrede azaldığını, gençlik evresinde arttığını, yetişkin ve yaşlılarda ise azalmayı sürdürdüğünü bildirmişlerdir. Nekzus'ların boyutlarındaki artış yaşa koşut fazla bir değişiklik gözlemlememişlerdir. Cx43, Cx37 ve Cx40 tutulumlarında yeni doğandan başlayarak azalma, yaşlılarda ise en düşük tutulum olduğunu belirtmişlerdir.⁵⁵

Nicholas ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir diğer çalışmada yaşın ilerlemesiyle nekzus'lar ve fasya adherens'ler arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmada, insan gelişiminin ilk aşamalarından itibaren miyokard'daki nekzus'larda ve fasya adherens'lerdeki değişiklerin ortaya konulması planlanmıştır. Yaşları 4 ile 15 arasında değişen 20 kişinin sağ ventrikülünden farklı yöntemlerle alınan doku örnekleri, immunohistokimyasal olarak boyanmış ve incelenmiştir. Örnekler konjenital doğum defekti olan hastaların ameliyatları sırasında, ya da

organ implantasyonundan hemen önce alınan rutin biyopsilerlerden sağlamıştır. Nekzus'ların immunohistokimyasal olarak boyanması için Konneksin43, fasya adherens'ler için N-kadherin kullanılmıştır. 6 yaşa değin nekzus'ların dağılımlarının çizgisel şekilde artış gösterdiği gözlenmiştir. Elektromikroskop incelemeleri sonucunda fasya adherens'lerinde dağılımında nekzus'larla benzerlik olduğu izlenmiştir.⁵²

Bizde çalışmamızda Zo1, kadherin, konneksin ve klaudin antikor tutulumlarını farklı yaş gruplarında hem mikroskopik görüntülerde, hemde istatistiksel olarak inceledik. Mikroskopik incelemeler sonucunda; Zo1 immünreaksiyonunun 20 aylık yaşlı grupta bazı bölgelerde tamamen ortadan kaybolduğunu gözlemledik. Kadherin antikor tutulumu da yaşla birlikte azalır, dağınık yayılım göstermişti. Konneksin tutulumu 1 günlük yenidoğan grupta sitoplazmikken, diğer 3 yaş grubunda bağlantı birimlerinde yoğun ve eşdeşti. Klaudin immünreaksiyonu ise 1 günlük yenidoğan grupta az, diğer 3 yaş grubunda bağlantı birimlerinde orta dereceli ve eşdeşti. İstatistiksel değerlendirmelerimiz ise literatür bilgilerinin aksine dört antikor tutulumunun da yaşa koşut artış gösterdiğini göstermekteydi. (Grafik 1, Grafik 2, Tablo1)

Günümüzde nekzus'ların gelişim düzeneği halen ortaya konulamamıştır.

Brigit ve arkadaşlarının 1997 yılında yapmış oldukları çalışmada nekzus'ların, desmozom'ların ve fasya adherens'lerin kesin dağılımlarını araştırılmıştır. Çalışmada 15 günlük sıçan embriyosundan ve doğum sonrası 1, 5, 10, 20, 40, 70 ve 90. günlerinde bulunan sıçanlardan alınan miyokardium örnekleri incelenmiştir. Nekzus'ları belirlemek için Cx43, desmozom'lar için anti-desmoplakin, fasya adherens'ler için de N Kadherin antikorları kullanılmıştır. Elektronmikroskopik görüntülerden

doğum sonrası gelişim süresince nekzus'ların, fasya adherens'lerin ve desmozom'ların sayılarının arttığı ve daha sıkı düzenlendikleri gözlenmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda 3 aylık köpek ve 20 günlük sıçanın ventriküler miyokardiyum'undan alınan örneklerde Cx 43 kullanılarak nekzus'lar açısından karşılaştırılmıştır. Belirgin farkların olmaması, memelilerde nekzus'ların yayılımında eşdeşlik olduğunu göstermiştir.⁵³

