



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**DÜŞÜK VE KORUNMUŞ EJEKSİYON FRAKSİYONLU KORONER ARTER HASTALIĞI
OLAN HASTALARIN SAĞ ATRİYUM DOKULARINDA KONTRAKTİL AKTİVİTE VE B
RESEPTÖR YANITLARI VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Meltem SEZEN

Farmakoloji Ana Bilim Dalı

İzmir
2020

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**DÜŞÜK VE KORUNMUŞ EJEKSİYON FRAKSİYONLU KORONER ARTER HASTALIĞI
OLAN HASTALARIN SAĞ ATRİYUM DOKULARINDA KONTRAKTİL AKTİVİTE VE B
RESEPTÖR YANITLARI VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ ENZİM AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ**

Meltem SEZEN

Danışman
Prof. Dr. Zeliha KERRY

Farmakoloji Ana Bilim Dalı
Tezli Yüksek Lisans Programı

İzmir
2020

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof. Dr. Zeliha KERRY



(Danışman)

Üye : Doç. Dr. Gönen Özşarlak SÖZER



Üye : Prof. Dr. Nergis DURMUŞ



Yüksek Lisans Tezinin Kabul Edildiği Tarih:04/02/2020.....

Önsöz

Kalp yetmezliği, diğer kardiyovasküler hastalıkların takip ettiği klinik bir sendrom olarak önemli bir sağlık problemidir. Karmaşık patofizyolojisinden dolayı tanı ve tedavisi oldukça zor bir hastalıktır. Bu çalışmada kalp yetmezliği tanısı konulan, korunmuş ve düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği olmak üzere iki farklı klinik sendroma sahip hasta grubunda izoproterenol üzerinden beta adrenerjik reseptör yanıtlar, MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonları ile matriks metalloproteinazların (MMP'lerin) doku tipi inhibitörleri olan TIMP-2 ekspresyonları araştırılmıştır. Çalışmamın her aşamasında her konuda bana destek olan, sevgili danışman hocam Prof. Dr. Zeliha KERRY'e ve destek ve bilimsel katkıları için Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Gönen Özşarlak Sözer'e teşekkür ederim.

İzmir, 4.02.2020

Meltem SEZEN

Özet

Düşük Ve Korunmuş Ejeksiyon Fraksiyonlu Koroner Arter Hastalığı Olan Hastaların Sağ Atriyum Dokularında Kontraktıl Aktivite, Beta Reseptör Yanıtları ve Matriks Metalloproteinaz Enzim Aktivitesinin İncelenmesi

Amaç: Çalışmamızın amacı, kalp sağ atriyum uzantılarındaki beta reseptörler üzerinden gelişen fonksiyonel yanıtların izoproterenol ile değerlendirilmesi ve MMP-2, MMP-9 ve doku tipi MMP inhibitörlerinin (TIMP) düşük ve korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliğinin patolojisindeki rollerini araştırmaktır.

Metot: Bu çalışmada Tyrode çözeltisi içeren %95 O₂ ve %5 CO₂ gaz karışımı ile gazlandırılan organ banyolarında 30 dakika dinlendirilen insan sağ atriyumlarından izole edilen preparatlar, paralel platin elektrodlarla 0,5 Hz frekansta, 30-40 V eşikte 5 milisaniye süre ile uyarılarak stabilize edildi. Dinlendirilen trabeküllerde izoproterenol konsantrasyon yanıt eğrileri alındı. Ayrıca MMP-2, MMP-9 ve doku tipi MMP inhibitörleri olan TIMP-2 protein düzeylerini saptamak amacıyla MMP-2 ve MMP-9 için jelatin zimografi; TIMP-2 için western blotting deneyleri yapıldı.

Bulgular: İzole organ banyosu deneyi sonuçlarına göre izoproterenole verilen kontraktıl yanıt düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği olan hasta (KYdEF) hasta grubunda, korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği olan hasta (KYkeF) grubuna ait trabeküllere göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır. Diğer yandan jelatin zimografi yöntemiyle tespit edilen proMMP-2 ekspresyonu ve western blot yöntemi ile tespit edilen TIMP-2 ekspresyonu KYkeF'de KYdEF'ye göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha fazladır. MMP-9 ekspresyonunda iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sonuç: Korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği grubunda izoproterenole verilen kontraktıl yanıtın düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği grubuna oranla daha az olması, remodeling sırasında ekspresyonu artan MMP-2'lerin kontraktıl fonksiyonu bozmasından kaynaklanabilir. Aynı zamanda artan TIMP-2 aktivitesi, MMP-2'nin artışının bir sonucu olabilir. MMP-2'nin doku tipi inhibitörü olan TIMP-2, kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde potansiyel bir ilaç hedefi olabilir.

Anahtar Kelimeler; Kalp Yetmezliği; Ejeksiyon Fraksiyonu; MMP-2; MMP-9; TIMP-2

Abstract

Study Of Contractile Activity, β -Receptor Response And Matrixmetalloproteinase Enzyme Activity In Right Atria From Heart Failure Patients With Preserved And Reduced Ejection Fraction

Objectives: The purpose of our study was to evaluate the functional responses developed via beta receptors in the right atrium appendages of the heart with isoproterenol and to investigate the roles of MMP-2, MMP-9 and tissue type MMP inhibitors in the pathology of heart failure with reduced and preserved ejection fraction.

Methods: In this study, preparations rested for 30 minutes in organ baths gassed with 95% O₂ and 5% CO₂ gas mixture containing Tyrode solution were stabilized with parallel platinum electrodes at 0.5 Hz frequency and 30-40 V threshold for 5 milliseconds. Isoproterenol concentration-response curves were constructed in rested trabeculae. In addition, gelatin zymography was performed for MMP-2 and MMP-9 and Western blot experiments for TIMP-2 in order to determine the levels of TIMP-2 proteins, which are MMP-2, MMP-9 and tissue type MMP inhibitors.

Results: According to the results of the isolated organ bath experiment, contractile response to isoproterenol was significantly increased in the group of patients with reduced ejection fraction heart failure (HF_rEF) compared to the trabeculae of the group of patients with preserved ejection fraction heart failure (HF_pEF). On the other hand, proMMP-2 expression detected by gelatin zymography method and TIMP-2 expression detected by western blot method are significantly higher in HF_rEF than HF_pEF. There was no statistically significant difference between the two groups in MMP-9 expression.

Conclusions: In heart failure with preserved ejection fraction, the response to isoproterenol is lower than in heart failure with reduced ejection fraction, which may be the result of increased MMP-2 activity during remodeling. At the same time increased TIMP-2 activity may be a result of the increase of MMP-2. In terms of its ability to inhibit MMP-2, TIMP-2 may be a potential drug target for treatment in cardiovascular diseases.

Keywords; Heart Failure; Ejection Fraction; MMP-2; MMP-9; TIMP-2

İçindekiler

| | |
|---|------|
| Önsöz..... | I |
| Özet..... | III |
| Abstract..... | IV |
| İçindekiler | V |
| Tablolar Dizini | VII |
| Şekiller Dizini..... | VIII |
| Kısaltma Listesi..... | IX |
| Giriş..... | 1 |
| Genel Bilgiler | 3 |
| 1.1. Kalp Yetmezliği..... | 3 |
| 1.1.1. Kalp Yetmezliği Epidemiyolojisi | 3 |
| 1.1.2. Ejeksiyon Fraksiyonu (EF) | 4 |
| 1.1.2.1. Korunmuş Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği (KYkEF) | 4 |
| 1.1.2.2. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği (KYdEF) | 5 |
| 1.2. Trabeküllerin Oluşması | 6 |
| 1.3. Matriks Metalloproteinazlar | 7 |
| 1.3.1. Jelatinazlar | 7 |
| 1.4. Beta Adrenerjik Reseptörler..... | 10 |
| 2.Gereç ve Yöntem | 12 |
| 2.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması | 12 |
| 2.2. Hastaların Çalışmaya Dahil Edilmesi..... | 12 |
| 2.3. Trabeküllerin İzolasyonu | 12 |
| 2.4. Deneylerde Kullanılan Cihazlar | 13 |
| 2.5. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler | 13 |
| 2.6. İzole Organ Banyosu Deneyi..... | 14 |
| 2.6.1. İzole Organ Banyosu Deneyi Protokolü | 14 |
| 2.6.2. İzole Organ Banyosunda Kullanılan Fizyolojik Çözeltinin (Tyrode Solüsyonu) Hazırlanması..... | 15 |
| 2.6.3. İzole Organ Banyosunda Kullanılan İlaç Çözeltisinin Hazırlanması..... | 15 |
| 2.7. Doku Homojenizasyonu | 15 |
| 2.8. Total Protein Miktarı Tayini | 16 |
| 2.8.1. MMP-2 Protein Miktarı Tayini | 16 |

| | |
|--|----|
| 2.8.2. TIMP-2 Protein Miktarı Tayini..... | 16 |
| 2.9. Jelatin Zimografi Deneyi | 17 |
| 2.9.1. Jelatin Zimografi Deneyinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması..... | 17 |
| 2.9.1.1. Developing Bufferin Hazırlanması | 17 |
| 2.9.1.2. 5X Yürütme Tamponunun Hazırlanması..... | 17 |
| 2.9.1.3. Renatürasyon Çözeltilerinin Hazırlanması | 17 |
| 2.9.1.4. 2X İndirgeyici Olmayan Örnek Tamponunun Hazırlanması..... | 17 |
| 2.9.1.5. %8'lik Ayırıcı Jelin Hazırlanması | 18 |
| 2.9.1.6. %5'lik Paketleyici Jelin Hazırlanması | 18 |
| 2.9.1.7. Coomassie Brilliant Blue Çözeltilerinin Hazırlanması | 19 |
| 2.9.2. Örneklerin Kuyucuklara Yüklenmesi | 19 |
| 2.10. Western Blot Analizi | 19 |
| 2.11. İstatistiksel Analiz | 21 |
| 3.3. Bulgular | 22 |
| 3.1. İzole Organ Banyosu Deneyi Bulguları | 22 |
| 3.1.1. İzoproterenol Yanıtları | 22 |
| 3.2. Jelatin Zimografi Deneyi Bulguları | 25 |
| 3.3. Western Blot Deneyi Bulguları | 27 |
| Tartışma | 29 |
| Sonuç ve Öneriler..... | 35 |
| Kaynaklar | 36 |
| Ekler | 43 |
| Teşekkür..... | 49 |
| Özgeçmiş | 51 |

