T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

İSKEMİK İNMENİN KALP FONKSİYONLARI AÇISINDAN İNCELENMESİ ve MitoTEMPO'NUN OLASI KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

AHMET AKKOCA

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

MERSİN
NİSAN-2023

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

İSKEMİK İNMENİN KALP FONKSİYONLARI AÇISINDAN İNCELENMESİ ve MitoTEMPO'NUN OLASI KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

AHMET AKKOCA
ORCID ID: 0000-0001-8269-9385

DANIŞMAN
PROF. DR. BELGİN BÜYÜKAKILLI

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

MERSİN
NİSAN-2023

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi

beyan ederim.

ETHICAL DECLERATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific Works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

24 /04/ 2023

İmza



Ahmet AKKOCA

ÖZET

İSKEMİK İNMENİN KALP FONKSİYONLARI AÇISINDAN İNCELENMESİ ve MitoTEMPO'NUN OLASI KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

İnme, dünya genelinde ikinci en yüksek ölüm nedeni ve önde gelen bir sakatlık sebebidir. Yapılan araştırmalarda iskemik inmeden sonraki ilk 3 ay içerisinde hastaların %19'unun en az bir kardiyak rahatsızlığa yakalandığı belirtilmektedir. Bu çalışmada beyin ve kalp arasındaki etkileşimlerde koruyucu mitokondri spesifik antioksidan (MitoTEMPO) uygulamasının önemi değerlendirilmiştir. Ayrıca inme geçirme insidansı diğer bireylere göre daha yüksek görülen kişilerde koruyucu tedbirlerin önemini vurgulayıcı özgün verilere ulaşılması hedeflenmiştir. Projemiz amacına ulaşabilmek için Wistar Albino türü erkek sıçanlar koruyucu MitoTEMPO enjeksiyonu (0,7 mg / kg / gün) sonrası monofilament ilerletme tekniği ile orta serebral arter (OSA)'de 1 saat iskemi gerçekleştirilmiştir. Ölçüm ve doku toplama işlemleri ise reperfüzyonun üçüncü günü yapılmıştır. Deney hayvanları rastgele seçimle SHAM, iskemi+reperfüzyon (IR) ve MitoTEMPO+IR (MT+IR) şeklinde üç gruba ayrılmıştır. Deneyler sonucunda torasik elektriksel biyoempedans (TEB) ölçümlerinde IR ile istatistiksel anlamlı olarak azalan VEPT ve LVET değerlerine karşı MitoTEMPO koruyucu etki göstermiştir. Ayrıca elektrokardiyografi (EKG) sonuçlarımız P-R interval, QTc, T dalga süresi ve R-R interval değerlerinin de IR ile anlamlı şekilde değişmiş ve MitoTEMPO bu değişimlere karşı koruyucu etki göstermiştir. Biyokimyasal sonuçlarımız ise kan serumu örneklerinde TAS, TOS ve OSİ, kalp sol ventrikül dokusunda cAMP ve IP_3, beyin sağ serebral hemisfer dokusunda ise cAMP, IP_3 ve katalaz değerlerinin IR ile istatistiksel olarak anlamlı şekilde etkilendiği ve MitoTEMPO'nun koruyucu etki gösterdiğini işaret etmektedir. Kalp ve beyne ait dokuların IR sonrası mikroskobik düzeydeki histopatolojik değişimlerine de MitoTEMPO büyük ölçüde koruyucu etki göstermiştir. Sonuç olarak inme geçirme insidansının diğer bireylere göre daha yüksek olduğu bilinen bazı hastalık gruplarında MitoTEMPO kullanımının IR kaynaklı kardiyopatolojik bulguları azaltabileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İskemik İnme; Mitokondri; MitoTEMPO; Kalp

ABSTRACT

INVESTIGATIONS of CARDIAC FUNCTIONS and POSSIBLE PROTECTIVE EFFECT of MitoTEMPO in ISCHEMIC STROKE

Stroke is the second highest cause of death and a leading cause of disability worldwide. Studies have shown that 19% of patients suffer from at least one cardiac disease in the first 3 months after ischemic stroke. In this study, the importance of protective mitochondria-specific antioxidant (MitoTEMPO) application in the interactions between brain and heart was evaluated. In addition, it was aimed to reach original data emphasizing the importance of protective measures in people whose stroke incidence is higher than other individuals. In order to achieve the aim of our project, male Wistar Albino rats were subjected to 1 hour ischemia in the right middle cerebral artery with the monofilament advancement technique after protective MitoTEMPO injection (0.7 mg / kg / day). Measurement and tissue collection procedures were performed in the third day of reperfusion. Experimental animals were randomly divided into three groups as SHAM, ischemia+reperfusion (IR) and MitoTEMPO+IR (MT+IR). As a result of the experiments, MitoTEMPO showed a protective effect against VEPT and LVET values that decreased statistically with IR in thoracic electrical bioimpedance (TEB) measurements. In addition, our electrocardiography (ECG) results showed that P-R interval, QTc, T wave duration and R-R interval values changed statistically significant with IR and MitoTEMPO showed a protective effect against these changes. Our biochemical results indicate that TAS, TOS and OSI in blood serum samples, cAMP and IP_3 in heart left ventricular tissue, cAMP, IP_3 and catalase values in brain right cerebral hemisphere tissue were significantly affected by IR and MitoTEMPO showed a protective effect. MitoTEMPO also showed a great protective effect on histopathological changes in the tissues of the heart and brain at the microscopic level after IR. As a result, it has been determined that the use of MitoTEMPO can reduce post-stroke cardiopathological findings in some disease groups known to have a higher incidence of stroke than other individuals.

Keywords: Ischemic Stroke; Mitochondria; MitoTEMPO; Heart

TEŞEKKÜR

Bilgi ve deneyimleri ile zorlu doktora eğitimim boyunca ufkumu açan, ciddiyetle yürüttüğü ders ve tez dönemlerim sayesinde bana çok şey öğreten danışman hocam Prof. Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI'ya teşekkürlerimi arz ederim.

Bilgi ve tecrübeleri ile doktora eğitimim boyunca bana önemli katkılar sağlayan hocalarım Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU ve Prof. Dr. Nurten ERDAL'a, tez izleme sürecindeki katkıları dolayısıyla Prof. Dr. Ebru BALLI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca doktora eğitimim için beni Mersin Üniversitesi'ne yönlendiren yüksek lisans eğitimim sırasındaki danışman hocam Prof. Dr. Nizamettin DALKILIÇ'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının deneyleri aşamasındaki katkıları sebebiyle Öğr. Gör. Dr. Burcu GÜLTEKİN, Dr. Öğr. Üyesi Çağatay Han TÜRKSEVEN, Öğr. Gör. Dr. Erkan ÖZBAY ve Arş. Gör. Dr. Hatice ORUÇ DEMİRBAĞ'a teşekkür ederim.

Doktora eğitim sürecini birlikte geçirdiğimiz ve yardımlarını hep hissettiğim Dr. Coşar UZUN, Arş. Gör. Yılmaz DEMİR ve Ayşe Hümeyra KAYNAR'a teşekkür ederim.

Ve son olarak hayatımın her aşamasında desteklerini hissettiğim kıymetli ailem ve sevgili eşim'e teşekkür eder, çocuklarım Enes ve Eren'e sevgilerimi sunarım.

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2021-2-TP3-4470

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLOLAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. Beyin	3
2.1.1. Ön Beyin	3
2.1.2. Orta Beyin	4
2.1.3. Arka Beyin	5
2.1.4. Serebral Dolaşım	5
2.1.5. Beyin Hastalıkları ve İskemik İnme	6
2.1.5.1. Deneysel İskemik İnme Çalışmaları	8
2.2. Kalp	12
2.2.1. Kalpteki Elektriksel Olaylar ve Dahil Olan Yapılar	13
2.2.2. Elektrokardiyografi (EKG)	15
2.2.3. Torasik Elektriksel Biyoempedans (TEB)	18
2.3. Kardiyovasküler Patolojilerde G-Proteinleri ve G-Protein Bağlı Reseptörler (GPCR)'in Rolü	19
2.4. İnme ve Kalp Fonksiyonları Arasındaki İlişki	23
2.5. İskemi-Reperfüzyon (IR)	24
2.6. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	25
2.6.1. Mitokondri Spesifik Antioksidanlar	26
3. MATERYAL ve YÖNTEM	29
3.1. Deney Grupları ve Uygulanan İşlemler	29
3.2. İskemik İnme Modeli Oluşturulması	30
3.3. Torasik Elektriksel Biyoempedans (TEB) ve Elektrokardiyografi (EKG) Ölçümleri	32
3.4. Biyokimyasal İncelemeler	36
3.5. Histolojik İncelemeler	37

	Sayfa
3.6. İstatistiksel Analiz	37
4. BULGULAR	38
4.1. Sıçanların Vücut Kütleleri	38
4.2. Sıçanların Kalp Kütleleri ve Vücut Kütlelerine Oranı	38
4.3. Torasik Elektriksel Biyoempedans (TEB) Verileri	39
4.4. Elektrokardiyografi (EKG) Verileri	40
4.5. Biyokimyasal Veriler	41
4.6. Histolojik Veriler	44
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	49
KAYNAKLAR	57
EK-A 23.08.2021 tarih ve 11/35 sayılı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	67
EK-B 13.06.2022 tarih ve 05/08 sayılı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	68
ÖZGEÇMİŞ	69

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Deneysel iskemik inme modeli çalışmalarının avantaj ve dezavantajları.	12
Tablo 2.2. Kalpte bulunan G-protein bağlı reseptör (GPCR)'ler ve ligandları.	21
Tablo 4.1. Torasik elektriksel biyoempedans (TEB) verileri.	40
Tablo 4.2. Elektrokardiyografi (EKG) verileri.	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. İnsan beyni bölümlerinin şematik gösterimi.	3
Şekil 2.2. Willis Çemberi şematik gösterimi.	6
Şekil 2.3. İntraluminal monofilament ilerletme tekniği ile orta serebral arter oklüzyonu (OSAO) şematik gösterimi. ASA; arka serebral arter, OSA; orta serebral arter, AKoA; anterior komunikan arter, HTA; hipotalamik arter, PKoA; posterior komunikan arter, PGA; pterigopalatin arter, IKA; internal karotis arter, EKA; eksternal karotis arter, AKA; ana karotis arter.	9
Şekil 2.4. A- Pacemaker hücrelerinde kendiliğinden oluşan AP (aksiyon potansiyeli) evreleri ve iyonik akımlar. B- Kalp kası hücrelerinde oluşan AP evreleri ve iyonik akımlar.	14
Şekil 2.5. His demeti ve Purkinje lifleri şematik gösterimi.	15
Şekil 2.6. Einthoven üçgeni ve bipolar ekstremite derivasyonları.	17
Şekil 2.7. Elektrokardiyografi (EKG) eğrisini oluşturan bölümlere karşılık gelen kalp aksiyon potansiyelleri.	18
Şekil 2.8. Torasik elektriksel biyoempedans (TEB) elektrot yerleşimi.	19
Şekil 2.9. Kalpte G-protein bağlı reseptörler (GPCR)'in hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunu düzenleyen sinyal yolakları. Diaçilgliserol (DAG), inositol trifosfat (IP3), fosfolipaz-C (PL-C), protein kinaz-A (PK-A), protein kinaz-C (PK-C), fosfolamban (PLB).	21
Şekil 2.10. Kardiyovasküler patolojilerde G-protein bağlı reseptörler (GPCR) ile ilişkili sinyal yolakları. Guanozin trifosfat (GTP), protein kinaz-B (Akt), inositol trifosfat (IP_3), fosfolipaz-C (PL-C), siklik adenozin monofosfat (cAMP), protein kinaz-A (PKA).	23
Şekil 2.11. İskemi-reperfüzyon (IR) hasarıyla ilişkili genel bileşenler. Reaktif oksijen türleri (ROS)	25
Şekil 2.12. Memeli hücrelerinde antioksidan mekanizmalar. MA-moleküler ağırlık.	26
Şekil 2.13. Trifenil fosfonyum (TFF)'a bağlı antioksidanların plazma ve mitokondri membranından geçişi ve birikimleri.	28
Şekil 2.14. MitoTEMPO molekülünün açık formülü.	28
Şekil 3.1. SHAM grubuna ait sıçanlara uygulanan işlemleri gösterir şema.	29
Şekil 3.2. İskemi-reperfüzyon (IR) grubuna ait sıçanlara uygulanan işlemleri gösterir şema.	30
Şekil 3.3. MitoTEMPO + iskemi-reperfüzyon (MT+IR) grubuna ait sıçanlara uygulanan işlemleri gösterir şema.	30
Şekil 3.4. Monofilament uç çap ölçümünü gösterir örnek fotoğraf.	31
Şekil 3.5. İskemik inme modeli oluşturulmasının aşamaları. A-Boyun bölgesine yapılan cilt insizyonu. B-Mandibular bezlere erişim. C-Sternohyoid kasın (SHK) açığa çıkarılması. D-Sağ ana karotis arter (sAKA) izolasyonu. E-İnternal karotis arter (IKA) ve eksternal karotis arter (EKA) çatallanmasının izole edilmesi ve arteriyotomi bölgesinin gösterimi. F-IKA'dan monofilament ilerletilerek iskemi periyodunun başlaması.	32

Sayfa

Şekil 3.6. Torasik Elektriksel Biyoempedans (TEB) ve Elektrokardiyografi (EKG) elektrotları ile kalp sesi mikrofonu (M)'nun yerleşimi. 1 ve 4 numaralı elektrotlar akım uygulayan, 2 ve 3 numaralı elektrotlar potansiyel değişim kaydeden ve G ile gösterilen ise toprak elektrotlarıdır. L ile gösterilen mesafe ise içteki elektrotlar arası uzaklıktır. 33

Şekil 3.7. Torasik elektriksel biyoempedans (TEB), elektrokardiyografi (EKG) ve kalp sesleri eş zamanlı kaydı. A- Z_0 temel empedans, B- EKG ve R-R interval değeri ile belirlenen kalp hızı (HR), C- empedanstaki değişim oranı, D- kalp sesleri ve sol ventrikül ejeksiyon süresi (LVET) S1-S2 kalp sesleri arasındaki zaman olarak belirlendi, E- empedanstaki maksimum değişim oranı. 34

Şekil 3.8. EKG sinyallerinden elde edilen parametreler. 36

Şekil 4.1. Sıçanların başlangıç ve enjeksiyon bitimindeki kütleleri. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, *; her grubun bir önceki ölçümü ile karşılaştırıldığında p<0,05 düzeyindeki anlamlılığı ifade eder. 38

Şekil 4.2. A- Sıçanların kalp kütleleri. B- Sıçanların kalp kütlelerinin vücut kütlelerine göre normalizasyonu. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, *; SHAM ile, #; IR ile karşılaştırıldığında p < 0,05 düzeyindeki anlamlılığı ifade eder. 39

Şekil 4.3. Kan serumundan ELISA yöntemi ile tespit edilen veriler. A- Total Antioxidant Status (TAS), B- Total Oxidant Status (TOS), C- Oksidatif stres indeksi (OSİ), D- Kardiyak Troponin I (cTnI). Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, * SHAM ile, # IR ile karşılaştırıldığında p < 0,05 için anlamlılığı belirtir. 42

Şekil 4.4. Kalp sol ventrikül dokusundan ELISA yöntemi ile tespit edilen veriler. A- Siklik Adenozin Monofosfat (cAMP), B- İnositol Trifosfat (IP3). Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, * SHAM ile, # IR ile karşılaştırıldığında p < 0,05 için anlamlılığı belirtir. 43

Şekil 4.5. Beyin sağ serebral hemisfer dokusundan ELISA yöntemi ile tespit edilen veriler. A- Siklik Adenozin Monofosfat (cAMP), B- İnositol Trifosfat (IP3), C-Katalaz. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, * SHAM ile, # IR ile karşılaştırıldığında p < 0,05 için anlamlılığı belirtir. 44

Şekil 4.6. Beyin sağ serebral hemisfer dokusu hematoksilen-eozin (H&E) boyaması. →; nöronların genel görünümünü (SHAM ve MT+IR grubunda normal, IR'de ise kırmızı nöron), ▶; damar görünümünü (IR'de dilate, diğer gruplarda ise normal), ⋆; perinöronal ödem, V; vakuolizasyonu işaretlemektedir. 45

Şekil 4.7. Beyin sağ serebral hemisfer dokusu Toluidine Blue (TB) boyaması. →; purkinje hücrelerinin genel görünümünü (SHAM ve MT+IR grubunda normal, IR'de ise homojenize sitoplazmalı), ▶; damar görünümünü (IR'de dilate, diğer gruplarda ise normal), ⋆; perinöronal ödem, V; vakuolizasyonu işaretlemektedir. 46

Şekil 4.8. Beyin sağ serebral hemisfer dokusu Masson Trikrom (MT) boyaması. ▶; damar görünümünü (IR'de dilate, diğer gruplarda ise normal), →; bağ dokudaki kollajenleri işaretlemektedir. Ölçek çubukları 100 μm. 46

Şekil 4.9. Kalp sol ventrikül dokusu hematoksilen-eozin (H&E) boyaması. →; Hücre çekirdeklerinin yerleşimini (SHAM ve MT+IR'de merkezi, IR'de periferde), ▶; Kas liflerindeki dallanmayı (SHAM ve MT+IR'de düzenli, IR'de düzensiz) işaretlemektedir. 47

Şekil 4.10. Kalp sol ventrikül dokusu Masson Trikrom (MT) boyaması. →; kardiyak fibrillerin etrafında ve damar çevresinde kolajen birikimleri, ⋆; interfibriller boşlukları işaretlemektedir. 48

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simge	Tanım
AİS	Akut iskemik inme
AKA	Ana karotis arter
AKoA	Anterior komünikan arter
Akt	Protein kinaz-B
AP	Aksiyon potansiyeli
ASA	Anterior karotis arter
ATP	Adenozin trifosfat
AV	Atriyoventriküler
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CI	Kardiyak debi indeksi
CO	Kardiyak debi
cTnI	Kardiyak troponin I
DAG	Diaçilgliserol
$(dZ/dt)_{max}$	Empedansın maksimum değişim hızı
EKA	Eksternal karotis arter
EKG	Elektrokardiyografi
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
Epac	cAMP tarafından doğrudan aktive edilen değişim faktörü
ET-1	Endotelin-1
ETZ	Elektron transport zinciri
f-Na^+	Funny Na^+ iyon kanalı
GDP	Guanozin difosfat
GIRK	G-proteine bağlı içe doğru düzeltici potasyum kanalları
GPCR	G-protein bağlı reseptörler
GTP	Guanozin trifosfat
H&E	Hematoksilen-Eozin
HR	Kalp atım hızı
HTA	Hipotalamik arter
Hz	Hertz
IC	Kasılabilirlik indeksi
I_{Ca}^{++}	Kalsiyum iyonik akımı
IKA	İnternal karotis arter
I_{Kr}^+	Hızlı, gecikmiş, doğrultucu K^+ akımları
I_{Ks}^+	Yavaş, gecikmiş, doğrultucu K^+ akımları

Kısaltma/Simge	Tanım
I_{Na^+}	Sodyum iyonik akımı
IP_3	İnozitol trifosfat
IR	İskemi-reperfüzyon
i.p.	İntraperitoneal
K_{I^+}	İlave doğrultucu K^+ kanalları
L-Ca^{++}	Yavaş, uzun süreli voltaj bağımlı Ca iyon kanalı
LVET	Sol ventrikül ejeksiyon süresi
MA	Moleküler ağırlık
MT	Masson Trikrom
mV	Milivolt
Na_{F^+}	Hızlı, voltaj bağımlı Na^+ iyon kanalları
^oC	Santigrat derece
OSA	Orta serebral arter
OSAO	Orta serebral arter oklüzyonu
OSİ	Oksidatif stres indeksi
PBS	Phosphate-Buffered Saline
PGA	Pterigopalatin arter
PLB	Fosfolamban
PKoA	Posterior komünikan arter
QTc	Düzeltilmiş QT
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
Rpm	Dakikadaki tekrar sayısı
S1	Ventrikül sistol fazının başlangıcında meydana gelen kalp sesi
S2	Ventrikül diyastol fazının başlangıcında meydana gelen kalp sesi
sAKA	Sağ ana karotis arter
SHK	Sternohyoid kas
SI	Atım hacmi indeksi
SV	Atım hacmi
SVO	Serebrovasküler olay
TAS	Total antioxidant status
TB	Toluidine Blue
T-Ca^{++}	Geçici, hızlı, voltaj bağımlı Ca^{++} iyon kanalı
TEB	Torasik elektriksel biyoempedans
TFC	Toraks sıvı hacmi

Kısaltma/Simge	Tanım
TFCI	Torasik sıvı hacmi indeksi
TFF	Trifenil fosfonyum
TOS	Total oxidant status
tPA	Doku plazminojen aktivatörü
VEPT	Elektriksel olarak dahi olan doku hacmi
VYA	Vücut yüzey alanı
Z_0	Temel empedans
$\Delta\Psi_m$	Mitokondriyal membran potansiyeli
$\Delta\Psi_p$	Plazma zarı potansiyeli

1. GİRİŞ

Bir dolaşım sistemi bozukluğu olan inme, beynin herhangi bir kısmını besleyen damarlardan birinin tıkanması veya kanaması sonucu kan akışının azalması veya tamamen kesilmesine bağlı olarak beynin oksijen ve besin maddelerinden yoksun kalması ve yoksun kalan hücrelerin hasara uğraması olarak tanımlanmakta olup buna sebep olabilecek durumlar arasında iskemi, hemoraji ve daha az yaygın olarak ateroskleroz sayılmaktadır. Küresel istatistikler iskemik inme probleminin hemorajik inme durumlarından dört kat daha yaygın olduğunu göstermektedir [1]. Ayrıca inme görülme insidansı yaş, cinsiyet, sigara kullanımı ve alkol tüketimi vb. faktörlere bağlı olarak değiştiği gibi hipertansiyon, Diabetes Mellitus, koroner kalp rahatsızlığı, atriyal fibrilasyon, sol ventrikül hipertrofisi ve obezite gibi bazı hastalıkların sekonder sonuçları olarak da artmaktadır [2].

İnme, dünya genelinde ikinci en yüksek ölüm nedeni ve önde gelen bir sakatlık sebebidir [3]. Ülkemizde ise Türkiye İstatistik Kurumu'nun son yayınladığı 2021 yılı verilerine göre ölüm nedenleri arasında dolaşım sistemi bozuklukları %33,4 ile birinci sırada yer almaktadır. Dolaşım sistemi bozukluklarına bağlı ölümlerin ise %41,8'i iskemik kalp hastalığından, %18,9'u serebrovasküler hastalıklardan, %23,3'ünün ise diğer kalp hastalıklarından gerçekleştiği tespit edilmiştir [4]. Verilerden de anlaşılacağı gibi yaşanan ölümlerin önde gelen sebeplerini beyin ve kalpteki metabolik olayların dolaşım sistemi ile gerektiği gibi desteklenememesi oluşturmaktadır. Bu nedenle dolaşım sistemi bozuklukları ile ilgili yapılan çalışmalar sağlık alanındaki gelişmeler açısından büyük önem arz etmektedir.

Yapılan araştırmalarda iskemik inmeden sonraki ilk 3 ay içerisinde hastaların %19'unun en az bir kardiyak rahatsızlığa yakalandığı belirtilmektedir. Bunlardan %28,5'inin sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu değerinin %50'nin altında olduğu ve %29'unun da sistolik fonksiyon bozukluğu yaşadığı tespit edilmiştir [5]. İskemik inme geçiren hastaların inme sonrası çekilen EKG verilerinde de normal dışı bulgular gözlenmiştir [6]. Buradan anlaşılmaktadır ki, inme geçiren hastalarda kalp rahatsızlığı görülme ihtimali diğer bireylere göre daha yüksektir.

Klinik veriler incelendiğinde iskemik inmenin en sık şekilde beynin hem hacimsel hem de fonksiyonel anlamda büyük bir kısmına kan akışı sağlayan orta serebral arter (OSA)'de meydana geldiği görülmektedir [7]. Dolayısıyla OSA'da iskemi oluşturularak gerçekleştirilecek olan çalışmalar inme hastalığı ile ilişkili klinik ihtiyaçların giderilmesi açısından önemli bilgileri açığa çıkaracaktır. İskemik inmeli hastaların tıkanıklık gerçekleşen arterlerinde bazen kendiliğinden, bazen tromboliz yöntemi ile ve bazen de cerrahi girişimlerle kan akışının yeniden sağlandığı bilinmektedir. İskemi sonrası kan akışının yeniden sağlanması (reperfüzyon) ile biyolojik sistemler için zararlı olan serbest radikaller açığa çıkmakta ve kan dolaşımına dahil olarak sadece iskemi-reperfüzyon (IR)'un gerçekleştiği bölgede değil uzak dokularda da hasara neden olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur [8]. Hücrede en önemli serbest radikal kaynağı

mitokondri iç membranında lokalize olmuş elektron transport zinciri (ETZ)'dir. ETZ'den elektron sızması sonucu reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumu artar [9]. Serbest radikalleri etkisizleştiren ve vücudun kendi savunma mekanizmasının da üretmiş olduğu antioksidan maddeler bazı durumlarda yetersiz kalmakta ve dışarıdan antioksidan takviyesi alma ihtiyacı doğmaktadır. Son yıllarda ise en önemli serbest radikal kaynağı olan mitokondriyi doğrudan hedef alan ve serbest radikalleri kaynağında etkisiz hale getirerek kan dolaşımına katılımını ve dolayısıyla dokularda hasarı engelleyen mitokondri spesifik antioksidanlar üretilmektedir [10].

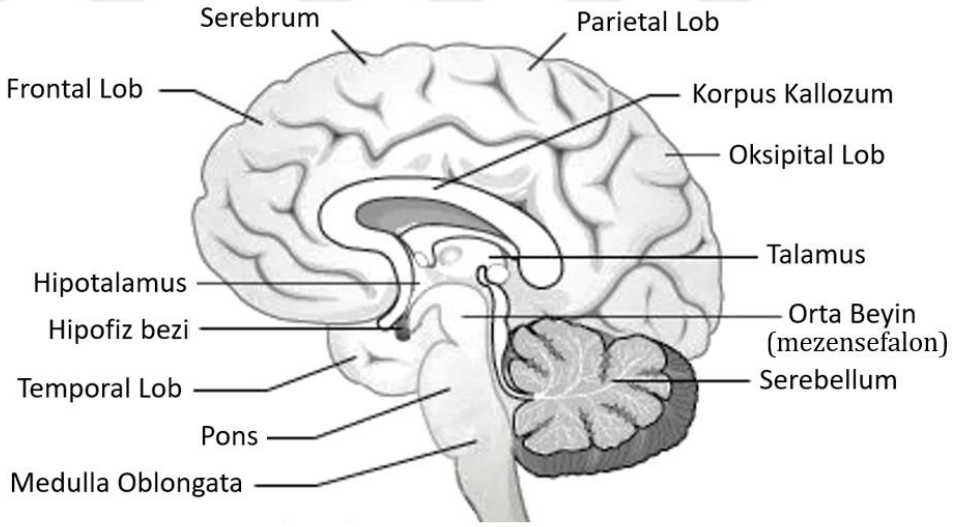
Günümüz sağlık anlayışı hastalık sonrası tedaviden ziyade hastalıklara yakalanmamak amacıyla koruyucu uygulamaların keşfine evrilmiştir. Bu anlayışa göre kişilerin yaşamlarını sağlıklı bir şekilde sürdürebilmeleri için konunun uzmanları tarafından özel fiziksel aktiviteler ve beslenme biçimleri belirlenmektedir. Bu çalışmada da beyin ve kalp arasındaki etkileşimlerde koruyucu mitokondri spesifik antioksidan uygulamasının önemi değerlendirip, inme geçirme insidansı diğer bireylere göre daha yüksek görülen kişilerde güncel bakış açısına göre koruyucu tedbirlerin önemini vurgulayıcı özgün verilere ulaşılması hedeflenmiştir.

Projemiz amaçlarına ulaşabilmek için Wistar Albino türü erkek sıçanlara koruyucu mitokondri spesifik antioksidan enjeksiyonu sonrası monofilament tekniği ile sağ OSA'da IR modeli oluşturulmuş ve elektrobiyofiziksel, biyokimyasal ve histolojik bazı ölçüm ve değerlendirmeler yapılmıştır. Bu kapsamda enjeksiyon öncesi ve sonrası sıçan kütleleri tartılmış, torasik elektriksel biyoempedans (TEB) ve elektrokardiyografi (EKG) kayıtları alınmış, kan serumundan total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) ve kardiyak troponin I (cTnI), kalp sol ventrikül dokusundan siklik adenozin monofosfat (cAMP) ve inositol trifosfat (IP_3), beyin sağ hemisfer dokusundan ise cAMP, IP_3 ve katalaz moleküllerin miktarları tayin edilmiş ayrıca beyin ve kalp dokuları histolojik metotlarla incelenmiştir. Böylelikle IR modeli oluşturulan sıçanlarda gelişen beyin ve kalp hasarları tespit edilerek koruyucu mitokondri spesifik antioksidan uygulamasının etkinliği hakkında bilgi edinilmiş ve inme geçirme insidansı diğer bireylere göre daha yüksek olan kişilerin koruyucu antioksidan kullanımlarının önemi hakkında somut veriler elde edilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Beyin

Bütün omurgalı ve çoğu omurgasız hayvanlar dahil canlıların genelinde bulunan beyin, birçok işlevin düzenleyicisi olduğundan oldukça önemli bir organdır. Memeli beyinleri arasında en gelişmişi olarak görülen insan beyni sadece metabolik olaylar ve fiziksel aktiviteleri kontrol etmekle kalmaz, hafıza, karar verme ve planlama gibi bilişsel süreçlerde de önemli bir konumdadır [11-13]. Omurilik ile birlikte merkezi sinir sistemini oluşturan beyin (serebrum), kafatası içerisinde yerleşmiştir. Ön beyin, orta beyin ve arka beyin bölümlerinden oluşan her kısım, farklı fonksiyonları yerine getirmek üzere özelleşmiştir (Şekil 2.1.). Ön beyin konuşma, düşünme, algı ve hafıza gibi işlemleri, orta beyin ön ile arka beyin arasındaki bağlantıyı kurmakla birlikte görme, hareket etme ve işitme fonksiyonlarını, arka beyin ise kalp ritmi, kan basıncı, yutkunma gibi aktiviteler ile sirkadiyen ritmin düzenlenmesini sağlar [14].



Şekil 2.1. İnsan beyni bölümlerinin şematik gösterimi [15].

2.1.1. Ön Beyin

Ön beyin; serebrum, beyin kabuğu (serebral korteks / neokorteks), talamus, hipotalamus ve limbik sistemden oluşur. İnsan beyninin en gelişmiş ve bilgi işleme ağları serebrum'da bulunur. Beyin sapının üstünde yer alan serebrum iki serebral yarım küre, bir dış gri madde tabakası (serebral korteks) ve bir iç beyaz madde tabakasından oluşur. İşlevsel olarak serebrumun duyusal korteksleri duyusal bilgileri işler, motor korteksler bilinçli ve istemli hareketleri düzenler ve ayrıca serebrumda bilişsel işlemler gerçekleştirilir [16].

Memelilerde serebral korteks farklı nöronal hücre tiplerini barındıran altı katmanlı bir tabakadan oluşur [17]. Serebral kortekste frontal, parietal, temporal ve oksipital olarak

adlandırılan dört lob vardır. Frontal lobların motor fonksiyon, dikkat, bellek ve dil (lisan) gibi süreçlerde rol aldığının bilinmesinin yanı sıra duygulanım, ruh hali, kişilik ve öz-farkındalık gibi bilişsel fonksiyonlarda da yeri olduğu belirtilmektedir [18]. Duyu organlarından gelen sinyallerin talamustan sonra iletildiği yer parietal lobtur. Parietal loblar dokunma, tat alma, işitme, koku alma ve görme duyuları ile denge ve konum algısı (propriyosepsiyon) duyularının anlamlandığı yerdir. [19,20]. Temporal lob; kortekse ek olarak beyaz cevher, lateral ventrikülün bir kısmı, kaudat çekirdeğin kuyruk kısmı, stria terminalis, hipokampal oluşum ve amigdalayı kapsar. Temporal korteks; işitme, koku alma, görsel duyular, sözlü ve yazı dilinin algılanması ve iç kulaktaki reseptörler aracılığı ile düzenlenen denge duyusunu (vestibüler) kontrol eden mekanizmaları içerir [21]. Oksipital lob, serebral hemisferlerin en küçük lobudur. Parietal ve temporal lobların arkasında bulunur. Böylece beynin kaudal kısmını oluşturur. Bu lobun en arka kısmı oksipital kutup olarak adlandırılır. Oksipital lob görsel işlemlerden sorumludur. Ayrıca renk algılama, görülen nesneye anlam yükleme gibi fonksiyonların gerçekleştiği bölge olarak bilinmektedir [22]. Talamus; hipotalamus, epitalamus, ventral talamus ve dorsal talamus olmak üzere dört bölümden oluşan bir komplekstir. Hem duyusal hem de motor mekanizmalar için bir aktarma merkezi olarak görev yapar. Görme, duyma, tatma ve dokunma duyularından gelen bilgileri sınıflandıran ve bunları serebral kortekse gönderen sinir ağları içerir. Ayrıca ağrı, sıcaklık ve basınç duyumları da talamus yoluyla iletilir [23]. Hipotalamus kütle bakımından beynin küçük bir kısmına karşılık gelse de endokrin fonksiyonel bir yapıdır. Sindirim, metabolik kontrol, sıvı ve elektrolit dengesi, termoregülasyon, enerji tüketim metabolizması, uyku-uyanma döngüsü, sirkadiyen ritim gibi işlevleri düzenleyen sinir ağlarını içerir [24]. Limbik sistem psikiyatri ile nöroloji branşlarını birleştiren mekanizmaları içerir. Merkezinde amigdala ve orbifrontal korteks bulunan paleokortikal bir bölüm ve hipokampus ve singulat korteks bulunan arkakortikal bir diğer bölümden oluşan limbik sistem duygulanım, dikkat kontrolü, düşünce ve eylemleri bütünleştirmek için bir uyum içerisinde çalışır [25].

2.1.2. Orta Beyin

Orta beyin; ön kısmı tegmentum, arka kısmı ise tektal ya da kuadrigeminal plaka olarak ikiye ayrılır ve pons ve serebellumu ön beyin ile birleştirir. Ventral orta beyin piramidal ve kortikopontin yolları içerir. Piramidal yollar uzuvların, gövdenin ve kraniyal sinirlerin hareketlerini kontrol eder. Kortikopontin yollar, serebral korteksi pontin çekirdeklere ve ardından serebelluma bağlayarak motor fonksiyonların koordinasyonunu sağlar. Slyvius'un serebral su kemeri orta beyinde bulunur ve beyin omurilik sıvısının beyin içerisinde akmasına imkan sağlayan bir kanal oluşturur. Genel olarak orta beyin ağrı modülasyonu, korku ve kaygı

gibi duyusal tepkilerin kontrolü ile kardiyovasküler sistemlerin düzenlenmesinde görev almaktadır [26].