Huang ve arkadaşları, 1998 yılında nekzus oluşumunda yer alan Cx43 kodlayan genlerin ve Cx43 yoğunluğunun kalp gelişimindeki yerini anlamak için bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında Cx43 kodlayan genin tek ve çift taraflı mutasyonunun yanında, Cx43 yoğunluğunun gelişim için önemini gösterecek olan fazla Cx43 sentezini sağlayacak transjenik fareler kullanmışlardır. Homozigot mutasyon sonucu kronik trunkal kesenin iki adet oluşması ve konotrunkal duvarın düzensiz oluşumu gözlenirken, heterozigot mutasyona uğramış transjenik farelerde büyümüş sol ventrikül ve konotrunkusun genişlemesi gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonunda Cx43 proteinin azlığının ve çokluğunun kalb'in gelişiminde çeşitli anormalliklere neden olduğu bildirilmiştir.⁶⁵

Birçok çalışmada da geçirilmiş çeşitli kalp hastalıkları ardından kalb'in miyosit'lerinde ve iletim sistemi hücrelerindeki bağlantı birimlerinde olaylanan değişimler immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir.

Kalp impulslarının düzenlemesi görevi nedeniyle nekzus'ların kalp hastalıklarında kritik rolü olduğunu söyleyen bilim adamları, nekzus'ların sıkı bağlantılar ile ilişkilerini araştırmışlardır.

James ve arkadaşları yaptıkları çalışmada yaşları 34 ± 13 arasında değişen kalp hastalığı geçirdiği bilinen kadın ve erkek bireylerin sol ventrikül duvarından aldıkları biyopsilerde Cx43 ve Zo1 antikorların tümüyle sağlıklı bireyler ile karşılaştırmışlardır. Kalp hastalıklarında Zo1 ekspresyonunda azalma olduğunu ve Zo1 proteinlerinin azalmasının Cx43 proteinlerinde, dolayısıyla nekzus'ların sayısında da azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.⁵⁶

Nicholas J.Severs ve arkadaşları 2003 yılında yapmış oldukları çalışma ile insanlarda gelişen kalp hastalıklarında nekzus'ların yapısının değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmalarında özellikle kardiyomiyosit'lerde sık görülen koneksin 40, koneksin 43 ve koneksin 45 ekspresyonunu iskemik kalp hastalığı ve by-pass ameliyatı sonrası atriyal fibrilasyon yaşamış bireylerin kalp dokusu örneklerinde incelenmişlerdir. İskemik kalp hastalığının ardından konneksin dağılımının azaldığını gözlemlemişlerdir. Sağ ve sol ventriküler dokuları incelendiğinde sol ventriküldeki azalmanın daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. By-pass ameliyatının ardından atriyal fibrilasyon yaşayan bireylerden alınmış örneklerde ise koneksin dağılımında artış olduğunu saptamışlardır.⁶²

Habo ve Ronald 2000 yılında yayınladıkları çalışmalarında kardiyovasküler hastalıklarda nekzus'larda gözlenen değişiklikleri incelemişlerdir. Normal miyokardium'da nekzus'ların kalb'in ileti sistemini oluşturan düğümlerde daha yoğun bulunduğunu belirten araştırmacılar geçirilen kalp hastalığının ardından Cx43 tutulumunun yaklaşık %40 oranında azaldığını ancak interkalat disk'lerin sayısında bir değişiklik olmadığını belirlemişlerdir. Bu durumun da interkalat disk'lerin yapısının bozulmasına neden olduğunu vurgulamışlardır.⁷⁰

Peters ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarında ventriküler miyokardium'da bulunan nekzus'ların kronik hipertrofi ve iskemi sonucunda azaldıklarını saptamışlardır. Çalışmalarda insan kalb'inden biyopsi için alınan örnekleri kullanmış ve bunları sağlıklı insan kalb'inden alınan örneklerle karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırmada Cx43 immunohistokimyası kullanarak, konfokal mikroskop incelemeleri yapılmış ve sonuç olarak kalp hastalıklarının ardından nekzus'ların yüzey ölçümünde azalma gözlemlemişlerdir.⁷²