Tablolar Dizini

| | |
|---|-----------|
| Tablo 1. Jelatinazlar ve Substratları | 8 |
| Tablo 2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar | 13 |
| Tablo 3. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar | 13 |
| Tablo 4. Tyrode Solüsyonunun Hazırlanmasında Gerekli Maddeler | 15 |
| Tablo 5. %8'lik Ayırıcı Jelin Hazırlanması için Gerekli Reaktifler | 18 |
| Tablo 6. %5'lik Paketleyici Jelin Hazırlanması için Gerekli Reaktifler | 18 |
| Tablo 7. Atriyum Trabeküllerinde Kümülatif ISO Yanıtları | 23 |
| Tablo 8. Organ Banyosu Deneyleri Hasta Profilleri | 23 |
| Tablo 9. Western Blot ve Jelatin Zimografi Deneyleri Hasta Profilleri | 28 |



Şekiller Dizini

| | |
|--|----|
| Şekil 1. Kalbin Fonksiyonel Dengesi | 3 |
| Şekil 2. KYkEF Tanı Şeması | 5 |
| Şekil 4. Sağ Atriyumdan Alınan Örnek Trabekül | 6 |
| Şekil 3. KYkEF ve KYdEF'de Atriyum ve Ventrikül Yapıları | 6 |
| Şekil 5. MMP Yapılarının Şerit Diyagramı ve Moleküler Yapısı | 8 |
| Şekil 6. MT-MMP ve TIMP-2 Tarafından proMMP-2 Aktivasyon Modeli | 9 |
| Şekil 7. Kardiyomiyositlerde β -AR sinyalizasyonu..... | 11 |
| Şekil 8. Sağ Atriyum Uzantısı ve İzole Edilmiş Trabeküller | 13 |
| Şekil 9. Trabeküllerin İzole Organ Banyosuna Asılması..... | 15 |
| Şekil 10. Jelatin Zimografi BSA Standart Grafiği..... | 16 |
| Şekil 11. Western Blot BSA Standart Grafiği | 17 |
| Şekil 12. ISOP'ün KYdEF Örneğinde Pozitif İnotropik Etkisi | 22 |
| Şekil 13. ISOP'ün KYkEF Örneğinde Pozitif İnotropik Etkisi | 22 |
| Şekil 14. Atriyum Trabeküllerinde Kümülatif ISOP Doz-Yanıt Eğrileri..... | 23 |
| Şekil 15. ProMMP-2, Pro ve Aktif MMP-9'a ait Zimografi Jel Görüntüsü | 25 |
| Şekil 16. Jelatin Zimografi ProMMP-2 Dansitometrik Analizleri | 25 |
| Şekil 17. Jelatin Zimografi ProMMP-9 Dansitometrik Analizleri | 26 |
| Şekil 18. Jelatin Zimografi Aktif MMP-9 Dansitometrik Analizleri | 26 |
| Şekil 19. Western Blot TIMP-2 Jel Görüntüleri | 27 |
| Şekil 20. Western Blot TIMP-2 Dansitometrik Analizleri..... | 27 |

Kısaltma Listesi

| | |
|-------|--|
| KY | : Kalp Yetmezliği |
| EF | : Ejeksiyon Fraksiyonu |
| KYdEF | : Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği |
| KYkEF | : Korunmuş Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği |
| MMP | : Matriks Metalloproteinaz |
| HEPES | : <i>N</i> -2-hydroxyethylpiperazine- <i>N'</i> -2-ethanesulfonic acid, <i>N</i> -2-hidroksietilpiperazin- <i>N'</i> -2 ethansülfonik asit |
| B-ADR | : Beta Adrenerjik Reseptör |
| ESM | : Ekstraselüler Matriks |
| KAH | : Koroner Arter Hastaları |
| APS | : Amonyum Persülfat |
| TIMP | : Tissue Inhibitor of Metalloproteinase |
| PKA | : Proteinkinaz A |
| DM | : Diyabetes Mellitus |
| HL | : Hiperlipidemi |
| HT | : Hipertansiyon |
| ISOP | : Izoproterenol |
| JPH-2 | : Junktofilin-2 |

Giriş

Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de kardiyovasküler sistem hastalıkları önemli bir sağlık problemidir. Türkiye İstatistik Kurumu 2018 yılına ilişkin ölüm sebebi istatistiklerine göre ölümlerin %38.4’üne dolaşım sistemi hastalıkları sebep olmaktadır (TÜİK, 2018). Kalp yetmezliği (KY) hastalarında ani ölüm ve kardiyovasküler rahatsızlıklar çok sık görülür. KY koroner arter hastalığı, hipertansiyon ve miyokard hasarı gibi diğer kardiyovasküler hastalıkların takip ettiği bir sendromdur. Kalp yetmezliğinin düşük ejeksiyon fraksiyonlu ($EF \leq 40\%$) kalp yetmezliği (KYdEF) ve korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu ($EF > 40$) kalp yetmezliği (KYkef) olmak üzere iki farklı tipi söz konusudur. Her iki tipin tedavi yöntemleri ve patofizyolojileri farklıdır. KYkef’de komorbiditeler daha etkiliyken, KYdEF kardiyomiyositlerin fonksiyonel durumunun değişmesi sonucu gelişir. İnsan kalbi temel olarak kontraktıl fonksiyonu sağlayan $\beta 1$ -adrenerjik reseptörleri ($\beta 1$ -AR) ve insan kalbindeki fonksiyonları hala tartışmalı bir konu olan $\beta 3$ -adrenerjik reseptörleri ($\beta 3$ -AR) eksprese eder. Sentetik bir β adrenerjik agonist olan İzoproterenol (ISOP), kardiyak hücrelerde pozitif inotropik etki ile kalbin kontraktilitesini artırır (Fan, Meng, & Guo, 2019). Kalbin kontraktıl fonksiyonunun bozulmasına neden olan mekanizmaların hem düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (KYdEF) hem de korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (KYkef) olan hastalarda aydınlatılması son derece önemlidir. Söz konusu iki tür kalp yetmezliğinde beta reseptörleri hedef alan tedavilerde farklı cevaplar alınmasına dayanarak insan atriyum trabeküllerinin izoproterenol ile ölçülen kalp kontraktilitesi, KYdEF ve KYkef hasta grupları arasında farklılık gösterebilir (Iwano & Little, 2013). KYdEF ve KYkef’de β -AR agonisti izoproterenolün etkisi araştırmamızın sorusunu oluşturmaktadır.

Ekstrasellüler matriksin sentez ve yıkımındaki dengesizlik ve miyokard hasarının gelişim sürecinde proteolitik enzimler olan matriks metalloproteinazlar (MMP) rol alır. MMP’ler ekstrasellüler matriks (ESM) ile bazal membran komponentlerini parçalayan ve aktif bölgesinde çinko bulunan, kalsiyuma bağımlı enzimlerdir (O.Zitka, 2010). Özellikle kalp kası hücrelerinde spesifik hücre içi proteinleri hidroliz eden ve böylece kontraktıl fonksiyonunu azaltabilen MMP-2 ve MMP-9, koroner arter hastalığında (KAH) proteolitik biyobelirteç olarak düşünülmektedir (Inoue vd., 2001; O.Zitka, 2010). Söz konusu iki tip KY’de MMP-2 ve MMP-9 ile bu enzimlerin doku

tipi inhibitörü olan TIMP-2'nin protein ekspresyon düzeyleri araştırmamızın bir diğer sorusudur.

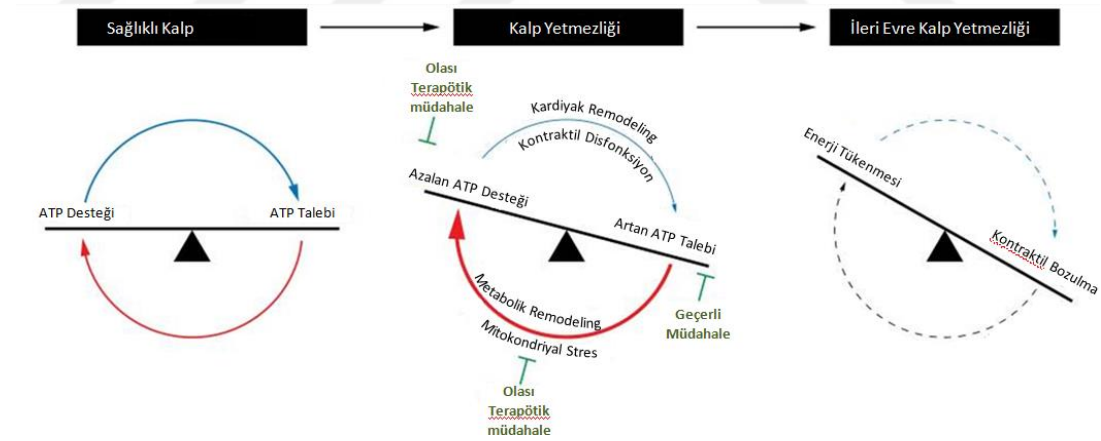
Bu çalışmanın amacını, Ege Üniversitesi Tıp Fakóltesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda kardiyopulmoner bypass ameliyatına giren hastalardan (Grup I: Düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (KYdEF) olan hastalar; Grup II: Korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (KYkEF) olan hasta grupları) elde edilen sağ atriyum trabeküllerinde;

- a. Beta 1 reseptörler üzerinden gelişen fonksiyonel yanıtların izoproterenol ile değerlendirilmesi,
- b. MMP-2 ve MMP-9 ve doku tipi MMP inhibitörlerinin (TIMP-2) bu iki farklı kalp yetmezliğinin patolojisindeki rollerinin araştırılması oluşturmaktadır.

Genel Bilgiler

1.1. Kalp Yetmezliği

Kalbin temel görevi dokuların ihtiyaç duyduğu komponentleri taşıyan kanı pompalayarak organizmada kan sirkülasyonunu sağlamaktır. Hastaneye yatış ve ölümlerin önde gelen nedenlerinden olan kalp yetmezliği, kalbin sistolik veya diyastolik fonksiyonlarındaki yaşa bağlı değişikliklerden kaynaklı dokuların metabolik talepleri için yeterli organ perfüzyonunu sağlayamadığında ya da bunu sadece yüksek dolum basınçlarıyla sağlayabildiğinde ortaya çıkan klinik bir sendromdur (de Lucia, Eguchi, & Koch, 2018; Reddy & Borlaug, 2016). Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC)'ne göre kalp yetmezliği, normal dolum basınçlarına rağmen, kalbin yeterli perfüzyonu sağlayamamasına yol açan, kardiyak yapısal ve işlevsel bozukluktur. KY, koroner arter hastalıkları, miyokard infarktüsü (MI), hipertansiyon, kardiyomiyopatiler, valvüler bozukluklar, konjenital kalp hastalıkları, ritim anormallikleri gibi çok sayıda kardiyovasküler hastalıkların ileri aşamalarında görülen bir durumdur (Iyngkaran vd., 2018). KY taşıyan hastalarda görülen bulgular, dispne, pulmoner ödem, akciğerde krepitasyon, artmış jügüler ven basıncıdır (Tokgözoğlu & Yılmaz, 2019).