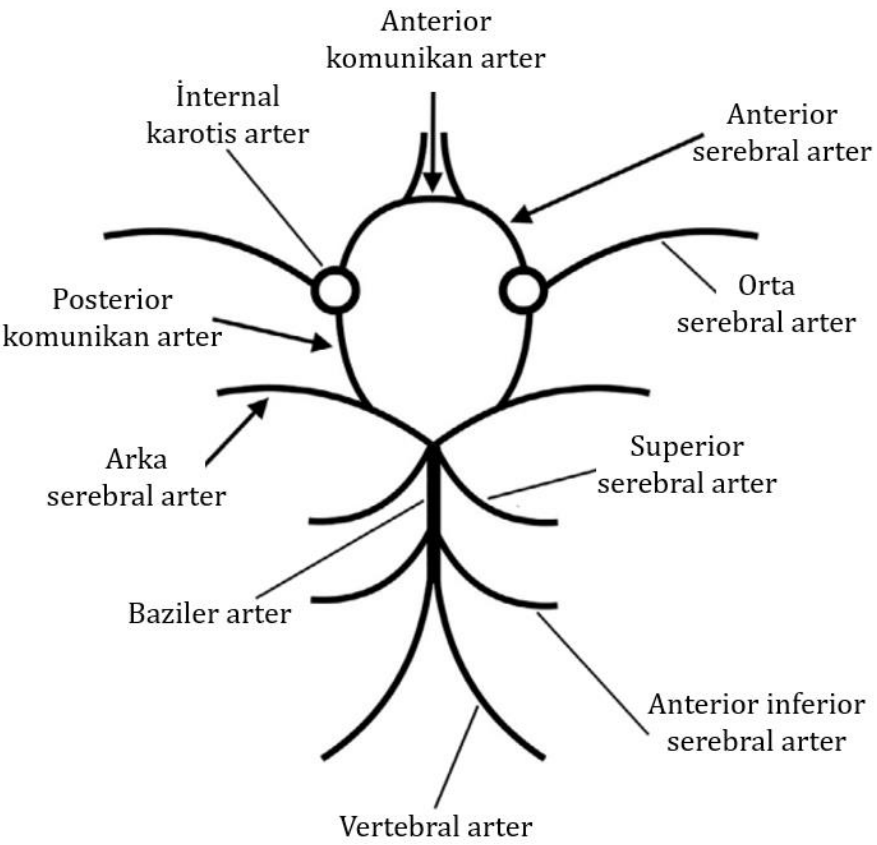
2.1.3. Arka Beyin

Arka beyin, medulla spinalis (omurilik)'in beyin ile bağlantı yaptığı yerdir. Medulla oblongata (omurilik soğanı), serebellum (beyincik) ve pons bölümlerinden oluşur. Medulla oblongata'nın beyin sapının kaudal kısmında yer aldığı ve kardiyovasküler ve solunum fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Pons ve omurilik arasında konumlanmıştır ve duyusal, propriyoseptif ve motor duyumlar için bir aktarım merkezidir [27]. Serebellum merkezi sinir sistemindeki en büyük motor yapıdır ve insanlarda serebral korteksin tamamından daha fazla nöron içerir. Oksipital korteksin altında ve beyin sapının üzerinde yer alır. Ana işlevsel rolünün motor kontrolü olduğu bilinen serebellumun son yapılan çalışmalarda bilişsel süreçlerde de fonksiyonu olduğuna dair kanıtlar bulunmuştur [28]. Pons, arka beynin orta beyin ile medulla oblongata arasındaki kısmıdır. Her iki serebral hemisferi de birbirine bağlar. Bu yüzden latince köprü anlamına gelen pons ismini almıştır. Bu bölge ventral ve dorsal iki bölümden oluşmakla birlikte ventral kısımda lifler, dorsal kısımda ise çekirdekler bulunmaktadır. Pons'un solunum, yutkunma, işitme ve propriyosepsiyonda rolü vardır [29,30].

2.1.4. Serebral Dolaşım

Beyin vücuttaki tüm organlar içerisinde en yüksek metabolik gereksinimlere ihtiyaç duyan organdır. Yetişkinlerde istirahat kalp debisinin %14'ünü (yaklaşık 700 ml/dk) alır ve bazal oksijen miktarının %20'sini (yaklaşık 50 ml/dk) tüketir. Bir damar ağından oluşan ve Willis Çemberi veya Poligonu olarak bilinen sistem beyin ve çevre dokulara kan akışı sağlar (Şekil 2.2.). Bu sistem sağ ve sol ASA'lar, anterior komunikan arter (AKoA), sağ ve sol IKA ve posterior komunikan arter (PKoA)'lerden oluşmaktadır. İşlevi beyni iskemi ve enfarktüsten korumak olan Willis Çemberi beyne sürekli ve düzenli arteryel kan akışı sağlayan ana yapıdır [31]. Beyine arteriyel olarak kan akışı serebral hemisferlerin ön kısmının üçte ikisini besleyen sağ ve sol internal karotis arter (IKA) ve beyin sapı ile hemisferlerin arka kısımlarını besleyen vertebrobaziler sistemden sağlanır. Ana karotis arter (AKA) boyunda internal juguler venin medialinde vagus sinire paralel olarak uzanır. AKA yaklaşık olarak tiroid kıkırdak seviyesinde IKA ve eksternal karotis artere (EKA) ayrılır. Çatallanmanın hemen üzerinden EKA ve IKA faringeal duvar arasından geçer. IKA, boyunda karotis kılıf içerisinde bir dal bırakmadan dikey olarak yukarı yönde ilerler ve foramen lacerum'dan kafatasına girer. Her IKA, anterior serebral arter (ASA) ve OSA olmak üzere ikiye ayrılır. ASA önce medialde sonra ise superiorda ilerleyerek

frontal lobun alt yüzeyini ve neostriatum'u besler. OSA ise bir dizi küçük penetran dala ve lentikülostriat arterlere ayrılır. OSA kanı frontal, temporal ve parietal lobların yanal yüzeylerine taşıyan birkaç ana dala daha ayrılarak ilerleyişini sürdürür. Vertebral arterler boyun tabanındaki subklavyen arterlerden çıkar. Pontomedüller bileşke seviyesinde baziler arteri oluşturmak üzere birleşirler. Baziler arter, beyin sapının ventral yüzeyinde yer alır ve pons, orta beyin ve serebelluma kan akışı sağlar [32].



Şekil 2.2. Willis Çemberi şematik gösterimi [33].

2.1.5. Beyin Hastalıkları ve İskemik İnme

Beyindeki herhangi bir deformasyon, fonksiyon bozukluğu veya hastalık tüm vücudu etkileme potansiyeline sahiptir. Nöroloji, beyin cerrahisi ve psikiyatri alanlarını ilgilendiren çok çeşitli beyin hastalıklarıyla karşılaşılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, Harvard Üniversitesi ve Dünya Bankası tarafından ortaklaşa yürütülen Küresel Hastalık Yükü Araştırması'nda tüm yükün yaklaşık üçte birinin beyin hastalıkları sebebiyle oluştuğu tespit edilmiştir [34]. Genel olarak insan beyni hastalıkları nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik bozukluklar olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Bunlar ise otoimmün hastalıklar, demans hastalıkları, beyin enfeksiyonları,

hareket bozuklukları, nöromüsküler hastalıklar, nöbet bozuklukları, inme ve bilişsel bozukluklar olarak sınıflandırılabilir. Otoimmün hastalıklar; otoimmün ensefalit, otoimmün epilepsi, merkezi sinir sistemi vasküliti, Hashimoto ensefalopatisi, nöromiyelit optik, optik nörit, nörosarkoidoz, nöro-Behçet hastalığı, serebral lupus veya Sistemik Lupus Eritematozus ve otizm, demans hastalıkları; fronto-temporal bunama, Lewy cisimcikli bunama, vasküler bunama ve Alzheimer hastalığı, beyin enfeksiyonları; menenjit, ensefalit, beyin apsesi, hareket bozuklukları; ataksi, distoni, kore, Huntington hastalığı, çoklu sistem atrofisi, miyoklonus, Parkinson hastalığı, progresif süper nükleer felç sendromu, huzursuz bacak sendromu, tardif diskinezi, Tourette sendromu, Wilson hastalığı, nöromüsküler hastalıklar; amyotrofik lateral skleroz, Charcot-Marie-Tooth hastalığı, multipl skleroz, kas distrofisi, myastenia gravis, miyozit, periferik nöropati ve omuriliğe bağlı kas atrofisi olarak sıralanabilir. Ayrıca nöbet bozukluğu hastalıkları; tonik-klonik nöbetler, atonik nöbetler, miyoklonik nöbetler, devamsızlık nöbetleri, bilişsel bozukluklar ise obsesif-kompulsif bozukluk ve fobileri de kapsayan anksiyete bozuklukları, travmatik stres bozuklukları, şizofreni, depresyon, bipolar bozukluk ve diğer duygudurum bozuklukları ile kişilik bozuklukları olarak sayılabilir. Ek olarak beyin tümörlerinin damarlara uyguladığı bası, hemoraji, ateroskleroz veya iskemi sebebiyle beyindeki kan dolaşımının bozulması ile oluşan inme yaygın olarak görülen beyin hastalıklarındandır [35].

İnme (felç) dünya genelinde ikinci önde gelen ölüm ve engelli yaşamın önemli bir sebebidir. Klinik veriler inmenin en çok iskemi sebebiyle oluştuğunu göstermektedir (dünyadaki tüm inme vakalarının yaklaşık %71'i) [3]. İskemik inme için en mühim risk faktörü yüksek tansiyondur. Bunun yanında sigara ve alkol tüketimi, yüksek kolesterol, diyabet, obezite, son dönem böbrek hastalığı ve atriyal fibrilasyon gibi hastalığı olanların inme geçirme insidansının diğer bireylere göre daha yüksek olduğu bilinmektedir. İnmeli hastalarda bir kol veya bacakta ani başlayan uyuşma veya güçsüzlük, yüz sarkması, konuşma veya konuşulanları anlama güçlüğü, kafa karışıklığı, denge veya koordinasyon sorunları ve görme kaybı şikayetlerinden bir veya birkaçı aynı anda gözlenebilir [36]. Akut iskemik inme (AİS)'den önce bazen kan akışının azalması nedeniyle geçici bir beyin fonksiyon bozukluğuna sebep olan geçici iskemik atak meydana gelebilir. Geçici iskemik atak geçiren hastaların ise %17,4'ünün atağı takip eden ilk 3 ay içerisinde AİS geçirdikleri bilinmektedir [37]. İnme tedavisinde ise temel olarak tıkalı arterin zamanında rekanalizasyonu ve iskemik dokunun reperfüzyonu, optimize kollateral akışın sağlanması ve ikincil beyin hasarının önlenmesi ilkeleri benimsenmektedir. İskemik inme hastalarında inmenin ilk saatlerinde verilen doku plazminojen aktivatörünün (tPA) intravenöz trombolizi ve mekanik endovasküler trombektomi müdahalelerinin ise nörolojik bulguları iyileştirdiğine dair tartışılmaz kanıtlar bulunmaktadır. Bu sayede tıkanıklığın açılarak iskemik dokunun reperfüze olması sağlanır. Bu müdahalelerin iskemik inmeyi takip eden ilk 4-5 saat içinde yapılamaması durumunda iskemik olayı çevreleyen alanın (penumbra) enfarktüse dönüşmesi kaçınılmazdır

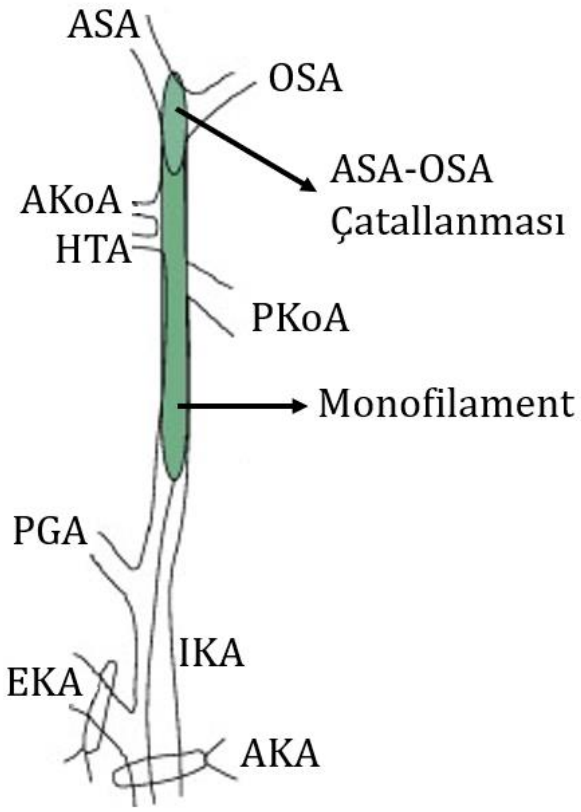
[38]. Öte yandan inme sonrası glikoz ve oksijen yetersizliği, oksidatif fosforilasyonu bozar bu da enerji yoksunluğuna ve iyon dengesizliğine neden olarak hücre zarı depolarizasyonu sonucunda hücre dışı matrikste toksik glutamat birikimlerine neden olur. Bu durum inme sonrası görülen N-metil-d-aspartat reseptörlerindeki aşırı aktivasyon ile birleşince cAMP'yi azaltan fosfodiesterazların aktivasyonuyla sonuçlanır [39]. Her ne kadar iskemik inmede penumbranın enfarktüse dönüşmeden reperfüze edilmesi önemli olsa da IR'yi takiben sitokin ve ROS salınımının artması ve bu moleküllerin kan dolaşımına dahil olmasıyla diğer doku, organ ve sistemlerin etkilenmesi kaçınılmazdır [40,41]. Sonuç olarak iskemik bir dokunun reperfüze olması sebebiyle oluşabilecek ikincil komplikasyonlara karşı koruyucu, önleyici, tedavi edici yöntem ve metotların geliştirilmesi bu hastaların yaşamlarını sürdürebilmeleri veya yaşam standartlarının artırılması açısından önem arz etmektedir.

İnme sonrası patofizyolojik durumlar nöroinflamatuar yanıtların artması sayesinde daha da şiddetlenmektedir. Hem AİS fazındaki doğuştan gelen bağışıklık sistemi (nötrofiller, monositler/makrofajlar gibi) hem de kronik fazdaki adaptif immün sistem (T hücreleri, B hücreleri gibi) nöroinflamatuar sürece katkıda bulunur. Diğer taraftan nöroinflamasyonun baskılanması beyin dokusundaki ilerleyici yıkımı önleyebilmektedir. Hücre içi cAMP seviyelerinin kontrolü sayesinde çok çeşitli fizyolojik süreçler modüle edilmektedir. cAMP tarafından doğrudan aktive edilen değişim faktörü (Epac) aktivasyonu nöronlarda aksonal büyüme ve nörotransmitter salınımına yol açarken, diğer pek çok hücre tipinde proliferasyonu, farklılaşmayı, adezyon özelliklerini ve inflamatuar yanıtları düzenler. İnme sonrası cAMP düzeyinde artış olması sayesinde nöroinflamasyonun azaldığı bilinmektedir. Böylece cAMP'ye özgü fosfodiesterazların inhibe edilmesi ile cAMP seviyelerinin yükseltilmesi sonucu baskılanan nöroinflamasyonun fonksiyonel iyileşmeyi gerçekleştirebileceği düşünülmektedir [42].

2.1.5.1. Deneysel İskemik İnme Çalışmaları

Hayvan modelleri insan hastalıklarını incelemek için önemli bir araçtır. Son yıllarda çeşitli hayvan inme modelleri, iskemik mekanizmalar ve ilaç geliştirme çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar arasında intraluminal monofilament ilerletme ile orta serebral arter oklüzyonu (OSAO) modeli insan iskemik inmesine en yakın model olarak kabul edilir ve nöroproteksiyon deneylerinin %40'ından fazlasında tercih edilmiştir. Öte yandan kraniyektomi ile gerçekleştirilen serebral iskemi modelinde beyinde enfeksiyon oluşumu yaygın olarak görülen sekonder bir sonuç olmaktadır. Ayrıca kraniyektomi ile beyin dokusunda oluşan travma, klinikte karşılaşılan inme olayıyla ilişkisi olmayan bir durumdur. İntraluminal monofilament ilerletme yöntemi ile oluşturulan OSAO, standart enfarktüs hacmi ve uygulanabilir prosedürleri sayesinde birçok araştırmada en geçerli model olarak bahsedilmiştir [43,44].

OSA ve dalları insan iskemik inme vakalarında en çok etkilenen serebral arterlerdir. Monofilament ile oluşturulan OSAO teknik olarak daha az invazivdir ve bu modelde kraniyal yapılar zarar görmez. Genel anlatımı ile bu yöntemde AKA'da oluşturulan bir kesiden naylon monofilament ilerletilerek OSA'ya giden kan akışının kesilmesi sağlanmaktadır (Şekil 2.3.). Bu yöntemle kalıcı OSAO veya iskemi sonrası monofilamentin çıkarılmasıyla IR modeli oluşturulabilmektedir. Bu teknik ile enfarktüs oluşturma başarı oranı %88-100 olarak tespit edilmiştir. Sıçanlarda yapılan monofilamentli OSAO çalışmaları striatum, frontoparietal, temporal ve oksipital korteksler ile talamus ve hipotalamusta enfarktüs oluştuğunu göstermiştir [45,46].



Şekil 2.3. İntraluminal monofilament ilerletme tekniği ile orta serebral arter oklüzyonu (OSAO) şematik gösterimi. ASA; arka serebral arter, OSA; orta serebral arter, AKoA; anterior komunikan arter, HTA; hipotalamik arter, PKoA; posterior komunikan arter, PGA; pterigopalatin arter, IKA; internal karotis arter, EKA; eksternal karotis arter, AKA; ana karotis arter [47].

Kraniyektomi modelinde de hedef yine OSA'da iskemi oluşturmaktır. Parotis bez ve temporal kasın ayrılması, zigometrik arkın kesilmesi ve bu eksendeki kafatasının açılması ile OSA görünür hale getirilir. Daha sonra kalıcı iskemi oluşturmak için elektrokoagülasyon ile OSA tıkanır. Ek olarak kraniyektomi modeli ile IR çalışması yapmakta mümkündür. OSA'ya yerleştirilen mikrovasküler bir klips ile kan akışı kesilir ve klips çıkarılarak reperfüze olması sağlanabilir. Bu modelin ana avantajları enfarktüs ve nörolojik defisitlerin düşük mortalite ve

görsel olarak doğrulanabilir şekilde OSA'da kan akışının kesilmesine olanak sağlamasıdır. Öte yandan bu yöntemin cerrahi işlemleri esnasında ve sonrasında delme veya elektrokoagülasyon süreçlerinde altta yatan dokulara hasar verilebilir, kafa içi basıncı artar ve kan beyin bariyeri işlevlerinde fonksiyon bozuklukları görülebilir [48].

Striatumda modifikasyonlara ve kortekste iyi tanımlanmış iskemik lezyonlara neden olan bir diğer model olan fototromboz tekniğinde ise temel ilke intravasküler foto-oksidasyondur. Kafatası belirli dalga boylarındaki ışık huzmesi ile belirli bir süre boyunca ışınlanır. Bu prosedür endotel hasarına, trombosit aktivasyonuna ve ışınlanan alan içerisinde ROS miktarının artmasına neden olur. İnme oluşturulması istenen ışınlama alanının tespitinde stereostatik koordinatlar kullanılır. Uygulamada cerrahi prosedürlere gerek duyulmadan iskemik hücre ölümü hızlı şekilde sağlanabilir. Fototrombotik inme sonrası manyetik rezonans görüntüleme yapılan çalışmalarda inme hasarından ziyade travmatik beyin hasarına benzer şekilde vazojenik ve sitotoksik ödem gelişimi tespit edilmiştir [49,50]. Bu haliyle fototromboz inme modeli deney hayvanlarında bir penumbra alanı sağlayabilse de bunun bir insan penumbrasını doğru şekilde modelleyip modelleyemediği tartışmaya açık bir konu halindedir [51].

Bir başka inme modeli ise endotelin-1 (ET-1) uygulamasına dayanmaktadır. 21 amino asitli bir peptit olan ET-1 güçlü ve uzun etkili vazokonstriktif bir moleküldür [52]. ET-1'in damarlara lokal olarak uygulanması serebral kan akışında iskemik hasarı indükleyecek kadar azalmaya neden olabilir. OSA gibi bilinen arterlere uygulanabileceği gibi stereotaktik cerrahi yöntemleri ile internal kapsül ve frontoperietal korteks gibi spesifik bölgelerde enfarktüs oluşturmak için kullanılan bir yöntemdir. Uygulanan doza bağlı olarak kalıcı ve geçici iskemi modeli oluşturulmaktadır. Enfarktüs bölgesinin özel olarak seçimi ve kolay manipülasyon gibi avantajlarının yanı sıra sadece vasküler iletimin değil nöronal iletimin de etkilenmesi gibi dezavantajı da bulunmaktadır. Ayrıca endotelin dönüştürücü enzimler ve endotelin reseptörü B, nöron ve astrositlerde eksprese edilir ve sinir hasarı ile düzenlenir. Bu nedenle eksojen ET-1 uygulaması iskemik inmenin patogenezini daha karmaşık hale getirebilir ve nöroprotektif ajan çalışmalarında sonuçların değerlendirilmesini olumsuz etkileyebilir [53].

Diğer bir inme modeli çalışması ise embolik inmedir. Embolik inme mikro/makro küreler ve tromboembolik pıhtı şeklinde iki farklı model ile geliştirilmektedir. Mikroküre modelinde seramik, supraparamanyatik demir oksit, dekstran ve TiO_2 gibi farklı materyallerin 20-50 μm çapındaki küre parçacıklarından yararlanılır. Mikrokürelerin bir mikrokateter kullanılarak EKA'dan OSA'ya veya IKA'ya yerleştirilerek serebral dolaşıma dahil edilmesi ile gerçekleşir. Mikroküre kaynaklı inme modelinde multifokal ve heterojen enfarktlar oluşur ve lezyon boyutu 24 saat boyunca büyür. Enjekte edilen mikrokürelerin dozu ve boyutu ortaya çıkan lezyonların kapsamını ve şiddetini düzenlemek için ayarlanır. Makroküreler ile oluşturulan modelde ise kullanılan küreler 100-400 μm çapındadır ve IKA'dan enjekte edilir. Makrokürelerin intra-

arteryel embolizasyonu monofilament indüklü OSAO modeline benzer lezyonlarla sonuçlanır. Monofilament ilerletilen OSAO ile temel farkı ise hipotalamusa giden kan akışının korunması sonucu hipotalamik enfarktüslerin gelişmemesidir. Tromboembolik inme modeli ise IKA veya OSA'nın intrakraniyal segmentine trombin enjekte edilmesi ile gerçekleştirilir. Bu model insanlarda gerçekleşen inmenin büyük bölümünde görülen vasküler oklüzyon mekanizmasını yakından taklit eder ve trombolitik ajanlar ile nöroprotektif ilaçların çalışılmasına olanak sağlar. Tromboembolik pıhtı modelinde enfarktüslerin hacmi ve lokalizasyonu pıhtının boyutuna ve esnekliğine bağlıdır. Bununla birlikte oluşan enfarktüs hacmi intraluminal monofilament ilerletme tekniğine bağlı iskemik lezyonlara kıyasla daha küçük ve değişkendir. Farelerde trombin enjeksiyonu ile indüklenen pıhtıların düşük sayıda hücre ve trombosit içeren fibrinden oluştuğu ve bu nedenle insandakinden farklı olduğu yapılan araştırmalarda tespit edilmiştir [54]. Ek olarak bu modelde gerçekleştirilen uygulamalar sonucunda beyin kanaması ve ölüm ile yaygın olarak karşılaşılmaktadır [55].

Sonuç olarak insan iskemik inmesinin patofizyolojisinin aydınlatılması ve bu patofizyolojilere karşı koruyucu ve tedavi edici keşiflerin tespit edilmesi hayvan modelli çalışmalar ile devam etmektedir. Farklı modeller üzerine yapılan çalışmaların birbirlerine karşı bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır (Tablo 2.1). Ancak çalışmalar insan iskemik inmesini birçok açıdan en iyi taklit eden modelin intraluminal monofilament ilerletme tekniği ile OSAO olduğunu göstermektedir.

Tablo 2.1. Deneysel iskemik inme modeli çalışmalarının avantaj ve dezavantajları [55].

Model	Avantajlar	Dezavantajlar
İntraluminal monofilament ilerletme tekniği ile OSAO	- İnsan iskemik inmesini en iyi şekilde taklit eder - Yüksek oranda kontrol edilebilir reperfüzyona olanak sağlar - Kraniyektomi gerektirmez	- Hipotermi veya hipertermiye neden olabilir - Tromboliz çalışmaları için uygun değildir - Özellikle bazı monofilament tipleriyle yapılan uygulamada hemoraji sebebiyle hayvan kayıpları gerçekleşebilir
Kraniyektomi	- Deney hayvanlarının operasyon sonrası uzun vadeli hayatta kalma oranı - OSA'da görsel olarak teyit edilebilir başarılı uygulama	- İnvaziv işlemler yoğundur ve ikincil komplikasyonlar görülebilir - Yüksek derecede cerrahi bilgi ve beceri gerektirir
Fototromboz	- İskemik bir lezyonun iyi tanımlanmış lokalizasyonuna imkan tanır - Düşük invaziv işlemler gerektirir	- İnsan inmesi için karakteristik olmayan vazojenik ödeme neden olur - Nöroprotektif ajanları araştırmak için uygun değil
Endotelin-1	- Kortikal veya subkortikal bölgelerde iskemik lezyon indüksiyonuna imkan tanır - Düşük mortalite - Düşük seviyede invaziv işlemler bulunmaktadır	- İskemi süresi kontrol edilemez - Düşük oranda enfarkt oluşumu
Embolik inme	- İnsan felcinin patogenezini en yakın şekilde modeller - Trombolitik ajanların çalışmaları için uygundur	- Spontan rekanalizasyon - Lezyon boyutunun yüksek orandaki değişkenliği

2.2. Kalp

Kalbin birincil işlevi dolaşımı sağlamak ve homeostazı sürdürmektir. Homeostazın sürdürülmesinde ise kalbin mekanik, elektriksel ve metabolik sistemlerinin koordineli bir şekilde

çalışması gerekmektedir. Kalp miyokard (kalp kası lifleri), kapakçıklar, damar sistemi ve iletim sisteminden oluşan bir yapıdır. Bu bileşenler kas yapısının sağlıklı şekilde çalışmasını ve dolaşımın koordinasyonunu sağlamak üzere uyumlu bir şekilde çalışır.

Kalp mediasten içinde, diyaframın üzerinde, kütlesinin üçte biri orta hattın sağında ve sol hipokondriyuma doğru konumlanmıştır. Dört odacıklı olan bu yapının iç yüzeyi endokardiyum olarak adlandırılan epitel hücre tabakası ile kaplıdır. Bu hücre tabakası tüm yapılara kan akışını kolaylaştırır ve kalp kasılma süresinin düzenlenmesine yardımcı olur. Kalbin dış yüzeyi ise perikard ile kaplıdır. Visseral perikard veya epikardiyum, lenf damarlarını ve koroner arterleri sabitlemek için bir yüzey görevi gören ince iç kaplama tabakasıdır. Epikardiyumun dışındaki kalın fibröz tabaka olan parietal perikard kalbin mediastene tutunmasına aracılık eder. Visseral ve parietal perikardı ayıran perikardiyal kese kalbin içinde yüzdüğü 25-35 ml berrak seröz sıvı içerir. Perikardiyal kese pompalama etkinliğini en üst düzeye çıkarmak için kalbi uygun anatomik pozisyonda tutar ve enfeksiyonlardan korumak için bir bariyer görevi görür [56].

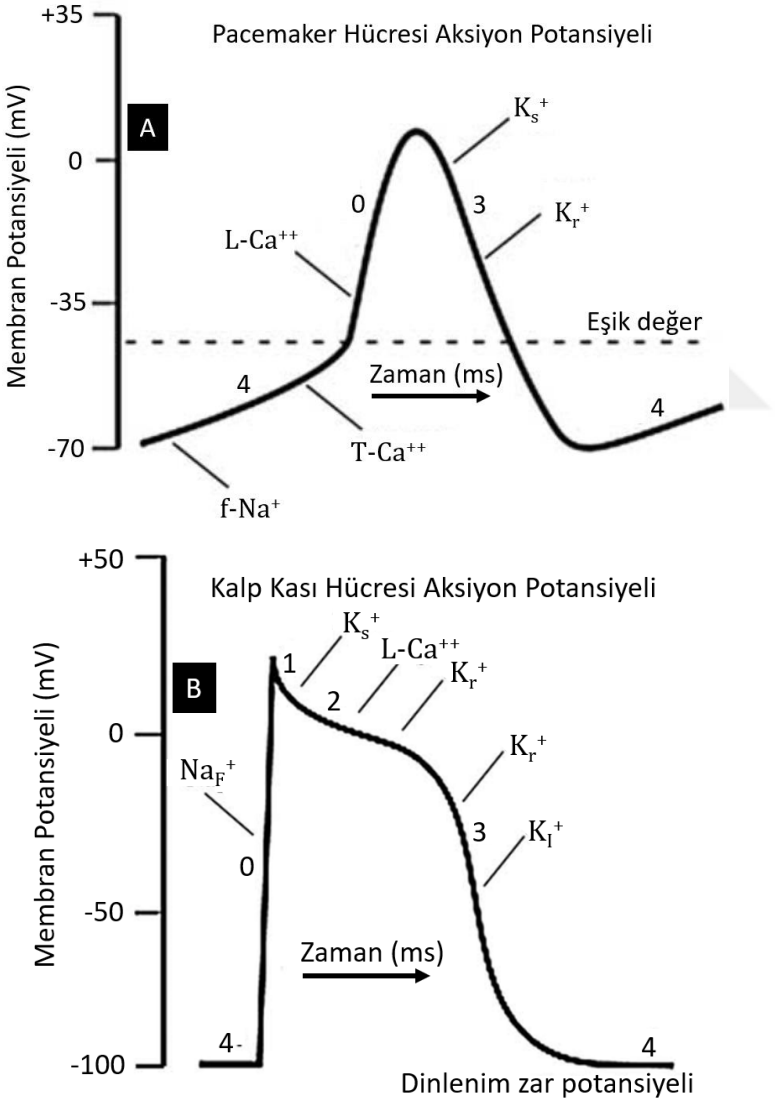
2.2.1. Kalpteki Elektriksel Olaylar ve Dahil Olan Yapılar

Kalpteki elektriksel iletim sisteminin elektriksel uyarıları başlatması ve iletimi düzenlemesi ile atriyum ve ventrikül kasları senkronize şekilde kasılır. Kardiyak iletim sisteminin ana bileşenleri sinoatriyal düğüm ve antiyoventriküler (AV) iletim eksenidir.

Sinoatriyal düğüm superior vena kava ile sağ atriyumun birleştiği yerde bulunur ve subepikardiyal boşluktan endokardiyuma kadar uzanır. Ayrıca kalp hızını düzenleyen zengin sempatik ve parasempatik girdiler alır. Sinoatriyal düğüm kalbin doğal bir pili (pacemaker) olarak bilinir ve burada bulunan hücrelerin sabit bir dinlenim zar potansiyeli yoktur. Şekil 2.4.-A'da görülen ve membran voltajının en negatif olduğu bölümde (faz 4) funny Na^+ iyon kanalı (f-Na^+) olarak adlandırılan voltaj bağımlı kanallar açılır, Na^+ iyonları hücre içine girer ve depolarizasyon arttıkça kademeli olarak Na^+ akımı (I_{Na^+}) azalır. Membran potansiyeli eşik değere yaklaştıkça geçici hızlı voltaj bağımlı Ca^{++} iyon kanalları (T-Ca^{++})'ndan içeri doğru Ca^{++} iyonları girer ve hücrenin eşik değere ulaşmasına katkı sağlar. Depolarizasyonun 0. evresinde ise yavaş, uzun süreli voltaj bağımlı Ca^{++} iyon kanalları (L-Ca^{++})'ndan içeri yönlü Ca^{++} akımı ($I_{L\text{-}Ca^{++}}$) başlar. $I_{L\text{-}Ca^{++}}$ ile membran potansiyeli eşik değeri aşmış ve aksiyon potansiyeli (AP) başlamıştır. Faz 3 ise hücrenin repolarizasyonuna karşılık gelen evredir. Sırasıyla yavaş gecikmiş doğrultucu K^+ akımları (I_{Ks^+}) ve sonrasında hızlı gecikmiş doğrultucu K^+ akımları (I_{Kr^+}) görülür. Bu esnada L-Ca++ iyon kanalları kapanır ve membran voltajı ∼-70 mV olan bir temel değere geri gelerek spontan depolarizasyon işlemi yeniden başlar (Şekil 2.4.-A). Pacemaker hücrelerinde oluşan uyartı diğer kalp kası hücreleri arasında farklı iyonik akımlardan oluşan kalp hücrelerine spesifik bir AP deseni ile ilerleyişini sürdürür (Şekil 2.4.-B). Kalp kası hücreleri AP'de Faz 4 olarak adlandırılan evrede hücrenin uyarılmamış durumdaki dinlenim zar potansiyeli görülmektedir. 0.