Sebastian ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada olgun miyokardiyal İnterkalat disk'lerde, desmozom benzeri yapıların ve diğer bağlantı birimlerinin yaşla birlikte bozulduğu, birlikte oluşturdukları hibrid yapıların yiterek ve parçalı alan adı verilen alanları oluşturdukları bildirilmiştir. Çalışmada embriyonik gelişimin, 9.5, 10.5 ve 13 üncü günlerinde ve doğum sonrası gelişimin 1, 6, 12. günlerinde, 3. haftasında ve 1. yaşındaki farelerin kalb'lerinden alınan örnekler kullanılmıştır. Örnekler N-kadherin, desmoplakin, desmophilin, desmokollin, vinkulin ve α -aktinin antikorları ile immunohistokimya uygulanmıştır. Yapılan elektromikroskop incelemelerde, doğum öncesi gelişim süresince, yeni doğan ve doğum sonrası dönemin erken evrelerinde birbirleriyle ilişkili dağılımlar gösteren bağlantı birimlerinin gelişimin geç evrelerinde bozularak parçalı alanları oluşturdukları gözlenmiştir.⁶⁹

6. SONUÇ

Çalışmamızda tüm gruplarda gözlenen Zo1 tutulumunun, gelişimin erken döneminde özgün olmadığı dikkati çekti. Kas hücrelerinde zayıf tutulum izlenirken, yaşlanmaya koşut tutulumunun arttığı ve özgünleştiği görüldü. 22 günlük grupta diskus interkalaris'lerin enine kesitlerinde yaygın tutulum gözlemlendi. 10 haftalık grupta özgün tutulumun yanı sıra kas liflerindeki orta düzeydeki sitoplazmik tutulum dikkati çekti. Yaşlı grupta (20 ay) ise bazı diskus interkalaris bölgelerinde yoğun tutulum gözlenirken, bazılarında gözlenmediği ilgiyi çekti.

Yaşlılarda yoğun tutulum gözlenmesinin, sıkı ve ara bağlantı birimlerindeki yapısal bozulmalar nedeniyle olabileceği düşünüldü. Yerel alanlardaki yoğun tutulum, bozulmanın bu bölgelerce telafi edilmeye çalışması sonucu olabilir kanısındayız.

Deneklerimizde kadherin tutulumunun tüm yaş gruplarında olduğu ve yaşlı gruba (20 ay) kadar özgünleşerek artış gösterdiği, izleyen dönemlerde yaşlanmaya koşut orta dereceli ve dağınık tutulum gösterdiği gözlemlendi. Bunun fasya adherens yapısındaki bozulmayla ilgili olduğu düşünüldü.

Zo1 ve klaudin antikor tutulumunun yaşla birlikte yerelleşiyor olmasının ve bazı bölgelerde hiç boyanma olmamasının, bağlantı birimlerinde yaşla birlikte gelişen yapısal bozulma ile ilişkili olduğu sonucuna varıldı.

Zo1, klaudin ve benzer şekilde kadherin immünreaktiviteleri genç gruplarda zayıfken, artan yaşla özgünleşmiş ve yaşlı guruplarda ise yine genç dönem guruplarına benzer immünreaktivite göstermişti. Ancak

yaşlı gruplardaki tutulum yerel alanlarda izlenmişti. Bu durumun yaşlılıkta sıkı bağlantı birimleri ve zonula adherens'lerin yapısal bozulmalar göstermesiyle, iletimin yerel alanlarla telafi edilmeye çalışmasının bir sonucu olarak geliştiği düşünüldü.

Konneksin ile yapılan immün boyamada ise gelişim guruplarında (22 günden, 20 aya kadar) sitoplazmik tutulumun son derece zayıf olmasına karşın, bağlantı birimlerinin boyuna bölümlerindeki immünreaksiyonun oldukça güçlü görülmesi, kalp kası iletiminde sıkı ve ara bağlantılarının yaşlanmasıyla birlikte yapısal bozukluklarını telafi edecek biçimde, nexus tipi bağlantıların devreye girmesi ve dolayısıyla elektrikselsel uyarı ve iyon geçimiyle iletimin sürdüğünü düşündürdü. Bu da, yapı işlev ilişkisinin devamının simgesi olarak kabul edildi.

Literatürle uyumlu olarak, klaudin antikor tutulumu 1 günlük yenidoğan bireylerde oldukça zayıfken, artan yaş ile birlikte 22 günlük ve 10 haftalık gruplarda Zo1 tutulumu olan bölgelerde, 20 aylık yaşlı grupta ise konneksin tutulumu gözlenen bölgelerde orta düzeyde saptandı.