Kalbin işlevsel fonksiyonlarındaki aksaklık ve enerji talebi ile arzı arasındaki dengesizlik kalp

Şekil 1. Kalbin Fonksiyonel Dengesi

yetmezliğinin gelişmesini sağlar (Zhou & Tian, 2018).

1.1.1. Kalp Yetmezliği Epidemiyolojisi

Kalp yetmezliği sendromu dünyada yaklaşık 23 milyon kişiyi etkilemektedir (Chaudhry & Stewart, 2016). Amerikan Kalp Birliği (American Heart Association) 2012'den 2030 yılına kadar yaklaşık %46'lık bir artış beklendiğini belirtmektedir.

Türkiye’de yapılan HAPPY çalışmasına göre ülkemizde 2 milyonun üzerinde KY hastası bulunmaktadır. KY belirtilerinin tanısal değerinin sınırlı olması tanının koyulmasını zorlaştırdığı için Türkiye’de tanısı koyulmamış KY görülme sıklığı %4,8’ dir (Tokgözoğlu & Yılmaz, 2019).

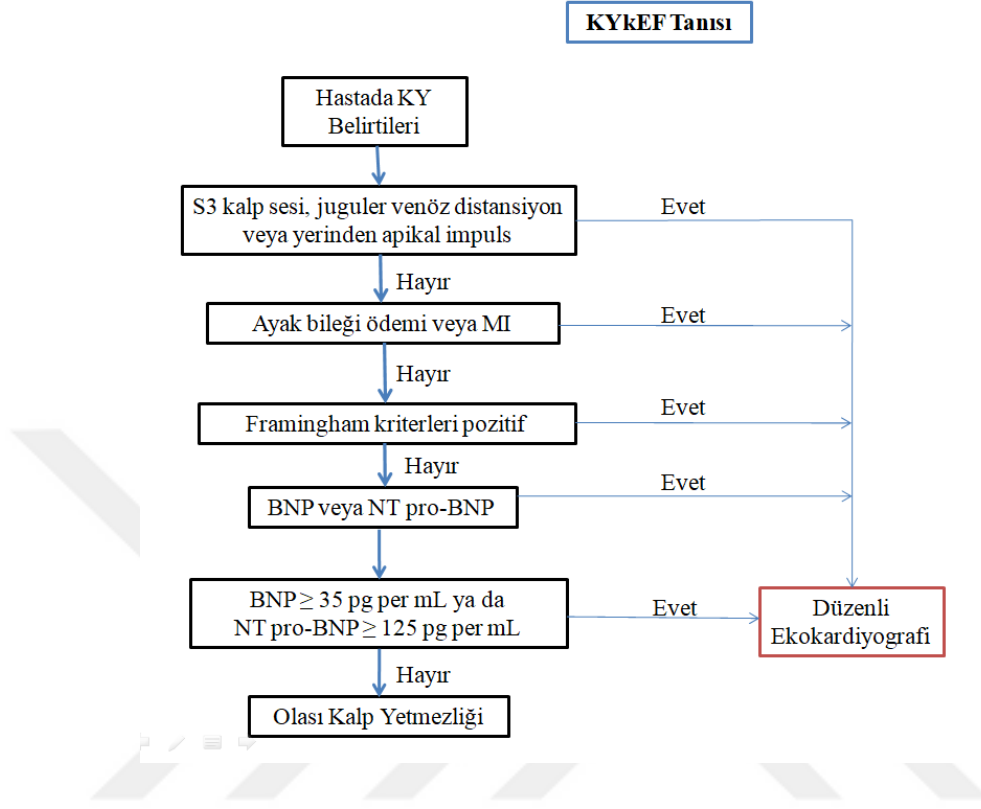
1.1.2. Ejeksiyon Fraksiyonu (EF)

Ekokardiyogram, Kalp Yetmezliği tanısı konulduğunda yapılan ilk testtir. KY semptomları olan bir hastada ejeksiyon fraksiyonu, sol ventriküldeki sistolik veya diyastolik fonksiyon sonucu ventrikül boşalmasının son hacminin yüzdesini esas alarak kardiyak fonksiyon bozukluğunun objektif bir şekilde belgelenmesini sağlar (Iwano & Little, 2013). Sağlıklı insan kalbinde yapılan ekokardiyogram sonucunda görülen EF %50-70 arasındadır. KY bulunan bir hastada normal Sol Ventrikül EF (EF>% 40-50) görülüyorsa Korunmuş EF’li Kalp Yetmezliği (KYkEF) tanısı konur. Bunun yanında Düşük EF’li KY (KYdEF)’de EF değeri %40’tan küçüktür (Reddy & Borlaug, 2016).

1.1.2.1. Korunmuş Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği (KYkEF)

Kalp yetmezliği tanısı konulan hastalarınıyaklaşık yarısında KYkEF görülür. Yaşlılık, kadın cinsiyet, obezite, hipertansiyon, diyabetis mellitus, koroner arter hastalığı ve atriyal fibrilasyon gibi hastalıklar KYkEF’nin risk faktörleri arasında yer alır (Chou vd., 2016; Gazewood & Turner, 2017; MacIver, 2012). Diyastolik disfonksiyon, daha yüksek atriyal basınç ve daha sonra sol ventrikül normal dolumunu korumak için etkin atriyal kasılma ihtiyacının artması sonucu atriyal fibrilasyon (AF) yayılır (O’Neal vd., 2017). Artan kalp yükü ve atriyal fibrilasyon sonucu artan diyastolik disfonksiyon ile sol ventrikül dolum basınçlarının artışı sonucu oluşan adaptif cevap, ilerleyen dönemlerde KYkEF oluşumuna neden olur (John R.Giudicessi, BA.Michael J.Ackerman., 2008). Asemptomatik disfonksiyondan KYkEF’ye ilerlemede sistemik inflamasyon, hipertrofi, diyastolik disfonksiyon, atriyal remodeling, periferik vasküler direnç, epitel disfonksiyonu, artmış pulmoner arter ve venöz direnç gibi birçok patofizyolojik etki mevcuttur (Reddy & Borlaug, 2016). KYkEF tanısının özgüllüğünü geliştirmek için, klinik tanının istirahat veya egzersiz sırasında kardiyak fonksiyon bozukluğunun spesifik biyobelirteçlerin ölçümü gibi objektif testlerle desteklenmesi gerekir (Ponikowski vd., 2016). BNP’nin (NT-proBNP) serum ölçümlerinde, natriüretik peptid seviyeleri KYkEF’de KYdEF’den daha düşük olması ile KYkEF’li

hastaların klinik değerlendirmesinde güçlü yardımcı araçlardır (Reddy & Borlaug, 2016).

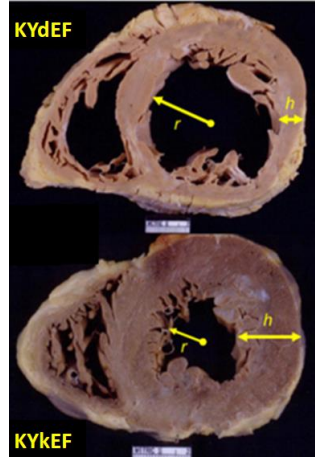


Şekil 2. KYkEF Tanı Şeması

(Gazewood & Turner, 2017)

1.1.2.2. Düşük Ejeksiyon Fraksiyonlu Kalp Yetmezliği (KYdEF)

Düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliğinde, korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliğinin aksine sol ventrikül duvar kalınlığı azalmış, miyofibriler yoğunluk artmıştır. Hipertrofi sonucu miyokardiyal sistolik gerginlikteki azalma ile ventrikülün dekompanse işlevi bozularak ejeksiyon fraksiyonu düşmüştür (Reddy & Borlaug, 2016).



Şekil 3. KYkEF ve KYdEF'de Atriyum ve Ventrikül Yapıları

KYdEF

ventriküler

dilatasyon (yüksek odacık yarıçapı, r), odacık yarıçapına göre düşük duvar kalınlığı (h) ve yüksek dolum basıncı sonucu duvar stresini artırır. KYkEF'de ise normal odacık boyutu, daha yüksek duvar kalınlığı (h) mevcuttur (Reddy & Borlaug, 2016).

1.2. Trabeküllerin Oluşması

Trabeküller, kalbin iç duvarlarındaki intrakardiyak hemodinamikteki değişikliklere duyarlı kas demetleridir. Endokardiyumdaki kayma gerilimi ve kalp duvarı üzerindeki stresin artması gibi hemodinamik değişiklikler ile normal trabekülasyon oluşumunda hatalar gelişir ve mekanik kuvvet dağılımı değişikçe sağlıklı kardiyojenezden sapmalar görülür, zamanla kusurlu trabekülasyon büyür (Battista, Lane, Liu, & Miller, 2018).



Şekil 4. Sağ Atriyumdan Alınan Örnek Trabekül

Kalp, aşırı mekanik yüklenmeye adapte olabilmek için miyofibril proteinlerinin sentezini artırıp degradasyonunu düşürerek hipertrofiye yol açan süreçlerle kardiyomiyositlerin fonksiyonel durumunu değiştirir (Lampert vd., 2007). Yapılan çalışmalarda miyozin ağır zincirinin sentezindeki artışlara dayanarak büyüyen kalpteki

hipertrofinin, protein sentez ve degradasyonundaki dengesizlikten kaynaklandığı gösterilmiştir (Magid, Borer, Young, Wallerson, & DeMonteiro, 1993).

1.3. Matriks Metalloproteinazlar

Aktif bölgesinde çinko bulunan kalsiyuma bağımlı proteolitik enzimler olarak tanımlanan Matriks Metalloproteinazlar (MMP), ekstrasellüler matriks (ESM) ve bazal membran komponentlerini parçalayarak ESM yıkım ve sentezi arasındaki dengenin bozulmasına neden olurlar (Nalawansa, Dhanusha A. Pflum, 2017). Endopeptidaz özellikleriyle fizyolojik ve patolojik süreçte önemli fonksiyonlara sahiplerdir (Lafleur, Handsley, & Edwards, 2003). MMP'ler başta normal gelişimsel süreç olmak üzere, doku yeniden yapılanması, anjiyojenez, ateroskleroz gibi süreçlerde rol oynarken MMP aktivasyonu normal fizyolojik şartlarda metalloproteinazların doku tipi inhibitörü olan TIMP'ler ile regüle edilir (Visse & Nagase, 2003).