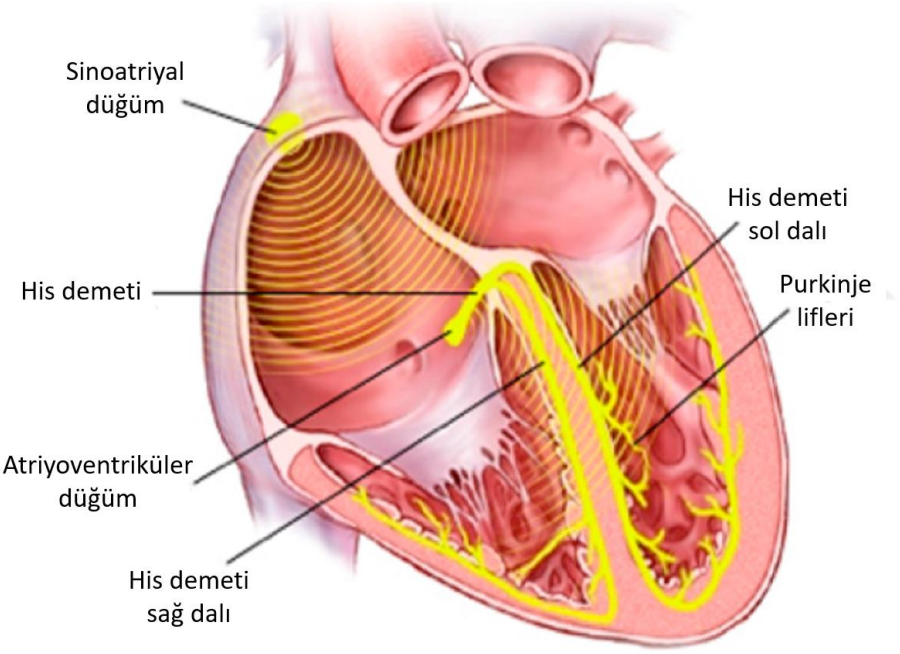
evre olarak adlandırılan depolarizasyon aşamasında hızlı voltaj bağımlı Na^+ iyon kanalları (Na_F^+) açılır ve elektrokimyasal gradyent etkisinde içeri yönlü I_{Na}^+ gerçekleşir. Evre 1'de ise Na_F^+ etkinliği azalmış dışarı doğru zayıf bir I_K^+ devam eder. Faz 2 AP'nin plato fazını temsil eder. Büyük ölçüde yavaş uzun süreli voltaj bağımlı L-Ca^{++} aracılığıyla içeri yönlü $I_{L\text{-}Ca}^{++}$ ile birlikte dışarı yönlü I_{Ks}^+ ve I_{Kr}^+ akımları birlikte görülür. Faz 3 ise hücrelerin repolarizasyonuna karşılık gelen evredir. I_{Kr}^+ ile birlikte ilave doğrultucu K^+ kanalları (K_I^+)'ndan içeri yönlü K^+ akımı etkisinde hücre K^+'nun Nernst ile hesaplanmış denge potansiyeline tekrar döner (~-100 mV) (Şekil 2.4.-B) [57].

Sinoatriyal düğümden gelen impulslar intra-atriyal kas demetleri yoluyla AV düğüme geçer. Sağ atriyumdan sol atriyuma hızlı interatriyal iletim ile senkronize biatriyal kasılma gerçekleşir [58].



Şekil 2.4. A- Pacemaker hücrelerinde kendiliğinden oluşan AP (aksiyon potansiyeli) evreleri ve iyonik akımlar. B- Kalp kası hücrelerinde oluşan AP evreleri ve iyonik akımlar [57].

AV iletim ekseni ise AV düğüm, his demeti ve purkinje ağından oluşur. AV düğüm todaro tendonu, triküspit kapağın septal yaprağı ve koroner sinüs ostiumuyla sınırlı olan ve Koch üçgeni olarak adlandırılan bölgede yer alır [59]. AV düğümdeki hücreler uyarının atriyumdan ventriküle yayılmasını geciktirerek atriyal kasılmayı ve ventriküler dolumu kolaylaştırır. AV düğüm hücreleri his demetini oluşturan penetran hücre demetine geçiş yapar [60]. Tawara S. yaptığı çalışma ile atriyumdan AV düğüm, his demeti ve ventriküler uzantılara impulsları ileten ve histolojik olarak farklı hücrelere sahip özel bir yolun varlığını keşfetti. Ayrıca his demetinin ve dallarının fibröz bir doku tarafından yalıtılmış olduğunu tanımladı [61]. His demeti daha çok düşey eksende yayılarak elektriksel iletimin longitudinal eksen boyunca hızla yayılmasına aracılık eder. Ventriküller arası bölmeden sağ ve sol dallara ayrılan his demeti bu yollar aracılığı ile uyartıyı ventriküllerdeki Purkinje liflerine iletir. Purkinje lifleri ise uyartıları ventrikül kaslarına iletir ve ventrikül kaslarının kasılmasını sağlar (Şekil 2.5.) [62].

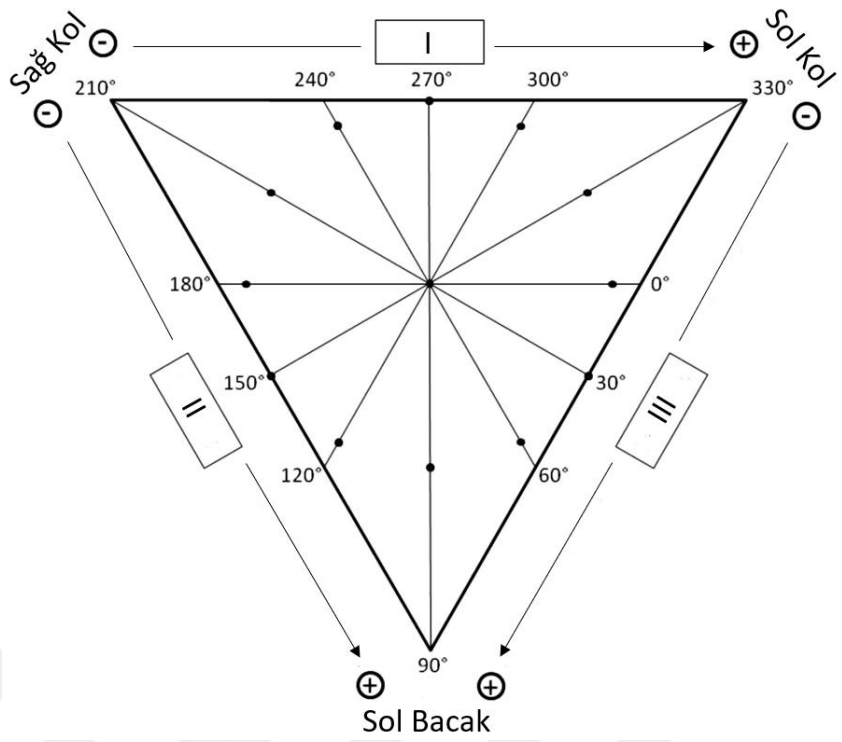


Şekil 2.5. His demeti ve Purkinje lifleri şematik gösterimi [63].

2.2.2. Elektrokardiyografi (EKG)

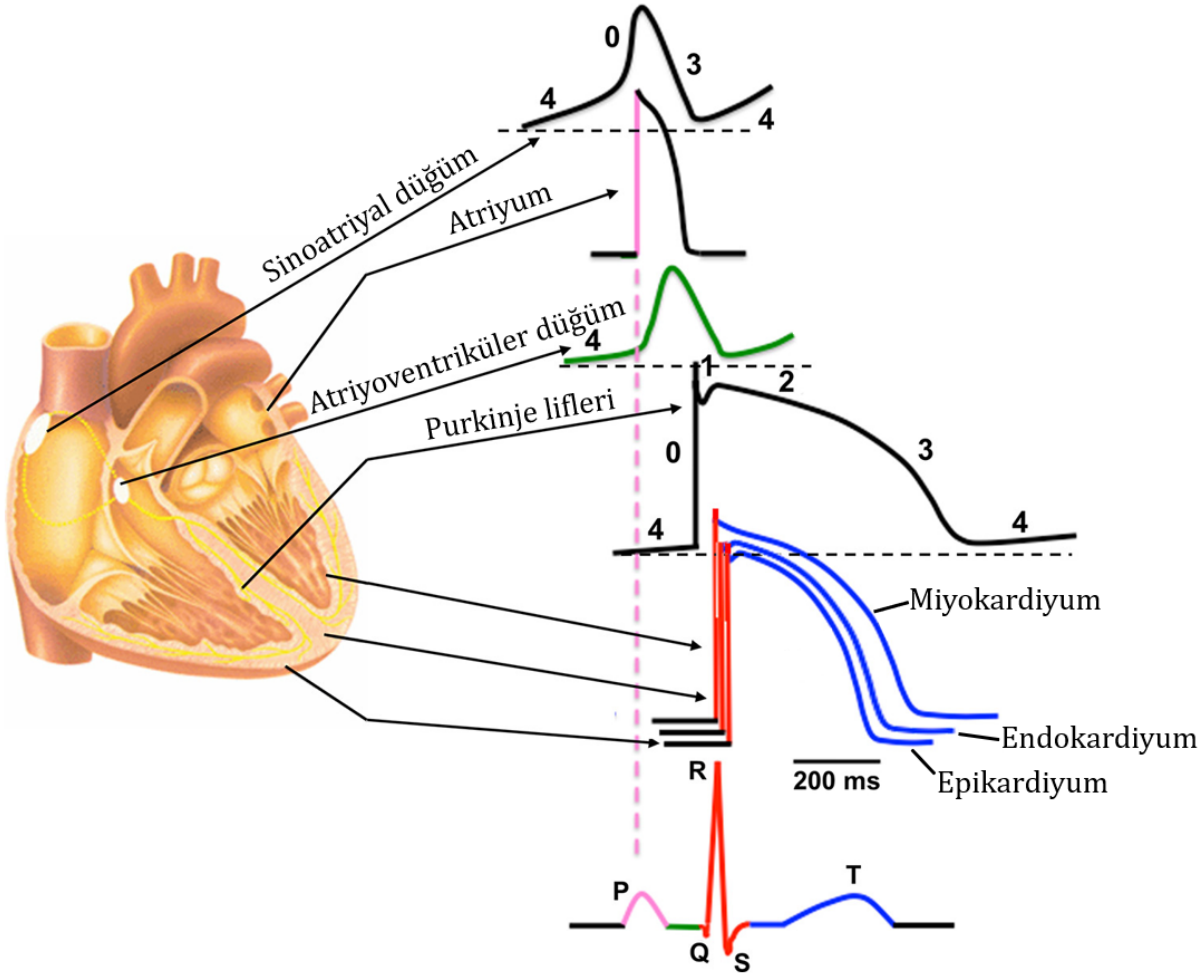
19. yüzyılın son on yılı boyunca hekimler kalp hastalıklarının teşhisinde klasik öykü alma ve fiziki muayene ile birlikte teknolojiden de yararlanmaya başladılar. 1902'de EKG kullanılmaya başlandı ve temelde kalbin elektriksel aktivitesinden kaynaklı ekstremiteler arasındaki potansiyel sapma galvanometre kullanılarak ölçüldü [64]. Günümüzde EKG non-invaziv ve ekonomik şekilde uygulanabilir olması sebebiyle kalp şikayeti ile hastaneye başvuran hastalarda ilk değerlendirmenin önemli bir parçası haline gelmiştir.

Kalpteki elektriksel olaylar sinoatriyal düğümdeki pacemaker hücrelerin kendiliğinden gelişen depolarizasyonuyla başlar ve buradan atriyum kaslarına yayılır. Ardından AV düğüme ulaşan uyartı his demetine aktarılır. Daha sonra ise Purkinje lifleri aracılığıyla ventrikül kaslarına yayılarak ventriküllerin kasılması sağlanır. Bu iletim esnasında ise bir hacim iletkeni olarak kabul edilen kalp içerisinde negatif (-) ve pozitif (+) kutuplu bölgeler arasında oluşan dipollerin vektörel toplamı ile kalp dipolü denilen toplam vektör oluşur. Ekstremitelerden ölçülen elektriksel aktiviteler ise bu kalp dipolünün ekstremiteler üzerine izdüşümü olarak tanımlanmaktadır. Şu an klinik uygulamalarda kalbin sistol – diyastol evrelerine eşlik eden elektriksel aktivitenin kaydedilmesi 12 derivasyonlu bir uygulama ile gerçekleştirilmektedir. Willem Einthoven EKG'nin ilk keşfinde dört ekstremite ve ağızda bağlı olan elektrotlardan sağ bacak ve ağız elektrotlarını çıkartarak Einthoven üçgeni olarak bilinen prensip gereği sağ kol, sol kol ve sol bacak olmak üzere toplam üç elektrotla standart bipolar ekstremite derivasyonlarını (I, II, III) kaydetmeyi başarmış ve bu keşfi ile 1924'te fizyoloji ve tıp alanında Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür. Bu prensibe göre sağ kola eksi, sol kola artı kutup yerleştirilerek kaydedilen potansiyel değişim derivasyon I, sağ kola eksi, sol bacağa artı kutup yerleştirilecek kaydedilen potansiyel değişim derivasyon II, sol kola eksi kutup, sol bacağa artı kutup yerleştirilerek kaydedilen potansiyel değişim derivasyon III olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.6.). Üç derivasyonlu elektrokardiyogram aritmileri değerlendirmek için tatmin edici sonuçlar verse de miyokard enfarktüsünün tespit edilemeyeceği sessiz alanlar olarak adlandırılan bölgeleri içermektedir. Wilson N. merkezi bir terminal oluşturarak toprak elektrotu olarak düşünülecek bir merkeze göre vücudun herhangi bir noktasına bağlanan diğer elektrot ile o noktanın merkezi terminale göre elektriksel potansiyel değişimini kaydetmeyi başardı. Böylece unipolar V1-6 olarak adlandırılan altı adet göğüs derivasyonu oluştu ve kalp dipolünün horizontal eksendeki yönelimi belirlenebilir hale geldi. Bu gelişmelerin ardından Goldberger E. miyokard patolojilerinde halen sessiz bölgeler olduğunu keşfederek Wilson merkezi terminali kullanarak sağ, sol kol ve sol bacağa ilave elektrotlar yerleştirerek unipolar ekstremite derivasyonları VL, VR, VF'yi kaydetmiş fakat bu sinyallerin çok küçük olması sebebiyle amplifikasyon uygulanarak unipolar ekstremite derivasyonları artırılmış anlamında (augmented) aVL, aVR ve aVF olarak adlandırılmıştır [65]. Bu sayede EKG ölçümlerinden kalp dipolünün üç boyutlu konumu tespit edilebilir hale gelmiştir.



Şekil 2.6. Einthoven üçgeni ve bipolar ekstremite derivasyonları [66].

EKG eğrileri kalbin her bir sistol – diyastol evresine eşlik eden elektriksel aktiviteler boyunca farklı bölümlerde oluşan AP'lerin bir toplamı şeklinde kaydedilir. Buna göre EKG eğrilerinde oluşan her bir spesifik bölüm için farklı değerlendirmeler yapılarak olası aritmilerin kalbin hangi bölgesinden kaynaklandığı tespit edilebilmektedir. Şekil 2.7.'da görülen P dalgası, atriyal hücrelerin aktivasyonu (depolarizasyon) ve erken repolarizasyonuna karşılık gelir. QRS kompleksi esas olarak hızlı sodyum kanallarının aktivasyonunun neden olduğu ventriküllerin depolarizasyonu yansıtır. PQ segmenti atriyumdan ventriküllere impuls iletimine karşılık gelmektedir. ST segmenti ise ventriküler AP'lerin plato fazını yansıtmaktadır. T dalgası ise ventriküllerin repolarizasyonuna karşılık gelmektedir (Şekil 2.7.) [67].

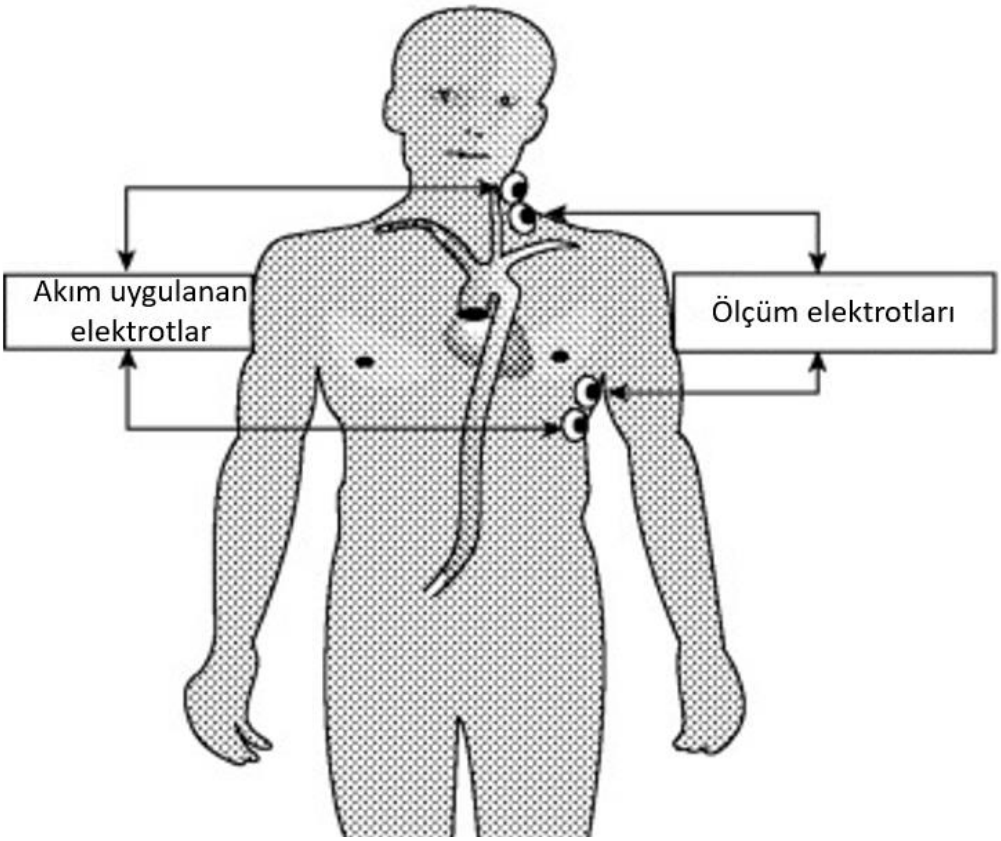


Şekil 2.7. Elektrokardiyografi (EKG) eğrisini oluşturan bölümlere karşılık gelen kalp aksiyon potansiyelleri [68].

2.2.3. Torasik Elektriksel Biyoempedans (TEB)

TEB; Kubicek ve ark. (1966) tarafından kardiyak debi (CO), atım hacmi (SV) ve kardiyak debi indeksi (CI) gibi bazı hemodinamik parametreleri tespit etmek için invazif olarak uygulanan yöntemlere alternatif olarak önerdikleri non-invaziv bir tekniktir [69,70]. Kardiyak fonksiyonların değerlendirilmesinde kullanılan TEB yöntemine empedans kardiyografi (ICG) denir [71]. Bu metot klinik uygulanışı bakımından ayaktan tedavi prosedürlerine uygun, açık kalp ameliyatları sonrası non-invaziv olması açısından uygulanabilirliği yüksek ve yöntemi uygulayacak sağlık çalışanları için yüksek bilgi, beceri ve eğitim maliyetleri gerektirmez [72]. Yöntem kısaca boyun ve göğüs kafesinin sol tarafına yerleştirilen ikişer yüzey elektrodu ile uygulanır. Boyun ve göğüs kafesinde bulunan elektrotlardan dıştaki elektrotlar aracılığı ile yüksek frekanslı ve düşük genlikli alternatif akım uygulanarak torakstaki biyoempedans değişimlerine karşılık gelen elektriksel potansiyel değişimler içteki elektrotlar aracılığı ile kaydedilir (Şekil 2.8.) [73]. Torasik empedanstaki değişiklikler kalbin sistol ve diyastol

evrelerindeki aortadaki kan akışının hacmi ve hızındaki değişikliklerle ilişkilidir. Sistol fazındaki artan kan hacmi, akış hızı ve kırmızı kan hücrelerinin gruplaşmaları nedeniyle toraks iletkenliği artar bir başka değişle ise empedans azalır. Pulsatil empedans değişiklikleri doğrudan yükselen aort kan akışını ve dolayısıyla sol ventrikül fonksiyonunu yansıtır. Bir kalp döngüsü sırasındaki empedans değişimleri kalp atım hızı (HR) ile birleştirildiğinde CO ve SV, kalp sesleri ve EKG ile birleştirildiğinde ise TEB kalbin hemodinamik parametreleri hakkında güvenli bilgileri sunar [74].



Şekil 2.8. Torasik elektriksel biyoempedans (TEB) elektrot yerleşimi [73].

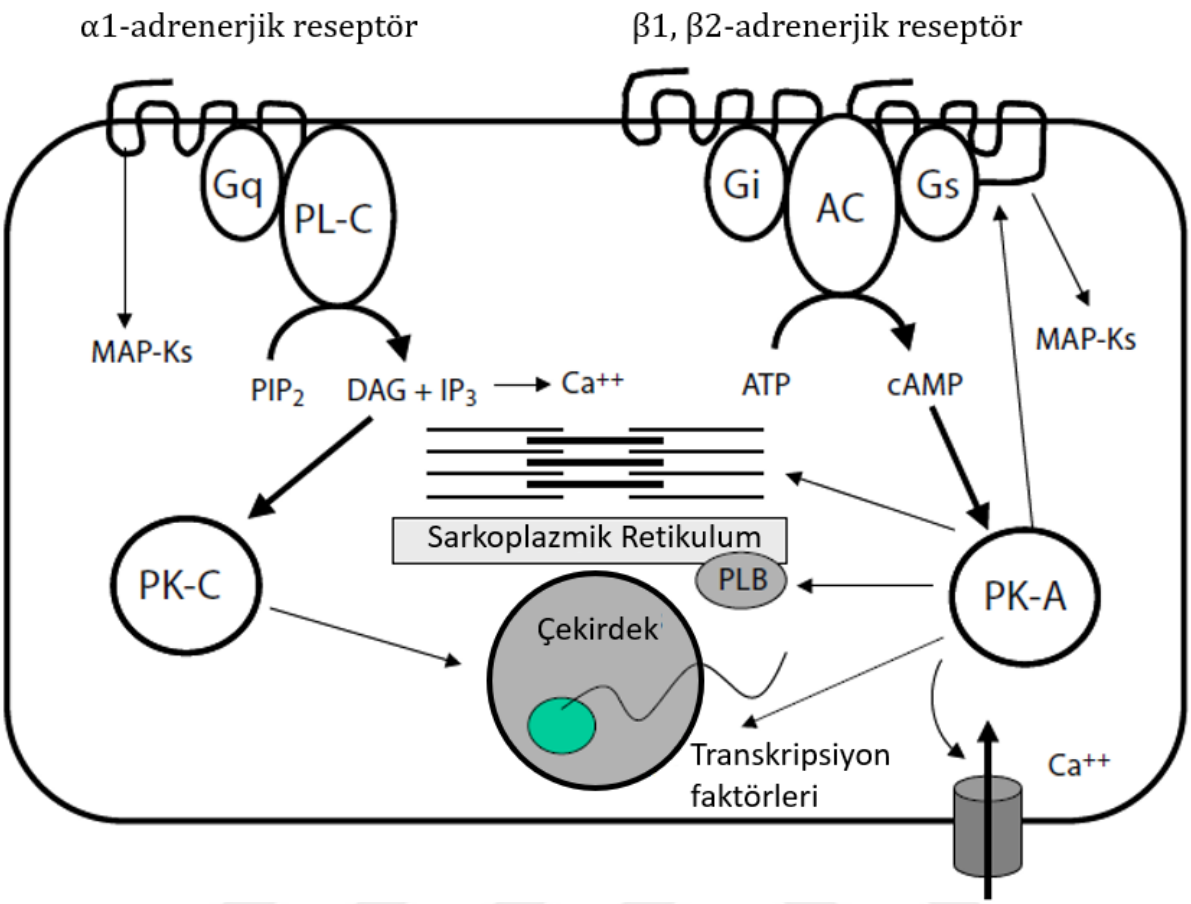
2.3. Kardiyovasküler Patolojilerde G-Proteinleri ve G-Protein Bağlı Reseptörler (GPCR)'in Rolü

Hücrelerarası sinyalizasyon mekanizmaları doku, organ ve sistemlerin fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için hayati öneme sahip olup, özellikle farklılaşma ve büyümenin düzenlenmesi sayesinde de yapısal çeşitliliğin oluşturulmasını sağlar [75]. Sinyal iletiminde görev alan uyarıcı mekanizmalar arasında ise nörotransmitterler, hormonlar, proteinler, feromonlar, ışık, hücre dışı kalsiyum, proteaz aktivitesi vb. sayılabilir [76].

Guanin nükleotit bağlayıcı proteinler olarak da bilinen G-proteinleri guanozin trifosfat (GTP) ve guanozin difosfat (GDP)'a bağlanabilen özelleşmiş proteinlerdir. G-proteinleri ya tek bir alt birimden (monomerik) ya da çok sayıda alt birimden (heterotrimerik) oluşur. Küçük G-

proteinleri ya da GTPaz'lar olarak bilinen monomerik yapılar yalnızca bir alfa alt birimden (Gα) oluşurken, heterotrimerik yapıda olan G-proteinler ise Gα, Gβ ve Gγ olmak üzere üç farklı alt birime sahiptir. β ve γ alt birimleri βγ şeklinde kararlı bir dimerik kompleks oluştururlar. İnsanlarda günümüze kadar tespit edilmiş 16 farklı Gα, 5 farklı Gβ ve 13 farklı Gγ alt birimleri bulunmaktadır ve bu alt birimlerin farklı kombinasyonları çok çeşitli heterotrimerik G-proteinleri ile sonuçlanır [77]. İşlevsel olarak G-protein ailesi uyaranlara yanıt olarak Gα biriminin GTP veya GDP'ye bağlanmasına bağlı olarak aktif veya inaktif hale gelir. Bir sinyalin yokluğunda GDP, Gα alt birimine bağlanır ve bir G-protein-GDP kompleksi oluşturur. Sonuç olarak G-protein bağlı reseptörler (GPCR) ile ilişkili bu kompleks protein inaktivasyonuna yol açar. Öte yandan bir uyaran olması durumunda GPCR konformasyonel değişime uğrar ve G-proteini aktive eder. GDP fiziksel olarak aktifleşmiş proteinde GTP ile değiştirilir. Neticede G-proteinleri içsel GTPaz aktivitesine sahiptir ve hücre büyümesi, protein sentezi ve vezikül taşınması gibi hücresel süreçlerde dinamik roller oynar [78].

GPCR'ler hormonlara, nörotransmiterlere ve çevresel uyaranlara karşı fizyolojik yanıtların çoğuna aracılık eder ve bu nedenle geniş bir hastalık yelpazesi için terapötik hedef konumundadırlar [79]. Kalpte GPCR'ler adenilat siklaz üzerinden cAMP sentezi ve protein kinaz-A yolağıyla, fosfolipaz C üzerinden ise IP_3 sentezi sonucu hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunu regüle eder (Şekil 2.9.). Bu sayede kalpteki uyarılma-kasılma mekanizmaları düzenlenir [80]. Beyinde ise benzer yolaklar aracılığı ile iyon kanallarının fosforilasyonu ve hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunun regülasyonu sayesinde sinaptik iletim sağlanır [81]. Bu fonksiyonları yerine getirmek üzere GPCR'ler kardiyovasküler sistemlerde kapsamlı şekilde ifade edilir (Tablo 2.2.).



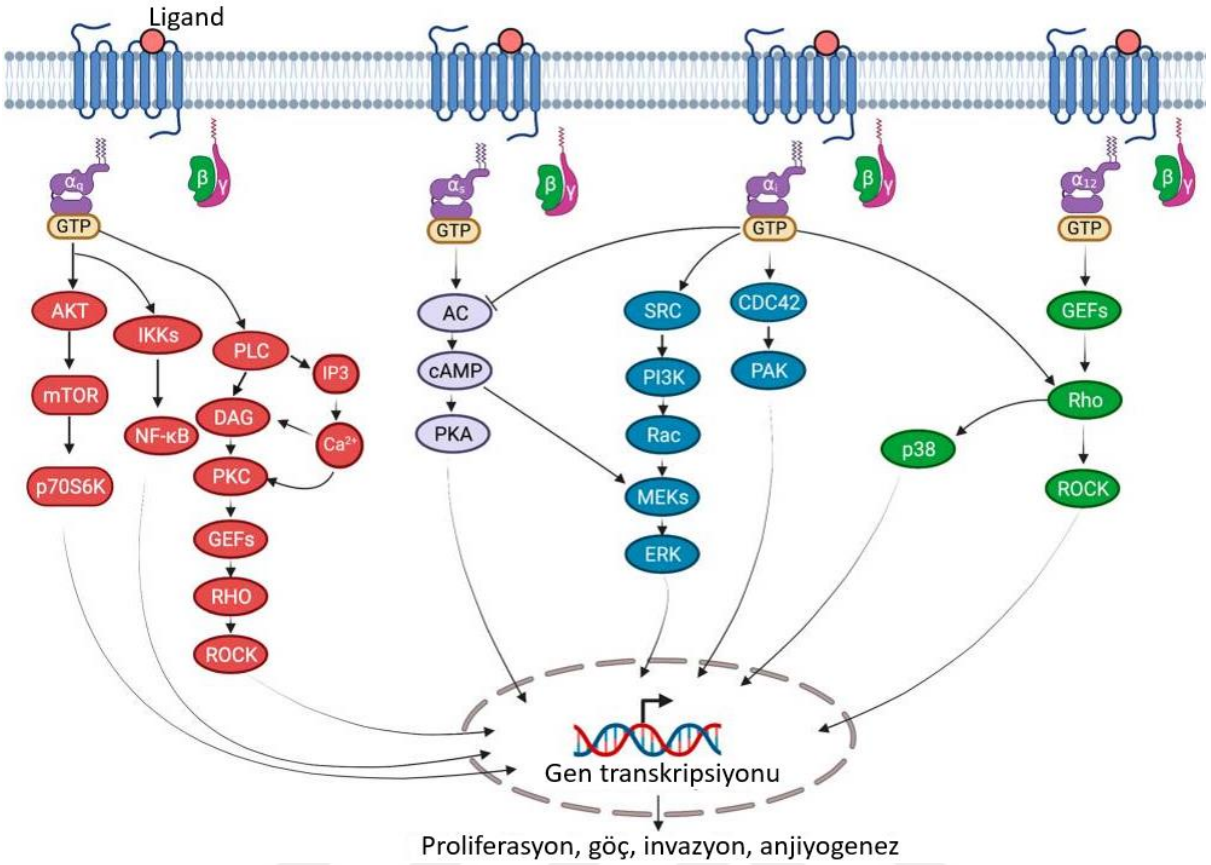
Şekil 2.9. Kalpte G-protein bağlı reseptörler (GPCR)'in hücre içi Ca^{++} konsantrasyonunu düzenleyen sinyal yolakları. Diaçilgliserol (DAG), inositol trifosfat (IP_3), fosfolipaz-C (PL-C), protein kinaz-A (PK-A), protein kinaz-C (PK-C), fosfolamban (PLB) [80].

Tablo 2.2. Kalpte bulunan G-protein bağlı reseptör (GPCR)'ler ve ligandları [82].

GPCR'ler	Ligand
Adrenerjik reseptör	Norepinefrin
Anjiyotensin II reseptörü	Anjiyotensin II
Endotelin reseptörü	Endotelin I
Adenozin reseptörü	Adenozin
Lizofosfatidik asit reseptörü	Lizofosfatidik asit
Serotonin reseptörü	Serotonin
Muskarinik reseptör	Asetilkolin

GPCR'ler kalbin fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirmesinde önemli roller üstlendiği gibi patofizyolojik durumlarla da ilişkilidir. Adrenerjik stimülasyona inotropik ve kronotopik

hipo-tepki vermenin yanı sıra Gs-α proteinlerinde azalma ve Gi-α proteinlerinde artış gözlenir ve bu durum da kalp yetmezliğine yol açar. Bu koşullarda β-adrenerjik aktivitede azalmaya neden olan güçlü sempatik aktivasyon görülür. Kardiyak potasyum kanallarının asetilkolin bağımlı aktivasyonu kalp atışını düzenler. G-proteine bağlı içe doğru düzeltici potasyum kanalları (GIRK) da kalp yetmezliği patogenezinde önemli roller oynar. Miyokardiyal iskemide inorganik fosfat miktarlarındaki artış, oksidatif stres, ATP eksikliği gibi çeşitli modifikasyonlar sonucu adenilat siklaz işlevinde kayıplar görülür ve bu kayıpların β adrenerjik reseptörler ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle miyokardiyal iskeminin tedavisinde β-bloke edici ajanlar kullanılmaktadır. Tansiyonun dengelenmesinde ise vazokonstriktörler ve vazodilatörler arasında hassas bir denge kurulması gerekmektedir. GPCR'lerin bu dengede önemli fonksiyonları vardır. Reseptör-G-protein etkileşimindeki değişikliklerle birlikte β-adrenerjik bozukluk hipertansiyon gelişiminin sorumlusudur. Bu durumda anjiyotensin II- endotelin-I ve vasopressin gibi GPCR ligandları fosfolipaz C'yi uyararak diaçilgliserol (DAG) ve IP_3 sentezinde bozukluklara neden olur. Ayrıca GPCR'lerin %90'ından fazlası beyinde ifade edilir ve bağışıklık sisteminin regülasyonu, bilişsel süreçlerin organizasyonu, sinaptik iletim ve ağrı gibi süreçlere katkıda bulunurlar. Oksitosin, serotonin, muskarinik asetilkolin gibi çeşitli GPCR ligandları hücre içi sinyal yollarının etkinleştirilmesinde hayati roller oynar. Örneğin serotonin iskemik beyin hasarında hem koruyucu hem de zararlı rolü olan bir nörotransmiterdir. Aktive olmuş serotonin reseptörleri adenilat siklaz inhibisyonuna yol açar ve böylece cAMP oluşumunu azaltır. Bu süreç iyon kanallarının fosforilasyonunu ve nöronal uyarımı azaltır [82]. Dolayısıyla inme sonrası nöronal iletim mekanizmalarındaki GPCR ilişkili hasarlar kardiyak patolojilerin oluşumuna da öncülük edebilmektedir. Bunlar gibi GPCR ile ilişkili sinyal iletim mekanizmalarındaki bozukluklar farklı kardiyovasküler patolojiler ile ilişkilendirilmektedir. Şekil 2.10.'da kardiyovasküler patolojiler ile ilişkili GPCR sinyal yolakları gösterilmektedir.



Şekil 2.10. Kardiyovasküler patolojilerde G-protein bağlı reseptörler (GPCR) ile ilişkili sinyal yolakları. Guanozin trifosfat (GTP), protein kinaz-B (Akt), inositol trifosfat (IP_3), fosfolipaz-C (PL-C), siklik adenozin monofosfat (cAMP), protein kinaz-A (PKA) [82].