Yapılan istatistiksel incelemelerde ise; her 4 antikor tutulumunun da yaşa koşut arttığı bulundu. Bu bulgu literatür ile uyumlu değildi. Bunun yanında istatistiksel değerlendirmeler sonucu klaudin5 ve kadherin tutulumlarının farklılıklar gösterdiği ancak diğer tüm antikorların tutulumlarının birbirleri ile bağlantılı olduğu sonucuna varıldı. Bu sonuç hem bizim immunohistokimyasal değerlendirmelerimiz, hemde literatür ile uyumluydu.

7. ÖZET

Bu çalışmada sıçan kalp kasının diskus interkalaris bölgelerindeki bağlantı birimlerinde yaşa koşut oluşabilecek olası değişimleri çeşitli işaretleyiciler kullanarak immunohistokimyasal olarak ortaya koymayı amaçladık.

Çalışmamızda 1 günlük, 22 günlük, 10 haftalık ve 20 aylık sıçan kalb'inde Zo1, E-kadherin, konneksin43 ve klaudin-5 antikor tutulumları indirekt immünohistokimyasal yöntemle incelendi. Ayrıca aynı doku örneklerinde yaşa koşut olaylanan değişiklikler istatistiksel olarak ortaya konuldu.

İmmünohistokimyasal boyamalarda gelişim evrelerindeki kalp dokusunda yeni doğan gruplarda genellikle zayıf olan bağlantı birimi proteinleri işaretleyicilerinin tutulumları 22 günlük ve 10 haftalık gruplarda daha yoğun ve özgünleşmişti. 20 aylık yaşlı grupta ise bozulan diskus interkalaris yapısına koşut olarak tutulumlar dağınık gözlemlendi.

İstatistiksel bulgularda antikor tutulumları 1 günlük gruptan başlayarak yaşa koşut artış gösterdi. Kruskal Wallis testi sonucunda 1 günlük grupta klaudin5 ile kadherin tutulumları istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermişti, 22 günlük grupta klaudin5 ile kadherin ve konneksin tutulumları, 10 haftalık ve 20 aylık gruplarda ise klaudin5 ile kadherin , konneksin ve Zo1 tutulumları istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermişlerdir.

8. SUMMARY:

In this study, we have aimed to determine the possible variances, which can be occurred by aging in the discus intercalaris locations of the rats' hearth muscles, immunohistochemically by using several markers.

In our study, Zo1, E-cadherine, connexin43 and cloudin-5 have been analyzed by using indirect immunohistochemical methods in the hearth of 1-day, 22-day, 10-week and 20-month old rats. In addition to this, age depended changes have been determined by statistically in the samples which were obtained from the same groups.

In the immunohistochemical staining, the expressions of the markers of the binding unit proteins were more dense and authentic in the 22-day old and 10-week old groups than the expression of the new born groups. In the developing hearth tissue, the expression was poor. In the 20-month old group, expressions have been observed as dispersed due to the degenerated discus intercalaris structure.

In the statistical findings, starting from the 1-day old group the anticor expressions have been increased by aging. As a result of the Kruskal Wallis test, there were significant differences in the expression of the cloudin-5 and cadherine 1-day old group. In the 22-day old group cadherin and connexin expressions were significantly different from the cloudin-5 expressions. In the 10-week old and 20-month old groups, cadherin, connexin and Zo1 expressions were significantly different from the cloudin-5 expression.

9. KAYNAKLAR

- 1) Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. Aytekin Y, Solakoğlu S, Ahışhalı B (Çev). 8. Baskı. İstanbul. Barış Yayınevi. 1998
- 2) Hatipoğlu MT. Anatomi. 2. Baskı. Ankara. Hatipoğlu Basım ve Yayım San. Tic. Ktd. Şti. 2003
- 3) Duffy HS, Derman M, Spray DC. Formation of the gap junctions nuxes: binding partners for connexins. Journal of Physiology 2002; 96: 243-249
- 4) Mariscal LG, Betazos A, Nava P, Jaramillo BE. Tight junction proteins. Progress in Biophysics & Molecular Biology 2003; 81: 1-44
- 5) Costanzo LS. Fizyoloji. Özgönen KT, Özgönen T (Çev). 3. Baskı. Ankara. Güneş Kitabevi. 2003
- 6) Oxenham H, Sharpe N. Cardiovascular aging and heart failure. European Journal of Heart Failure 2003; 5 427
- 7) Sadler TW. Longman Medikal Embriyoloji. Başaklar AC (Çev). 9. Baskı. Ankara. Palme Yayıncılık. 2005
- 8) Persaud M. İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar I, Dalçık H (Çev). 6. Baskı. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevi. 2002
- 9) Üstünel İ. <http://www.akdeniz.edu.tr/tip/ders/Dersler/temeltip/his/HIS-D1-15.DOC>