Sekans benzerliği, substrat özgünlüğü ve domain içeriğine göre;

- 1- Kollajenazlar (MMP-1, -8, -13)
- 2- Jelatinazlar (MMP-2 ve -9)
- 3- Stromelizinler (MMP-3, -10 ve -11)
- 4- Membran-tip MMP'ler (MMP-14, -15, -16, -17, -24 ve -25)
- 5- Matrilizinler (MMP-7 ve -26)
- 6- Makrofaj elastaz (MMP-12)7)

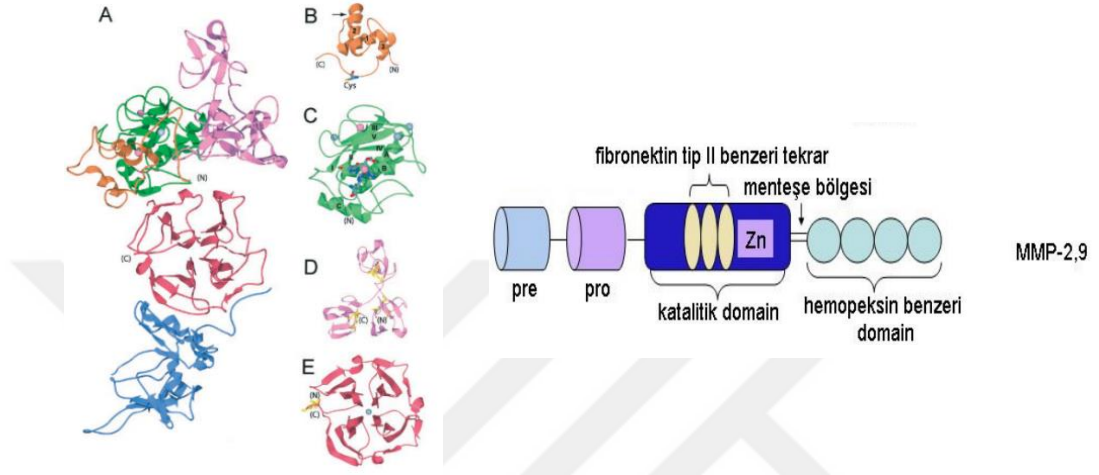
Diğer MMP'ler (MMP-19, -21, -23, -27 ve -28) (Castro, Kandasamy, Youssef, & Schulz, 2011).

MMP'lerin domain yapıları incelendiğinde, tüm MMP'lerin sekresyonu için önemli olan bir sinyal peptidi, regülasyonu için önemli olan bir propeptit ve bir N terminal katalitik domaini içerdiği görülür. Ayrıca MMP'lerin çoğunluğunda bir C-terminal hemopeksin domaini bulunmaktadır. Propeptitte bulunan sistein kalıntısı, aktif bölgede bulunan Zn^{2+} atomuna bağlanarak proteolitik aktiviteyi inhibe eder, propeptit parçalandığında etkileşim sona erer ve enzim aktiflenir (Visse & Nagase, 2003). C terminal domaini ise substratın bağlanmasından ve TIMP'ler ile etkileşimden sorumludur (Becker vd., 1995).

1.3.1. Jelatinazlar

Jelatinazlar sınıfının üyeleri olan MMP-2 ve MMP-9, kardiyovasküler hücrelerde spesifik hücre içi proteinleri hidroliz edebilen bir proteaz olması sebebiyle akut

miyokard enfarktüsüne yol açan aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde ve kardiyovasküler sistem hastalarının sol ventrikül disfonksiyonunda proteolitik bir biyobelirteç olarak önemli bir role sahiptir (Castro vd., 2011; Inoue vd., 2001; Nalawansha, Dhanusha A. Pflum, 2017). Zhao ve arkadaşları, KY hastalarında MMP-2 ekspresyonunun kontrollere kıyasla 4 kat arttığını göstermişlerdir (Zhao vd., 2014).



Şekil 5. MMP Yapılarının Şerit Diyagramı ve Moleküler Yapısı

A) prommp-2-TIMP-2 kompleksi B) turuncu, propeptit; C) yeşil, katalitik alan; D) pembe, fibronektin alanları; E) kırmızı, hemopeksin alanı; ve mavi, TIMP-2'yi gösterir. Pembe noktalar çinko, gri noktalar kalsiyum atomlarıdır (Reel, 2006; Visse & Nagase, 2003).

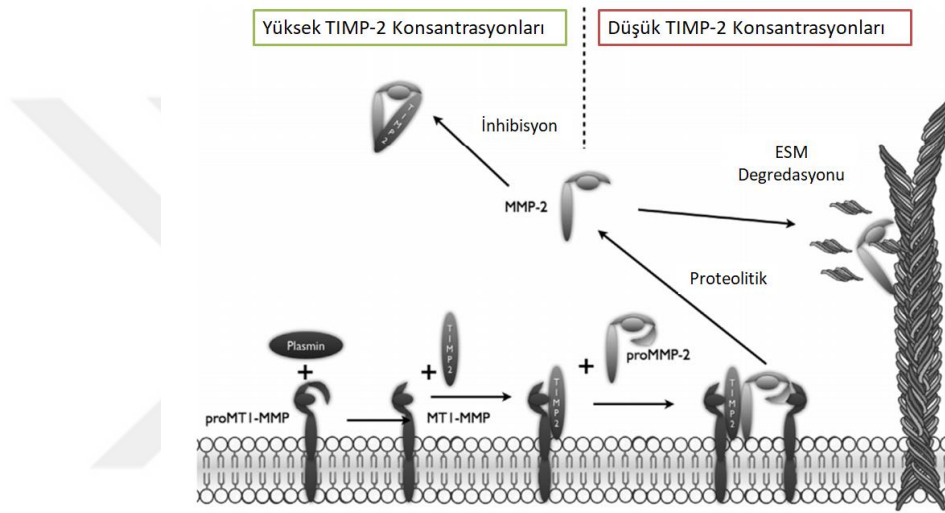
Tablo 1. Jelatinazlar ve Substratları

| MMP | Temel Adı | ESM Substratı | ESM-Dışı Substratı |
|-------|---------------|---|--|
| MMP-2 | Jelatinaz - A | Kollajenler (I, IV, V, VII, X, XI, XIV), jelatin, elastin, fibronektin, laminin-1, laminin-5, galektin-3, agrekan, dekorin, osteonektin proteoglikan bağlıprotein | IL-1b, α 1-PI, MMP-1, MMP-9, MMP-13 |
| MMP-9 | Jelatinaz - B | Kollajenler (IV, V, VII, X, XIV), jelatin, elastin, galektin-3, agrekan, fibronektin, proteoglikan bağlı protein, entaktin, osteonektin | α 1-PI, IL-1 β , plazminojen |

Kardiyomiyositler, reaktif oksijen türlerini içeren mekanizmlar, enflamatuar sitokinler, Pro-MMP-2'yi aktif MMP-2 haline getirebilir (Dollery & Libby, 2006; Lindsey vd., 2005). Aktif MMP-2'nin, vasküler düz kas hücrelerinin medya tabakasına migrasyonu ve düz kas hücre proliferasyonunu stimüle ederek oluşumuna sebep

olduğu aterosklerotik lezyonlar ile vasküler düz kas fonksiyonundaki bozulmalar sonucu ilerleyen dönemde oluşacak MI'de önemli role sahiptir (Visse & Nagase, 2003).

TIMP-2, özellikle MMP-1, MMP-2 ve MMP-9 aktivitesini azaltmaktadır. Genetik müdahale yoluyla MMP ve TIMP-2 dengesinin değiştirilmesi ESM proteolizi ile birlikte hücrenin ESM'ye tutunmasını ve matriks bileşenleri vasıtasıyla hücrenin hareketini de düzenlemektedir (Slawomir M. Wojtowicz-Praga, 2006).



Şekil 6. MT-MMP ve TIMP-2 Tarafından proMMP-2 Aktivasyon Modeli

Membran üzerindeki aktif MT1-MMP (MT-1), plasmin tarafından aktive edildiğinde aktivitesini inhibe eden bir TIMP-2 (T-2) molekülünü bağlar. MT1-MMP, hemopeksin alanlarının etkileşimi yoluyla hücre yüzeyinde dimerler veya multimerler oluşturabilir. ProMMP - 2 daha sonra TIMP-2'nin C-terminal alanına hemopeksin alanı üzerinden bağlanır. Dimerleşme gerçekleştiğinde MMP-2 (M-2) membrandan ayrışır ve tamamen aktive edilir (Janel & Noll, 2013; Visse & Nagase, 2003).

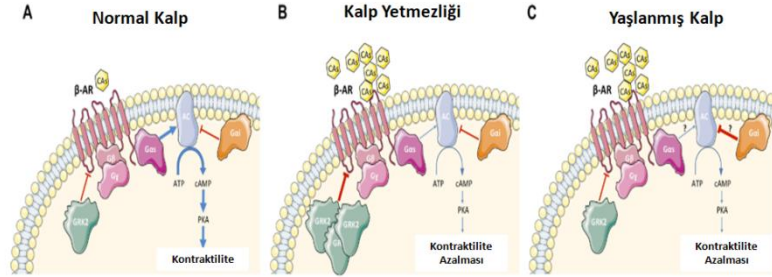
Yakın zamanda yapılan bir çalışmada kalp yetmezliği olan tüm hastalarda ejeksiyon fraksiyonu ve MMP-2 düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon görülmüştür (Kobusiak-Prokopowicz & Krzysztofik, 2018). Rouet-Benzineb ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise hem plazmada hem de kardiyomiyositlerde MMP-2 düzeylerinin anlamlı derecede arttığı görülmüştür (Rouet-Benzineb vd., 1999). MMP-2 seviyelerinin artması ekstraselüler matriks parçalanması proteolitik aktivasyonu dolayısıyla kasılma

yapılarının parçalanması ile miyosit yapı ve fonksiyonunu etkiler (Noji vd., 2004; Rouet-Benzineb vd., 1999).

Boixel ve arkadaşlarının atriyumdan izole ettikleri trabekül örneklerinde, trabekülün periferinde pozitif MMP-2 boyama gözlemlenmiş ve şiddetli KY'de MMP-2 ekspresyonu %187 oranında artmıştır. Bunun sebebi şiddetli KY'de oluşan mekanik stresin MMP-2 ekspresyonunu uyarmasıdır. Aynı çalışmada MMP inhibitörleri, TIMP-1 ve TIMP-2 ifadesinde veya aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmamıştır (Boixel vd., 2003).