2.4. İnme ve Kalp Fonksiyonları Arasındaki İlişki

Nörolojik bozukluklardan etkilenen kardiovasküler sistemdeki değişiklikler beyin-kalp ekseni olarak tanımlanır [83,84]. Hipertansiyon, atriyal fibrilasyon gibi kalp hastalıkları inmeye neden olabilmektedir. Tam tersi durumda da inme geçiren hastaların kalp fonksiyonları bozulabilmektedir. Hatta inme sonrası ölümlerin çoğu nörolojik kusurlar sebebiyle olsa da ölüm nedenleri içerisinde ikinci sırada kardiyovasküler komplikasyonlar yer almaktadır. İnme sonrası kardiyak hasarlar ölüme neden olabilmesinin yanı sıra kalp yetmezliği gibi ömür boyu sürecek kalp problemlerine, anormal EKG bulgularına veya sol ventrikül sistolik fonksiyon bozukluğu sonucu kalp debisinde azalma olarak tanımlanan nörojenik stres kardiyomiyopatisine ve tipik olarak kalp krizine benzer şekilde geçici bir kardiyak enzim değişikliğine sebep olan Takotsubo kardiyomiyopatisi gibi hafif ve iyileştirebilir kardiyovasküler hastalıklara da neden olabilmektedir. Çalışmalar hem hemorajik inmenin hem de iskemik inmenin kardiyak fonksiyon bozukluğuna neden olduğunu ortaya koymuştur [5]. Ayrıca inme sonrası hastalarda artmış kardiyak troponin seviyesi, genişlemiş sol atriyal çap, azalmış sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ve artmış sol ventrikül hacmi, kalpte fibrotik doku oluşumu, kardiyak kontraktilite bozuklukları

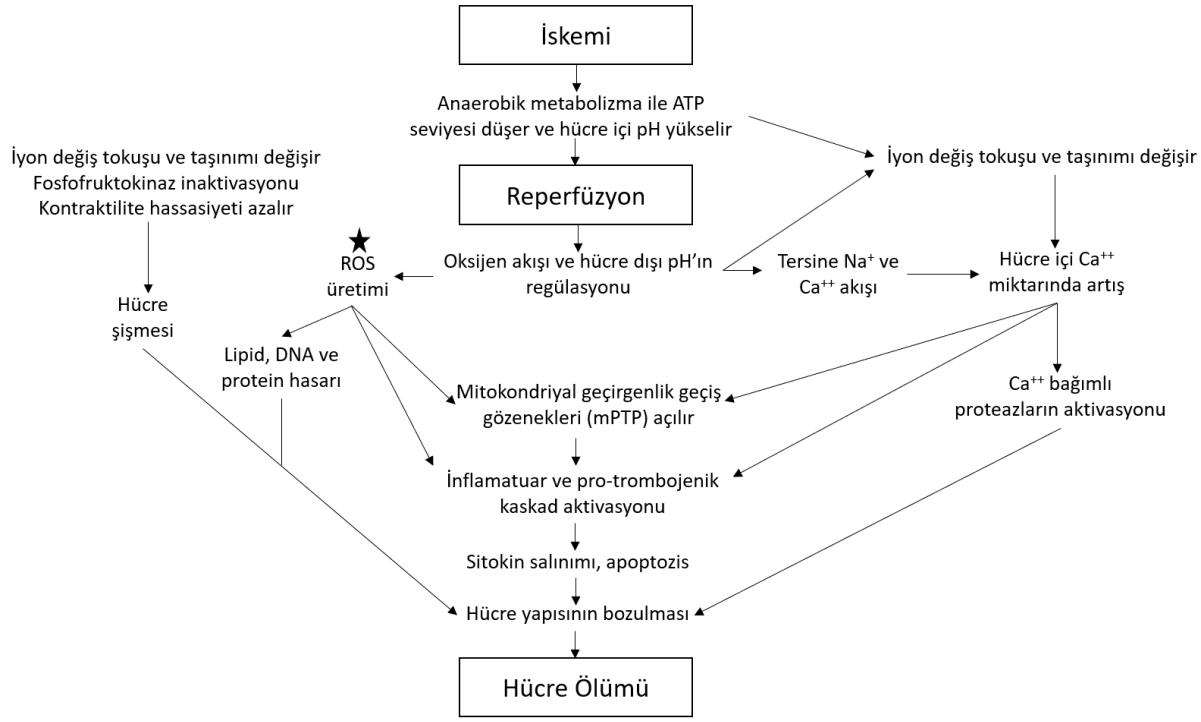
ve kardiyak hipertrofi gibi kardiyovasküler bulgular bu konuda yapılmış çalışmaların verileri içerisindedir [85]. İnme sonrası kalpte görülen bu patofizyolojilerin altında sempatik hiperaktivite, hipotalamik-hipofizer-adrenal eksen ve adrenal medulla aktivitesinin artışı, immün ve inflamatuar yanıtlar ve bağırsaklarda bulunan faydalı mikrobiyatadaki çeşitliliğin azalması ve zararlı etkenlerin artması sonucu olarak tanımlanan bağırsak disbiyozu mekanizmalarının yer aldığı düşünülmektedir [86]. Son yıllarda beyin, sinir ve kardiyovasküler sistemler arasındaki bu etkileşimleri inceleyen bir uzmanlık alanı olarak nörokardiyoloji bilim dalı oluşumuna devam etmektedir [87].

Her tip kardiyovasküler hastalığın, AİS gelişimi için bir risk faktörü olmasının yanı sıra, AİS'de sempatik ve parasempatik otonomik sistemlerin tutulumu kardiyovasküler değişikliklere neden olabilir. Medulla oblongata, vücutta kardiyak fonksiyonların ana kontrol merkezi olarak görev yapan kardiyoregülasyon merkezi olarak kabul edilir. Medulla oblongata'daki çekirdekler, kalp atış hızını, miyokardiyal kontraktiliteyi ve periferik damarların genişlemesini ve yapımını düzenler. Anterior hipotalamusun tutulumuna bağlı parasempatik sistem aktivasyonunun bradikardiye, posterior hipotalamusun tutulumunun ise taşikardi ve ekstrasistollere neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır. AİS, intrakraniyal hemoraji ve diğer merkezi sinir sistemi patolojilerinden kaynaklanan sempatik ve parasempatik otonom sistemin yanıtları, EKG'de aritmiler ve repolarizasyon değişiklikleri olarak ortaya çıkabilir [88].

2.5. İskemi-Reperfüzyon (IR)

Her ne sebeple olursa olsun kan akışının azalması veya tamamen kesilmesi durumu iskemi, sonrasında ise kan akışının yeniden sağlanması olayı reperfüzyon olarak adlandırılmaktadır. IR kaynaklı doku hasarı miyokard enfarktüsü, iskemik inme, akut böbrek hasarı, travma, orak hücre hastalığı ve uyku apnesi dahil olmak üzere çok çeşitli patolojilerde morbidite ve mortaliteye katkıda bulunur. IR hasarı ayrıca organ nakli, kardiyotorasik, vasküler ve genel cerrahi sırasında da önemli bir sorundur. İskemik dokuda metabolik arz ve talepteki dengesizlik, derin doku hipoksisi ve mikrovasküler fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanır. İskemi sonrası reperfüzyon doğal ve adaptif bağışıklık tepkilerinin ve hücre ölümü programlarının aktivasyonunu daha da artırır [89]. Uzamış iskemi sırasında anaerobik metabolizma ve laktat birikiminin bir sonucu olarak adenozin trifosfat (ATP) seviyesi düşer ve hücre içi pH yükselir. Sonuç olarak ATPaz'a bağlı iyon taşıma mekanizmaları işlevsiz hale gelir ve hücre içi ve mitokondriyal kalsiyum düzeylerinin artışı hücre şişmesine, yırtılmasına ve nektorik, apoptotik ve otofajik mekanizmalarla hücre ölümüne neden olabilir. Oksijen miktarı reperfüzyon ile yeniden sağlanmış olsa da ROS oluşumunda artış meydana gelir ve proinflamatuar nötrofiller iskemik dokudaki hasarı daha da artırır (Şekil 2.11.) [90].

ROS üretiminin artması kanser, kardiyovasküler, nörolojik ve metabolik bozukluklar dahil birçok patoloji ile ilişkilidir. Ayrıca ROS miktarı IR, hemoraji ve yaşlanma ile de artış göstermektedir [91]. Hücreler için ROS üretiminin en çok olduğu yer mitokondridir ve birçok patolojide oksidatif hasarın temelini oluşturur [9]. Mitchell P. tarafından substrat oksidasyonu ve ATP sentezinde üretilen elektronların mitokondride ETZ ile transfer edilerek kullanıldığı keşfedilmiş olsa da bu sistem %100 verimle çalışmamaktadır [92]. ETZ'deki elektron sızması nedeniyle tüm elektronlar son elektron alıcısı O_2'ye aktarılamaz ve aktarılan elektronların da tamamı ATP sentezi sürecinde kullanılamaz. Fizyolojik koşullarda ETZ'deki elektronların %0,2-2'si transfer mekanizmalarını takip etmez, doğrudan ETZ'den sızar ve süperoksit veya hidrojen peroksit üretimi için oksijenle etkileşime girer. Fizyolojik koşullarda dahi üretilen ROS miktarı çeşitli patolojilerle daha da artarak hücrelerin fizyolojik çalışma mekanizmalarını olumsuz etkiler [93].



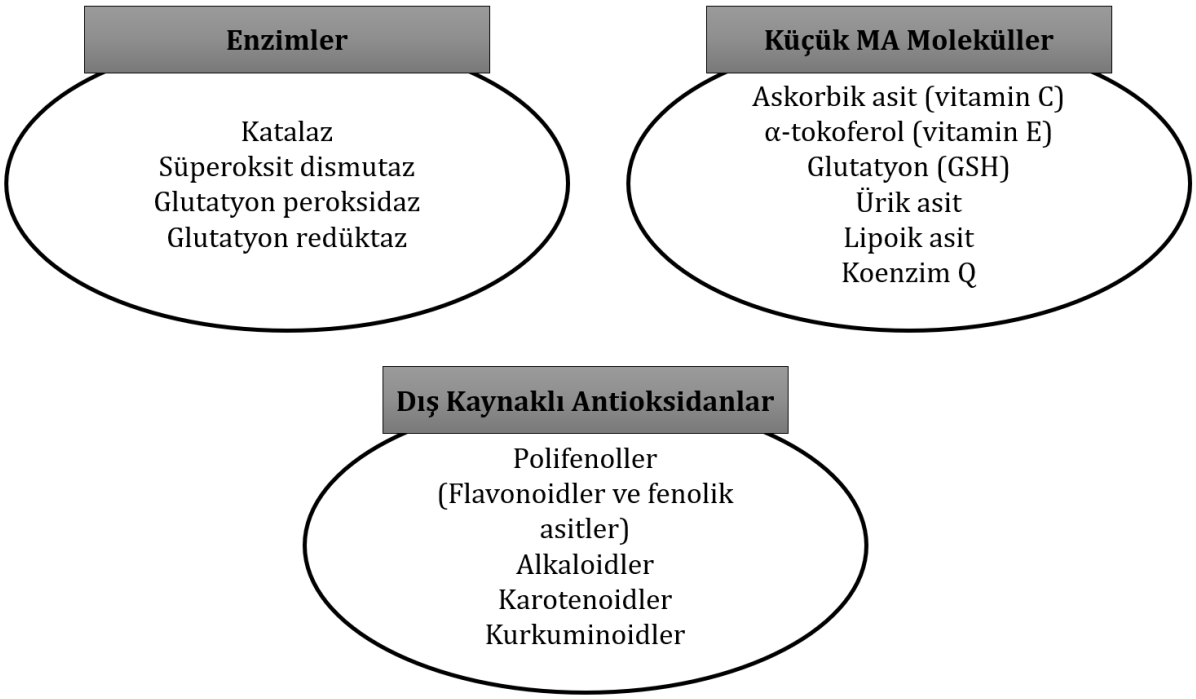
Şekil 2.11. İskemi-reperfüzyon (IR) hasarıyla ilişkili genel bileşenler. Reaktif oksijen türleri (ROS) [90].

2.6. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip reaktif atom veya moleküllerdir. Bunlar hücrelerde tek bir elektronu kaybederek (yükseltgenme) veya alarak (indirgenme) üretilirler ve bu nedenle oksidan (elektronların bir atom ya da molekülden ayrılmasını sağlayan) veya indirgeyici (elektronların bir atom ya da moleküle

verilmesini sağlayan) olarak davranırlar. Serbest radikaller hücresel proteinler, DNA, RNA ve hücre zarında bulunan fosfolipitlerle reaksiyona girerek onların yapısını bozma eğilimindedirler. Vücutta serbest radikal miktarı diyabet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kronik ve akut inflamasyon, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve IR gibi bazı olumsuzluklar etkisinde artabileceği gibi hava ve su kirliliği, ağır metaller, tütün ve alkol tüketimi, endüstriyel solventler ve radyasyona maruziyet gibi nedenlerle de artış gösterebilmektedir [94,95].

Oksidatif stres, ROS ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS) meydana gelmesi sonucunda organizmanın antioksidan koruma sistemleri tarafından bunların etkilerine karşı koyma kapasitesi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanmaktadır. Sies H. ise oksidatif stresi prooksidan-antioksidan dengesinin oksidan maddeler lehine bozulması ve hasara yol açma potansiyeli olarak tanımlamıştır [96]. ROS ve RNS miktarlarındaki artışa karşı vücutta enzimatik olmayan glutatyon, A, C ve E vitaminleri ve gıdalardan alınan çeşitli antioksidanlar ile süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik savunma sistemleri devreye girer (Şekil 2.12.) [97]. Ancak patofizyolojik koşullarda serbest radikallere karşı vücutta devreye giren sistemler yetersiz kalmakta ve hücrelerde oksidatif stres kaynaklı hasarlar ve hatta hücre ölümleri meydana gelebilmektedir. Bu gibi durumlarda ise dışarıdan antioksidan takviyesi alınması serbest radikalleri hücre ve dokulara hasar vermeden önce etkisizleştireceği için hayati öneme sahiptir.



Şekil 2.12. Memeli hücrelerinde antioksidan mekanizmalar. MA-moleküler ağırlık [98].

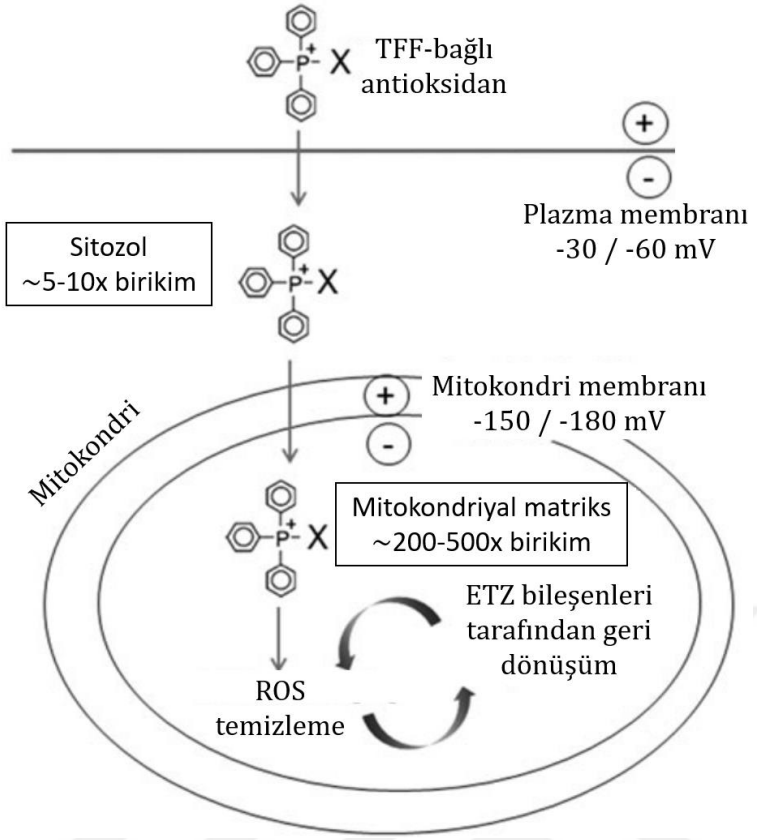
2.6.1. Mitokondri Spesifik Antioksidanlar

Mitokondri enerji metabolizmasının merkezi olması sebebiyle bir yandan hücrelerin yaşam döngülerine katkıda bulunurken diğer yandan ise hem apoptotik hem de nekrotik yollarla

hücre ölümünde kritik roller üstlenir. Mitokondriyal hasarın nörodejeneratif rahatsızlıklar, kardiyak disfonksiyon, enflamasyon, kalp krizi, inmede IR hasarı, sepsis, tip I ve II diyabet, metabolik sendrom gibi patofizyolojik süreçlerle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ek olarak bir patolojinin birincil nedeni mitokondri olmasa bile mitokondrinin apoptoz ve nekrozu başlatma eğilimi ve bir hücrenin hasardan kurtulması için ATP'ye ihtiyaç duyması mitokondriyal disfonksiyonun klinik durumu belirlemede önemli ikincil faktör olduğu anlamını taşımaktadır. Çoğu patolojik mitokondriyal işlev bozukluğu vakasında yüksek oksidatif hasarın rol oynadığı düşünülmektedir. Çünkü mitokondri hücre içinde oksidatif hasara yol açan süperoksitin ana kaynağıdır [99]. Bu sebeplerle oksidatif hasara karşı mitokondrinin terapötik bir hedef olabileceği düşünülmüştür [100].

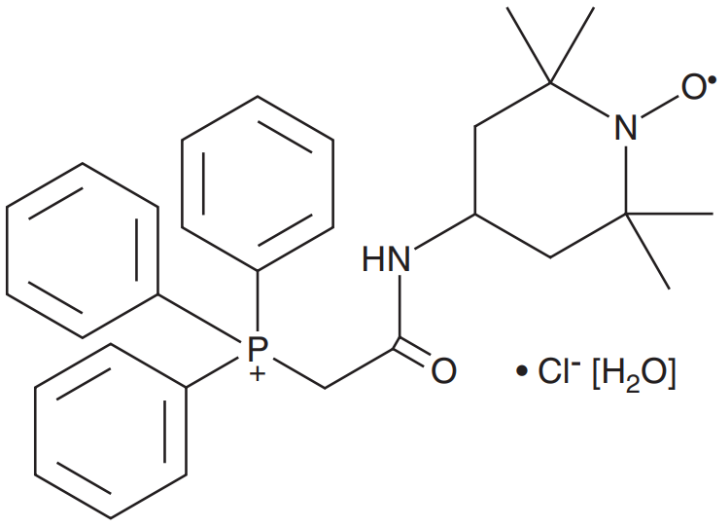
Herhangi bir ilaç veya gen tedavisinin başarısı biyoaktif bir molekülün doğru organ ve hücre tipine iletilmesine ve ayrıca hücre içinde uygun yere hedeflenmesine bağlıdır [101]. Oksidatif hasarı azaltmanın veya tamamen ortadan kaldırmanın en geçerli yolu ise antioksidanlar ile serbest radikalleri etkisizleştirmekten geçmektedir. Böylelikle reaktif madde miktarı azaltılır. Ancak E vitamini veya C vitamini gibi geleneksel antioksidan uygulamalarıyla birçok kapsamlı klinik uygulamasında mitokondriyal hasar ile ilişkili patolojilerin önüne geçilemediği tespit edilmiştir. Bunun olası bir açıklaması klasik antioksidan maddelerin vücudun tamamına yayıldığı ve en çok ihtiyaç duyulan yere çok az miktarda transfer edildiği şeklinde yapılmıştır. Bu önemli klinik ihtiyacın karşılanması için doğrudan mitokondriyi hedef alan antioksidanlar geliştirilmiştir. Böylelikle ROS gibi biyolojik sistemler için risk oluşturan maddelerin üretim yerinde etkisizleştirilmesi amaçlanmıştır [99,102].

Mitokondriyi hedefleyen antioksidanların üretiminde trifenil fosfonyum (TFF) olarak adlandırılan lipofilik katyon özellikli moleküllerden yararlanılmaktadır. Lipofilik katyonlar mitokondriyi seçici olarak hedeflerken plazma zarı potansiyelinden ($\Delta\Psi_p$: -30 ile -60 mV) mitokondriyal membran potansiyeline ($\Delta\Psi_m$: -150 ile -180 mV) elektriksel, konsantrasyon farklılıkları sayesinde ise kimyasal gradyent etkisinde kalırlar. Bu elektrokimyasal gradyent lipofilik katyonların mitokondri içerisine sürüklenmesi için güçlü bir kuvvet oluşturur. Sonuç olarak hidrofobik özellikli TFF molekülü hem plazma membranı hem de mitokondri iç membranı boyunca aktivasyon enerjisini düşürerek zarları kolaylıkla geçerler. Nernst denklemi, lipofilik katyonların mitokondriyal matrise zar potansiyeli tarafından yönlendirilen alımının yaklaşık her 60 mV için 10 kat arttığını gösterir. -30 ile -60 mV aralığındaki $\Delta\Psi_p$ için ~5-10 kat, -150 ile -180 mV arasında değişen $\Delta\Psi_m$ için ise ~200-500 kat TFF molekülünün mitokondri içinde birikimi gerçekleşir (Şekil 2.13.) [99,103].



Şekil 2.13. Trifenil fosfonyum (TFF)'a bağlı antioksidanların plazma ve mitokondri membranından geçişi ve birikimleri [98].

Bu çalışmada kullanılan ve ticari adı MitoTEMPO olarak bilinen mitokondri spesifik antioksidanın moleküler ağırlığı 528 g/mol'dür. Şekil 2.14.'te açık formülü verilen MitoTEMPO'nun moleküler formülü $C_{29}H_{35}N_2O_2P \bullet Cl\ [H_2O]$ şeklindedir.



Şekil 2.14. MitoTEMPO molekülünün açık formülü [104].

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Hayvan modeli temelli bu çalışmada iskemik inmeli hayvanların kalp fonksiyonlarındaki değişimler ve bu değişimlere karşı mitokondri spesifik bir antioksidan olan MitoTEMPO'nun olası koruyucu etkisi araştırılmıştır. Araştırmaya ait detaylar ise aşağıdaki gibidir.

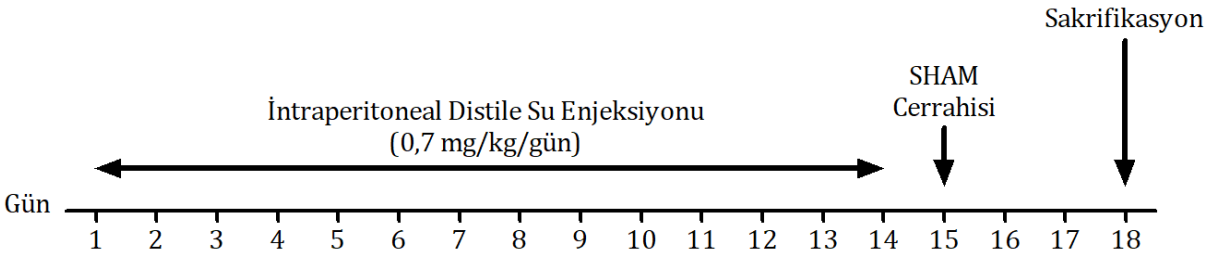
3.1. Deney Grupları ve Uygulanan İşlemler

Deney hayvanı kullanılarak yapılması planlanan çalışmalarda bazı etik ilke ve kurallara uyulması gerektiğinden proje detaylarının hayvan deneyleri etik kurullarınca onaylanması gerekmektedir. Bu çalışma için Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 23.08.2021 tarih, 2021/35 (EK-A) sayı ve 13.06.2022 tarih, 2022/8 (EK-B) sayılı kararları ile etik ilkeler açısından sakıncalı olmadığına karar vermiştir.

Deneylerde Mersin Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nden temin edilen 17 haftalık erişkin Wistar Albino türü sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanların başlangıç kütleleri 250-304 gram aralığında olup, cinsiyet kaynaklı fizyolojik varyasyonları elimine etmek için yalnızca erkek denekler tercih edilmiştir. Sıçanlar 23 ^{o}C sabit sıcaklıkta, 12/12 saat aydınlık/karanlık döngüde, yem ve suya ulaşımlarında herhangi bir kısıtlama olmayacakları şekilde barındırılmıştır. Hayvanlar enjeksiyonun başlangıcı sonrasındaki on beşinci gün deneylere dahil edilmiş ve günde üç adet hayvanla çalışılabileceği öngörüsüyle her üçer sıçanlık gruba birer gün arayla enjeksiyona başlanmıştır.

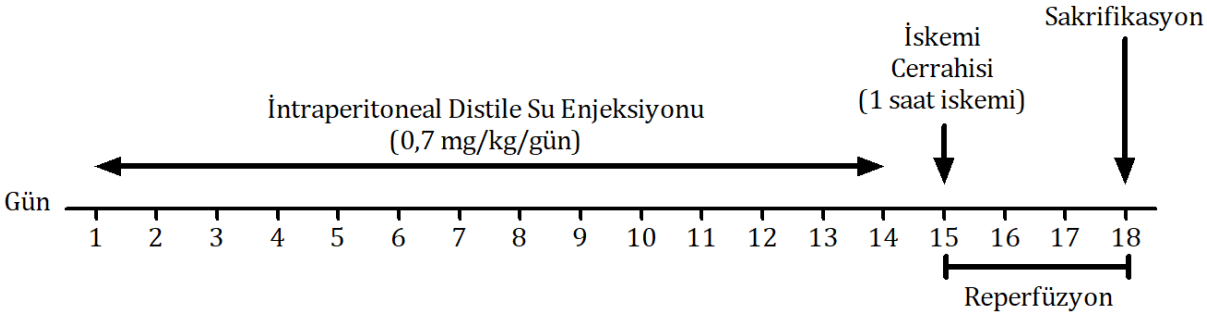
Sıçanlar deney prosedürleri gereğince SHAM, iskemi-reperfüzyon (IR) ve MitoTEMPO + iskemi-reperfüzyon (MT+IR) olmak üzere rastgele seçim yapılarak üç farklı gruba ayrılmıştır. Bu gruplara uygulanan işlemler ise şu şekildedir.

Sham Grubu: Deney hayvanlarının enjeksiyon stresini yaşamaları açısından MitoTEMPO ile aynı doz ve sürede (0,7 mg/kg/gün x 14 gün) olması şartıyla intraperitoneal distile su enjeksiyonu yapılmış ve daha sonra IKA ve EKA çatallanmasına ulaşıp iskemi yapılmadan geri kapatılmıştır. Deneysel ölçüm ve doku izolasyonu işlemleri ise bu uygulamanın üçüncü gününde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1.).



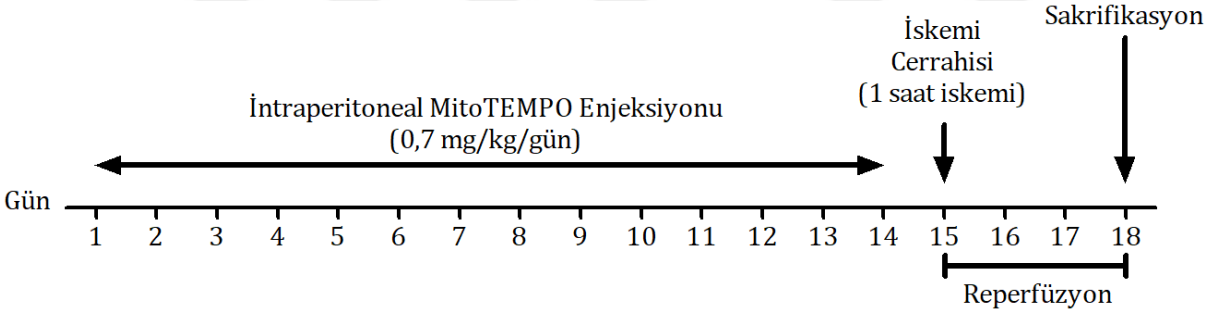
Şekil 3.1. SHAM grubuna ait sıçanlara uygulanan işlemleri gösterir şema.

IR Grubu: Deney hayvanlarının enjeksiyon stresini yaşamaları açısından MitoTEMPO ile aynı doz ve sürede (0,7 mg/kg/gün x 14 gün) olması şartıyla intraperitoneal (i.p.) distile su enjeksiyonu yapılmış ve on beşinci gün 1 saat OSA iskemisi oluşturulup hayvanlar repefüzyon periyoduna alınmıştır. Deneysel ölçüm ve doku izolasyonu işlemleri ise bu uygulamanın üçüncü gününde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. İskemi-reperfüzyon (IR) grubuna ait sıçanlara uygulanan işlemleri gösterir şema.

MT+IR Grubu: İskemi öncesi 14 gün boyunca 0,7 mg/kg/gün [105] olacak şekilde intraperitoneal MitoTEMPO (Cayman Chemical Company, katalog no:16621, ABD) enjeksiyonu yapılmış ve on beşinci gün 1 saat OSA iskemisi oluşturulup hayvanlar repefüzyon periyoduna alınmıştır. Kayıt ve doku izolasyonu işlemleri inme sonrası kalp disfonksiyonunun maksimum olduğu tespit edilen [106] reperfüzyonun üçüncü günü yapılmıştır (Şekil 3.3.).



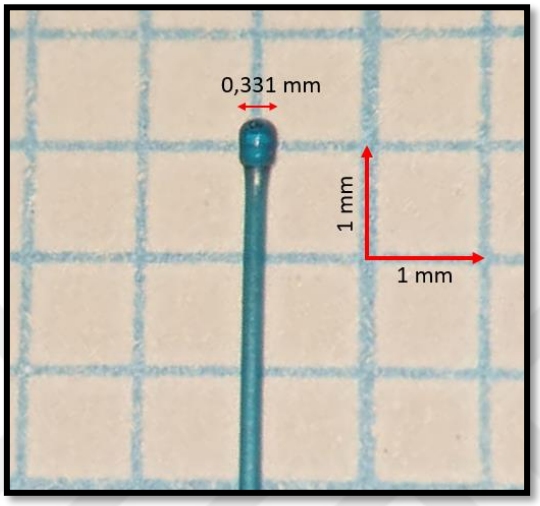
Şekil 3.3. MitoTEMPO + iskemi-reperfüzyon (MT+IR) grubuna ait sıçanlara uygulanan işlemleri gösterir şema.

Sıçanlara tüm işlemler öncesinde intraperitoneal 80 mg/kg Ketamin + 7 mg/kg Ksilazin kombinasyonu ile anestezi uygulanmıştır.

3.2. İskemik İnme Modeli Oluşturulması

Bu çalışmada; klinikte en çok karşılaşılan inme türü olan OSA iskemisi oluşturulmuştur. Model IKA'dan ilerletilen bir monofilamentle OSA'nın kan akışının kesilmesi ile gerçekleştirilmektedir.

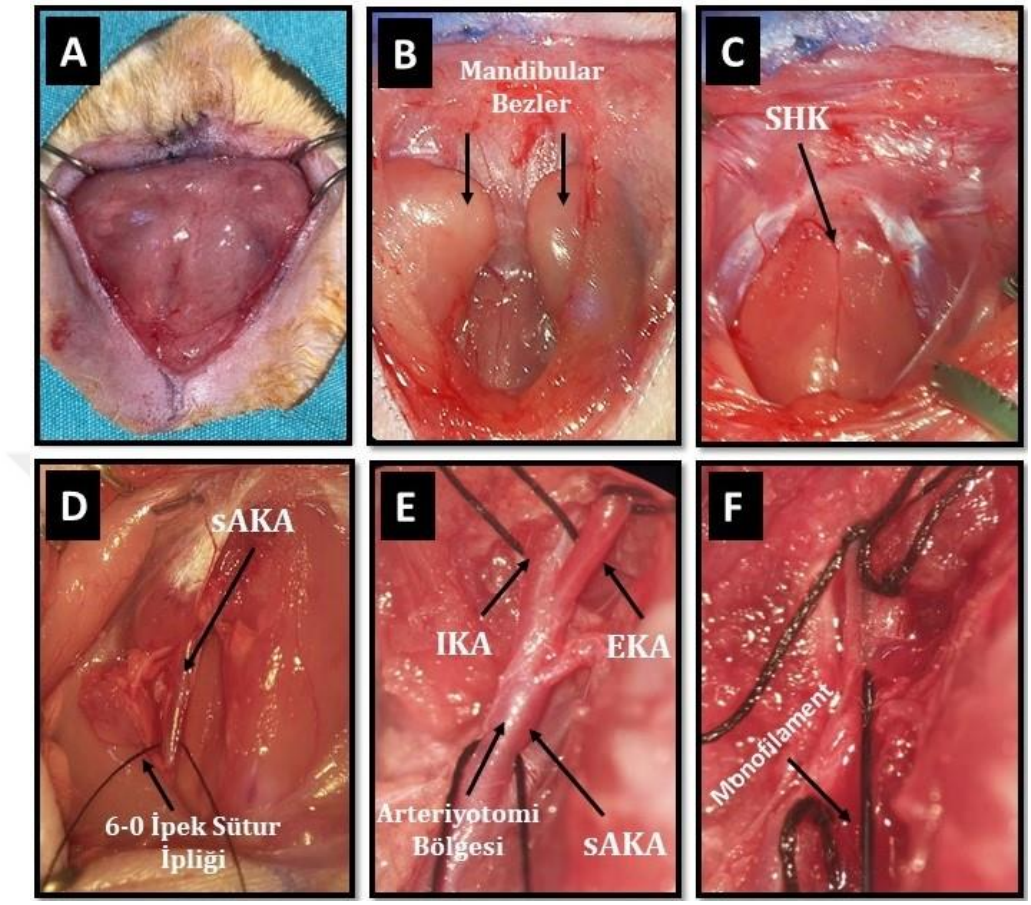
Monofilamentler literatüre uygun şekilde 4-0 Ethilon Naylon Sütur (Ethicon Comp., G7143, ABD) [107] kullanılarak tarafımızca hazırlanmıştır. İlk olarak naylon süturdan 5 cm uzunluğunda parçalar kesilmiş ve bu parçaların ucu alev kaynağına yaklaştırılarak köreltilmiştir. Hazırlanan monofilamentler cerrahi mikroskop kullanılarak 2X objektif altında milimetrik kağıtla birlikte fotoğraflanmış ve bu fotoğraflardan bir dijital görüntü analiz yazılımı (ImageJ, 1.53k, ABD) ile monofilamentlerin uç çapları ölçülmüştür (Şekil 3.4.) [108]. Deneyler süresince kullanılan monofilamentlerin uç çapı (n=13) 0,308±0,029 mm (Ort. ± ss) olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.4. Monofilament uç çap ölçümünü gösterir örnek fotoğraf.

İskemik inme modelinin oluşturulması için ilk olarak sıçanların tüylerden arındırılmış boyun bölgesine longitudinal eksende inter-mandibularis hat boyunca yaklaşık 2,5 cm uzunluğunda cilt insizyonu yapılmış ve bir ekartör yardımı ile deri altındaki fasya tabakası görünür hale getirilmiştir (Şekil 3.5.-A). Hemen ardından bu tabaka geçilerek mandibular bezler her iki yana ayrılmış (Şekil 3.5.-B) ve sternohyoid kas (SHK) açığa çıkarılmıştır (Şekil 3.5.-C). SHK'nın sağ ekseninden trakeaya paralel şekilde dokular geçilerek sağ ana karotis artere (sAKA) ulaşılmıştır (Şekil 3.5.-D). sAKA ile aynı eksende seyreden vagus sinir birbirinden ayrılarak arter izole edilmiş ve sAKA'ya 6-0 ipek sütur ipliği (Plus Surgical Sutures, SK760B026, Çin) geçirilerek kılavuz olarak kullanılmıştır. sAKA boyunca dokular izole edilerek ilerlenmiş ve IKA - EKA çatallanması açığa çıkarılmıştır (Şekil 3.5.-E). Son olarak sAKA ve EKA'daki kan akışı ipek süturlar yardımı ile düğüm atılarak kesilmiş ve IKA üzerindeki ipte monofilamenti ilerlettikten sonra sabitlemek üzere gevşek bir düğüm halkası hazır bulundurulmuştur. Monofilamentin sokulacağı kesiyi atmadan IKA bir vasküler klemp yardımı ile sıkıştırılarak Şekil 3.5.-E'deki arteriyotomi bölgesinden microcerrahi makas yardımı ile bir kesi atılmış ve monofilament bu kesiden IKA içerisinde yaklaşık 2 cm ilerletilmişir. Bu esnada IKA'daki vasküler klemp kaldırılarak hazır bulundurulan düğüm halkası sıkıştırılmış ve hem kesiden kan gelmesi engellenmiş hem de monofilament sabitlenmiştir (Şekil 3.5.-F). Böylelikle IKA'nın OSA ve ASA ayrımı tıkanmış ve

OSA'nın beslediği beyin bölümlerinde iskemi olması sağlanmıştır. 1 saat süren iskemi sonrası monofilament çıkarılarak açılan dokular kapatılmış ve sıçanlar reperfüzyon periyoduna bırakılmıştır.