- 10)Özdemir E. Kalp Fizyolojisi
[tip.cumhuriyet.edu.tr/cutf/Donem2/II.Komite\(DolasimKomitesi\)/Fizyoloji/ErcanOZDEMIR/KALPfizyo.ppt](http://tip.cumhuriyet.edu.tr/cutf/Donem2/II.Komite(DolasimKomitesi)/Fizyoloji/ErcanOZDEMIR/KALPfizyo.ppt)
- 11)Sunay B. Kardiyovasküler sistemin gelişimi. Mart 2001
www.kardiyo.net/kitap/kvgelisimi.shtml - 28k
- 12)Hatipoğlu Ş. Hücre membranları, Membran transport proteinleri, Taşıma sistemleri
<http://www.akdeniz.edu.tr/veteriner/temelbilimler/tbb/fizyoloji/transport.ppt>
- 13)Quaglino D., Ronchetti I. P. Morphology and Chemical Composition of Connective Tissue: The Cardiovascular system. Connective Tissue and Its Heritable Disorders, 2002. 121-144
- 14)Erdoğan D, Hatiboğlu T, Görgün M, Ilgaz C. Genel Histoloji. 2 Baskı. Ankara. HatipoğluYayınevi.1999
- 15)Sağlam M. AştıRN, Özer A. Genel Histoloji, 6. Baskı. Ankara. Yorum Matbaacılık. 2001
- 16)Stuart IF. Human Physiology. 6. Baskı. McGraw Hill Companies. 1999
- 17)Purves WK, Orians GH, Heller HC, Sadava D. Life The Science of Biology. 5. Baskı. Massachusetts. Sinauer Associates. 1997
- 18)Michael Wagner M., Siddiqui M. A. Q, Signal Transduction in Early Heart Development (II): Ventricular Chamber Specification,

Trabeculation, and Heart Valve Formation. Experimental Biology and Medicine, 2007, 232:852-86

19)Koz M, Kalp-Dolaşım Sistemi Fizyolojisi, Ankara Üniversitesi, <http://80.251.40.59/sports.ankara.edu.tr/koz/fizyoloji/dolasim.pdf>

20)Aktaş Y, Aydoğdu S, Diker E. Kardiyovasküler Tedavide Yeni Ufuklar: Hücresel Kardiyomiyoplasti ve Kök Hücre Transplantasyonu – Derleme, Anadolu Kardiyol Derg 2003; 3: 340-7

21)Sjöstrand FS, Andersson-Cedergren E, Dewey MM. The ultrastructure of the intercalated discs of frog, mouse and guinea pig cardiac muscle. J Ultrastructure Res 1958;1:271–287.

22)Erkoçak A, Genel Histoloji, 2. Baskı, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1978

23)Greep R.O, Weiss L, Histology, 3rd ed., New York, McGRAW-HILL Book Company, 1973

24)Telford I.R, Bridgman C.H, Introduction to Functional Histology, 2nd ed. New York, Harper Collins College Publisher, 1995

25)Leeson C.R, Leeson T.s, Histology, 3rd ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1976

26)Arey L.B, Human Histology, 4th ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1974