1.4. Beta Adrenerjik Reseptörler

G protein-bağlı reseptör (GPCR) süper ailesine ait β -adrenerjik reseptörler (β AR), kalp fizyolojisinde önemli rol oynayan reseptörlerdir (Lefkowitz, Rockman, & Koch, 2000). İnsan kalbi temel olarak β 1-adrenerjik reseptörleri (β 1-AR) ve henüz kalpteki fonksiyonları tam anlaşılamamış olan β 3-adrenerjik reseptörleri (β 3-AR) ifade eder. Kalp kontraktilitesinden esas sorumlu olan reseptörler β 1-AR'lerdir. Fizyolojik koşullar altında, β AR sinyali, adenilil siklaz ve protein kinaz A'nın (PKA) aktivasyonu yoluyla miyokardiyal sistol ve diyastolü düzenleme işlevi ile kalp yetmezliğinin ilerlemesinde oldukça etkilidir (Lohse, Engelhardt, & Eschenhagen, 2003). β 1-AR ekspresyonu azalması ile β -AR homeostazının düzenlenmesi, kalp yeniden şekillenmesinde, hipertrofide, fibroziste ve kalbin fiyolojik ve patofizyolojik işlevleri üzerindeki güçlü etkileri göz önüne alındığında kalp yetmezliği sürecinde önemli bir etken olarak görülmektedir (Lefkowitz vd., 2000). Ek olarak β AR'ler biyolojik fonksiyonlarını Gs proteini ve cAMP içeren sinyal yollarıyla gösterirler (Noma vd., 2007).



Şekil 7. Kardiyomiyositlerde β -AR sinyalizasyonu

CAs, katekolaminler; β -AR, β -adrenerjik reseptör; g-protein alt birimleri: Ga (gaz veya $G_{\alpha 1}$), G_{β} , G_{γ} ; GRK2, g protein bağlantılı reseptör kinaz 2; AC, adenilil siklaz; ATP, adenosin tri-fosfat; cAMP, siklik adenosin mono-fosfat; pka, protein kinaz A. (de Lucia vd., 2018).

Fizyolojik koşullarda (A), β -AR'ler fosforilatlar ve PKA yolağı ile kontraktiliteyi düzenler. Kalp yetmezliğinde (B), dolaşımda artan katekolaminler, kardiyomiyositlerde β -AR ve GRK2 upregülasyonuna ve β -AR'lerin duyarsızlaştırmasına neden olur. Sonuç olarak kontraktilite azalır. Yaşlanmış kalp (C), kardiyomiyositteki β -AR'lerin duyarsızlaştırması ve dolaşımda artan katekolaminler ile karakterizedir (de Lucia vd., 2018).

2.Gereç ve Yöntem

2.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması

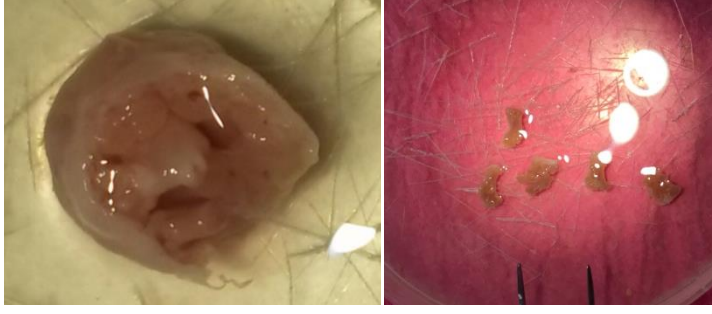
Çalışmanın evrenini 11 Aralık 2019-17 Ocak 2020 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Kliniklerinde kardiyopulmoner bypass ameliyatına giren, 45 ± 20 yaşında olan hastalar oluşturmaktadır. İzole organ banyosu deneylerinde Ejeksiyon Fraksiyonu $\leq 40\%$ olan hastalar KYdEF grubu (Grup I, 4 hasta); Ejeksiyon Fraksiyonu >40 olan hastalar KYkEF (Grup II,7 hasta) olarak değerlendirildi. Proteinekspresyonu ölçümlerinde Ejeksiyon Fraksiyonu $\leq 40\%$ olan hastalar KYdEF grubu (Grup I, 5 hasta); Ejeksiyon Fraksiyonu $>40\%$ olan hastalar KYkEF grubu (Grup II,5 hasta) olarak değerlendirildi. Toplamda 21 hastadan doku örneği alındı, 2 hastadan elde edilen trabeküller, hem izole organ banyosu deneylerinde hem de protein aktivitesi çalışmalarında kullanıldı.

2.2. Hastaların Çalışmaya Dahil Edilmesi

Kardiyopulmoner bypass ile açık kalp ameliyatı sırasında hastalar açık kalp ameliyatı nedeniyle kliniğe yatırıldığında risk faktörleri ve klinik özellikleri açısından araştırıldı. Kullandığı ilaçlar, organ fonksiyonları, eşlik eden hastalıkları soruşturuldu. Laboratuvar tahlilleri periferik kandan alınan venöz kan ile biyokimya laboratuvarında tetkik edildi. Kardiyak kontraktıl fonksiyonlar Üniversitemiz ekokardiyografi laboratuvarında ameliyattan kısa süre önce değerlendirildi. Tetkikler neticelendiğinde, hasta bilgilendirilerek çalışmaya dâhil edildi. Hastalar genel anestezi altında operasyona alındı. sternotomi ile göğüs kafesi açıldıktan kısa süre sonra perikard açılıp sağ atriyum dokusu çıkartılarak örnekleme için hazırlandı (El-Sherief vd., 2013).

2.3. Trabeküllerin İzolasyonu

Kardiyopulmoner bypass ameliyatı olan hastaların sağ atriyumlarının iç yüzeyinde bulunan trabeküller kardiyopleji çözeltisi içerisinde hızla Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirildi. Trabeküller buz üzerinde izole edildi. Kalan sağ atriyum uzantıları daha sonra yapılacak deneylerde kullanılmak üzere -80°C 'de saklandı.



Şekil 8. Sağ Atriyum Uzantısı ve İzole Edilmiş Trabeküller

2.4. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Tablo 2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

| Cihaz | Üretici Firma/Ülke |
|-------------------------------------|-----------------------------|
| Hassas Terazi L4202i (4200g/0.01 g) | Bel Engineering / İtalya |
| Su Banyosu | Memmert / Almanya |
| Powerlab Octal Bridge Amp | AD Instruments / Avustralya |
| Powerlab 8/30 | AD Instruments / Avustralya |
| Stimulator HC | AD Instruments / Avustralya |
| Automatic Organ Bath(Panlab) | AD Instruments / Avustralya |
| LE 13206 Thermostat(Panlab) | AD Instruments / Avustralya |
| pH Metre | Selecta / İsviçre |
| LabRoller II | Labnet / Kore |
| Santrifüj Cihazı | Heraeus / Almanya |
| Vertikal Elektroforez Sistemi | Biorad / ABD |
| Jel Görüntüleme Cihazı | UVP /ABD |
| Soğutmalı İnkübatör | Velp Scientifica / ABD |

2.5. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tablo 3. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

| Kimyasal Madde | Üretici Firma/Ülke |
|--------------------------------------|--------------------|
| İsoproterenol | Sigma |
| NaCl | AppliChem |
| KCl | Riedel de Haen |
| CaCl ₂ .2H ₂ O | Sigma |

| | |
|--|----------------|
| MgCl ₂ .6 H ₂ O | Sigma |
| D-(+)-glukoz monohidrat | Sigma |
| Amonyum Persulfat | Amresco |
| Tritonx100 | AppliChem |
| Tris Baz/ HCl | Sigma |
| Asetik Asit | Riedel de Haen |
| Sodyum Hidroksit | Sigma |
| Pierce BCA kit | Thermo |
| Akrilamid | Fluka |
| N, N' metilen bisakrilamid | Fluka |
| Sodyum dodesil sülfat (SDS) | Fluka |
| 2X Sample Buffer (Tris-Gly-SDS) | Invitrogen |
| N, N, N', N'- tetrametiletildiamid(TEMED) | Sigma |
| Brij 35 | Sigma |
| Coomassie Blue R-250 | Sigma |

2.6. İzole Organ Banyosu Deneyi

2.6.1. İzole Organ Banyosu Deneyi Protokolü

Trabeküller izole edildikten sonra % 95 O₂ ve % 5 CO₂ gaz karışımı ile gazlandırılan 37°C'de pH'sı 7.4 olan Tyrode solüsyonu içeren organ banyolarında dikey olarak asılıp 30 dakika stabilize edildi. Daha sonra preparatlar, paralel platin elektrodlarla, 0.5 Hz frekansta, 30 -40 V eşikte 5 milisaniye süre ile uyarıldı. Trabeküllere 5 mN ön gerilim uygulandı. Banyo içerisindeki Tyrode solüsyonu 15 dakikalık aralarla değiştirildi. Daha sonra dinlendirilen trabeküllerde kümülatif (10⁻⁹M-10⁻⁴M) izoproterenol konsantrasyon-yanıt eğrileri alındı. Uygulanan izoproterenole karşı trabeküllerde meydana gelen kasılma yanıtlarını gösteren traseler transdusera aktarıldıktan sonra amplifikatör yardımıyla bilgisayardaki farmakolojik deney yazılım programına (LabChart 7, AD Instruments, Avustralya) kaydedildi. Kaydedilen traselerde maksimum kasılma (E_{max}) değerleri hesaplandı.



Şekil 9. Trabeküllerin İzole Organ Banyosuna Asılması

2.6.2. İzole Organ Banyosunda Kullanılan Fizyolojik Çözeltinin (Tyrode Solüsyonu) Hazırlanması

Tablo 4. Tyrode Solüsyonunun Hazırlanmasında Gerekli Maddeler

| Madde | Miktar(g) |
|--------------------------------------|-----------|
| NaCl | 8 |
| KCl | 0,4 |
| CaCl ₂ .2H ₂ O | 0,26 |
| MgCl.6H ₂ O | 0,18 |
| D-(+)-glukoz monohidrat | 0,99 |
| HEPES | 2,6 |

Maddeler hassas terazide tartılarak yaklaşık 850 mL distile suya eklendi ve distile su ile hacim 1 litreye tamamlandı.

2.6.3. İzole Organ Banyosunda Kullanılan İlaç Çözeltisinin Hazırlanması

İzoproterenol: Stok Çözelti (0.1 M) distile su ile taze hazırlanır. İleri seyreltmeler %0,9'lük izotonik NaCl çözeltisi ile yapıldı.

2.7. Doku Homojenizasyonu

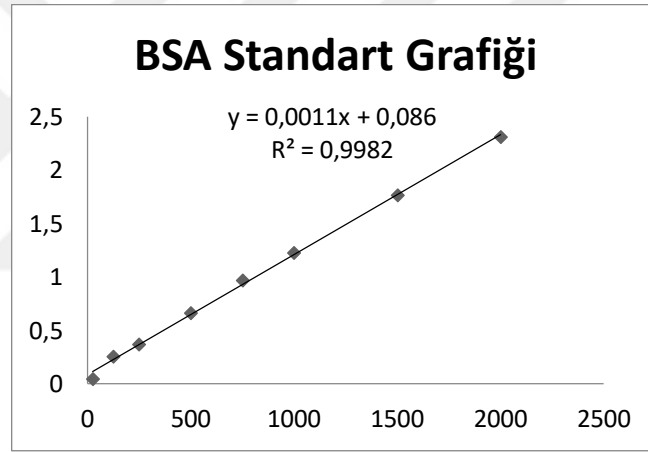
Doku homojenizasyonu için 50-70 mg ağırlığında trabeküller hassas olarak tartıldı. 1:10 oranda seyreltilecek şekilde lizis tamponu eklendi. Tissue Lyser II cihazında homojenize ettikten sonra 10.000g, +4°C'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrası elde edilen süpernatantlar analizlerde kullanılmak üzere -80°C' de saklandı.