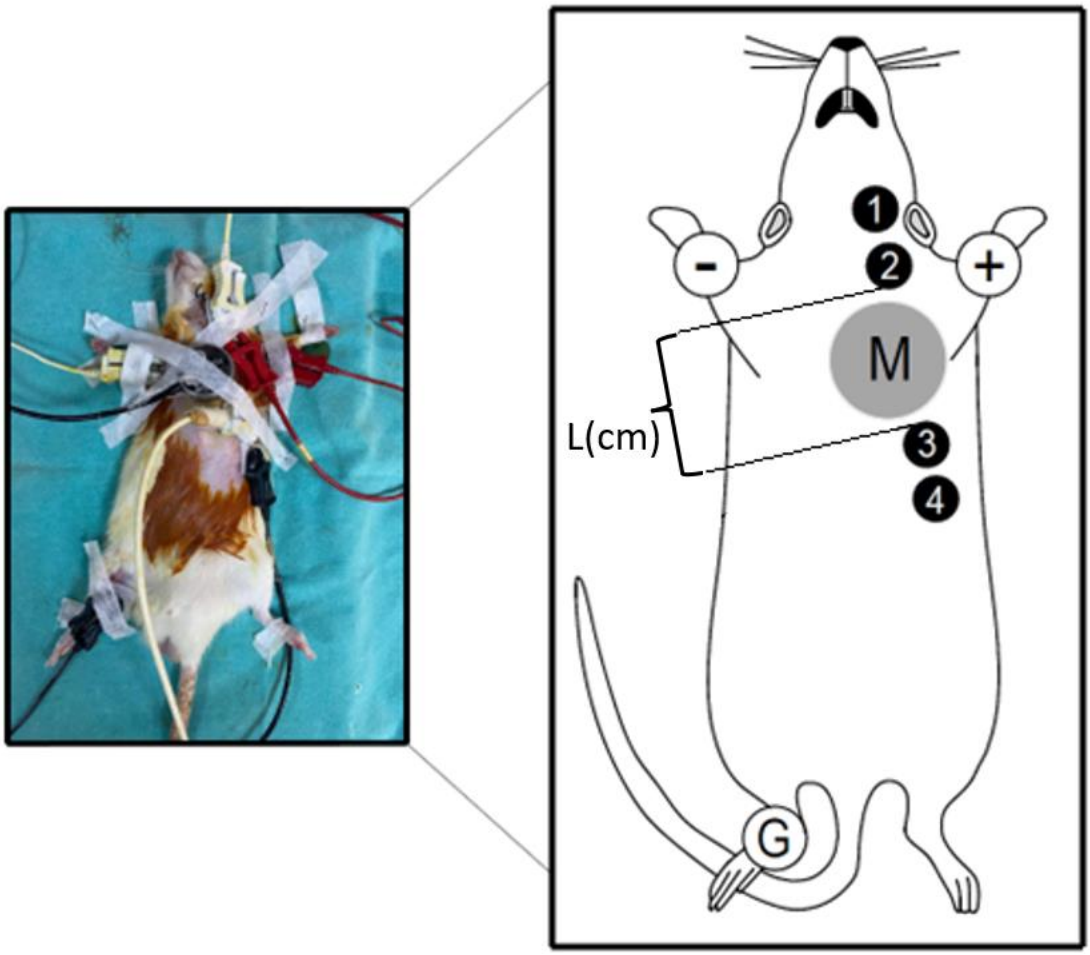


Şekil 3.5. İskemik inme modeli oluşturulmasının aşamaları. A-Boyun bölgesine yapılan cilt insizyonu. B-Mandibular bezlere erişim. C-Sternohyoid kasın (SHK) açığa çıkarılması. D-Sağ ana karotis arter (sAKA) izolasyonu. E-İnternal karotis arter (IKA) ve eksternal karotis arter (EKA) çatallanmasının izole edilmesi ve arteriyotomi bölgesinin gösterimi. F-IKA'dan monofilament ilerletilerek iskemi periyodunun başlaması.

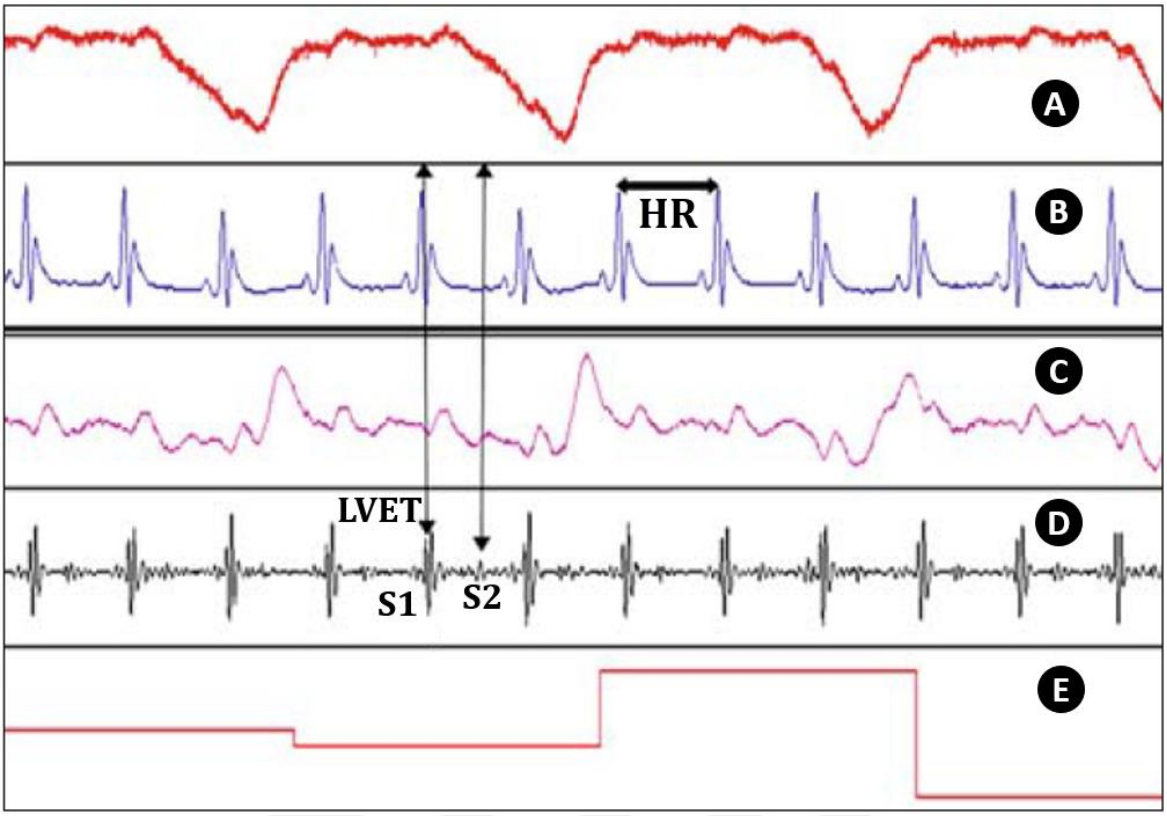
3.3. Torasik Elektriksel Biyoempedans (TEB) ve Elektrokardiyografi (EKG) Ölçümleri

İskemik inme oluşturulan deney hayvanlarının kardiyovasküler sistemlerinde meydana gelmesi muhtemel fonksiyon bozukluklarını tespit etmek ve uygulanan koruyucu MitoTEMPO enjeksiyonunun etkilerini açığa çıkarmak için sıçanlardan non-invaziv yöntemler olan TEB, EKG ve kalp sesleri kayıtları eş zamanlı olarak alınmıştır. Anestezi altında ve eş zamanlı olarak kaydı alınan TEB, EKG ve kalp sesleri kayıtları öncesi hayvanların boyun ve toraks bölgeleri tıraşlanarak elektrotlar Şekil 3.6.'da gösterildiği gibi 1 ve 2 numaralı elektrotlar boynun sol lateraline, 3 ve 4 numaralı elektrotlar ise toraksın sol lateralinde bulunan ksifoid çıkıntısının paraleline gelecek şekilde yerleştirilmiştir [109]. Kalbin hemodinamik parametrelerinin değerlendirilmesine

dolaylı imkan sağlayan TEB kayıtları [74], 1-2-3-4 olarak işaretlenen elektrotlar (Biopac Systems, Inc., EL-504 Cloth Base Electrode, ABD) aracılığı ile alınmıştır. 1 ve 4 numaralı elektrotlardan uygulanan yüksek frekanslı ve düşük genlikli (70 kHz, 2,5 mA) akımlara karşılık 2 ve 3 numaralı elektrotlar aracılığıyla torakstaki biyoempedans değişimlerine eşlik eden potansiyel fark değişimleri BIOPAC MP160 Acquisition System (Biopac Systems, Inc., MP160WSW, ABD) ile EBI100C (Biopac Systems, Inc., ABD) modülü kullanılarak kaydedilmiştir. Eş zamanlı kaydedilen TEB, EKG ve kalp seslerine ait örnek kayıtlar Şekil 3.7.'de verilmiştir.



Şekil 3.6. Torasik Elektriksel Biyoempedans (TEB) ve Elektrokardiyografi (EKG) elektrotları ile kalp sesi mikrofonu (M)'nun yerleşimi. 1 ve 4 numaralı elektrotlar akım uygulayan, 2 ve 3 numaralı elektrotlar potansiyel değişim kaydeden ve G ile gösterilen ise toprak elektrotlarıdır. L ile gösterilen mesafe ise içteki elektrotlar arası uzaklıktır.



Şekil 3.7. Torasik elektriksel biyoempedans (TEB), elektrokardiyografi (EKG) ve kalp sesleri eş zamanlı kaydı. A- Z_0 temel empedans, B- EKG ve R-R interval değeri ile belirlenen kalp hızı (HR), C- empedanstaki değişim oranı, D- kalp sesleri ve sol ventrikül ejeksiyon süresi (LVET) S1-S2 kalp sesleri arasındaki zaman olarak belirlendi, E- empedanstaki maksimum değişim oranı [110].

TEB yöntemi ile elde edilen temel empedans (Z_0; ohm) ve empedansın maksimum değişim hızı ($(dZ/dt)_{max}$; ohm/s) kullanılarak kalbin diğer hemodinamik parametreleri olan atım hacmi (SV; ml/atım), kardiyak debi (CO; l/dk), kasılabilirlik indeksi (IC; s^{-1}) ve toraks sıvı hacmi (TFC; 1/kohm) kantitatif olarak hesaplanmaktadır. Burada Z_0, torakstaki kas, kemik ve yağ dokusu gibi, sıvı hacmi zamanla değişmeyen dokulara ilişkin temel empedans parametresidir. Z_0 pulsatil hacim minimum olduğu zaman ölçülmektedir. İlke olarak sıvı hacmi arttıkça empedans azalır. Kalbin sistol-diyastol evreleri boyunca torasik aortadaki kan miktarı her an değişkenlik gösterdiğinden Z_0 değeri de sürekli farklılık gösterir. Bu değişimin zamana göre diferansiyeli ile dZ/dt_{max} tespit edilmektedir [111].

SV hesaplanırken Bernstein'in önerdiği;

$$SV = VEPT\ x\ \left(\frac{LVET}{Z_0}\right) x\ (dZ/dt)_{max} \quad (1)$$

formülü kullanılmıştır [112]. Burada VEPT (volume of electrically participating thoracic tissue; cm^3), elektriksel olarak dahil olan torasik doku hacmi olarak nitelendirilir ve Şekil 3.6.'da görülen

2 ve 3 numaralı iç elektrotlar arasındaki uzaklık (L; cm) ile orantılıdır [113]. Formül 1 yeniden düzenlendiğinde;

$$SV = \frac{L^3}{4.2}\ x\ \left(\frac{LVET}{Z_0}\right) x\ (dZ/dt)_{max} \quad (2)$$

şeklinde olmaktadır. CO (l/dk), SV (ml/atım) ve kalp atım hızı (HR; atım/dk) ile ilişkili olup;

$$CO = SV\ x\ HR \quad (3)$$

olarak hesaplanmaktadır. Burada HR, TEB kayıtlarıyla eş zamanlı alınan EKG eğrilerindeki R-R interval değerleri okunarak tespit edilmiştir [114]. Kasılabilirlik indeksi IC (s^{-1});

$$IC = \frac{(dZ/dt)_{max}}{Z_0} \quad (4)$$

şeklindeki empedansın maksimum değişim hızı ile temel empedans değerlerinin birbirine oranı olarak ifade edilmektedir. Toplam torakal sıvı hacminin ve toraks iletkenliğinin bir ölçüsü olan TFC ($kohm^{-1}$) ise;

$$TFC = 1000/Z_0 \quad (5)$$

formülü ile hesaplanmaktadır [110].

Mosteller'in tanımladığı vücut yüzey alanı (VYA);

$$VYA(m^2) = \sqrt{\frac{kütle(kg) \times boy(cm)}{3600}} \quad (6)$$

eşitliği [115] ile her deney hayvanı için torasik sıvı hacmi indeksi (TFCI),

$$TFCI = TFC/VYA \quad (7)$$

atım hacmi indeksi (SI),

$$SI = SV/VYA \quad (8)$$

ve kardiyak debi indeksi (CI)

$$CI = CO/VYA \quad (9)$$

formüllerine göre hesaplanmaktadır.

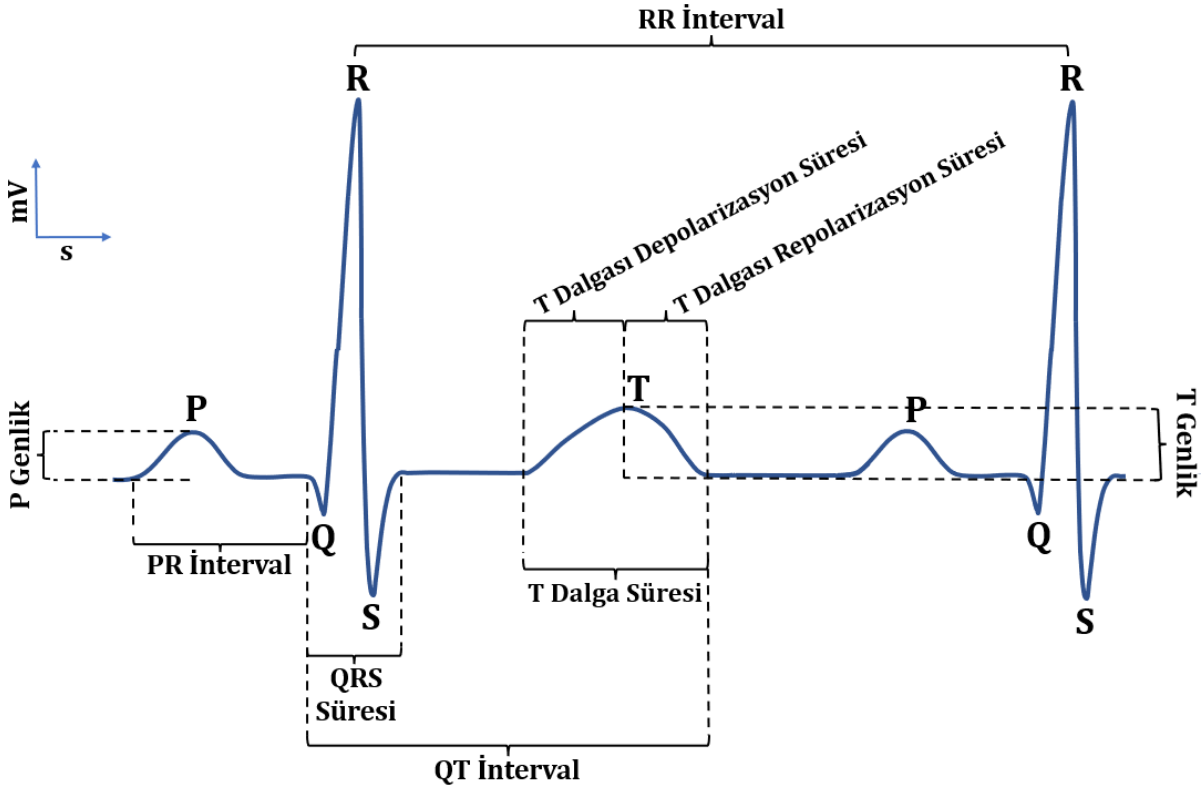
Mitral ve triküspit (atriyoventriküler) kapakların kapanmasından kaynaklanan ve ventrikül sistol fazının başlangıcında meydana gelen kalp sesi (S1), aort ve pulmoner kapakların kapanmasından kaynaklanan ve ventriküler diyastol fazının başlangıcını belirten kalp sesi (S2) [116] Şekil 3.6.'da "M" olarak işaretlenen bir kalp sesi mikrofonu (Biopac Systems, Inc., TSD108, ABD) ile genel amaçlı transduser amplifikatör modülü (Biopac Systems, Inc., DA100C, ABD) üzerinden kaydedilmiştir. Sonuç olarak kaydedilen S1 ve S2 kalp sesleri arasındaki süre sol ventrikül ejeksiyon süresi (LVET) olarak değerlendirilmiştir.

EKG kayıtları ise Şekil 3.6.'da görüldüğü gibi, sağ kol eksi (-) kutup, sol kol artı (+) kutup ve sağ bacağa toprak (G) elektrotlarının bağlanması şeklindeki derivasyon I olarak nitelendirilen konfigürasyona göre alınmıştır. Sinyaller BIOPAC MP160 Acquisition System (Biopac Systems, Inc., MP160WSW, ABD) ile elektrokardiyogram amplifikatör modülü (Biopac Systems, Inc., EKG100C, ABD) üzerinden dijital ortama aktarılmıştır.

EKG sinyallerinden Şekil 3.8.'de gösterilen P dalgası genlik (mV), P-R interval (s), QRS süresi (s), QT interval (s), T dalgası genlik (mV), T dalga süresi (s), T dalgası depolarizasyon süresi (s), T dalgası repolarizasyon süresi (s) ve R-R interval (s) değerleri tespit edilmiştir. Ayrıca Bazett'in önerdiği QT değerlerinin değişik kalp hızlarında karşılaştırılmasına ve artmış aritmi riski olan hastaların saptanmasına olanak veren 60/dk kalp hızındaki QT aralığının hesaplandığı düzeltilmiş QT (corrected QT = QTc_{Baz}; s) değeri ise,

$$QTc_{Baz} = QT/\sqrt{RR} \quad (10)$$

formülü kullanılarak hesaplanmıştır [117].



Şekil 3.8. EKG sinyallerinden elde edilen parametreler.

3.4. Biyokimyasal İncelemeler

Çalışma prosedürleri sonucunda kalp sol ventrikül, beyin sağ serebral hemisfer ve serum dokularındaki bazı moleküllerin ekspresyon düzeyleri ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) tekniği ile belirlenmiştir. Bu çalışmalar için izole edilen kalp sol ventrikül, beyin sağ serebral hemisfer ve kan dokusunun 5000 rpm'de 10 dk santrifüjü ile (DMO 412, Onilab LLC Scientific Inc., ABD) elde edilen kan serumu örnekleri çalışma gününe kadar -80 °C'de stoklanmıştır. Beyin sağ serebral hemisfer ve kalp sol ventrikül dokuları çalışma öncesi oda sıcaklığında çözdürülerek bir birim dokuya dokuz birim Phosphate-Buffered Saline (PBS) (Global Life Sciences Solutions LLC, SH30256.01, ABD) ilave edilerek 15.000 rpm'de 5 dk homojenize (Daihan Scientific, HG-15A, Güney Kore) edildikten sonra bu homojenizattan 5000 rpm'de 5 dk

santrifüj ile süpernatant elde edilmiştir. Kalp sol ventrikül dokusundan IP_3 (Elabscience Biotechnology Inc., E-EL-0059, ABD) ve cAMP (Nepenthe Araştırma Teknolojileri, NE010029803, Türkiye), beyin sağ serebral hemisfer dokusundan IP_3 (Elabscience Biotechnology Inc., E-EL-0059, ABD), cAMP (Nepenthe Araştırma Teknolojileri, NE010029803, Türkiye) ve 1/5 dilüsyon oranı ile katalaz (Fine Biotech Co., Ltd., ER0264, Çin), kan serumundan ise cTnI (Nepenthe Araştırma Teknolojileri, NE010063903, Türkiye), TAS (Elabscience Biotechnology Inc., E-BC-K801-M, ABD) ve TOS (Elabscience Biotechnology Inc., E-BC-K802-M, ABD) düzeyleri tespit edilmiştir. Tüm çalışmalar üretici firmaların tarif ettiği kit protokollerine göre gerçekleştirilmiştir.

TAS ve TOS değerlerinden kantitatif olarak hesaplanan oksidatif stres indeksi (OSİ) literatürde tarif edilen,

$$OSİ\ (birimsiz) = TOS(\mu mol\ H_2O_2\ Equiv./L)\ /\ TAS\ (\mu mol\ Trolox\ Equiv./L) \times 100 \quad (11)$$

eşitliği ile hesaplanmıştır [118].

3.5. Histolojik İncelemeler

İzole edilen beyin sağ serebral hemisfer ve kalp sol ventrikül dokuları %10'luk formaldehit ile fikse edilmiştir. Daha sonra alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilen numuneler ksilol ve ardından sıvı parafinlerden geçirilerek parafin bloklara gömülmüştür. Bloklardan ise mikrotom yardımı ile 5 mikrometre kalınlığında seri kesitler alınmıştır. Beyin sağ serebral hemisfer dokusuna ait kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyanarak genel nöron görünümleri ve damar yapıları, Toluidine Blue (TB) ile boyanarak nöron sitoplazmaları ve hücreler arası yapılar ve Masson Trikrom (MT) ile boyanarak bağ dokularındaki kollajen görünümleri değerlendirilmiştir. Kalp sol ventrikül dokusundan elde edilen kesitlerde ise H&E boyaması ile kas liflerindeki dallanmalar ve hücre çekirdeklerinin konumu ve MT boyaması ile kardiyak fibriller ve damar çevresindeki kolajen madde miktarında artış ile interfibriller boşluk incelenmiştir. Boyama sonucu elde edilen preparatlar ışık mikroskobu (Carl Zeiss AG, Axio Lab. A1, Almanya) ile incelenerek görüntüler kaydedilmiştir.

3.6. İstatistiksel Analizler

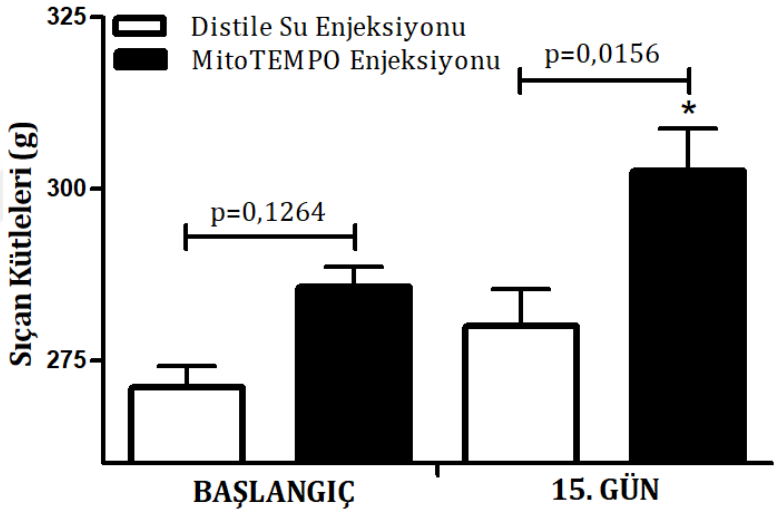
Deneylerde elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk Normality Test ile incelenmiş olup sıçan kütlelerine ilişkin sonuçlar bağımsız t-test (Unpaired Student's t-test), diğer parametrelerin gruplar arasındaki değişimlerinin karşılaştırılmasında ise One-way ANOVA ve ardından var ise anlamlılığın hangi gruplar arasında olduğunu tespit etmek için post test Tukey kullanılmıştır. $p<0,05$ düzeyindeki veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada her bir grupta yer alması gereken deney hayvanı sayısı Mead yöntemine göre hesaplanmıştır. İstatistiksel analizlerde GraphPad Prism – 5 Demo programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Bu araştırma kapsamında elde edilen verilerin deney prosedürü gereği oluşturulan gruplar arasındaki değişimleri aşağıda sunulmaktadır.

4.1. Sıçanların Vücut Kütleleri

Deney hayvanlarının başlangıç (distile su enjeksiyonu yapılan grup 271,13±12,48 g, MitoTEMPO enjeksiyonu yapılan grup 280±15,42 g) ve iki haftalık enjeksiyon süreci sonundaki kütleleri (distile su enjeksiyonu yapılan grup 285,75±11,31 g, MitoTEMPO enjeksiyonu yapılan grup 302,57±17,55 g) ölçülerek kaydedilmiş ve distile su enjekte edilen sıçanlarla MitoTEMPO enjekte edilen sıçanların kütleleri karşılaştırıldığında başlangıç kütleleri arasında istatistiksel anlamlılık bulunmazken, sıçanların deneye alındıkları gün (enjeksiyon başlangıcının 15. günü) yapılan ölçümde MitoTEMPO'lu gruba ait hayvanların kütlelerinin SHAM ve IR grubu deney hayvanlarının kütleleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığı görülmektedir (Şekil 4.1.).

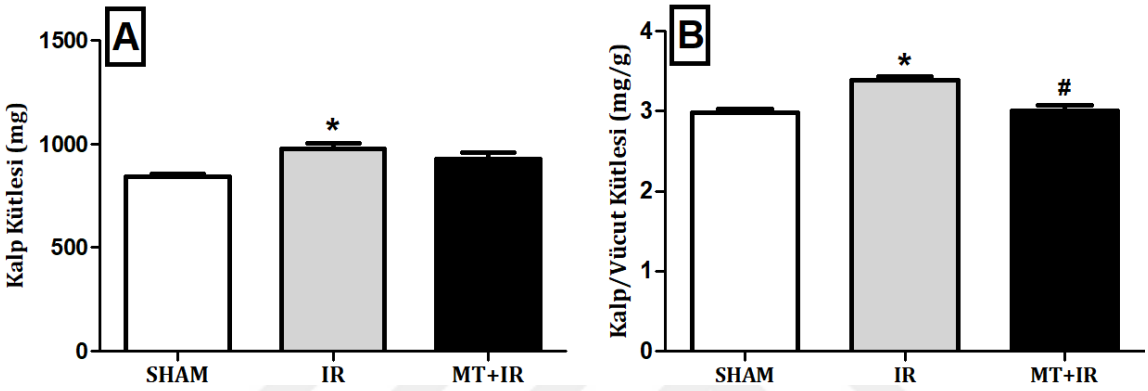


Şekil 4.1. Sıçanların başlangıç ve enjeksiyon bitimindeki kütleleri. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, * her grubun bir önceki ölçümü ile karşılaştırıldığında $p<0,05$ düzeyindeki anlamlılığı ifade eder.

4.2. Sıçanların Kalp Kütleleri ve Vücut Kütlelerine Oranı

Deney hayvanlarının sakrifikasyon sonrası izole edilen kalp dokuları tartılarak kalp kütlelerinin gruplar arası farklılıkları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Buna ek olarak kalp kütlelerinin vücut kütlelerine oranları hesaplanarak vücut kütlelerine göre normalize edilmiş veriler de ayrıca değerlendirilmiş olup Şekil 4.2.-A'da gösterilen değerlere göre IR grubuna ait sıçanların kalp kütlelerinin arttığı tespit edilmiştir. Buna karşılık MT+IR grubu (926,42±78,13

mg) hayvanlarının kalp kütlelerinin SHAM (844,18±29,91 mg) ve IR (978,2±68,76 mg) grubundan elde edilen verilerin aralığında kaldığı görülmektedir. Sıçanların kalp kütlelerinin vücut kütlelerine oranlandığı verileri gösteren Şekil 4.2.-B'de ise IR grubundaki sıçanların normalize edilmiş kalp kütleleri (3,39±0,12 mg/g) SHAM (2,98±0,14 mg/g) grubuna kıyasla artmışken, MT+IR (3,01±0,17 mg/g) grubunda ise bu değerlerin SHAM grubu verilerine yakın olduğu görülmektedir. Veriler bir bütün halinde değerlendirildiğinde ise MT+IR grubuna ait kalp kütlesi ortalamalarının IR grubuna ait değerlerle aralarında anlamlı bir fark bulunmazken, vücut kütlelerine göre normalize edilmesi durumunda SHAM grubu seviyesinde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.2. A- Sıçanların kalp kütleleri. B- Sıçanların kalp kütlelerinin vücut kütlelerine göre normalizasyonu. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, * SHAM ile, # IR ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ düzeyindeki anlamlılığı ifade eder.

4.3. Torasik Elektriksel Biyoempedans (TEB) Verileri

TEB kayıtlarından elde edilen veriler ışığında kalbin hemodinamik parametrelerinin gruplar arasındaki değişimleri karşılaştırılmış olup VEPT değeri IR grubunda azalmış ve koruyucu MitoTEMPO enjeksiyonu yapılan MT+IR grubunda ise bu değer SHAM grubuna ait verilerle istatistiksel anlamlı farklılık göstermemiştir. Ayrıca inme modeli oluşturulan IR grubunda kalp atım hızının artmış olması kalbin inme ile etkilendiğini göstermekle birlikte MT+IR grubunda bahsedilen değerin SHAM grubuna yakın olarak tespit edildiği görülmektedir. Kalbe ait kasılma-gevşeme döngüsünün IR sonucunda daha hızlı gerçekleştiği IR grubundan ölçülen ve kalbe ait S1 – S2 sesleri arasındaki süreyi gösteren LVET değeri anlamlı ölçüde kısalmışken, MitoTEMPO uygulanan grupta bu değer SHAM grubuna yakın ölçülmüştür. Diğer hemodinamik parametrelerin gruplar arası değişimleri istatistiksel anlamlılık göstermezken SV'nin p değeri 0,0564 olarak tespit edilmiş ve anlamlılığa en yakın değer olarak dikkat çekmektedir (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Torasik elektriksel biyoempedans (TEB) verileri. Veriler ort. ± standart hata. * SHAM ile, # IR ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ için anlamlılığı belirtir.

Sıra	Parametre (Birim)	SHAM (n=7)	IR (n=7)	MT+IR (n=6)	p
1	VYA (m^2)	0,0422±0,0001	0,0420±0,0004	0,0433±0,0004	0,0565
2	Z_0 (ohm)	160,31±16,54	167,51±8,73	151,36±10,22	0,6752
3	$(dZ/dt)_{max}$ (ohm/s)	7,02±0,69	9,44±0,71	8,81±1,26	0,1537
4	VEPT (cm^3)	33,76±2,65	24,37±1,45*	35,51±2,89#	0,0081
5	LVET (s)	0,084±0,001	0,068±0,002*	0,082±0,001#	<0,0001
6	HR (atım/dk)	283,02±16,78	341,13±7,52*	283±22#	0,0066
7	TFC ($kohm^{-1}$)	7,03±0,60	6,08±0,36	6,75±0,45	0,3423
8	SV (ml/atım)	0,142±0,019	0,098±0,013	0,167±0,025	0,0564
9	CO (l/dk)	0,031±0,007	0,033±0,004	0,048±0,009	0,2817
10	IC (s^{-1})	0,046±0,006	0,058±0,007	0,059±0,008	0,4203
11	TFCI ($kohm^{-1}/m^2$)	167,23±13,98	144,78±8,72	155,97±9,30	0,3631
12	SI ($ml/atım/m^2$)	3,39±0,46	2,34±0,31	3,90±0,65	0,0852
13	CI ($l/dk/m^2$)	0,85±0,18	0,79±0,10	1,13±0,23	0,3567

4.4. Elektrokardiyografi (EKG) Verileri

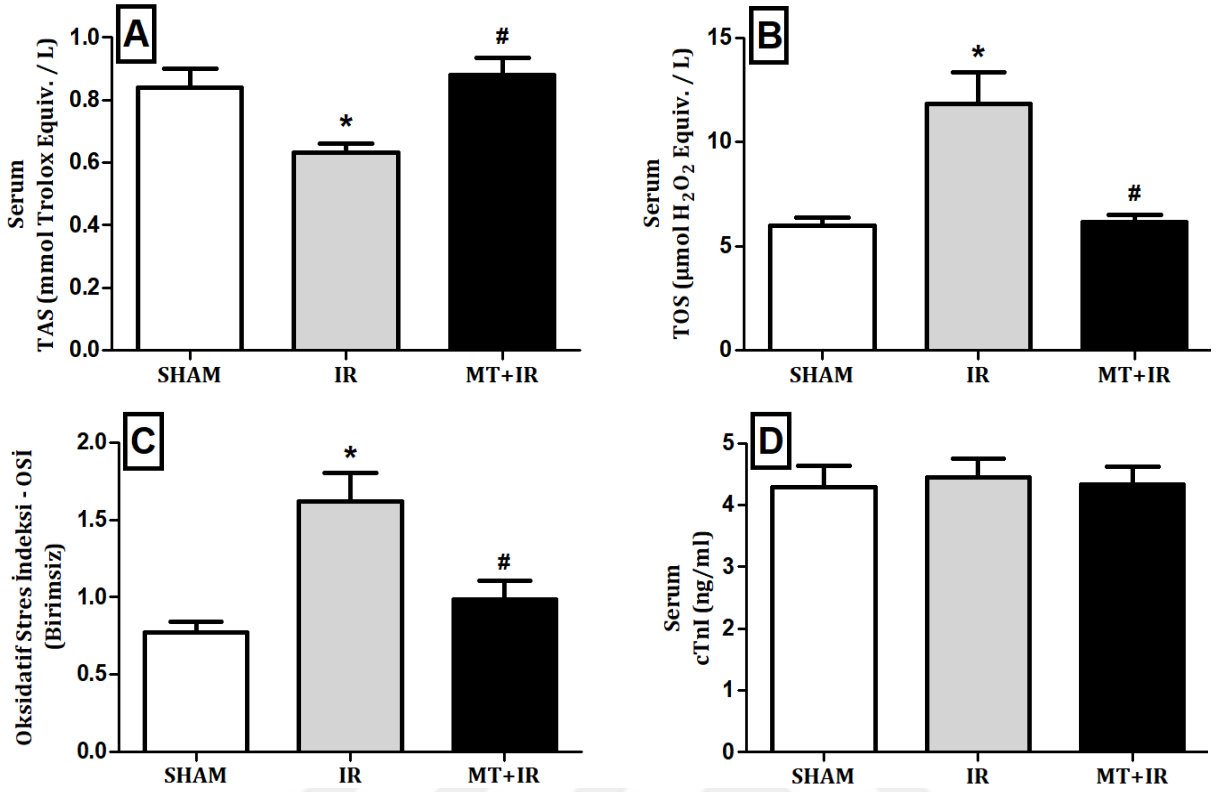
Her bir sıçana ait EKG kayıtlarından Şekil 3.8.'de gösterilen her bir parametre için 10'ar adet okuma yapılarak ortalamaları alınmış ve gruplara ait veriler tespit edilmiştir. Ayrıca Bazett'in önerdiği doğrulanmış QT (QTc_{Baz}) değeri daha önce anlatıldığı şekilde hesaplanmıştır. Tablo 4.2. incelendiğinde P-R interval, QRS süresi, QTc_{Baz}, T dalga süresi, T dalgası repolarizasyon süresi ve R-R interval değerleri IR grubunda SHAM grubuna kıyasla anlamlı ölçüde değişmişken, (P-R interval, QTc_{Baz}, T dalga süresi, T dalgası repolarizasyon süresi değerleri artmış, QRS süresi ve R-R interval değerleri ise azalmış) MT+IR grubunda ise bu değerlere MitoTEMPO'nun koruyucu etkisi olduğu görülmektedir. IR grubunda uzayan T dalga süresinin depolarizasyon ve repolarizasyon evreleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise bu uzamanın repolarizasyon evresinden kaynaklandığı dikkat çekmektedir. Ayrıca IR grubunda P dalgası genliğinin SHAM grubuna göre azalmış ve T dalgası genliğinin ise artmış olduğu MT+IR grubunda ise bu değerlerin SHAM ve IR grubu değerleri aralığında kaldığı ancak istatistiksel olarak bu iki grupla da anlamlı farklılık göstermediği tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. Elektrokardiyografi (EKG) verileri. Veriler ort. ± standart hata. * SHAM ile, # IR ile karşılaştırıldığında p < 0,05 için anlamlılığı belirtir.