- 27) Weiss L, , Greep R.O Histology, 4th ed., New York, McGRAW-HILL Book Company, 1977
- 28) Jakal A, Görgen H, Dane B, Dane C, Çetin A, Yayla M, Erken Gebelikte Ultrasonografi Bulgularının Gebelik Kayıplarını Öngörmedeki Yeri, Perinatoloji Dergisi, 2007, Cilt: 15, 20-25
- 29) Tanaka M, Chen Z, Bartunkova S, Yamasaki N, Iizumo s, The cardiac homeobox gene Csx/Nkx2.5 lies genetically upstream of multiple genes essential for heart development, Development, , 1999, 126, 1269-1280
- 30) Kılıç T, Yıldırım Ö, Şahin S, Pamir M.N, Glial Tümörlerin Anjiogenezi, Türk Nöroşirürji Dergisi, 2005, cilt 15, 1-19
- 31) Seymen A, Yaşlanmaya bağlı kalp fonksiyon değişikliklerinde beta adrenerjik sistemin rolünün elektrofizyolojik yöntemlerle incelenmesi, Yüksek Lisans, Ankara üniversitesi, 2008
- 32) Ganong, W. F. Tıbbi Fizyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002.
- 33) Cardiovascular Consultants, 2006, <http://www.cardioconsult.com/>
- 34) Şam P, Yaşlanmanın Kalpteki beta adrenerjik reseptör blokör yanıtları üzerindeki etkisinin incelenmesi, Yüksek Lisans, Ankara üniversitesi, 2006

- 35)Çiçek D, Yeşilbursa D, Saltan Y, Serdar A, Cordan J, Koroner arter hastalıkları ve cerrahisi normal koroner arter anatomisi, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2004, Cilt 30, 17-20
- 36)Ursavaş A, Ege E, Obstrüktif uyjuu apne sendromu ve kardiyovasküler hastalıklar- Derleme, Anadolu Kardiyoloji Dergisi, 2003, Cilt:3, Sayı:2
- 37)Türkoğlu T. Kardiyopulmoner Bypassa girmeden (Off-pump) atan kalote ve kardiyopulmoner bypass kullanılarak kardiyak arrest ile uygulanan koroner bypass cerrahisi sonrası atriyal fibrillasyon gelişiminin karşılaştırılması, Uzmanlık, T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma hastanesi, 2004
- 38)Baslo B, Transmembrane Potansiyelleri, İstanbul, 2002
- 39)Diker E, Kalp dokusunun yenilenmesi amacıyla uygulanan hücre nakli aritmojenik mi?, Türk Kardiyol Dern Arfl , 2006; 34(1) :55-58
- 40)Homma S, Troxclair D, Zieske A, Malcom G, Strong J, Histological topographical comparisons of atherosclerosis progression in juveniles and young adults, Elsevier,2008, 197, 791–798
- 41)Efimov I, cardiac pump & excitation, Guyton/Hall 10th ed.
- 42)Ehler E, Horowits R, Zuppinger C, Price R, Perriard E, Leu M, Caroni P, Sussman M, Eppenberger H.E, Perriard J, Alterations at the Intercalated Disk Associated with the Absence of Muscle LIM Protein, jcb, 2008,

- 43)Sağlam G, Hematolojik Malignitelerde Sinyal İleti Sistemleri, Moleküler Hematoloji ve Sitogenetik Alt Komitesi TEMEL MOLEKÜLER HEMATOLOJİ KURSU, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı, İzmir
- 44) Frangi A, Gap Junctions for Engineers: *A review*,, Departamento de Electrónica, División de Instrumentación y Bioingeniería, Universidad Politécnica de Cataluña, 1996
- 45)Tribulová N, Knezl V., Okruhlicová I., Slezák J., Myocardial gap junctions: targets for novel approaches in the prevention of lifethreatening cardiac arrhythmias, Institute for Heart Research, Slovak Academy of Sciences, Bratislava
- 46)G Bazzoni G, Estrada O.M.M, Dejana M, Molecular Structure and Functional Role of Vascular Tight Junctions, Elsevier, 1999, Vol. 9, 149-152
- 47)Beğer T, YAŞLANMA VE YAŞLILIK, Geriatrik Hasta ve Sorunları Sempozyumu, 1998, İstanbul, s. 9-13
- 48)Beğer T, YAŞLIDA KONJESTİF KALP YETMEZLİĞİ, Geriatrik Hasta ve Sorunları Sempozyumu, 1998, İstanbul, S21-29
- 49)Beğer T, YAŞLIDA İSKEMİK KALP HASTALIKLARI, Geriatrik Hasta ve Sorunları Sempozyumu, 1998, İstanbul, S31-39
- 50)Thomas S.P, Bircher-Lehmann L, Thomas S, Zhuang J, Saffitz J, Kléber A, Synthetic Strands of Neonatal Mouse Cardiac Myocytes:

Structural and Electrophysiological Properties, *Circ. Res.*, 2000;87;467-473

51)Severs N, The Cardiac Muscle Cells, *BioEssays*, 2000, 22:188–199,

52)N Peters N, Severs N, Rothery S, Lincoln C, Yacoub M, Green C, Spatiotemporal Relation Between Gap Junctions and Fascia Adherens Junctions During Postnatal Development of Human Ventricular Myocardium, *Circulation*, 1994, Vol 90, 713-725

53)Angst B, Khan, Severs N, Whitely K, Rothery S, Thompson R, Magee A, Gourdie R, Dissociated Spatial Patterning of Gap Junctions and Cell Adhesion Junctions During Postnatal Differentiation of Ventricular Myocardium, *Circulation Research*. 1997;80:88-94

54)Jones S, Lancaster M, Boyett M, Ageing-related changes of connexins and conduction within the sinoatrial node, *J Physiol*, 2004, 560.2, pp: 429-437

55)Yeh H, Chang H, Lu W, Y Lee y, Ko Y, Severs N, Tsai C, Age-related Alteration of Gap Junction Distribution and Connexin Expression in Rat Aortic Endothelium, *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 2000, Volume 48(10): 1377–1389

56)Laing J, Saffitz J, Steinberg T, Yamada K, Diminished Zonula occludens-1 expression in the failing human heart, *Cardiovascular Pathology* 2007, 16, 159– 164

57)Terminologia Anatomica, International Anatomical Terminology , The Federative Committee on Anatomical Terminology, George Thieme Verlag, 1998, *The Spine Journal* , Volume 1 , Issue 2

- 58)Gottwald M., Gottwald E., Dhein S., Age-related elektrophysiology and histological changes in rabbit hearts; Age-related changes in electrophysiology, International Journal of Cardiology, 1997, 62, 97-106
- 59)Carnes C., Geisbuhler T., Reiser P., Age dependent changes in contraction and regional myocardial myosin heavy chain isoform expression in rats, Journal of Applied Physiology, 2007, 579, 161-173
- 60)Lee H., Mayette J., Rapoport S., Bazinet R., Selective remodeling of cardiolipin fatty acids in the aged rat heart, Lipids in Health and Diseases, 2006, 5, 1-4
- 61)Takuyasu K.T., Dutton H., Geiger B., Sinter S.J., Ultrastructure of chicken muscle as studied by double immunolabeling in electron microscopy, PNAS, 1981, 78, 7619-7623
- 62)Severs N, Coppens S.R., Dupont E., Yeh H., Ko Y., Matsushita T., Gap junction alternations in human cardiac disease, Cardiovascular Research, 2004, 62, 368-377
- 63)Saffitz J.E., Green K.G., Kraft W.J., Sckechtmann K.B., Yamada K.A., Effects of diminished expression of connexin43 on gap junction number and size in ventricular myocardium, Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 278, 1662-1670
- 64)Gutstein D.E., Liu F., Meyers M.B., Choo A., Fishman G.I., The organization of adherens junctions and desmosomes at the cardiac

integrated disc is independent of gap junctions, *Journal of Cell Science*, 2003, 116, 875-885

- 65)Huang G.Y., Wessels A., Smith B.R. Lisask K.K., Ewart J.K., Lo C.W., Alternation in Connexin 43 Gap Junction Gene Dosage Impairs Conotruncal Heart Development, *Developmental Biology*, 1998, 198, 32-44
- 66)Tokofuku T., Yabuki M., Otsu K., Kuzuya T., Hori M, Tada M, Direct Association of the Gap Junction Protein Connexin-43 with Zo-1 In Cardiac Myocytes, *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273, 12725-12731
- 67)Barker R.J., Price R.L. Gourdie, R.G., Increased Association of Zo-1 With Connexin43 During Remodeling of Cardiac Gap Junctions, *Circulation Research*, 2002, 90, 317-324
- 68)Feldman G.J., Mullin J.M., Ryan M.P., Occludin: structure, function and regulation, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, 57, 883-917
- 69)Pieperhoff S., Franke W.W., The area composita of adhering junctions connecting heart muscle cells of vertebrates – IV: Coalescence and amalgamation of desmosomal and adherens junction components – Late processes in mammalian heart development, *European Journal of Cell Biology*, 2007, 86, 377-391
- 70)Jongsma H.J., Wilders R., Gap Junctions in Cardiovascular Disease, *Circulation Research*, 2000, 86, 1193-1197