2.8. Total Protein Miktarı Tayini

2.8.1. MMP-2 Protein Miktarı Tayini

Protein miktarı tayini BCA analiz kiti kullanılarak yapılmıştır. BCA analiz yöntemi, alkali ortamda proteinlerin Cu^{+2} 'yi Cu^{+1} 'e indirgemesi ve biskinonik asitle mor renk oluşması esasına dayanır. 562 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüm yapılır.

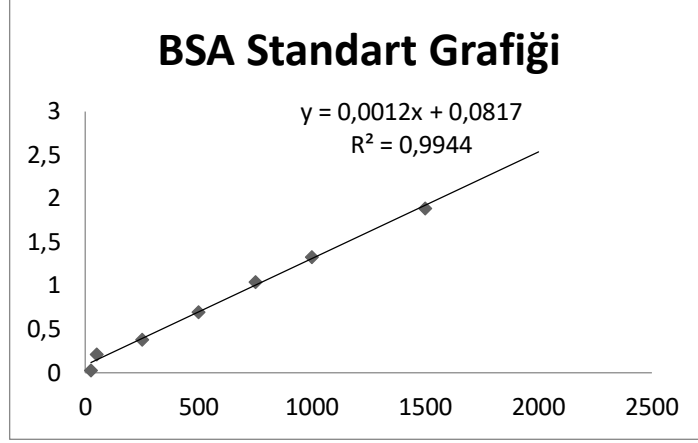
BCA yönteminde farklı konsantrasyonlarda (2000, 1500, 1000, 750, 500, 250, 125, 25)ug/ml) BSA standartları kullanıldı. Kantitatif tayin için İzole edilen trabeküller homojenize edildikten sonra 2,5 µl örnek, 22,5 µl distile su ile seyreltildi. 96 kuyucuklu plaklara 2 tekrar 1 kör olacak şekilde aktarıldıktan sonra 37 derece, 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. Son olarak, numuneler 562nm'de bir plak okuyucusunda (Bio-tek, ABD) okundu. BSA standart grafiği hazırlandı (Şekil 10).



Şekil 10. Jelatin Zimografi BSA Standart Grafiği

2.8.2. TIMP-2 Protein Miktarı Tayini

Protein miktarı tayini BCA analiz kiti kullanılarak yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (2000, 1500, 1000, 750, 500, 250, 125, 25 ug/ml) BSA standartları kullanıldı. Kantitatif tayin için İzole edilen trabeküller homojenize edildikten sonra 2,5 µl örnek, 22,5 µl distile su ile seyreltildi. 96 kuyucuklu plaklara 2 tekrar 1 kör olacak şekilde aktarıldıktan sonra 37 derece, 30 dakikalık inkübasyona bırakıldı. Son olarak, numuneler 562 nm'de bir plak okuyucusunda (Bio-tek, ABD) okundu. BSA standart grafiği hazırlandı (Şekil 11).



Şekil 11. Western Blot BSA Standart Grafiği

2.9. Jelatin Zimografi Deneyi

Jelatin Zimografi MMP-2 ve MMP-9'un aktif ve zimojen formlarını tayin etmede kullanılır ve SDS-PAGE jel içinde enzimlerin substratı olan jelatini tüketmesi esasına dayanır. Jelatin yürütücü jeli oluşturan akrilamid ile kopolimerize edilir. MMP-2 (72 kDa) ve MMP-9 (92 kDa) elektrik alanda molekül ağırlığına uygun bölgeye göç eder.

2.9.1. Jelatin Zimografi Deneyinde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.9.1.1. Developing Bufferin Hazırlanması

0,5 M Tris-baz, 0,1 M CaCl₂, 0,5 M NaCl, %0,5 Brij 35 içerir. pH 7,6'ye ayarlandı. Hazırlanan tampon +4° C'de saklandı.

2.9.1.2. 5X Yürütme Tamponunun Hazırlanması

20 mM Tris-baz, 0.2 M Glisin, %0,1 SDS içerir. pH 8,3' e ayarlandı. Hazırlanan tampon +4° C'de saklandı. Tamponun pH değeri 8,3 olmalıdır ve pH ayarlaması gerekmez. Yürütme tamponu oda sıcaklığında saklanır ve kullanmadan önce 1X'e seyreltilir.

2.9.1.3. Renatürasyon Çözeltisinin Hazırlanması

25 mL %2.5'lik Triton X-100, 975 mL distile suya eklendi.

2.9.1.4. 2X İndirgeyici Olmayan Örnek Tamponunun Hazırlanması

1.0 mL pH 6.8 0.5 M Tris-HCl, 0.8 mL Gliserol, 3.2 mL %10'luk SDS, 0.2 mL %0.2'lik Bromfenol Blue, 2.8 mL distile su içine eklendi.

2.9.1.5. %8'lik Ayırıcı Jelin Hazırlanması

Tablo 5. %8'lik Ayırıcı Jelin Hazırlanması için Gerekli Reaktifler

| Kullanılan Reaktifler | Miktar |
|------------------------------|---------------|
| dH ₂ O | 4.55 ml |
| Polyacrylamide Karışımı | 1,7 ml |
| 1.5 M Tris (pH 8.8) | 1,3 ml |
| 10 % (w/v) SDS | 50 µl |
| 10% APS | 50 µl |
| TEMED | 2 µl |
| 1 mg/ml Jelatin | 500 µl |

%8'lik ayırıcı jelin içeriği MMP-2 proteinin molekül ağırlığına göre belirlendi. Tablo 5'te belirtilen reaktifler uygun hacimlerde karıştırıldı. TEMED ve APS eklendiğinde jelin donması başladığı için bu reaktifler karışıma en son eklendi. Jel karışımı hava kabarcıklarının oluşmamasına dikkat edilerek tanka pipet ile döküldü. Jelin üst kısmının havayla temasını engellemek için üstüne %70'lik propanol eklendi. 30-60 dk jelin donması için beklendikten sonra üst kısımdaki propanol döküldü ve kağıt havlu ile kurulandı.

2.9.1.6. %5'lik Paketleyici Jelin Hazırlanması

Tablo 6. %5'lik Paketleyici Jelin Hazırlanması için Gerekli Reaktifler

| Kullanılan Reaktifler | Miktar |
|------------------------------|---------------|
| dH ₂ O | 2,1 ml |
| 30 % Acrylamide Karışımı | 0,5 ml |
| 1.5 M Tris-HCl (pH 6.8) | 0,38 ml |
| 10% SDS | 30 µl |
| 10% APS | 30 µl |
| TEMED | 3 µl |

Tablo 6'da belirtilen reaktifler uygun hacimlerde karıştırıldı. TEMED ve APS en son eklendi. Jel karışımı hava kabarcıklarının oluşmamasına dikkat edilerek tanka pipet ile döküldü. Jel donmadan 1 mm, 5 kuyucuklu taraklar yerleştirildi. Ayırıcı jelde olduğu

gibi jelin üst kısmının havayla temasını engellemek için üstüne %70'lik izopropanol eklendi. 45-60 dk jelin donması için beklendikten sonra üst kısımdaki izopropanol dökülür ve kağıt havlu ile kurulandı.

2.9.1.7. Coomassie Brilliant Blue Çözeltisinin Hazırlanması

% 40 metanol ve % 10 asetik asit içinde % 0.5 Coomassie Blue R-250 içeren boyama çözeltisi hazırlandı.

2.9.2. Örneklerin Kuyucuklara Yüklenmesi

2 adet jel hazırlandı. Jellerden birine KYDEF hasta grubundan, diğerine KYKEF hasta grubundan alınan örnekler indirgeyici olmayan örnek tamponu ile eşit hacimlerde karıştırılarak yüklendi ve protein komplekslerinin molekül ağırlıklarına göre ayrılması sağlandı. Pozitif kontrol olarak MMP-2 standartları jellerdeki birer kuyucuğa yüklendi. Jeller, 1X yürütme tampon eklenmiş tanka yerleştirildi. Örnekler, 70V voltaj uygulanarak ~30-45 dakika yürütüldü. Daha sonra jellerden SDS'i uzaklaştırmak için oda sıcaklığında 2x15 dakika % 2,5 Triton X-100 ile muamele edildi.

Zimogramlar daha sonra enzimin (MMP-2) jel içindeki jelatini tüketmelerini sağlamak için gece boyunca 37 ° C'de developing bufferda inkübe edildi.

Elektroforezden sonra jeller, %0.5'lik Coomassie Brilliant Blue R-250 ile boyandı ve metanol-asetik asit-distile su (4:2:5) içeren çözelti ile zemindeki boyanın fazlası giderildi.

Jel üzerinde MMP-2 enziminin zimojen ve aktif formları, mavi boyanmış akrilamid jel üzerinde beyaz alanlar olarak görülür. Litik alanlar dansitometre ile (UVP jel dokümantasyon cihazı) değerlendirildi.

2.10. Western Blot Analizi

TIMP-2 protein düzeyini değerlendirmek amacıyla Western blot yöntemi kullanıldı. Western blot yöntemi, izole edilmiş protein karışımlarının SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yoluyla yük ve moleküler ağırlıklarına göre ayrıldıktan sonra proteinlerin jelden membran üzerine aktarılıp blotlama ve antikor hibridizasyonuna tabi tutulduktan sonra membran okuyucu bir cihazda görüntülenmesi esasına dayanır. Sekonder antikor eklenince antikorlar kemilüminasansla görüntülenebilen protein protein-antikor-antikor-HRP iskelesi oluştuğunda membran üzerinde oluşan bantlar, moleküler ağırlık markerlarıyla karşılaştırılır. Böylece hedef proteinlerin varlığı tespit edilir (Bone, Steller, Warner, Harpole, & Crerar, 2017).

Ön denemeler sonucunda 40 µg protein yüklenmesine karar verildi. Her örnekten uygun miktarda protein yüklenebilmesi için gerekli hacim aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı:

Yüklenecek protein miktarı (µg) / örnek konsantrasyonu (µg/ µl) = µl yüklenecek örnek hacmi

Örneklerin her biri için hesaplanan hacimde protein üzerine β-merkaptoetanol (β-ME) örnek yükleme tamponu (Cracking buffer, genelde %50 oranında) ilave edildi. β-ME tampon içerisine örnek yükleneceği zaman ilave edildi. Protein örnekleri SDS'in proteinleri denatüre etmesi (SDS deterjanı proteinlere bağlanarak proteinleri negatif yüklü hale getirir) için 5 dk 95°C'de inkübe edildi. Örnekler %8'lik SDS-PAGE jeline yüklendi. Tankın içine yerleştirilen jel yürütme tamponu içinde 110 V'de +4°C'de yürütülerek molekül ağırlıklarına göre ayrılmaları sağlandı.