Sıra	Parametre (Birim)	SHAM (n=7)	IR (n=7)	MT+IR (n=6)	p
1	P Dalgası Genlik (mV)	0,0309±0,0010	0,0225±0,0019*	0,0279±0,0006	0,0278
2	P-R Interval (s)	0,0304±0,0008	0,03506±0,0012*	0,0303±0,0011#	0,0118
3	QRS Süresi (s)	0,0420±0,0005	0,0400±0,0006*	0,0393±0,0003*	0,0103
4	Q-T Interval (s)	0,0769±0,0018	0,0788±0,0046	0,0724±0,0008	0,3577
5	QTc_{Baz} (s)	0,162±0,004	0,193±0,010*	0,157±0,006#	0,0098
6	T Dalgası Genlik (mV)	0,0476±0,0009	0,0801±0,0079*	0,0640±0,0022	0,0018
7	T Dalga Süresi (s)	0,0309±0,0006	0,0442±0,0018*	0,0318±0,0007#	<0,0001
8	T Dalgası Depolarizasyon Süresi (s)	0,0107±0,0004	0,0113±00004	0,0103±0,0005	0,2364
9	T Dalgası Repolarizasyon Süresi (s)	0,0202±0,0004	0,0329±0,0019*	0,0215±0,0005#	<0,0001
10	R-R Interval (s)	0,2171±0,0131	0,1767±0,0038*	0,2153±0,0120#	0,0154

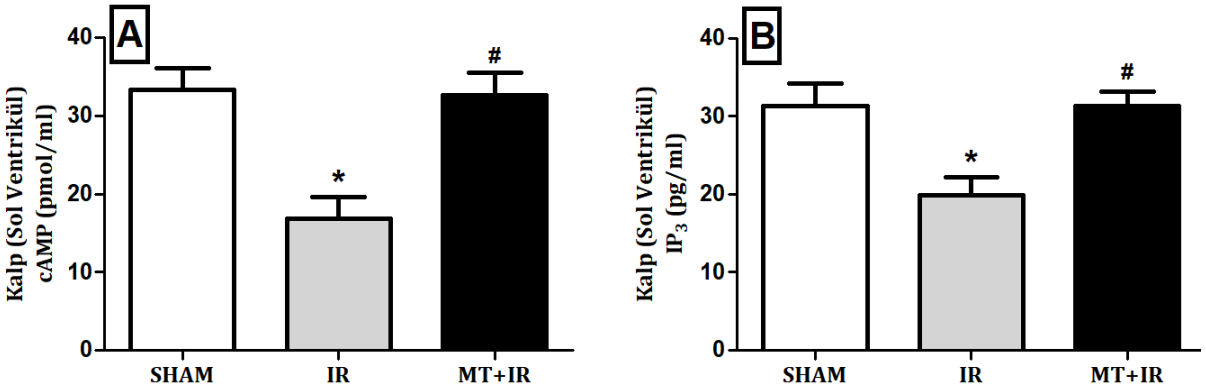
4.5. Biyokimyasal Veriler

Kan dokularından elde edilen serum örneklerinden TAS, TOS ve cTnI molekül seviyeleri ELISA yöntemi ile çalışılmış, elde edilen TAS, TOS değerlerinden OSİ parametresi hesaplanmıştır. TAS değeri SHAM grubunda 0,84±0,13 mmol Trolox Equiv./L, IR grubunda 0,63±0,07 mmol Trolox Equiv./L, MT+IR grubunda ise 0,88±0,06 mmol Trolox Equiv./L olarak tespit edilmiştir. Buna göre TAS değeri IR grubunda azalırken, MT+IR grubunda SHAM grubu seviyelerinde ölçülmüştür. TOS değeri ise SHAM grubunda 5,97±0,98 μmol H_2O_2 Equiv./L iken IR grubunda 11,81±3,77 μmol H_2O_2 Equiv./L değerine yükseldiği, MT+IR grubunda ise 6,16±0,7 μmol H_2O_2 Equiv./L olarak SHAM grubu değerine yakın şekilde tespit edildiği görülmektedir (Şekil 4.3.-A,B). Birimsiz olarak hesaplanan OSİ değerlerinde ise SHAM grubunda 0,77±0,18 olarak hesaplanan indeks değeri IR grubunda 1,62±0,41 değerine yükselmişken MT+IR grubunda bu değer 0,98±0,27 ile SHAM grubu verilerine yakın olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.3.-C). cTnI değerleri incelendiğinde ise SHAM grubunda 4,30±0,84 ng/ml, IR grubunda 4,45±0,79 ng/ml ve MT+IR grubunda 4,33±0,74 ng/ml olarak ölçülen değerler gruplar arası herhangi bir istatistiksel anlamlı farklılığın olmadığı görülmektedir (Şekil 4.3.-D).



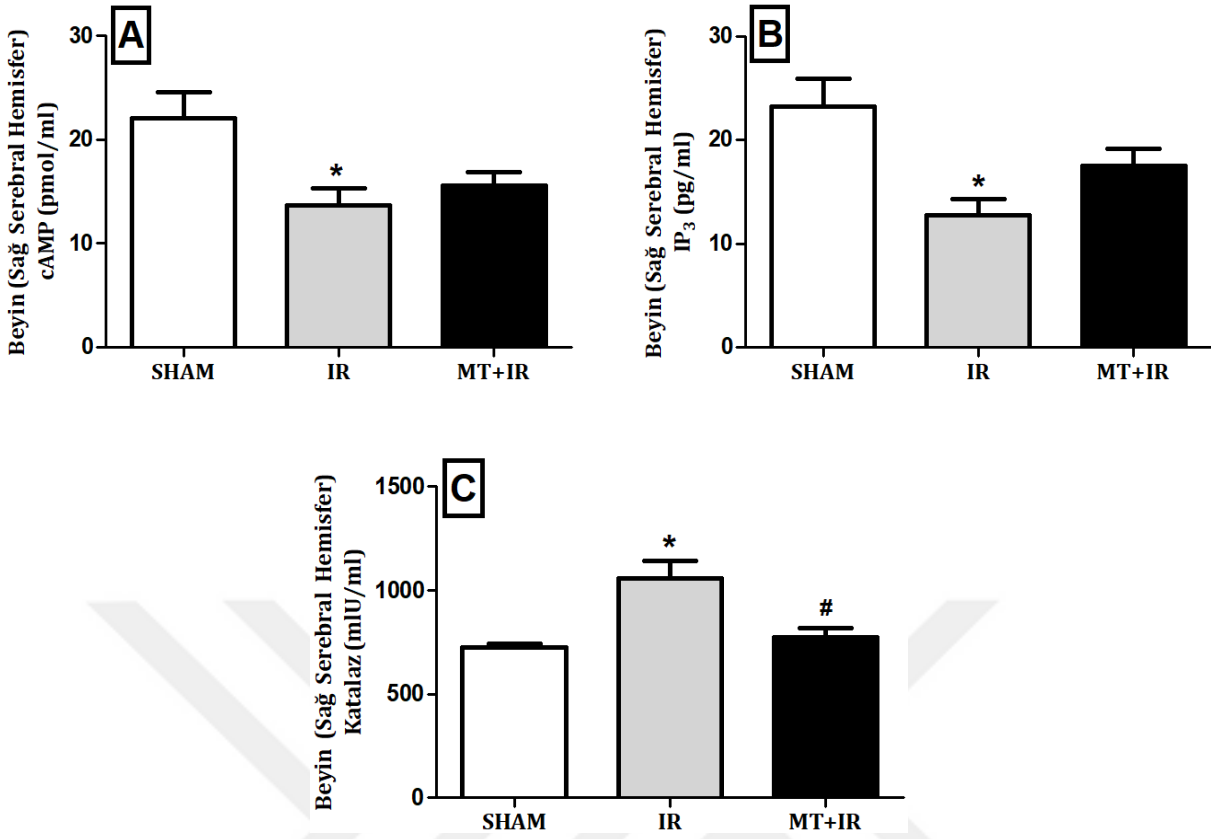
Şekil 4.3. Kan serumundan ELISA yöntemi ile tespit edilen veriler. A- Total Antioxidant Status (TAS), B- Total Oxidant Status (TOS), C- Oksidatif stres indeksi (OSİ), D- Kardiyak Troponin-I (cTnI). Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, * SHAM ile, # IR ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ için anlamlılığı belirtir.

Kalp sol ventrikül dokusundan elde edilen homojenizat ile gerçekleştirilen ELISA çalışması sonucu cAMP değerinin SHAM grubunda 33,27±6,26 pmol/ml iken IR grubunda 16,81±6,91 pmol/ml'ye düştüğü MT+IR grubunda ise 33,65±6,33 pmol/ml olarak tespit edildiği görülmektedir (Şekil 4.4.-A). IP_3 verilerinde ise SHAM grubunda 31,35±7,58 pg/ml, IR grubunda 19,88±5,60 pg/ml, MT+IR grubunda 31,28±4,49 pg/ml olarak tespit edilen değerler IR uygulamasının IP_3 miktarını azalttığını, MitoTEMPO enjeksiyonunun ise bu molekülün sentezinde meydana gelen azalışa karşı koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir (Şekil 4.4.-B).



Şekil 4.4. Kalp sol ventrikül dokusundan ELISA yöntemi ile tespit edilen veriler. A- Siklik Adenozin Monofosfat (cAMP), B- İnositol Trifosfat (IP_3). Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, * SHAM ile, # IR ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ için anlamlılığı belirtir.

Beyin sağ serebral hemisfer dokusu ile gerçekleştirilen ELISA çalışmasıyla ise cAMP, IP_3 ve katalaz moleküler seviyeleri tayin edilmiştir. IR sonucu azalan cAMP ve IP_3 miktarları üzerine MitoTEMPO enjeksiyonunun koruyucu bir etkisi görülmemiş olup (Şekil 4.5.-A,B), artan katalaz miktarı ise SHAM seviyesinde ölçülmüştür (Şekil 4.5.-C). SHAM, IR ve MT+IR gruplarında sırasıyla tespit edilen cAMP düzeyleri pmol/mg biriminde; 22,09±6,18, 13,70±4,06 ve 15,57±3,23, IP_3 düzeyleri pg/ml biriminde 23,18±7,74, 12,75±3,84 ve 17,52±4,19, katalaz düzeyleri ise mIU/ml biriminde 722,78±49,01, 1056,1±209,34 ve 771,31±117,52 şeklinde olmuştur.

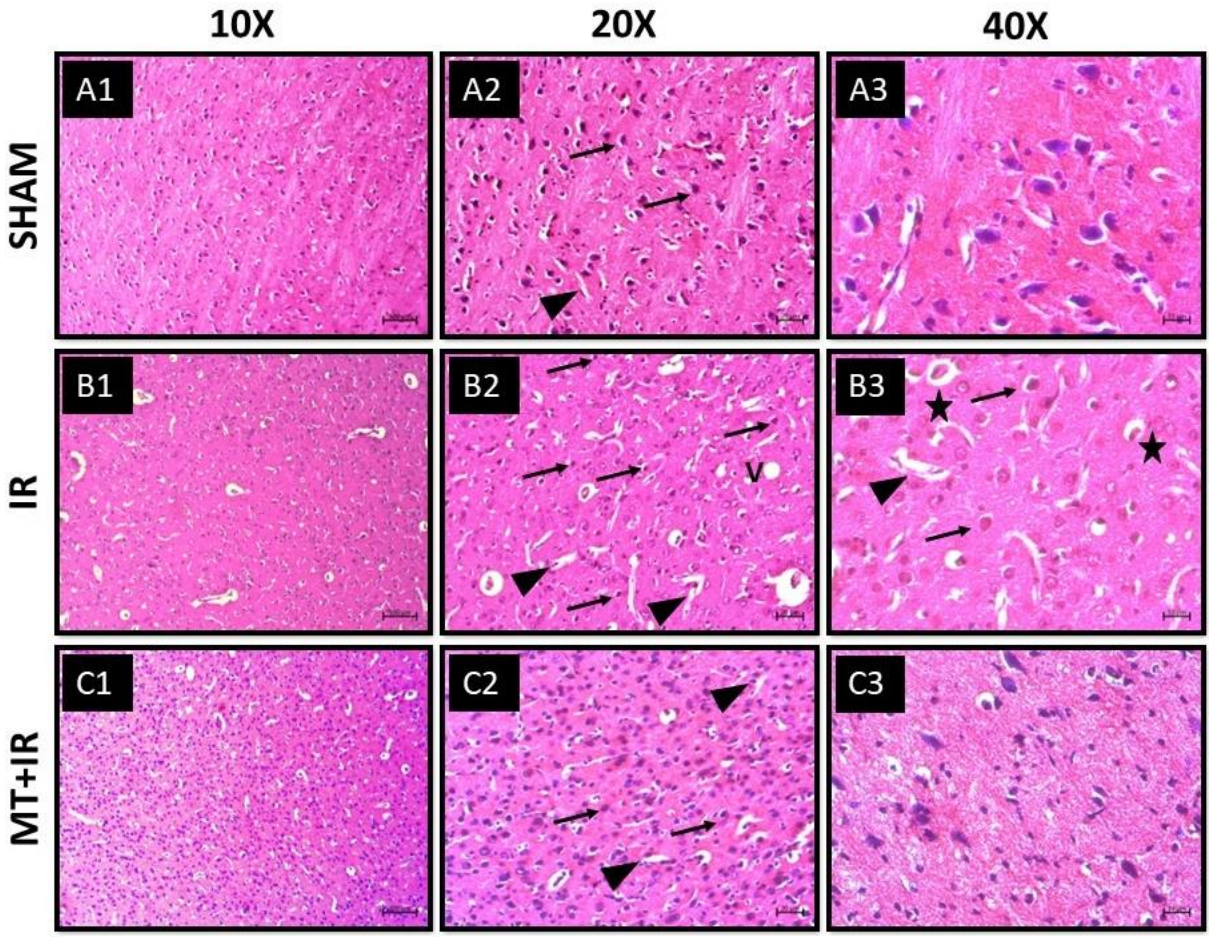


Şekil 4.5. Beyin sağ serebral hemisfer dokusundan ELISA yöntemi ile tespit edilen veriler. A-Siklik Adenozin Monofosfat (cAMP), B- İnositol Trifosfat (IP_3), C-Katalaz. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiş olup, * SHAM ile, # IR ile karşılaştırıldığında $p < 0,05$ için anlamlılığı belirtir.

4.6. Histolojik Veriler

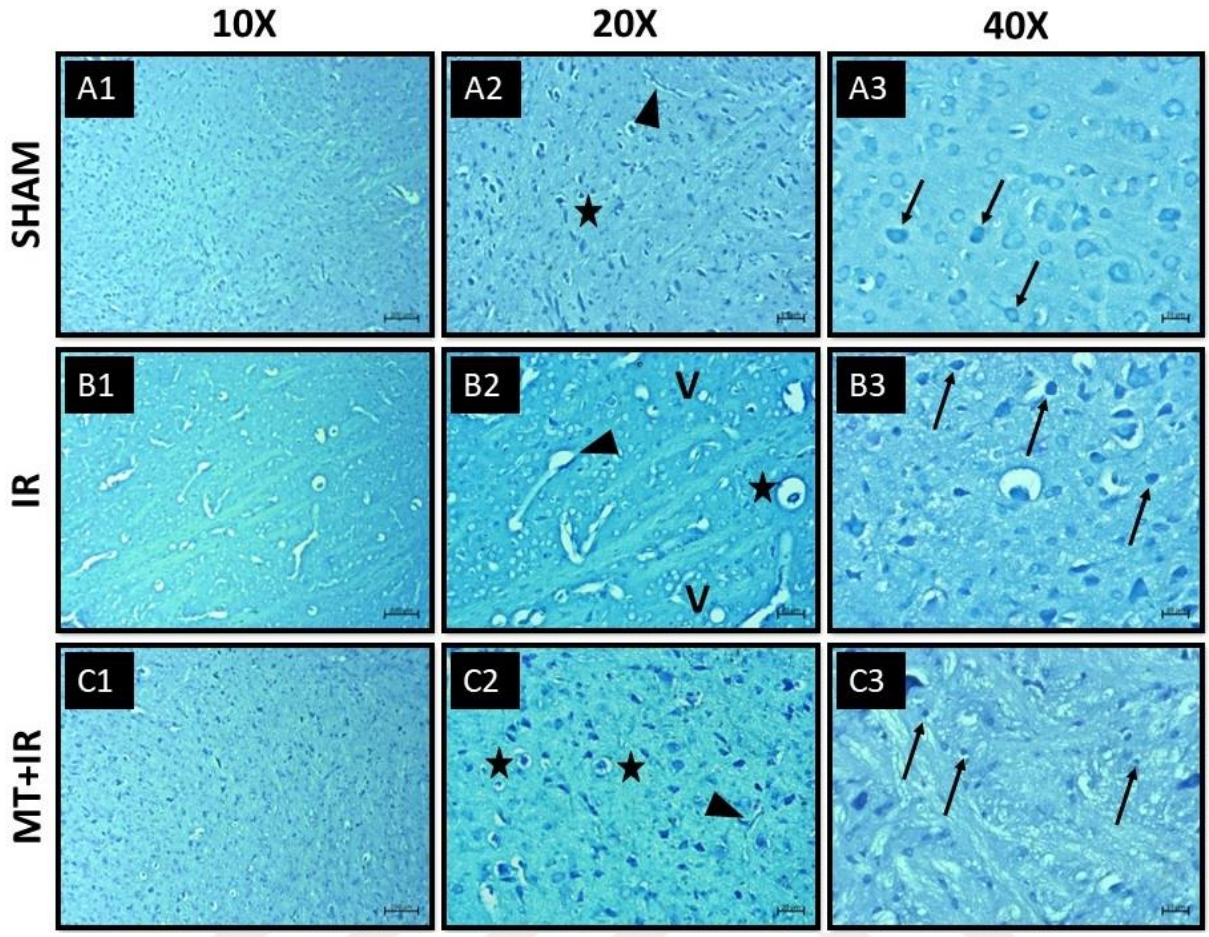
Beyin sağ serebral hemisfer ve kalp sol ventrikül dokuları deneyler süresince stoklanarak gruplar arası mikroskobik düzeydeki histopatolojik değişimler değerlendirilmiştir. Beyin sağ serebral hemisfer ve kalp sol ventrikül dokularına ait histolojik veriler bir bütün halinde değerlendirildiğinde model oluşturulan IR grubu SHAM grubu ile karşılaştırıldığında patolojik bulgular dikkat çekmekle birlikte model oluşturmadan önce yapılan MitoTEMPO enjeksiyonunun ise bu patolojilere karşı koruyucu etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Beyin sağ serebral hemisfer dokusunun H&E boyaması sonucu IR grubunda diğer gruplara kıyasla daha yoğun kırmızı nöronlar, dilate damar, perinöronal ödem ve vakuolizasyon gözlenmiştir (Şekil 4.6.).



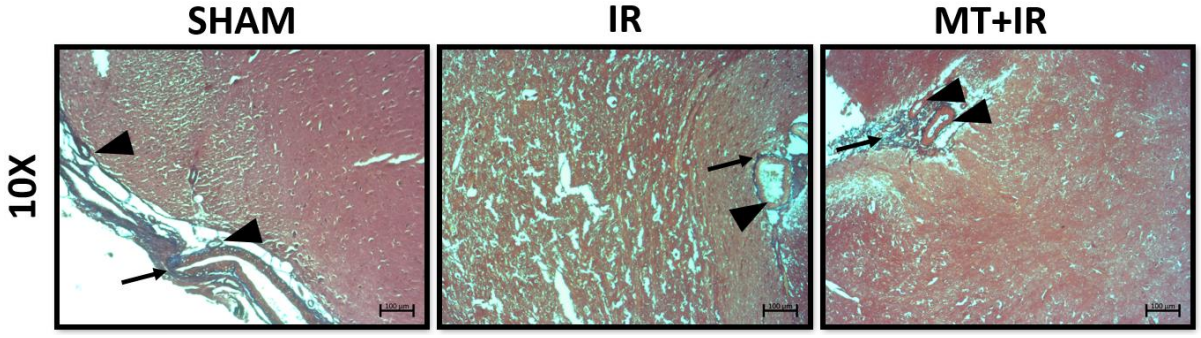
Şekil 4.6. Beyin sağ serebral hemisfer dokusu hematoksilen-eozin (H&E) boyaması. →; nöronların genel görünümünü (SHAM ve MT+IR grubunda normal, IR'de ise kırmızı nöron), ▶; damar görünümünü (IR'de dilate, diğer gruplarda ise normal), ⋆; perinöronal ödem, V; vakuolizasyonu işaretlemektedir. Her bir grupta yer alan ölçek çubukları soldan sağa sırasıyla 100, 20 ve 10 µm.

TB boyaması sonucunda elde edilen görüntüler değerlendirildiğinde ise IR grubuna ait nöronların homojenize sitoplazmalı olduğu görülmektedir. Ayrıca IR grubu genel görüntüsünde belirgin vakuolizasyon ve damar görünümleri dilatedir (Şekil 4.7.)



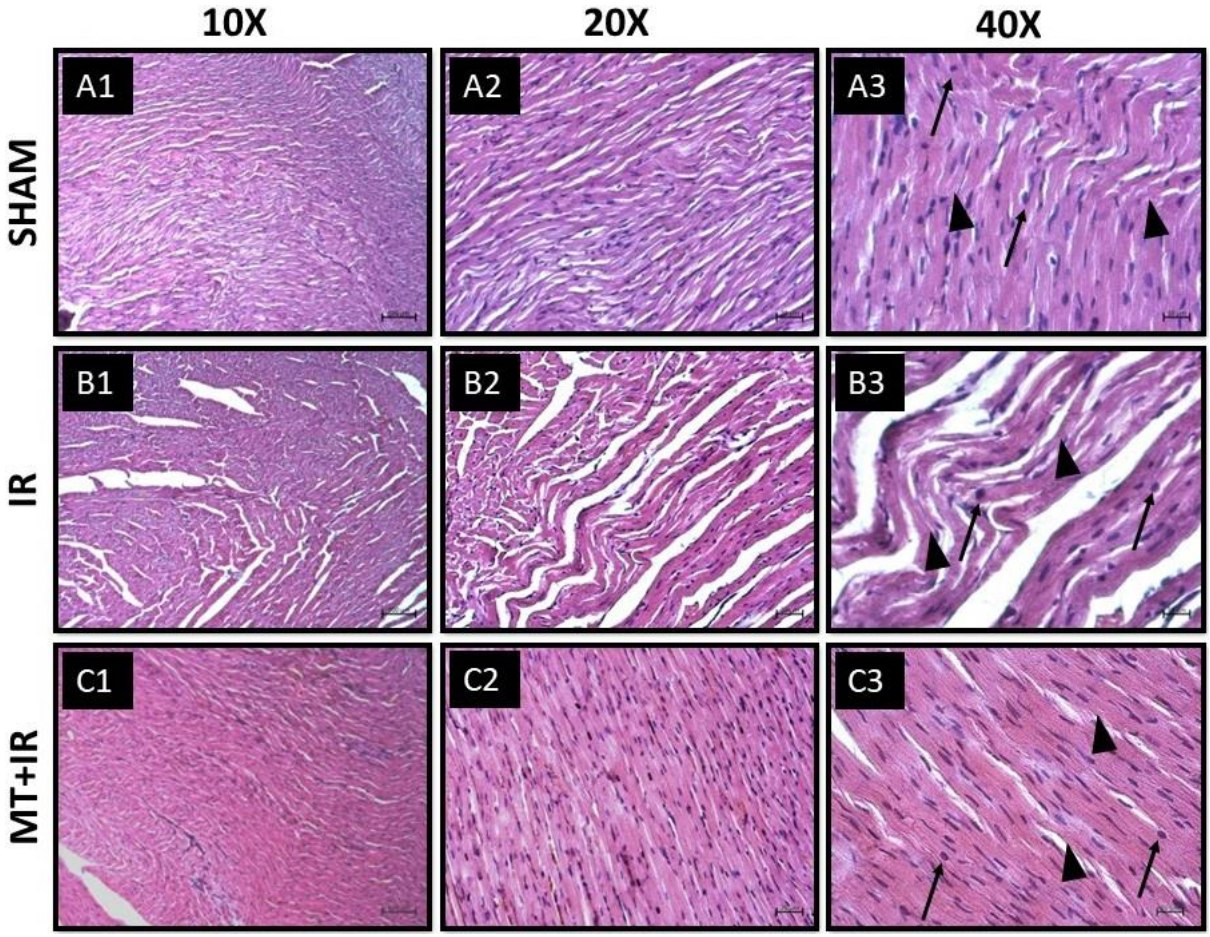
Şekil 4.7. Beyin sağ serebral hemisfer dokusu Toluidine Blue (TB) boyaması. →; nöronların genel görünümünü (SHAM ve MT+IR grubunda normal, IR'de ise homojenize sitoplazmalı), ▶; damar görünümünü (IR'de dilate, diğer gruplarda ise normal), ⋆; perinöronal ödem, V; vakuolizasyonu işaretlemektedir. Her bir grupta yer alan ölçek çubukları soldan sağa sırasıyla 100, 20 ve 10 µm.

Beyin sağ serebral hemisfer dokusu MT boyaması sonucu elde edilen görüntülerde ise damar çevresi bağ dokularındaki kollajen miktarlarında bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.8.).



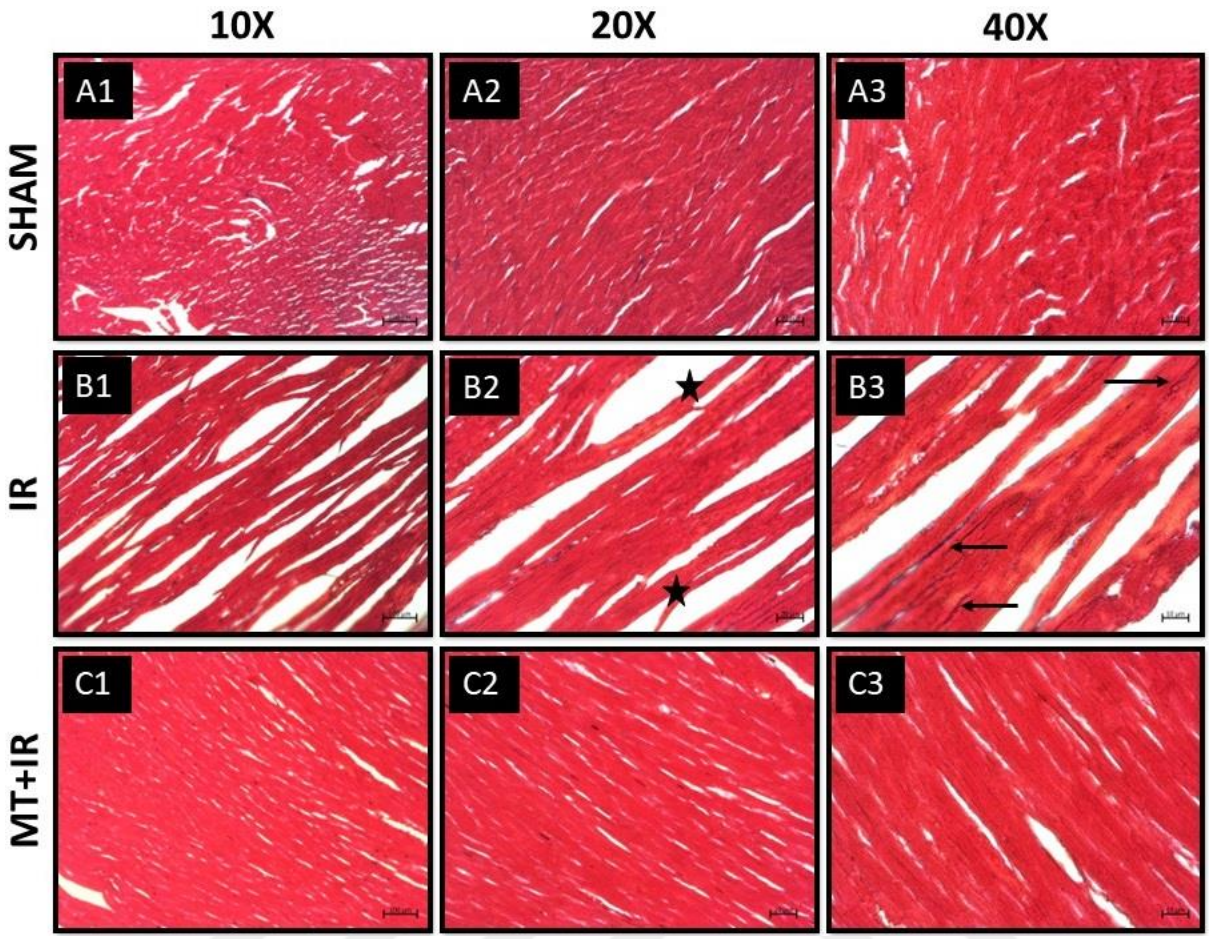
Şekil 4.8. Beyin sağ serebral hemisfer dokusu Masson Trikrom (MT) boyaması. ▶; damar görünümünü (IR'de dilate, diğer gruplarda ise normal), →; bağ dokudaki kollajenleri işaretlemektedir. Ölçek çubukları 100 µm.

Kalp sol ventrikül dokusu H&E görüntüleri incelendiğinde diğer gruplara kıyasla IR grubunda hücre çekirdeklerinin periferde, kas liflerindeki dallanmanın ise düzensiz olduğu görülmektedir (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Kalp sol ventrikül dokusu hematoksilen-eozin (H&E) boyaması. →; Hücre çekirdeklerinin yerleşimini (SHAM ve MT+IR'de merkezi, IR'de periferde), ▶; Kas liflerindeki dallanmayı (SHAM ve MT+IR'de düzenli, IR'de düzensiz) işaretlemektedir. Her bir grupta yer alan ölçek çubukları soldan sağa sırasıyla 100, 20 ve 10 µm.

Son olarak kalp sol ventrikül dokusu MT ile boyanmış olup elde edilen görüntülerde IR grubunda kardiyak fibriller ve damar çevrelerinde kolajen birikimleri ve interfibriller boşluklar olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10.).



Şekil 4.10. Kalp sol ventrikül dokusu Masson Trikrom (MT) boyaması. →; kardiyak fibrillerin etrafında ve damar çevresinde kolajen birikimleri, ⋆; interfibriller boşlukları işaretlemektedir. Her bir grupta yer alan ölçek çubukları soldan sağa sırasıyla 100, 20 ve 10 µm.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Küresel Hastalık Yükü Çalışması'nın The Lancet dergisinde yayınlanan son verilerine göre 2019 yılı boyunca dünya çapında ~113,2 milyon inme vakası ve inme kaynaklı ~6,55 milyon ölüm gerçekleşmiştir (tüm ölümlerin ~%11,6'sı). Aynı çalışmanın verileri yıllar boyunca incelendiğinde ise 1990'dan 2019'a kadar inme nedeniyle gerçekleşen ölümlerin ~%43, inme kaynaklı engelli yaşamın ise ~%32 oranında artmış olduğu görülmektedir. 2019 yılında tüm inme vakaları içerisinde ~%62,4'ü iskemi, ~%27,9'u intraserebral kanama ve ~%9,7'si ise subaraknoid kanama nedeniyle gerçekleşmiştir. Aynı yıla ait gerçekleşen inme vakalarının en yaygın 5 nedeni olarak ise sırasıyla yüksek sistolik kan basıncı, yüksek vücut kitle indeksi, yüksek açlık plazma glikoz seviyesi, ortam partikül madde kirliliği ve tütün kullanımı gösterilmiştir [119]. Öte yandan ABD Ulusal Tıp Kütüphanesi'nin bir kuruluşu olan Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi tarafından geliştirilen ve tıp alanındaki akademik çalışmaları kapsayan arama motorunda (PubMed) yapılan taramada geçtiğimiz 2022 yılı boyunca başlığında "stroke" (inme) kelimesini içeren 11.062 adet yayın bulunmaktadır. Aynı veri tabanında geçtiğimiz 2022 yılına kadarki son 4 yıl incelendiğinde ise 2018'de 7.769, 2019'da 8.543, 2020'de 9.824 ve 2021'de 11.103 çalışma tespit edilmiştir. Sonuç itibariyle inme küresel olarak insan hayatını ve sağlıklı yaşamın sürdürülmesini tehdit etmekle birlikte son 5 yılın verileri değerlendirildiğinde araştırmacılar bu hastalığın detaylarını açığa çıkarmak, yeni tedavi edici ve koruyucu yöntemler geliştirmek için sayısı her geçen gün artarak devam eden çalışmalarını sürdürmektedirler.