- 71)Fanning A.S., Jameson B.J., Jesaitis L.A., Anderson J.M., The Tight Junction Protein Zo-1 Establishes a Link Between the Transmembrane Protein Occludin and the Actin Cytoskeleton, The Journal of Biological Chemistry, 1998, 273, 29745-29753
- 72)Peters N.S., Green C.R., Poole P.A., Severs N.J., Reduced content of connexin43 gap junctions in ventricular myocardium from hypertrophied and ischemic human hearts, Circulation, 1993, 88, 864-875
- 73)Hertig C.M., Eppenberger-Eberhardt M., Koch S., Eppenberger H.M., N-kadherin in adult rat cardiomyocytes in culture. I. Functional role of N-kadherin and impairment of cell-cell contact by a truncated N-kadherin mutant, Journal of Cell Science, 1996, 109, 1-10

10. EKLER



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

21/12/2006

SAYI : B.30.2.GÜN.Ö.BU.00.00/ 120 - 15367
KONU:

Sayın

Yrd.Doç.Dr.Gülner TAKE
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-06.086 kod numaralı ve "Yaşlanmaya bağlı, sıçan genital organlarında cinsiyet hormonları ve follikül uyaran hormon reseptörlerinin (FSH-R) immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik olarak belirlenmesi." başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-06.086 and entitled "Age related determination of sex hormones and follicle stimulating hormone receptor (FSH-R) in reproductive system by using immunohistochemical and electron microscopic methods" is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards.

Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı
Chairman
Gazi University Experimental Animals Ethical Council

Prof.Dr.Engin ÇALGÜNER

Prof.Dr.Nedret KILIÇ

Prof.Dr.Sevil PEHLİVAN

Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN

Prof.Dr.Deniz ERBAŞ

Prof.Dr.Fatma AKAR

Prof.Dr.Altan DOĞAN

Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU

Uz.Vet.Hek.Şeyda DİKER

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yardımcı olan, tezimin hazırlanmasında büyük desteklerini gördüğüm Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Deniz Erdoğan'a, danışmanlığımı üstlenen ve çalışmanın yapılması için gerekli tüm olanakları sağlayan değerli hocam Doç. Dr. Çiğdem Elmas'a teşekkür ederim.

Öğretim yılları boyunca bana katkılarından dolayı sayın Prof. Dr. M. Tahir Hatiboğlu'na, Prof. Dr. Suna Ömeroğlu'na, Prof. Dr. Celal Ilgaz'a ve Doç. Dr. Gülnur Take'ye teşekkür ederim.

Tezimin tüm aşamalarında benden yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Güleser Çağlar'a ve Arş. Gör. Fatma Helvacıoğlu'na, tüm dönem arkadaşlarıma, emekleri ve mesailerini ile her zaman yanımda olan Histoloji-Embriyoloji anabilim dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Benim için karşılıksız her türlü fedakarlığı yapıp beni bugünlere getiren saygıdeğer annem Ruhiye Hacıhabiboğlu ve babam Tuna Hacıhabiboğlu'na, her zaman kendisini örnek aldığım sevgili ablam Ayşe Çetinel Hacıhabiboğlu'na, varlığıyla ve sevgisiyle her zaman bana güç veren İrfan Gültekin'e teşekkür ederim.

Zeynep HACIHABİBOĞLU

Ocak 2009

11. ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Ankara'da doğdum. İlköğrenimimi Ulubatlı Hasan İlkokulu'nda, orta öğrenimimi Deneme Lisesi'nde tamamladıktan sonra hazırlık ve lise 1. sınıfları 50 Yıl Süper Lisesi'nde okudum ve liseyi Cumhuriyet Lisesi'nde tamamladım. 1999 yılında Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandım ve biyoloji eğitimimi 2005 yılında tamamladım. 2005 yılında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Sağlık Bilimleri Enstitüsünün Histoloji ve Embriyoloji programında yüksek lisansa başladım. 2007 yılından beri klinik araştırma monitörü olarak çalışmaktayım.