30 saniye metanolde bekletilen PVDF (Immobilon-P polyvinylidene difluoride, PVDF, Sigma) membran 2 dk kadar transfer çözeltisi içerisinde inkübe edildi. Proteinlerin jelden membrana transfer edilmesi için whatman kağıtları ve süngerler (transfer çözeltisi içinde bekletildi) ile bir sandviç modeli oluşturuldu. Katod ızgara üzerine sırasıyla transfer tamponunda ıslatılmış sünger, 2 whatman kağıdı ve jel yerleştirildi. Bunların üzerine jele uygun büyüklükte kesilen membran, 2 whatman kağıdı konuldu. Sistem transfer tamponu doldurulmuş tank içerisine yerleştirildi. 25V'de 30 dk süre ile transfer işlemi gerçekleştirildi.

Membran TBS-T içerisinde 5 dk yıkandıktan sonra blotlama çözeltisi (%5 yağsız süt tozu (Sigma) içeren Tween-20-Tris çözeltisi, TBS-T içerisinde 1 saat oda sıcaklığında çalkalayıcı üzerinde inkübe edildi. α-aktin proteininin (~43 kDa) bulunduğu düşünülen membranın alt kısmı anti- α-aktin antikoru (1:3000 dilüsyon, antirabbit, Cell signalling) ile membranın kalan kısmı TIMP-2 (1:1000, antimouse, Chemicon) antikoru ile +4°C'de bir 18 saat boyunca inkübe edildi. Primer antikorlarla inkübasyon sonrasında membran 1X TBS-T ile 15, 5, 5 ve 5 dk (toplam 30 dk) çalkalayıcı üzerinde yıkandı.

Membran horseradish peroxidase (HRP)-bağlı sekonder antikolar (1:1000 dilüsyonlu TIMP-2 (santacruz), 1:5000 dilüsyonlu α-aktin (santacruz) ile 1 saat süresince inkübe edildikten sonra membran tekrar TBS-T ile yıkandı. Son olarak membran ECL

(Enhanced Chemiluminescence, Amersham Biosciences) ile ıslatılarak UVP marka Jel Dökümentasyon Cihazı kullanılarak jellerin görüntüleri alındı. Görüntüler tarayıcı yardımı ile bilgisayar ortamına (LabWorks 4.6 Software) aktarıldı. TIMP-2 proteinleri ve β -aktin bantlarının yoğunlukları (optik yoğunluk) hesaplandı. Daha sonra TIMP-2 protein ekspresyon düzeyleri α -aktin proteininin optik yoğunluğuna normalize edildi (TIMP-2 / α -aktin).

2.11. İstatistiksel Analiz

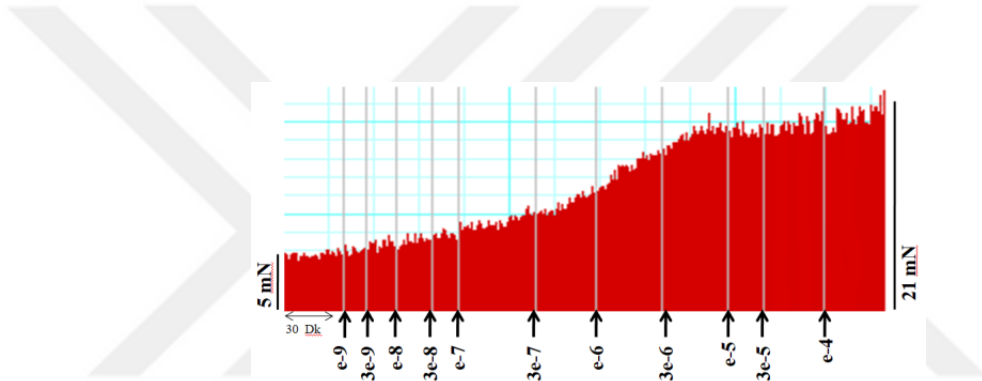
Bu çalışmada veriler ortalama \pm ortalamanın standart hatası olacak şekilde verilmiştir. Kasılma yanıtlarının hesaplanmasında, izole organ banyosu sistemine özgü LabChart yazılımı kullanılmıştır (LabChart 7,0- GraphPad Software, San Diego, CA, ABD). İstatistiksel analizler ve doz yanıt eğrilerinin çizilmesi işlemleri GraphpadPrism 5.03 (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Organ banyosu deneylerinden elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için GraphPadPrism6 programının eşleştirilmemiş Student's t-test kullanılmıştır. Agonistin maksimum kasılma yanıtı GraphPadPrism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA) yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.3. Bulgular

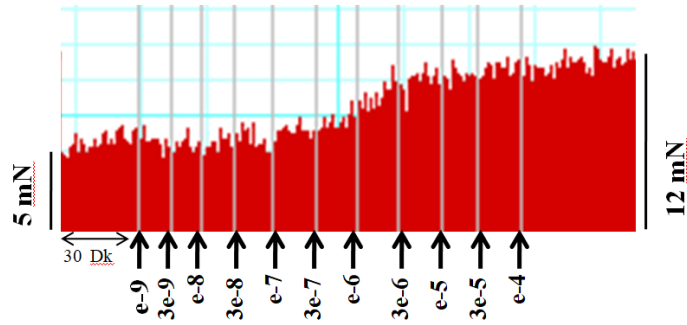
3.1. İzole Organ Banyosu Deneyi Bulguları

3.1.1. İzoproterenol Yanıtları

İzoproterenol ($10^{-9} - 10^{-4}$ M), $EF > 40$ ve $EF \leq 40$ olan hasta gruplarından alınan atriyum trabeküllerinde konsantrasyona bağlı kasılma yanıtları oluşturmuştur (Şekil 12) (İki farklı gruptaki hastaların profilleri Tablo 8’de sunulmuştur). Yapılan istatistiksel analizler, $EF \leq 40$ olan hasta grubundaki trabeküllerdeki izoproterenolün kasılma yanıtlarının $EF > 40$ olan hasta gruplarının atriyum trabekülerine oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazla olduğunu göstermektedir (Tablo 7).

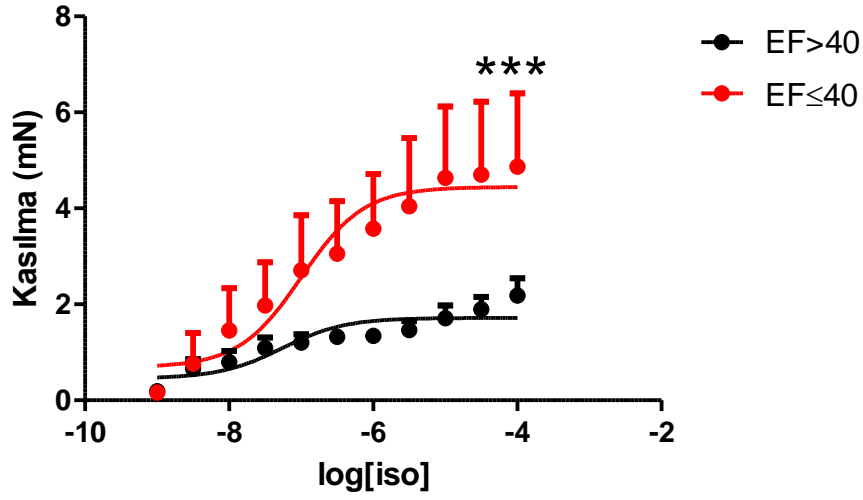


Şekil 12. ISOP'un KYdEF Örneğinde Pozitif İnotropik Etkisi



Şekil 13. ISOP'un KYkEF Örneğinde Pozitif İnotropik Etkisi

EF-Karşılaştırma



Şekil 14. Atriyum Trabeküllerinde Kümülatif ISOP Doz-Yanıt Eğrileri

Veriler ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir. P=0,0004

EF>40 (n=7) ile EF≤40 (n=4) 2yönlü ANOVA testi.

Tablo 7. Atriyum Trabeküllerinde Kümülatif ISO Yanıtları

| Izoproterenol | EF≤40 | EF>40 |
|---------------|-----------------|-------------------|
| Emaks* | 2,19 \pm 0,36 | 4,873 \pm 1,523 |

Veriler ortalama \pm ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir.

EF>40 (n=7) ile EF≤40 (n=4), Eşleştirilmemiş Student's t Test

* P=0,0263 Eşleştirilmemiş Student's t Test

Tablo 8. Organ Banyosu Deneyleri Hasta Profilleri

| Örnek | Cinsiyet | Boy (cm) | Kilo (Kg) | Yaş | AST (U/L) | ALT (U/L) | Na (Eq/L) | Ca (mg/dL) | Kreatinin (mg/dL) | CO2 (mmHg) | Sigara | Alkol | DM | Hastalıklar | Kullanılan İlaçlar |
|-------|----------|----------|-----------|-----|-----------|-----------|-----------|------------|-------------------|------------|--------|-------|-----|-------------|---|
| 1 | K | 153 | 57 | 74 | 31 | 15 | 136 | 7,7 | 1,16 | 22,3 | var | yok | yok | HT, HL | Pantoprazol, Fenofibrat, asetilsalisilik asit, Valsartan, hidroksizin hcl, karvedilol, Rosuvastatin, isosorbid-5-mononitrat |
| 2 | K | 156 | 92 | 59 | 48 | 28 | 142 | 8,3 | 1,01 | 32,2 | yok | yok | yok | HT | Pantoprazol, asetilsalisilik asit, |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|---|-----|----|----|----|----|-----|-----|----------|------|-----|-----|-----|-----------------------|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | metoprolol, isosorbid-5-mononitrat , kandesartan |
| 3 | E | 168 | 62 | 71 | 50 | 24 | 137 | | 1,4 2 | 36,5 | yok | yok | yok | HT, BPH | Pantoprazol, metoprolol , asetilsalisilik asit, rosuvastatin, tamsulosin hcl | |
| 4 | K | 163 | 70 | 58 | 55 | 67 | 136 | 9,6 | 0,6 1 | 32,5 | yok | yok | var | yok | Pantoprazol, asetilsalisilik asit, nateglinid, metformin, metoprolol , ketiapin | |
| 5 | E | 170 | 70 | 61 | 49 | 15 | 141 | 7,4 | 0,8 | 32,5 | yok | yok | yok | HT | Pantoprazol, asetilsalisilik asit, varfarin sodyum | |
| 6 | K | 150 | 65 | 65 | 42 | 19 | 141 | 8 | 0,6 2 | 34,1 | yok | yok | yok | HT | Pantoprazol, asetilsalisilik asit, Amlodipin, essitalopram, isosorbid-5-mononitrat, diazepam, ramipril | |
| 7 | E | 161 | 55 | 65 | 45 | 11 | 138 | 7,6 | 0,9 1 | 30,4 | var | yok | yok | HT | Pantoprazol, amlodipin, essitalopram, Kandesartan, pitavastatin, varfarin, metoprolol , asetilsalisilik asit | |
| 8 | E | 173 | 78 | 71 | 26 | 19 | 137 | 7,8 | 1,2 6 | 33 | var | yok | var | HT, Dispn e | sefazolin sodyum, metoprolol , Pantoprazol, glizlazid, metformin | |
| 9 | E | 163 | 52 | 33 | 73 | <5 | 127 | 8,8 | 4,4 4 | 35,9 | yok | yok | yok | Kro. Böb. Hast. | Pantoprazol, levotiroksin, valproik asit, kalsiyum asetat | |
| 10 | E | | | 22 | 30 | 13 | 133 | 8,2 | 0,7 3 | 36,9 | yok | yok | yok | Kalp Nakli , HT | Pantoprazol, asetilsalisilik asit, Mikofenolat mofetil, Metilprednisolon, Amlodipin, ramipril | |
| 11 | E | 170 | 80 | 60 | 32 | 13 | 137 | 7,9 | 0,7 8 | 37 | yok | yok | yok | HT, HL | sefazolin, Pantoprazol, sefazolin sodyum, isosorbid-5-mononitrat, asetilsistein, klopidogrel | |