İnmeyi konu edinen çalışmalar incelendiğinde genel olarak inme sonrası gelişen patofizyolojilerin tedavi edilmesine yönelik araştırmalara odaklanılmış olduğu dikkat çekmektedir. Oysa inme geçirme insidansı diğer bireylere göre daha yüksek olan kişilerde inme sonrası görülebilecek ikincil komplikasyonlara karşı koruyucu tedbirlerin geliştirilmesi oldukça önemlidir. Çünkü inme sonrası gelişen nörolojik, kardiyolojik ve sistemik bazı komplikasyonlar mortalite ve morbiditeyi önemli ölçüde artırmaktadır [120-122]. Ayrıca inme sonrası düşük fonksiyonel defisitleri olan hastalarda görülen ilk bir ay içerisindeki ölümlerin en büyük nedeni olarak kardiyak hasarlardan bahsedilmektedir [123-125]. Mikolich ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir klinik araştırmasında da serebrovasküler olay (SVO) sonrası inmeli hastaların 24 saat boyunca EKG kayıtları alınmış ve aynı hastaneye katarakt ameliyatı için başvuranların EKG'leri ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak SVO'lu hastaların bazılarında ventriküler taşikardi, bazılarında tam atriyoventriküler blokaj ve bazılarında ise asistol gözlenmiştir. SVO'lu grupta gözlenen kardiyak aritmilerin hiçbiri kontrol grubunda görülmemiştir [126]. Bu gibi çalışmaların sonuçları incelendiğinde inme sonrası gelişebilecek kardiyak fonksiyon bozukluklarına karşı önceden tedbirler almak önemli görülmüş ve araştırmamızın amacı olarak belirlenmiştir. Bu amaca ulaşabilmek için iskemi sonrası reperfüzyon gerçekleşmesine de müsaade eden ve insan iskemik inmesine en yakın enfarktüs

alanı oluşturduğu bilinen monofilament ilerletme yöntemi ile deney hayvanlarında IR modeli oluşturulmuş ve mitokondri spesifik antioksidanın IR kaynaklı kalp fonksiyon bozukluklarına karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır. Model hassas cerrahi süreçler gerektiriyor olsa da Takano ve ark. yaptıkları bir araştırmada monofilamentli OSAO modelinin farklı düzeyde tecrübeye sahip araştırmacılar arasında iyi derecede tekrar edilebilirlik ve güvenilirlik sağladığını göstermiştir [127-129].

Çalışmamızda SHAM, IR ve MT+IR grubu için rastgele ayrılan 8'er deney hayvanından SHAM grubuna ait bir sıçan TEB kayıtları öncesinde anestezi uygulamasının ardından, IR grubuna ait bir sıçan ise OSAO cerrahisinin hemen başında anestezi enjeksiyonu sonrasında ölmüştür. MT+IR grubuna ait deney hayvanlarından ise bir tanesi cerrahi işlemler esnasındaki kanama sebebiyle ölmüştür. Ayrıca bu gruptaki deney hayvanlarının kütlelerinde 14 günlük MitoTEMPO enjeksiyonu sonunda ~%8,06 oranında artış olmuşken bir hayvanda kütle artışı %1,77 olarak gerçekleşmiştir. Bahsedilen hayvan ölçümlere dahil edilmeyerek MT+IR grubundan çıkarılmıştır. Sonuç itibariyle SHAM grubu n=7, IR grubu n=7 ve MT+IR grubu ise n=6 olacak şekilde ölçüm ve numune toplama işlemleri tamamlanmıştır. Bizimle aynı model üzerinde çalışılan bir başka araştırmada IR grubu için deneklerin ölüm oranı %42,86 [130] olarak rapor edilmiş olup aynı grup için bizim çalışmamızdaki ölüm oranı %12,5 olduğundan cerrahi prosedürler ve post-operatif bakım açısından başarılı bir deney süreci gerçekleştirdiğimizi düşünmekteyiz.

IR nedeniyle uzak doku / organ hasarına neden olan mekanizmalar arasında ROS üretiminin ve sitokin (TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-6, MPO gibi [131]) salınımındaki artışın olduğu bilinmektedir [132]. Bu araştırmada da özellikle inme sonrası sağlanan reperfüzyon ile miktarında artış beklediğimiz ROS için mitokondri spesifik bir antioksidanı koruyucu olarak uyguladık. Burada mitokondri hedefli antioksidan olarak tercih edilen MitoTEMPO molekülünün çeşitli patolojiler sonucu oluşan ROS miktarlarının artışına ve sistemik inflamasyona karşı oldukça etkin olduğunu gösteren çalışmalar vardır [40,133,134]. Bizim bulgularımızda da IR ile artan ROS miktarına karşı MitoTEMPO enjeksiyonunun koruyucu etki gösterdiği ve bunun sonucu olarak ise kalbin elektrokardiyografik, hemodinamik ve biyokimyasal parametrelerinde ve mikroskobik düzeydeki histopatolojik yapısında IR kaynaklı etkilenimin azaldığı görülmektedir.

Uyguladığımız modelin temel ilkesi damar içerisinde ilerletilen monofilament sayesinde IKA'nın OSA ve ASA çatallanmasındaki kan akışının kesilmesini sağlamaktır (Şekil 2.3.). Bunun için genel olarak OSA ve ASA'nın damar çaplarından (yaklaşık 2 mm [135]) daha büyük çapa sahip monofilamentler kullanılmaktadır. Böylelikle IKA'dan ilerletilen monofilamentler ile bahsedilen çatallanmada tam bir tıkanma sağlanır. Sıçanlar üzerinde yapılan bir OSAO çalışmasında monofilament uç çapları ile oluşan enfarktüs alanı ilişkisi incelenmiş ve uç çapları 0,21-0,22 mm olan grupta enfarktüs oranı %20,723±1,419; 0,27-0,28 mm olan grupta %21,063±1,163 ve 0,33-

0,34 olan grupta ise %21,614±1,067 olarak tespit edilmiştir [136]. Benzer bir başka çalışmada da oluşturulan üç farklı grupta uygulama yapılan monofilamentlerin uç çapları sırasıyla 0,43; 0,45 ve 0,47 mm'dir. Enfarktüs boyutları kıyaslandığında ise 0,43 ve 0,45 mm uç çapa sahip monofilamentler ile uygulanan OSAO sonrasında oluşan enfarktüs boyutları arasında anlamlı fark olmayıp, 0,47 mm uç çapa sahip gruba kıyasla daha büyük enfarktüs oluştuğu tespit edilmiştir [128]. Bizim monofilamentlerimizin uç çaplarının da 0,308±0,029 mm (ort. ± ss) olarak ölçüldüğü ve literatür bilgileri ile uyum içinde olduğu görülmektedir. Bu araştırmalardan görülen ve bizim çalışmamızda tespit edilen monofilament uç çaplarına ilişkin veriler bir bütün halinde değerlendirildiğinde 0,27-0,45 mm aralığında monofilamentler ile sıçanlarda OSAO modeli uygulamaları sonucu güvenilir enfarktüs alanları oluşturabilmektedir.

Çalışmamız kapsamında oluşturulan deney gruplarından MT+IR grubuna koruyucu etkisini araştırdığımız MitoTEMPO, SHAM ve IR grubuna ise deneklerin enjeksiyon stresini yaşamaları amacıyla aynı doz ve sürede distile su i.p. enjeksiyonları yapılmış ve MitoTEMPO'nun deney hayvanlarının kütle artış veya azalışları üzerindeki etkisi takip edilmiştir. Buna göre başlangıçta distile su enjekte edilenler ile MitoTEMPO enjekte edilen grup hayvanları arasında bir fark gözlenmemişken, 14 günlük enjeksiyon sonucu MitoTEMPO grubundaki deney hayvanlarında diğerlerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede kütle artışı olmuştur. Daha önce yaptığımız bir başka çalışmada da 28 gün boyunca bu çalışma ile aynı dozda koruyucu MitoTEMPO i.p. enjeksiyonunun deney hayvanlarında kütle artışına sebep olduğu saptanmıştı [137]. Bizim çalışmamızın aksine Wu ve ark.'nın yüksek yağlı diyet ile oluşturdukları obezite modelinde MitoTEMPO enjeksiyonunun deney hayvanlarının kütle artışına diyetin haricinde bir katkı sağlamadığı gösterilmiştir [138]. Liu ve ark.'nın oluşturduğu kronik böbrek hastalığı modelinde ise hasta gruptaki kütle kaybı MitoTEMPO enjeksiyonu ile büyük ölçüde düzelmişken, sadece MitoTEMPO enjekte edilen grupta ise vücut kütleleri kontrol grubu seviyesinde ölçülmüştür. Aynı çalışmada kronik böbrek hastalığı grubunda tibia uzunluklarına göre normalize edilmiş gastroknemius kas kütlelerinde kayıp oluştuğu ve MitoTEMPO'lu grupta bu durumun büyük ölçüde düzeldiği gösterilmiştir [139]. Çalışmalar vücut kütlesi ve kas kütlelerindeki değişimlerden bahsetse de mitokondri spesifik antioksidanlar ile kütle kazanç / kayıp mekanizmaları arasındaki ilişkinin ne olduğu açıklanmayı bekleyen bir soru olarak karşımıza çıkmıştır.

İnmenin kardiyak disfonksiyonla sonuçlandığını gösterir çalışmaların ışığında bu fonksiyon bozukluklarının hangilerinin ROS kaynaklı olduğunu açığa çıkarmak ve bu fonksiyon bozukluklarına karşı MitoTEMPO'nun olası koruyucu etkisini araştırmak amacıyla bazı kardiyak ölçümler yapılmıştır. Öyle ki; her üç gruptaki deney hayvanlarının kalp kütleleri tartılmış ve Şekil 4.2.'de kalp kütlelerinin yanı sıra, vücut kütlelerine göre normalize edilmiş kalp kütleleri de ayrıca sunulmuştur. Sıçan kalp kütlelerinin veya kalp kütlelerinin vücut kütlelerine oranı ile elde edilen

normalize verinin kardiyak atrofi / hipertrofi göstergesi olabileceğini belirten çalışmalar [140,141] referans alınarak değerlendirildiğinde sıçan kalp kütlelerinin IR grubunda arttığı fakat MT+IR grubunda bu değerin SHAM grubu ile IR grubu aralığında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2.-A). Kalp kütleleri ile vücut kütlelerinin oranı şeklinde elde edilen verileri kıyaslandığımızda ise IR grubunda meydana gelen kardiyak hipertrofiye karşı MitoTEMPO'nun koruyucu etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 4.2.-B). Vücut kütlelerine göre normalize edilmiş kalp kütlesi verilerinde MitoTEMPO enjeksiyonunun deney hayvanlarının vücut kütlelerinde meydana getirdiği artışın dikkate alınarak hesaplandığı düşünüldüğünde bu veri hipertrofiyi ve koruyucu MitoTEMPO'nun bu konudaki etkisini daha doğru şekilde sunduğu söylenebilir. Zira vücut kütlesi ile kalp kütlesinin büyüklüğü arasında doğru orantılı bir ilişki olduğunu bahseden çalışmalar bulunmaktadır [140]. Bulgularımız kardiyak hipertrofiyi işaret ediyor olsa da Chen ve ark. yaptıkları OSAO çalışmasında kardiyak atrofi sonucuna ulaştıklarını bildirmişlerdir [85]. Veltkamp ve ark. ise inme sonrası geçici bir kardiyak atrofi görüldüğünü ve reperfüzyonun 14. günü tibia uzunluğuna göre normalize edilen kalp kütlelerinin kontrol grubu seviyesine tekrar döndüğünü saptamışlarsa da [106] bazı çalışmalarda bizim bulgularımıza benzer şekilde inme sonrası kardiyak hipertrofi oluştuğu bildirilmiştir [142,143].

Klinik uygulamalarda inme sonrası kardiyak verilerin incelenmesinde TEB yöntemi güvenilir, non-invaziv ve tekrar edilebilir bir yöntem olarak görülmektedir [144]. Bizim çalışmamızdaki inme kaynaklı kalp hemodinamik parametreleri etkilenimi incelendiğinde ise VEPT ve LVET değerleri IR grubunda azalmışken MitoTEMPO uygulamasının bu azalışlara karşı koruyucu etki gösterdiği görülmektedir. Ayrıca kalbin hemodinamik parametreleri ile ilişkili olan HR değeri de IR grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede artmışken MitoTEMPO uygulaması ile bu değerin SHAM grubu seviyesinde kaldığı görülmektedir. Diğer parametrelerde istatistiksel anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir ancak anlamlılığa en yakın değer olarak SV parametresinin gruplar arası istatistiksel değerlendirmesi sonucu p değeri 0,0564 olarak hesaplanmıştır. Buna göre gruplar arasında anlamlı fark çıkmasa da SV değerinin IR grubunda SHAM grubuna kıyasla azaldığı ancak MT+IR grubunda ise bu değerin SHAM grubuna yakın olduğu görülmektedir (Tablo 4.1.). Zheng ve ark. inme sonrası kalp fonksiyonları üzerine yaptıkları bir araştırmada kalpte katekolaminlerin salınımının artışı sonrasında gelişen kardiyotoksisite sonucunda sol ventrikül diyastolik fonksiyon bozukluğunun gelişebileceğini işaret etmişlerdir [145]. Biering-Sørensen ve ark.'nın yapmış olduğu bir klinik araştırmada ise kısalmış LVET'in daha yüksek sistolik kan basıncı, yüksek kalp hızı ve kötü fraksiyonel kısalma ile ilişkili olduğu sonucu gösterilmiştir [146]. Bizim bulgularımızda da bu sonuçlara paralel şekilde IR grubu LVET değerinin kısaldığı ve HR değerinin yüksek olduğu görülmektedir. Verma ve ark. tarafından OSA'da iskemik inme şikayeti olan hastalar üzerinde yapılan bir klinik araştırmada HR değeri inme öyküsü olmayan hastalara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek

ölçülmüştür [147]. Kodama ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, iskemik inmenin otonom sinir fonksiyonunun aktivitelerini yansıtan kalp hızı değişkenliğini etkilediği ve böylece kalp hızı değişimlerinin izlenmesi yoluyla iskemik inmenin akut bir aşamada tespit edilebileceği bildirilmiştir [148]. Bu bilgilere ek olarak IR grubunda azalma eğilimi gösteren SV değeri iskemi ve/veya reperfüzyon periyotlarının farklı sürelerdeki uygulaması ile istatistiksel anlamlı değişim yaratması mümkün olabilecektir. Özetle TEB bulgularımız, inme sonrası yapılan klinik araştırmalar ile uyumluluk göstermiş, MitoTEMPO enjeksiyonu ise işaret edilen kardiyak disfonksiyonlara karşı koruyucu etki göstermiştir.

İnme sonrası EKG parametrelerindeki değişimler sıklıkla rapor edilmektedir [149]. TEB ile eş zamanlı kaydedilen ve Şekil 3.8.'de gösterilen verilerin elde edildiği EKG bulgularımızda, IR sonrası gelişen anomalilere karşı MitoTEMPO'nun büyük oranda koruyucu etkisi görülmektedir. P dalgasında karşılaşılabilecek bir EKG anomalisi atriyumlardaki disfonksiyonu işaret etmekle birlikte özellikle atriyal fibrilasyonun en önemli belirtecidir [150]. Kwon ve ark.'nın inme ile kliniğe başvuran hastalar üzerinde yaptıkları araştırmada EKG verilerindeki P dalgası anomalilerinin dikkat çekici olduğunu belirterek atriyumlardaki patolojilerin inmeye sebep olduğu tezini güçlendirici bir tespit yaptıklarını belirtmişlerdir [151]. Halbuki bizim çalışmamızda, öncesinde herhangi bir kardiyak patoloji bulunmayan denekler üzerinde yapılmış olmasına rağmen yine de P dalgası genliğinin IR sonrası istatistiksel anlamlı şekilde azaldığını tespit ettik. Sonuç itibariyle inme sonrası alınan EKG kayıtlarındaki patolojik bulguların inme öncesi dönemle ilişkilendirilmesinin çok da doğru bir yaklaşım olamayacağı konusu dikkat çekmektedir. MitoTEMPO uygulaması ise P dalgası genliğindeki bu azalmaya karşı kısmen koruyucu etki göstermiş olsa da bu etki SHAM grubu seviyesinde gerçekleşmemiştir. Farklı doz ve sürede MitoTEMPO uygulaması bu sonucu değiştirebilecektir. Kaya ve ark.'nın toplam 241 inmeli hasta üzerinden yaptığı EKG çalışmasında hastaların %61'inde EKG anormallikleri tespit edilmiştir ve elde edilen P-R interval değeri bizim bulgularımıza paralel şekilde uzamış, QRS ve R-R süreleri ise bu çalışmanın aksine bizim verilerimizde kısalmıştır. Ayrıca araştırmalarında en önemli bulgu olarak tespit ettikleri ve bizim bulgularımızla da örtüşen QTc'nin uzamış olduğundan bahsetmişlerdir [152]. Uzamış QTc inmeli hastalarda sık görülen, malign aritmi ve ölüm riskini artıran bir faktördür [114]. Bilge ve ark.'da QTc değerinin kardiyak aritmojenitenin bir göstergesi olduğuna vurgu yaptıkları çalışmalarında AİS'li hastalardan aldıkları EKG kayıtlarının QT ve QTc parametrelerinde kontrol grubuna kıyasla bizim bulgularımıza paralel olarak artış yönünde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bildirmişlerdir [88]. Togha ve ark. ise çalışmalarında inme sonrası en önemli EKG bulgusunun uzamış QTc ve T dalgası anormallikleri olduğunu tespit etmişlerdir [149]. Bizim sonuçlarımızda da T dalgası genlik değeri IR grubunda artmış, T dalga süresi ise uzamıştır. T dalga süresindeki uzama ise repolarizasyon evresinde gerçekleşmiştir. Çalışmamız EKG verileri içerisinde SHAM grubuna göre fark tespit edilen PR

interval, QTc, T dalga süresi ve R-R interval değerlerine MitoTEMPO'nun koruyucu etki göstermiş olması hipotezimizi doğrular niteliktedir (Tablo 4.2.).

IR sonrası oksidatif streste beklenen belirgin artış, inmeli hastaların karşılaştığı ikincil problemlerin başlarında gelmektedir. Siotto ve ark.'nın gerçekleştirdiği bir klinik araştırmasında inmeli hastaların serum örneklerinde oksidatif madde miktarı tayini hidroperoksit molekülü üzerinden yapılmış ve bizim çalışmamızın verilerine benzer şekilde yüksek, antioksidan aktivite düşük ve OSİ değeri ise yüksek olarak tespit edilmiştir [153]. Etgen ve ark.'nın araştırmasında ise iskemik inmeli hastaların cTnI değerlerinde bizim verilerimizle uyumlu şekilde herhangi bir değişim saptanmamıştır [154] (Şekil 4.3.).

GPCR'lerin kardiyovasküler patolojilerdeki rolü hakkında daha önce anlatılan bilgiler ışığında projemizde IR sonrası kalp ve beyinde gelişebilecek olası patofizyolojik durumların GPCR ile ilişkisi cAMP ve IP_3 miktarlarının tayini üzerinden gerçekleştirilmiştir. Kalp sol ventrikül dokusundaki IR ile azalan cAMP ve IP_3 miktarları MT+IR grubunda SHAM seviyesinde tespit edilmişken, beyin sağ serebral hemisfer dokusunda azalan cAMP ve IP_3 düzeyleri ise MT+IR grubunda SHAM ve IR grubu aralığında kalmıştır (Şekil 4.4.-5./A-B). Farklı doz ve sürelerdeki MitoTEMPO enjeksiyonu veya farklı sürelerdeki IR prosedürleri sonucunda MitoTEMPO'nun beyin dokusundaki bu moleküllerin IR ile azalan seviyelerine karşı koruyucu etki gösterebilecektir. Böylelikle TEB ve EKG bulgularımızdaki IR kaynaklı hem anormalliklerin hem de MitoTEMPO'nun koruyucu etkisinin G-proteini bağlı reseptör aracılı sinyal iletim mekanizmaları üzerinden gerçekleşmiş olabileceğini düşünmekteyiz. Ponsaerts ve ark. çalışmalarında cAMP seviyesini artıracak stratejilerin cAMP'nin nöroinflamasyonu azaltma yeteneği sayesinde iskemik inme tedavisinde yeni bir tedavi yaklaşımı olabileceğinden bahsetmişlerdir [155]. Öte yandan Armstead ve ark. iskemik inme sonrası uygulanan tPA'nın bir sonucu olarak toksik glutamat seviyeleri oluşumu sayesinde N-metil-d-aspartat reseptörlerinin aşırı aktivasyonuyla cAMP seviyelerinin daha da düştüğü belirlemişlerdir [156]. MitoTEMPO'nun çalışmamız sonuçlarındaki koruyucu etki olarak cAMP seviyesini yükseltme etkisi anlatılan durumlar için fonksiyonel bir ajan olabileceği olasılığını daha da güçlendirmektedir. Duan ve ark.'nın erkek sıçanlar üzerinde gerçekleştirdiği OSAO çalışmasının sonucunda ise bizim verilerimize benzer şekilde IR grubunda IP_3 seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir [157]. Sonuç olarak inme ve sonrasında reperfüzyon ile G-proteini bağlı reseptörlerle ilişkili sinyal iletim mekanizmalarında bazı patofizyolojik durumlar gelişebilmekte ve MitoTEMPO bu patofizyolojilere koruyucu etki göstermektedir. Ek olarak endojen kaynaklı en önemli antioksidan enzimlerden biri olarak bilinen katalazın çeşitli metabolik ve nörodejeneratif hastalıkların sonucunda bir savunma mekanizması olarak miktarının arttığı bilinmektedir [158]. Şekil 4.5.-C'de gösterilen katalaz enzim miktarının IR grubunda yüksek, MT+IR grubunda ise SHAM seviyesinde olması, MitoTEMPO enjeksiyonunun antioksidanlar ile serbest radikal

maddelerin miktarındaki dengeyi sağlayarak ilave katalaz sentezini gerektirmediği ve oksidatif stresi engellediğini göstermektedir.

Beyin sağ serebral hemisfer ve kalp sol ventrikül dokularında mikroskobik düzeydeki histopatolojik değerlendirmelerimizde de IR sonrası gelişen yapısal değişimlere MitoTEMPO büyük ölçüde koruyucu etki göstermiştir. Alrafiah yaptığı çalışma sonunda OSAO modeli sonrası deneklerden izole ettiği beyin dokularının histolojik değerlendirmesinde bizimkine paralel şekilde dejenere nöronlar, homojenize sitoplazma ve çekirdeklerde yapısal değişimler, perinöronal ödem ve vakuolizasyon gerçekleştiğini rapor etmiştir [159]. Farklı çalışmalarda da bizim bulgularımızla örtüşen şekilde histopatolojik bulgulara yer verilmiştir [160]. Kalp dokusunda ise Veltakmp ve ark.'nın OSAO sonrasında yaptıkları histolojik değerlendirmelerde yapısal değişimleri işaret etmekle birlikte MT boyaması sonucu kolajen madde miktarlarında artış tespit etmediklerini belirtmişlerdir [106]. Halbuki bizim verilerimizde kalp dokusunda kolajen madde miktarlarında artışı olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak insan iskemik inmesini en iyi şekilde taklit ettiği bilinen monofilament ilerletme yöntemi ile OSAO oluşturulan model üzerinden gerçekleştirilen bu çalışmada ana odak noktamız kalp fonksiyonları olsa da beyin dokusunda da bazı incelemeler gerçekleştirilmiştir. İnme geçirme insidansının diğer bireylere göre daha yüksek olduğu bilinen bazı hastalık gruplarında mitokondri spesifik antioksidan kullanımının inme sonrası kardiyopatolojik bulguları azaltacağı düşüncesiyle oluşturduğumuz bu çalışmanın sonucunda elde edilen veriler büyük ölçüde hipotezimizi doğrular nitelikteydi. Öyle ki; OSA'da gerçekleşen inme ve 3 günlük reperfüzyon periyodunun ardından TEB ve EKG verileri ile biyokimyasal ve histolojik incelemelerimiz uzak organ hasarı olarak kalpte bazı fonksiyon bozukluklarının geliştiğini ve MitoTEMPO'nun bu patolojilerin birçoğuna karşı koruyucu etkisinin olduğunu göstermiştir. Ayrıca beyin dokusundaki biyokimyasal ve histolojik değerlendirmelerimizde de sonuç aynıydı. Özellikle geçici iskemik atak geçiren hastaların önemli bir kısmının bir süre sonra akut iskemik atak geçirdiği bilindiğinden, inme sonrası görülebilecek patolojilere karşı koruyucu önlemler alınabilecek imkanların geliştirilmesi inme sonrası sağ kalım oranının artırılması, hastaların yaşam kalitesinin yükseltilmesi ve sağlık sektörü üzerindeki ekonomik yükün hafifletilmesi için oldukça önem arz etmektedir. Çalışma sonuçlarımız her ne kadar inme gibi yüksek insidans ve prevalans gösteren bir hastalığın birçok bulgusunun koruyucu MitoTEMPO enjeksiyonu ile azaltılabileceğini işaret etse de verilerimizin diğer branş ve bilim insanlarının kendi uzmanlık alanları çerçevesindeki moleküler ve sistemik bakış açıları ile yapacakları araştırmaların sonuçları ile desteklenmesini gerektirmektedir.

Bu çalışma Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik kapsamında alınan izinler çerçevesinde kısıtlı hayvan sayısı üzerinden, Mersin Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin doktora tezleri için verdiği

sınırlı bütçe dahilinde yapılmıştır. Bu çalışmada gerçekleştirilen deneylere ilaveten TNF-α ve IL-6 kitleri ile post iskemik inflamasyon, Atrogin-1 ve MuRF-1 kitleri ile kardiyak protein yıkımını düzenleyen sinyal yolakları, malondialdehit kiti ile kalp hücrelerindeki lipid peroksidasyonu ve kalbe spesifik en majör biyomarker olan kreatin kinaz-MB kiti ile kardiyopatolojik enzim aktivitesinin değerlendirilmesi planlanmış ancak bu çalışmalarımız için gerekli malzemeleri satın almaya bütçe yeterli olmamıştır. Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarları ile Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarı imkanları çerçevesinde gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

[1]. Kalaria, R. N.; Akinyemi, R.; Ihara, M., Stroke Injury, Cognitive Impairment and Vascular Dementia. Biochimica et biophysica acta **2016**, 1862, (5), 915–925.

[2]. Allen, C. L.; Bayraktutan, U., Risk Factors for Ischaemic Stroke. International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society **2008**, 3, (2), 105–116.

[3]. Campbell, B. C. V.; de Silva, D. A.; Macleod, M. R.; Coutts, S. B.; Schwamm, L. H.; Davis, S. M., ve diğerleri. Ischaemic Stroke. Nature reviews. Disease primers **2019**, 5, (1), 70–92.

[4]. Ölüm ve Ölüm Nedeni İstatistikleri - (2021). 31 Mart 2023 Tarihinde https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Olum-ve-Olum-Nedeni-Istatistikleri-2021-45715 Adresinden Erişildi. **2021**.

[5]. Chen, Z.; Venkat, P.; Seyfried, D.; Chopp, M.; Yan, T.; Chen, J., Brain-Heart Interaction: Cardiac Complications After Stroke. Circulation research **2017**, 121, (4), 451–468.

[6]. Manea, M. M.; Comsa, M.; Minca, A.; Dragos, D.; Popa, C., Brain-Heart Axis - Review Article. Journal of Medicine and Life **2015**, 8, (3), 266.

[7]. Ng, Y. S.; Stein, J.; Ning, M. M.; Black-Schaffer, R. M., Comparison of Clinical Characteristics and Functional Outcomes of Ischemic Stroke in Different Vascular Territories. Stroke **2007**, 38, (8), 2309–2314.

[8]. Lai, H. J.; Zhan, Y. Q.; Qiu, Y. X.; Ling, Y. H.; Zhang, X. Y.; Chang, Z. N., ve diğerleri. HMGB1 Signaling-Regulated Endoplasmic Reticulum Stress Mediates Intestinal Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Renal Damage. Surgery **2021**, 170, (1), 239–248.

[9]. Murphy, M. P., How Mitochondria Produce Reactive Oxygen Species. The Biochemical journal **2009**, 417, (1), 1–13.

[10]. Battogtokh, G.; Choi, Y. S.; Kang, D. S.; Park, S. J.; Shim, M. S.; Huh, K. M., ve diğerleri. Mitochondria-Targeting Drug Conjugates for Cytotoxic, Anti-Oxidizing and Sensing Purposes: Current Strategies and Future Perspectives. Acta pharmaceutica Sinica. B **2018**, 8, (6), 862–880.

[11]. Grove, K. L.; Grayson, B. E.; Glavas, M. M.; Xiao, X. Q.; Smith, M. S., Development of Metabolic Systems. Physiology and Behavior **2005**, 86, (5), 646–660.

[12]. Dounskaia, N., Control of Human Limb Movements: The Leading Joint Hypothesis and Its Practical Applications. Exerc Sport Sci Rev **2011**, 38, (4), 201–208.

[13]. Frith, E.; Loprinzi, P. D., Physical Activity and Individual Cognitive Function Parameters: Unique Exercise-Induced Mechanisms. JCBPR **2018**, 7, (2), 92–106.

[14]. Iqra Javaid, H.; Roheen, A.; Afzal, F., Anatomy and Physiology of Brain in Context of Learning: A Review from Current Literature. Biomedical Journal of Scientific & Technical Research **2020**, 26, (5), 20295–20297.

[15]. Britannca., İnsan Beyin Bölümlerinin Şematik Gösterimi. 8 Aralık 2022 Tarihinde https://www.britannica.com/summary/brain#/media/1/77269/66019 Adresinden Erişildi. **2006**.

[16]. Rhoton, A. L., The Cerebrum. Neurosurgery **2002**, 51, (4 Suppl), 1–51.

[17]. Molyneaux, B. J.; Arlotta, P.; L Menezes, J. R.; Macklis, J. D., Neuronal Subtype Specification in the Cerebral Cortex. Nature Reviews | Neuroscience **2007**, 8, (6), 427–437.

[18]. Chayer, C.; Freedman, M., Frontal Lobe Functions. Current Neurology and Neuroscience Reports **2001**, 1, 547–552.

[19]. Mountcastle, V. B., The Parietal System and Some Higher Brain Functions. Cerebral cortex **1995**, 5, (5), 377–390.

[20]. Behrmann, M.; Geng, J. J.; Shomstein, S., Parietal Cortex and Attention. Current Opinion in Neurobiology **2004**, 14, (2), 212–217.

[21]. Kiernan, J. A., Anatomy of the Temporal Lobe. Epilepsy research and treatment **2012**, 2012, 1–12.

[22]. Froudarakis, E.; Fahey, P. G.; Reimer, J.; Smirnakis, S. M.; Tehovnik, E. J.; Tolias, A. S., The Visual Cortex in Context. Annual review of vision science **2019**, 5, 317–339.

[23]. Herrero, M. T.; Barcia, C.; Navarro, J. M., Functional Anatomy of Thalamus and Basal Ganglia. Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery **2002**, 18, (8), 386–404.

[24]. Biran, J.; Tahor, M.; Wircer, E.; Levkowitz, G.; Grinevich, V.; Ryu, S., ve diğerleri. Role of Developmental Factors in Hypothalamic Function. Front Neuroanat. **2015**, 9, 47–58.

[25]. Mega, M. S.; Cummings, J. L.; Salloway, S.; Malloy, P., The Limbic System: An Anatomic, Phylogenetic, and Clinical Perspective. The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences **1997**, 9, (3), 315–330.

[26]. Sciacca, S.; Lynch, J.; Davagnanam, I.; Barker, R., Midbrain, Pons, and Medulla: Anatomy and Syndromes. Radiographics **2019**, 39, (4), 1110–1125.

[27]. Diek, D.; Smidt, M. P.; Mesman, S., Molecular Organization and Patterning of the Medulla Oblongata in Health and Disease. International journal of molecular sciences **2022**, 23, (16), 9260.

[28]. Villanueva, R., The Cerebellum and Neuropsychiatric Disorders. Psychiatry Research **2012**, 198, (3), 527–532.

[29]. Párraga, R. G.; Possatti, L. L.; Alves, R. V.; Ribas, G. C.; Ture, U.; de Oliveira, E., Microsurgical Anatomy and Internal Architecture of the Brainstem in 3D Images: Surgical Considerations. Journal of neurosurgery **2016**, 124, (5), 1377–1395.

[30]. Santiago, T. V.; Edelman, N. H., Opioids and Breathing. Journal of Applied Physiology **1985**, 59, (6), 1675–1685.

[31]. Oumer, M.; Alemayehu, M.; Muche, A., Association between Circle of Willis and Ischemic Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. BMC Neuroscience **2021**, 22, (3), 1–12.

[32]. Burnstein R., Notes in Neuroanaesthesia and Critical Care. First Ed. Ashford Colour Press: Hants **2001**, (1), 8-10.

[33]. Jones, J. D.; Castanho, P.; Bazira, P.; Sanders, K., Anatomical Variations of the Circle of Willis and Their Prevalence, with a Focus on the Posterior Communicating Artery: A Literature Review and Meta-Analysis. Clinical anatomy (New York, N.Y.) **2021**, 34, (7), 978–990.

[34]. Olesen, J.; Leonardi, M., The Burden of Brain Diseases in Europe. European journal of neurology **2003**, 10, (5), 471–477.

[35]. Naz, F.; Siddique, Y. H., Human Brain Disorders: A Review. The Open Biology Journal **2020**, 8, (1), 6–21.

[36]. Walter, K., What Is Acute Ischemic Stroke? JAMA **2022**, 327, (9), 885.

[37]. Mendelson, S. J.; Prabhakaran, S., Diagnosis and Management of Transient Ischemic Attack and Acute Ischemic Stroke: A Review. JAMA **2021**, 325, (11), 1088–1098.

[38]. Rabinstein, A. A., Update on Treatment of Acute Ischemic Stroke. Continuum (Minneapolis, Minn.) **2020**, 26, (2), 268–286.

[39]. Belov Kirdajova D.; Kriska J.; Tureckova, J.; Anderova, M., Ischemia-Triggered Glutamate Excitotoxicity From the Perspective of Glial Cells. Front Cell Neurosci. **2020,** 14-51.

[40]. Zhao, M.; Wang, Y.; Li, L.; Liu, S.; Wang, C.; Yuan, Y., ve diğerleri. Mitochondrial ROS Promote Mitochondrial Dysfunction and Inflammation in Ischemic Acute Kidney Injury by Disrupting TFAM-Mediated MtDNA Maintenance. Theranostics **2021**, 11, (4), 1845–1863.

[41]. Dorweiler, B.; Pruefer, D.; Andrasi, T. B.; Maksan, S. M.; Schmiedt, W.; Neufang, A., ve diğerleri. Ischemia-Reperfusion Injury : Pathophysiology and Clinical Implications. European journal of trauma and emergency surgery : official publication of the European Trauma Society **2007**, 33, (6), 600–612.

[42]. Xin M.; Feng J.; Hao Y.; You J.; Wang X.; Yin X., ve diğeleri. Cyclic adenosine monophosphate in acute ischemic stroke: some to update, more to explore. J Neurol Sci. **2020**, 413, 116775.

[43]. Ma, R.; Xie, Q.; Li, Y.; Chen, Z.; Ren, M.; Chen, H., ve diğerleri. Animal Models of Cerebral Ischemia: A Review. Biomedicine & Pharmacotherapy **2020**, 131, 110686.

[44]. Taha, A.; Bobi, J.; Dammers, R.; Dijkhuizen, R. M.; Dreyer, A. Y.; van Es, A. C. G. M., ve diğerleri. Comparison of Large Animal Models for Acute Ischemic Stroke: Which Model to Use? Stroke **2022**, 53, (4), 1411–1422.

[45]. Garcia, J. H.; Liu, K. F.; Ho, K. L., Neuronal Necrosis after Middle Cerebral Artery Occlusion in Wistar Rats Progresses at Different Time Intervals in the Caudoputamen and the Cortex. Stroke **1995**, 26, (4), 636–642.

[46]. Canazza, A.; Minati, L.; Boffano, C.; Parati, E.; Binks, S., Experimental Models of Brain Ischemia: A Review of Techniques, Magnetic Resonance Imaging, and Investigational Cell-Based Therapies. Frontiers in Neurology **2014**, 5, 1-19.

[47]. Durukan, A.; Tatlisumak, T., Acute Ischemic Stroke: Overview of Major Experimental Rodent Models, Pathophysiology, and Therapy of Focal Cerebral Ischemia. Pharmacology Biochemistry and Behavior **2007**, 87, (1), 179–197.

[48]. Sommer, C. J., Ischemic Stroke: Experimental Models and Reality. Acta Neuropathologica **2017**, 133, (2), 245.

[49]. Schneider, G.; Fries, P.; Wagner-Jochem, D.; Thome, D.; Laurer, H.; Kramann, B., ve diğerleri. Pathophysiological Changes after Traumatic Brain Injury: Comparison of Two Experimental Animal Models by Means of MRI. Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine **2002**, 14, (3), 233–241.

[50]. Albensi, B. C.; Knoblach, S. M.; Chew, B. G. M.; O'Reilly, M. P.; Faden, A. I.; Pekar, J. J., Diffusion and High Resolution MRI of Traumatic Brain Injury in Rats: Time Course and Correlation with Histology. Experimental neurology **2000**, 162, (1), 61–72.

[51]. Carmichael, S. T., Rodent Models of Focal Stroke: Size, Mechanism, and Purpose. NeuroRx **2005**, 2, (3), 396.

[52]. Masaki, T., The Discovery of Endothelins. Cardiovascular Research **1998**, 39, (3), 530–533.

[53]. Li, Y.; Zhang, J., Animal Models of Stroke. Animal Models and Experimental Medicine **2021**, 4, (3), 204.

[54]. Orset, C.; Macrez, R.; Young, A. R.; Panthou, D.; Angles-Cano, E.; Maubert, E., ve diğerleri. Mouse Model of in Situ Thromboembolic Stroke and Reperfusion. Stroke **2007**, 38, (10), 2771–2778.

[55]. Fluri, F.; Schuhmann, M. K.; Kleinschnitz, C., Animal Models of Ischemic Stroke and Their Application in Clinical Research. Drug Design, Development and Therapy **2015**, 9, 3445.

[56]. Flanigan, M.; Gaskell, S., A Review of Cardiac Anatomy and Physiology. Home Healthcare Nurse: The Journal for the Home Care and Hospice Professional **2017**, 35, (8), 447–447.

[57]. Singh, D.; Akingbola, A.; Ross-Ascuitto, N.; Ascuitto, R., Electrocardiac Effects Associated with Lithium Toxicity in Children: An Illustrative Case and Review of the Pathophysiology. Cardiology in the Young **2016**, 26, (2), 221–229.

[58]. Lemery, R.; Soucie, L.; Martin, B.; Tang, A. S. L.; Green, M.; Healey, J., Human Study of Biatrial Electrical Coupling: Determinants of Endocardial Septal Activation and Conduction over Interatrial Connections. Circulation **2004**, 110, (15), 2083–2089.

[59]. Lee, P. C.; Chen, S. A.; Hwang, B., Atrioventricular Node Anatomy and Physiology: Implications for Ablation of Atrioventricular Nodal Reentrant Tachycardia. Current opinion in cardiology **2009**, 24, (2), 105–112.

[60]. Padala, S. K.; Cabrera, J. A.; Ellenbogen, K. A., Anatomy of the Cardiac Conduction System. Pacing and clinical electrophysiology : PACE **2021**, 44, (1), 15–25.

[61]. Anderson, R. H.; Siew, Y. H., The Morphology of the Specialized Atrioventricular Junctional Area: The Evolution of Understanding. Pacing and Clinical Electrophysiology **2002**, 25, (6), 957–966.

[62]. Vijayaraman, P.; Chung, M. K.; Dandamudi, G.; Upadhyay, G. A.; Krishnan, K.; Crossley, G., ve diğerleri. His Bundle Pacing. Journal of the American College of Cardiology **2018**, 72, (8), 927–947.

[63]. Acha, M. R.; Soifer, E.; Hasin, T., Cardiac Implantable Electronic Miniaturized and Micro Devices. Micromachines **2020**, 11, (10), 902.

[64]. Fye, W. B., A History of the Origin, Evolution, and Impact of Electrocardiography. The American journal of cardiology **1994**, 73, (13), 937–949.

[65]. AlGhatrif, M.; Lindsay, J., A Brief Review: History to Understand Fundamentals of Electrocardiography. Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives **2012**, 2, (1), 14383.

[66]. Jin, B. E.; Wulff, H.; Widdicombe, J. H.; Zheng, J.; Bers, D. M.; Puglisi, J. L., A Simple Device to Illustrate the Einthoven Triangle. American Journal of Physiology - Advances in Physiology Education **2012**, 36, (4), 319–324.

[67]. Giudicessi, J. R.; Ackerman, M. J., Determinants of Incomplete Penetrance and Variable Expressivity in Heritable Cardiac Arrhythmia Syndromes. Translational Research **2013**, 161, (1), 1–14.

[68]. Varró, A.; Tomek, J.; Nagy, N.; Virág, L.; Passini, E.; Rodriguez, B., ve diğerleri. Cardiac Transmembrane Ion Channels and Action Potentials: Cellular Physiology and Arrhythmogenic Behavior. Physiological Reviews **2021**, 101, (3), 1083–1176.

[69]. Kubicek, W. G.; Karnegis, J. N.; Patterson, R. P.; Witsoe, D. A.; Mattson, R. H., Development and Evaluation of an Impedance Cardiac Output System. Aerosp Med **1966**, 37, (12), 1208–1220.

[70]. Clarke, D. E.; Raffin, T. A., Thoracic Electrical Bioimpedance Measurement of Cardiac Output—Not Ready for Prime Time . Critical Care Medicine **1993**, 21, (8), 1111–1112.

[71]. Cybulski, G.; Strasz, A.; Niewiadomski, W.; Gasiorowska, A., Impedance Cardiography: Recent Advancements. Cardiology journal **2012**, 19, (5), 550–556.

[72]. Meng, Q. L.; Sun, Y.; He, H. J.; Wang, H.; Shan, G. L., Non-Invasive Thoracic Electrical Bioimpedance Technique-Derived Hemodynamic Reference Ranges in Chinese Han Adults. Chinese Medical Journal **2021**, 134, (20), 2515.

[73]. Schmidt, C.; Theilmeier, G.; van Aken, H.; Korsmeier, P.; Wirtz, S. P.; Berendes, E., ve diğerleri. Comparison of Electrical Velocimetry and Transoesophageal Doppler

Echocardiography for Measuring Stroke Volume and Cardiac Output. British Journal of Anaesthesia **2005**, 95, (5), 603–610.

[74]. Ozturk, I. M.; Buyukakilli, B.; Balli, E.; Cimen, B.; Gunes, S.; Erdogan, S., Determination of Acute and Chronic Effects of Cadmium on the Cardiovascular System of Rats. Toxicol Mech Methods **2009**, 19, (4), 308–317.

[75]. Gradilla, A. C.; Guerrero, I., Cytoneme-Mediated Cell-to-Cell Signaling during Development. Cell and tissue research **2013**, 352, (1), 59–66.

[76]. Canals, M.; Poole, D. P.; Veldhuis, N. A.; Schmidt, B. L.; Bunnett, N. W., G-Protein-Coupled Receptors Are Dynamic Regulators of Digestion and Targets for Digestive Diseases. Gastroenterology **2019**, 156, (6), 1600–1616.

[77]. Mystek, P.; Rysiewicz, B.; Gregrowicz, J.; Dziedzicka-Wasylewska, M.; Polit, A., Gγ and Gα Identity Dictate a G-Protein Heterotrimer Plasma Membrane Targeting. Cells **2019**, 8, (10).

[78]. Segev N., GTPases in intracellular trafficking: an overview. Semin Cell Dev Biol. **2011**, 22, (1), 1-2.

[79]. Rosenbaum, D. M.; Rasmussen, S. G. F.; Kobilka, B. K., The Structure and Function of G-Protein-Coupled Receptors. Nature **2009**, 459, (7245), 356–363.

[80]. Wachter, S. B.; Gilbert, E. M., Beta-Adrenergic Receptors, from Their Discovery and Characterization through Their Manipulation to Beneficial Clinical Application. Cardiology **2012**, 122, (2), 104–112.

[81]. Sladek, C. D.; Song, Z., Diverse Roles of G-Protein Coupled Receptors in Regulation of Neurohypophyseal Hormone Secretion. Journal of Neuroendocrinology **2012**, 24, (4), 554.

[82]. Kaur, G.; Verma, S. K.; Singh, D.; Singh, N. K., Role of G-Proteins and GPCRs in Cardiovascular Pathologies. Bioengineering **2023**, 10, (1), 76.

[83]. Maida CD.; Norrito RL.; Daidone M.; Tuttolomondo A.; Pinto A., Neuroinflammatory Mechanisms in Ischemic Stroke: Focus on Cardioembolic Stroke, Background, and Therapeutic Approaches. Int J Mol Sci. **2020**, 21, (18), 6454.

[84]. Xu C.; Zheng A.; He T.; Cao Z. Brain-Heart Axis and Biomarkers of Cardiac Damage and Dysfunction after Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Mol Sci. **2020**, 21, (7), 2347.

[85]. Chen, J.; Gong, J.; Chen, H.; Li, X.; Wang, L.; Qian, X., ve diğerleri. Ischemic Stroke Induces Cardiac Dysfunction and Alters Transcriptome Profile in Mice. BMC Genomics **2021**, 22, (1), 1–15.

[86]. Mihalovic, M.; Tousek, P., Myocardial Injury after Stroke. Journal of Clinical Medicine **2022**, 11, (1).

[87]. Osteraas, N. D.; Lee, V. H., Neurocardiology. Handbook of clinical neurology **2017**, 140, 49–65.

[88]. Bılge S.; Tezel O.; Acar YA.; Cüce F.; Karadaş Ö.; Taşar M., Investigation of the Value of T peak to T end and QTc Intervals as Electrocardiographic Arrhythmia Susceptibility Markers in Acute Ischemic Stroke. Noro Psikiyatr Ars. **2020**, 57, (3), 171-176.

[89]. Eltzschig, H. K.; Eckle, T., Ischemia and Reperfusion--from Mechanism to Translation. Nature medicine **2011**, 17, (11), 1391–1401.

[90]. Kalogeris, T.; Baines, C. P.; Krenz, M.; Korthuis, R. J., Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury. International review of cell and molecular biology **2012**, 298, 229.

[91]. Snezhkina, A. V.; Kudryavtseva, A. V.; Kardymon, O. L.; Savvateeva, M. V.; Melnikova, N. V.; Krasnov, G. S., ve diğerleri. ROS Generation and Antioxidant Defense Systems in Normal and Malignant Cells. Oxidative Medicine and Cellular Longevity **2019**, 2019,.

[92]. Mitchell, P., Coupling of Phosphorylation to Electron and Hydrogen Transfer by a Chemi-Osmotic Type of Mechanism. Nature **1961**, 191, (4784), 144–148.

[93]. Zhao, R. Z.; Jiang, S.; Zhang, L.; Yu, Z., Mitochondrial Electron Transport Chain, ROS Generation and Uncoupling (Review). International Journal of Molecular Medicine **2019**, 44, (1), 3–15.

[94]. Liguori, I.; Russo, G.; Curcio, F.; Bulli, G.; Aran, L.; Della-Morte, D. ve diğerleri. Oxidative Stress, Aging, and Diseases. Clinical Interventions in Aging **2018**, 13, 757.

[95]. Preiser, J. C., Oxidative Stress. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition **2012**, 36, (2), 147–154.

[96]. Pisoschi, A. M.; Pop, A., The Role of Antioxidants in the Chemistry of Oxidative Stress: A Review. European Journal of Medicinal Chemistry **2015**, 97, 55–74.

[97]. Remigante, A.; Morabito, R., Cellular and Molecular Mechanisms in Oxidative Stress-Related Diseases. International Journal of Molecular Sciences **2022**, 23, (14), 1–4.

[98]. Apostolova, N.; Victor, V. M., Molecular Strategies for Targeting Antioxidants to Mitochondria: Therapeutic Implications. Antioxidants & Redox Signaling **2015**, 22, (8), 686–729.

[99]. Smith, R. A. J.; Murphy, M. P., Mitochondria-Targeted Antioxidants as Therapies. Discovery Medicine **2011**, 11, (57), 106–114.

[100]. Murphy, M. P.; Smith, R. A. J., Drug Delivery to Mitochondria: The Key to Mitochondrial Medicine. Advanced Drug Delivery Reviews **2000**, 41, (2), 235–250.

[101]. Torchilin, V. P., Drug Targeting. European Journal of Pharmaceutical Sciences **2000**, 11, (SUPPL. 2), 81–91.

[102]. Murphy, M. P., Antioxidants as Therapies: Can We Improve on Nature? Free Radical Biology and Medicine **2014**, 66, 20–23.

[103]. Ross, M. F.; Prime, T. A.; Abakumova, I.; James, A. M.; Porteous, C. M.; Smith, R. A. J. ve diğerleri. Rapid and Extensive Uptake and Activation of Hydrophobic Triphenylphosphonium Cations within Cells. Biochemical Journal **2008**, 411, (3), 633–645.

[104]. Cayman Chemical MitoTEMPO product information. 10 Nisan 2023 Tarihinde https://cdn.caymanchem.com/cdn/insert/16621.pdf Adresinden Erişildi. **2023**.

[105]. Zou, L.; Linck, V.; Zhai, Y.-J.; Galarza-Paez, L.; Li, L.; Yue, Q.; Al-Khalili, O., ve diğerleri. Knockout of Mitochondrial Voltage-Dependent Anion Channel Type 3 Increases Reactive Oxygen Species (ROS) Levels and Alters Renal Sodium Transport. Journal of Biological Chemistry **2017**, 293, 1666–1675.

[106]. Veltkamp, R.; Uhlmann, S.; Marinescu, M.; Sticht, C.; Finke, D.; Gretz, N., ve diğerleri. Experimental Ischaemic Stroke Induces Transient Cardiac Atrophy and Dysfunction. Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle **2019**, 10, (1), 54.

[107]. van Winkle, J. A.; Chen, B.; Lei, I. F.; Pereira, B.; Rajput, P. S.; Lyden, P. D., Concurrent Middle Cerebral Artery Occlusion and Intra-Arterial Drug Infusion via Ipsilateral Common Carotid Artery Catheter in the Rat. Journal of Neuroscience Methods **2013**, 213, (1), 63–69.

[108]. Talas, D. Ü.; Beger, O.; Koç, T.; Hamzaoğlu, V.; Özalp, H.; Mavruk, M., ve diğerleri. Morphometric Properties of the Facial Nerve in Fetal Temporal Bones. International journal of pediatric otorhinolaryngology **2019**, 116, 7–14.

[109]. Buyukakilli, B.; Gurgul, S.; Cıtırık, D.; Hallioglu, O.; Ozeren, M.; Tasdelen, B., Determination of the Effects of Pulmonary Arterial Hypertension and Therapy on the Cardiovascular System of Rats by Impedance Cardiography. Croatian Medical Journal **2014**, 55, 498–506.

[110]. Turkseven, C. H.; Pekoglu, E.; Buyukakilli, B., Hemodynamic Effects of Epinephrine in Rats: Evaluation by Impedance Cardiography. Edition Bratisl Med J **2017**, 118, (10), 613–617.

[111]. van de Water, J. M.; Mount, B. E.; Chandra, K. M.; Mitchell, B. P.; Woodruff, T. A.; Dalton, M. L., TFC (thoracic fluid content): A new parameter for assessment of changes in chest fluid volume. The American Surgeon, **2005**, 71, 81-6.

[112]. Bernstein, D. P., A New Stroke Volume Equation for Thoracic Electrical Bioimpedance: Theory and Rationale. Critical care medicine **1986**, 14, (10), 904–909.

[113]. Depasquale, M.; Fossa, A., Use of Bioimpedance for Measuring Cardiac Output in the Conscious Dog. Drug Development Research **1996**, 38, 105–113.

[114]. Geurts, S.; Tilly, M. J.; Arshi, B.; Stricker, B. H. C.; Kors, J. A.; Deckers, J. W., ve diğerleri. Heart Rate Variability and Atrial Fibrillation in the General Population: A Longitudinal and Mendelian Randomization Study. Clinical Research in Cardiology **2022**, e-print, 1–12.

[115]. Mosteller, R. D., Simplified Calculation of Body-Surface Area. The New England journal of medicine **1987**, 317, (17), 1098–1098.

[116]. Chen, T. E.; Yang, S. I.; Ho, L. T.; Tsai, K. H.; Chen, Y. H.; Chang, Y. F., ve diğerleri. S1 and S2 Heart Sound Recognition Using Deep Neural Networks. IEEE Transactions on Biomedical Engineering **2017**, 64, (2), 372–380.

[117]. Wu, J.; Nizhamuding, D.; Liu, P.; Jiang, Y.; Qiang, H.; Sun, C., ve diğerleri. QT Interval Prolongation in Patients with Acute Ischemic Stroke: A Report in Northwest China. Journal of International Medical Research **2019**, 47, (12), 5986–5995.

[118]. Zengin, S.; Kartal, S.; Al, B.; Yildirim, C.; Orkmez, M.; Taysi, S., An Assessment of Oxidant/Antioxidant Status and Oxidative Stress Index Levels in Patients with Carbon Monoxide Poisoning. Hong Kong Journal of Emergency Medicine **2013**, 20, (6), 352–358.

[119]. Feigin, V. L.; Stark, B. A.; Johnson, C. O.; Roth, G. A.; Bisignano, C.; Abady, G.G. ve diğerleri. Global, Regional, and National Burden of Stroke and Its Risk Factors, 1990-2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. The Lancet Neurology **2021**, 20, (10), 795–820.

[120]. van der Worp, H. B.; Kappelle, L. J., Complications of Acute Ischaemic Stroke. Cerebrovascular Diseases **1998**, 8, (2), 124–132.

[121]. Schwarzbach C. J.; Grau A. J., Complications after stroke : Clinical challenges in stroke aftercare. Nervenarzt. **2020**, 1, (10), 920-925.

[122]. Doria J.; Forgacs P. B., Incidence, Implications, and Management of Seizures Following Ischemic and Hemorrhagic Stroke. Curr Neurol Neurosci Rep. **2019**, 19, (7), 37.

[123]. Silver, F. L.; Norris, J. W.; Lewis, A. J.; Hachinski, V. C. Early Mortality Following Stroke: A Prospective Review. Stroke **1984**, 15, (3), 492–496.

[124]. Kenmogne-Domning G. H.; Kamtchum-Tatuene J.; Noumegni S. R.; Fokoua-Dongmo C. M.; Zafack J. G.; Noubiap J. J., Cardiac complications after stroke: protocol for a systematic review and meta-analysis. BMJ Open **2018**, 8, (5), e021416.

[125]. Sörös P.; Hachinski V., Cardiovascular and neurological causes of sudden death after ischaemic stroke. Lancet Neurol. **2012**, (2), 179-88.

[126]. Mikolich, J.; Jacobs, W.; Fletcher GF., Cardiac Arrhythmias in Patients with Acute Cerebrovascular Accidents. JAMA **1981**, 246, (12), 1314–1317.

[127]. Takano, K.; Tatlisumak, T.; Bergmann, A. G.; Gibson, D. G.; Fisher, M., Reproducibility and Reliability of Middle Cerebral Artery Occlusion Using a Silicone-Coated Suture (Koizumi) in Rats. Journal of the Neurological Sciences **1997**, 153, (1), 8–11.

[128]. Biose, I. J.; Chastain, W. H.; Wang, H.; Ouvrier, B.; Bix, G. J., Optimizing Intraluminal Monofilament Model of Ischemic Stroke in Middle-Aged Sprague–Dawley Rats. BMC Neuroscience **2022**, 23, (1), 1–11.

[129]. Fusco, R.; Scuto, M.; Cordaro, M.; D'Amico, R.; Gugliandolo, E.; Siracusa, R. ve diğerleri. N-Palmitoylethanolamide-Oxazoline Protects against Middle Cerebral Artery Occlusion Injury in Diabetic Rats by Regulating the SIRT1 Pathway. Int J Mol Sci. **2019**, 20, (19), 4845.

[130]. Li, X. J.; Li, C. K.; Wei, L. Y.; Lu, N.; Wang, G. H.; Zhao, H. G. ve diğerleri. Hydrogen Sulfide Intervention in Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. Neural Regeneration Research **2015**, 10, (6), 932.

[131]. Xu C, Zheng A.; He T.; Cao Z., Brain-Heart Axis and Biomarkers of Cardiac Damage and Dysfunction after Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis. Int J Mol Sci. **2020**, 21, (7), 2347.

[132]. Wu, M. Y.; Yiang, G. T.; Liao, W. T.; Tsai, A. P. Y.; Cheng, Y. L.; Cheng, P. W. ve diğerleri. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. Cellular Physiology and Biochemistry **2018**, 46, (4), 1650–1667.

[133]. Tuncer, S.; Akkoca, A.; Celen, M. C.; Dalkilic, N., Can MitoTEMPO Protect Rat Sciatic Nerve against Ischemia-Reperfusion Injury? Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology **2021**, 394, (3), 545–553.

[134]. Arulkumaran, N.; Pollen, S. J.; Tidswell, R.; Gaupp, C.; Peters, V. B. M.; Stanzani, G. ve diğerleri. Selective Mitochondrial Antioxidant MitoTEMPO Reduces Renal Dysfunction and Systemic Inflammation in Experimental Sepsis in Rats. British journal of anaesthesia **2021**, 127, (4), 577–586.

[135]. Shimamura, N.; Matchett, G.; Tsubokawa, T.; Ohkuma, H.; Zhang, J. Comparison of Silicon-Coated Nylon Suture to Plain Nylon Suture in the Rat Middle Cerebral Artery Occlusion Model. Journal of Neuroscience Methods **2006**, 156, (1–2), 161–165.

[136]. Tang, Q.; Han, R.; Xiao, H.; Shi, L.; Shen, J.; Lun, Q. ve diğerleri. Role of Suture Diameter and Vessel Insertion Position in the Establishment of the Middle Cerebral Artery Occlusion Rat Model. Experimental and Therapeutic Medicine **2013**, 5, (6), 1603.

[137]. Akkoca, A.; Celen, M. C.; Tuncer, S.; Dalkilic, N., Abdominal Ischemia-Reperfusion Induced Cardiac Dysfunction Can Be Prevented by MitoTEMPO. Journal of Investigative Surgery **2022**, 35, (3), 577–583.

[138]. Wu, J.; Zheng, L.; Mo, J.; Yao, X.; Fan, C.; Bao, Y., Protective Effects of MitoTEMPO on Nonalcoholic Fatty Liver Disease via Regulating Myeloid-Derived Suppressor Cells and Inflammation in Mice. BioMed Research International **2020**, vol 2020, 1-9.

[139]. Liu, Y.; Perumal, E.; Bi, X.; Wang, Y.; Ding, W., Potential Mechanisms of Uremic Muscle Wasting and the Protective Role of the Mitochondria-Targeted Antioxidant Mito-TEMPO. International Urology and Nephrology **2020**, 52, (8), 1551–1561.

[140]. Cunha, D. F. da; Cunha, S. F. de C. da; Reis, M. A. dos; Teixeira, V. de P. A. Heart Weight and Heart Weight/Body Weight Coefficient in Malnourished Adults. Arquivos Brasileiros de Cardiologia **2002**, 78, (4), 385–387.

[141]. Olgar, Y.; Billur, D.; Tuncay, E.; Turan, B. MitoTEMPO Provides an Antiarrhythmic Effect in Aged-Rats through Attenuation of Mitochondrial Reactive Oxygen Species. Experimental Gerontology **2020**, 136, 110961.

[142]. Chen, J.; Cui, C.; Yang, X.; Xu, J.; Venkat, P.; Zacharek, A. ve diğerleri. MiR-126 Affects Brain-Heart Interaction after Cerebral Ischemic Stroke. Translational stroke research **2017**, 8, (4), 374–385.

[143]. Yan, T.; Chen, Z.; Chopp, M.; Venkat, P.; Zacharek, A.; Li, W. ve diğerleri. Inflammatory Responses Mediate Brain-Heart Interaction after Ischemic Stroke in Adult Mice. Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism **2020**, 40, (6), 1213–1229.

[144]. Liu F.; Jones AYM.; Tsang RCC.; Wang Y.; Zhou J.; Zhou M. ve diğerleri. Noninvasive investigation of the cardiodynamic response to 6MWT in people after stroke using impedance cardiography. PLoS One. **2020**, 15, (6), e0233000.

[145]. Zheng LJ.; Lin X.; Xue YJ. Effect of Cerebral Ischemic Strokes in Different Cerebral Artery Regions on Left Ventricular Function. Front Cardiovasc Med. **2022**, 9, 782173.

[146]. Biering-Sørensen, T.; Querejeta Roca, G.; Hegde, S. M.; Shah, A. M.; Claggett, B.; Mosley, T. H. ve diğerleri. Left Ventricular Ejection Time Is an Independent Predictor of Incident Heart Failure in a Community-Based Cohort. European journal of heart failure **2018**, 20, (7), 1106–1114.

[147]. Verma, A. K.; Aarotale, P. N.; Dehkordi, P.; Lou, J. S.; Tavakolian, K., Relationship between Ischemic Stroke and Pulse Rate Variability as a Surrogate of Heart Rate Variability. Brain Sciences **2019**, 9, (7), 162.

[148]. Kodama T.; Kamata K.; Fujiwara K.; Kano M.; Yamakawa T.; Yuki I. ve diğerleri. Ischemic Stroke Detection by Analyzing Heart Rate Variability in Rat Middle Cerebral Artery Occlusion Model. IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng. **2018**, (6), 1152-1160.

[149]. Togha, M.; Sharifpour, A.; Ashraf, H.; Moghadam, M.; Sahraian, M. A., Electrocardiographic Abnormalities in Acute Cerebrovascular Events in Patients with/without Cardiovascular Disease. Annals of Indian Academy of Neurology **2013**, 16, (1), 66.

[150]. Platonov, P. G. P-Wave Morphology: Underlying Mechanisms and Clinical Implications. Annals of Noninvasive Electrocardiology : The Official Journal of the International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology, Inc **2012**, 17, (3), 161.

[151]. Kwon, Y.; McHugh, S.; Ghoreshi, K.; Lyons, G. R.; Cho, Y.; Bilchick, K. C. ve diğerleri. Electrocardiographic Left Atrial Abnormality in Patients Presenting with Ischemic Stroke. Journal of stroke and cerebrovascular diseases : The Official Journal of National Stroke Association **2020**, 29, (9), 105086.

[152]. Kaya, A.; Arslan, Y.; Özdoğan, Ö.; Tokuçoğlu, F.; Şener, U.; Zorlu, Y., Electrocardiographic Changes and Their Prognostic Effect in Patients with Acute Ischemic Stroke without Cardiac Etiology. Turkish journal of neurology **2018**, 24, (2), 137–142.

[153]. Siotto, M.; Germanotta, M.; Santoro, M.; Canali, R.; Pascali, S.; Insalaco, S. ve diğerleri. Oxidative Stress Status in Post Stroke Patients: Sex Differences. Healthcare **2022**, 10, (5), 869.

[154]. Etgen, T.; Baum, H.; Sander, K.; Sander, D., Cardiac Troponins and N-Terminal pro-Brain Natriuretic Peptide in Acute Ischemic Stroke Do Not Relate to Clinical Prognosis. Stroke **2005**, 36, (2), 270–275.

[155]. Ponsaerts, L.; Alders, L.; Schepers, M.; de Oliveira, R. M. W.; Prickaerts, J.; Vanmierlo, T. ve diğerleri. Neuroinflammation in Ischemic Stroke: Inhibition of CAMP-Specific Phosphodiesterases (PDEs) to the Rescue. Biomedicines **2021**, 9, (7).

[156]. Armstead, W. M.; Riley, J.; Yarovoi, S.; Higazi, A. A. R.; Cines, D. B., Tissue-Type Plasminogen Activator-A296-299 Prevents Impairment of Cerebral Autoregulation after Stroke

Through Lipoprotein-Related Receptor-Dependent Increase in CAMP and P38. Stroke **2016**, 47, (8), 2096–2102.

[157]. Duan, J.; Cui, J.; Yang, Z.; Guo, C.; Cao, J.; Xi, M. ve diğerleri. Neuroprotective Effect of Apelin 13 on Ischemic Stroke by Activating AMPK/GSK-3β/Nrf2 Signaling. Journal of Neuroinflammation **2019**, 16, (1), 1–16.

[158]. Nandi, A.; Yan, L. J.; Jana, C. K.; Das, N., Role of Catalase in Oxidative Stress- And Age-Associated Degenerative Diseases. Oxidative Medicine and Cellular Longevity **2019**, (e-collection 2019), 1–19.

[159]. Alrafiah, A. R., Secondary Cerebellar Cortex Injury in Albino Male Rats after MCAO: A Histological and Biochemical Study. Biomedicines **2021**, 9, (9).

[160]. Mărgăritescu, O.; Mogoantă, L.; Pirici, L.; Pirici, D.; Cernea, D.; Mărgăritescu, C., Histopathological Changes in Acute Ischemic Stroke. Rom J Morphol Embryol **2009**, 50, (3), 327–339.

EK-A

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

Karar Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
23/08/2021	11	35

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyofizik Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI'nın sorumluluğunda yapılması tasarlanan "İskemik İnmenin Kalp Fonksiyonları Açısından İncelenmesi ve MitoTEMPO'nun Olası Koruyucu Etkisinin Araştırılması" adlı araştırma için hazırlanmış olan ve 14/07/2021 tarihinde sunulan Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ile ilgili belgeler ve araştırmada deney hayvanları üzerinde yapılacak tüm işlemler gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın yürürlükte olan ilgili yasal düzenlemelere uyularak yürütülmesi ve sonuçlandırılması koşulu ile gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

[redacted]
Prof. Dr. Bahar TUNÇTAN
Üye

[redacted]

[redacted]

(Katılamadı)
Prof. Dr. Yusuf ÇAMLICA
Üye

(Katılamadı)
Dr. Öğr. Üyesi Nail Can ÖZTÜRK
Üye

[redacted]

(Katılamadı)
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Erdem DÖNMEZ
Üye

[redacted]
Avukat Lale DAGLI
Üye

EK-B

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (HADYEK)

Karar Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
13/06/2022	05	08

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyofizik Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Belgin BÜYÜKAKILLI'nın yürütücüsü olduğu 23.08.2021 tarihli ve 2021/35 etik kurul onayı bulunan projesi "İskemik İnmenin Kalp Fonksiyonları Açısından İncelenmesi ve MitoTEMPO'nun Olası Koruyucu Etkisinin Araştırılması" ile ilgili yapılan değişiklik başvurusu incelenmiş olup araştırmanın yürürlükte olan ilgili yasal düzenlemelere uyularak yürütülmesi ve sonuçlandırılması koşulu ile gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.





Katılamadı
Prof. Dr. Ş. Necat YILMAZ
Üye





Dr. Öğr. Uyesi Nail Can OZTURK
Üye



Dr. Öğr. Uyesi Ahmet Erdem
DÖNMEZ
Üye





ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Ahmet AKKOCA

Doğum Tarihi :

e-mail :

Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Fizik	Selçuk Üniversitesi	2013
Lisans	İşletme	Anadolu Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans	Biyofizik	Necmettin Erbakan Üniversitesi	2018
Doktora	Biyofizik	Mersin Üniversitesi	2023

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayınız)

Görevi	Kurum	Yıl
Öğretim Görevlisi	Selçuk Üniversitesi	2016-Halen

YAYINLAR (Makaleler/Bildiriler/Ödüller)

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. A. Akkoca, M. C. Çelen, S. Tuncer & N. Dalkılıç, Abdominal Ischemia-Reperfusion Induced Cardiac Dysfunction Can Be Prevented by MitoTEMPO, Journal of Investigative Surgery, 2021, 0894-1939","1521-0553.

2. S. Tuncer, A. Akkoca, M. C. Çelen & N. Dalkılıç, Can MitoTEMPO protect rat sciatic nerve against ischemia-reperfusion injury?. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2021, 0028-1298","1432-1912, 394, 545-553.

3. S. Tuncer, A. Akkoca, M. C. Çelen & N. Dalkılıç, Abdominal İskemi-Reperfüzyon Sonrası Papiller Kas Aksiyoon Potansiyelinde Meydana Gelen Değişiklikler, OSMANGAZİ JOURNAL OF MEDICINE, 2019, 1305-4953.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında (proceedings) Basılan Bildiriler

1. M. C. Çelen, S. Tuncer, A. Akkoca & N. Dalkılıç, A new mitochondria specific agent reserves conduction velocity parameters of sciatic nerve under ischemia/reperfusion: MitoTEMPO., Sözlü Sunum, 30th Annual Biophysics Congress (International), 10 - 13 Ekim 2018, 43.

2. S. Tuncer, A. Akkoca, N. Dalkılıç & M. C. Çelen, Does abdominal ischemia-reperfusion alter action potential of papillary muscle?, Sözlü Sunum, 30th Annual Biophysics Congress (International), 10 - 13 Ekim 2018.

3. A. Akkoca, S. Tuncer, M. C. Çelen & N. Dalkılıç, Protective effect of Mito-Tempo against dysfunction of rat isolated papillary muscle caused by abdominal ischemia-reperfusion, Sözlü Sunum, 30th Annual Biophysics Congress (International), 10 - 13 Ekim 2018.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

1. Akkoca Ahmet, Çelen Murat Cenk, Tuncer Seçkin, Dalkılıç Nizamettin (2019). Abdominal İskemi Reperfüzyon İndüklü Papiller Kas Disfonksiyonuna Mitokondri Spesifik Antioksidanın Koruyucu Etkisinin Araştırılması. 31. Ulusal Biyofizik Kongresi, 38. (Özet Bildiri/Poster)