3.2. Jelatin Zimografi Deneyi Bulguları

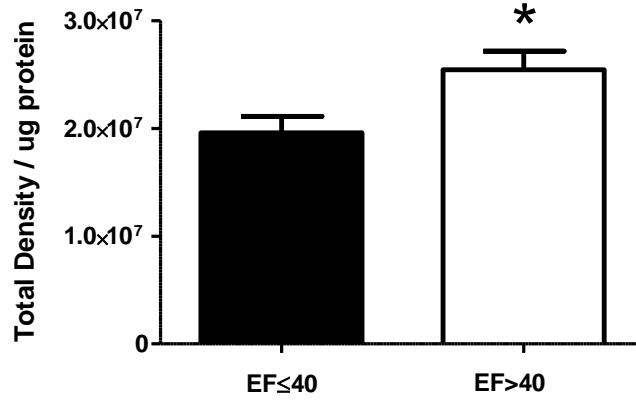
EF>40 ve EF≤40 olan hasta gruplarından alınan atriyum trabeküllerinde yapılan jelatin zimografi analizlerine ilişkin örnek jel görüntüsü Şekil 13’de verilmiştir. Analizler proMMP-2 ekspresyon düzeylerinin EF>40 olan hasta grubundan alınan atriyum trabeküllerinde EF≤40 olan hasta grubunun atriyum trabeküllerine oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazla olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 14). Buna karşılık, analizler MMP-9 ve proMMP-9’un ekspresyon düzeylerinin iki grupta da anlamlı olarak farklı olmadığını göstermektedir (Şekil 15, Şekil 16) (İki farklı gruptaki hastaların profilleri Tablo 8’de sunulmuştur).



Şekil 15.

ProMMP-2, Pro ve Aktif MMP-9'a ait Zimografi Jel Görüntüsü

ProMMP-2 Ekspresyon Düzeyi

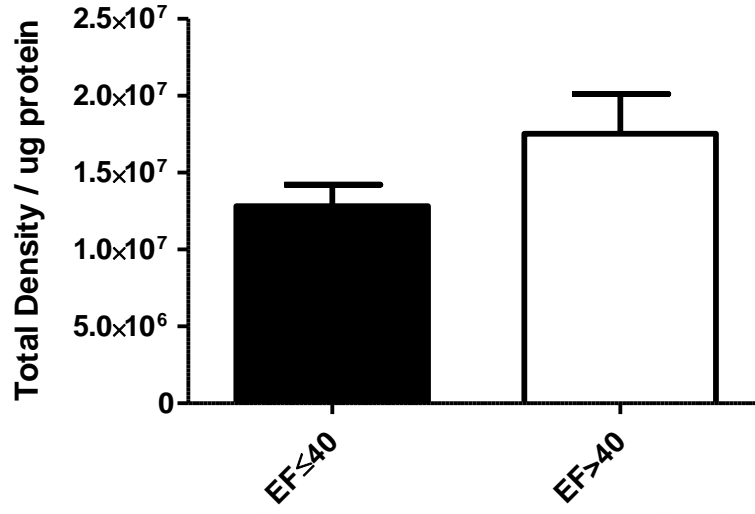


Şekil 16. Jelatin Zimografi ProMMP-2 Dansitometrik Analizleri

Veriler ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir. P=0,0387

EF>40 (n=5) ile EF≤40 (n=5) karşılaştırmalı Eşleştirilmemiş Student's t Test

ProMMP-9 Ekspresyon Düzeyi

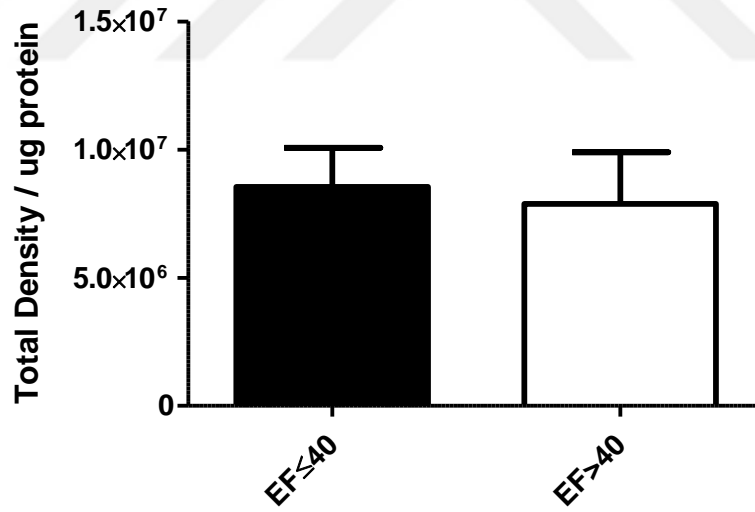


Şekil 17. Jelatin Zimografi ProMMP-9 Dansitometrik Analizleri

Veriler ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir. P=0,1426

EF>40 (n=5) ile EF≤40 (n=5) karşılaştırmalı Eşleştirilmemiş Student's t Test

Aktif MMP-9 Ekspresyon Düzeyi



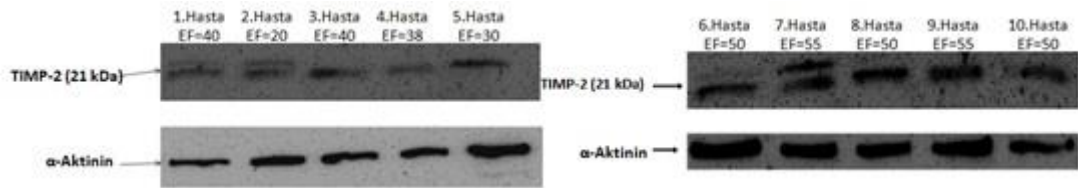
Şekil 18. Jelatin Zimografi Aktif MMP-9 Dansitometrik Analizleri

Veriler ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak verilmiştir. P=0,7983

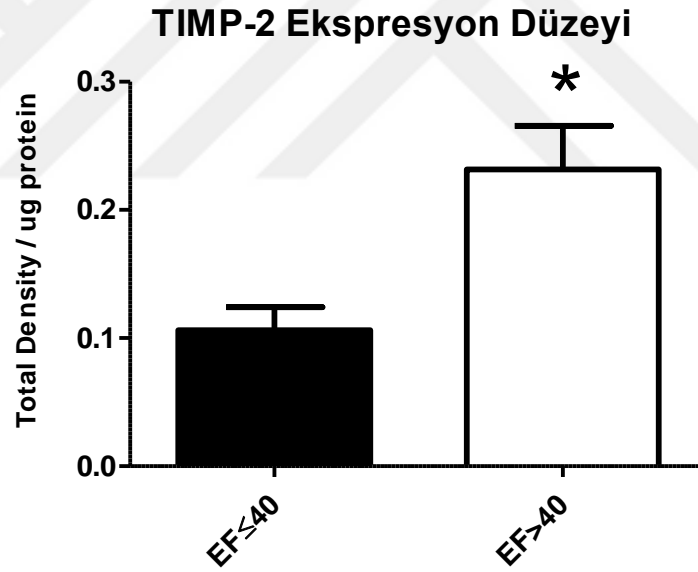
EF>40 (n=5) ile EF≤40 (n=5) karşılaştırmalı Eşleştirilmemiş Student's t Test

3.3. Western Blot Deneyi Bulguları

EF>40 ve EF≤40 olan hasta gruplarından alınan atriyum trabeküllerinde yapılan Western blot analizlerine ilişkin örnek jel görüntüsü Şekil 17’de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler TIMP-2 ekspresyon düzeylerinin EF≤40 olan hasta grubundan alınan atriyum trabeküllerinde EF>40 olan hasta grubunun atriyum trabeküllerine oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazla olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 18).



Şekil 19. Western Blot TIMP-2 Jel Görüntüleri



Şekil 20. Western Blot TIMP-2 Dansitometrik Analizleri

Veriler ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak olarak verilmiştir. P=0,0174

EF>40 (n=5) ile EF≤40 (n=5) karşılaştırmalı Eşleştirilmemiş Student's t Test

Tablo 9. Western Blot ve Jelatin Zimografi Deneyleri Hasta Profilleri

| Örnek | Cinsiyet | Boy (cm) | Kilo (Kg) | Yaş | AST (U/L) | ALT (U/L) | Na (Eq/L) | Ca (mg/dL) | Kreatinin (mg/dL) | CO2 (mmHg) | Sigara | Alkol | DM | Hasstahklar | Kullanılan İlaçlar |
|-------|----------|----------|-----------|-----|-----------|-----------|-----------|------------|-------------------|------------|--------|-------|-----|-----------------|---|
| 1 | E | 165 | 80 | 71 | 84 | 29 | 140 | 7,6 | 7,82 | 31 | yok | yok | var | KOAH, Gut, HT | asetilsalisilik asit, isosorbid-5-mononitrat, gliklazid, atorvastatin, klopidogrel, Pantoprazol, Sefazolin |
| 2 | E | 174 | 75 | 50 | 20 | 15 | 134 | 7,9 | 1,07 | 48,6 | var | yok | var | HL, HT | Asetilsalisilik asit, isosorbid-5-mononitrat, klopidogrel, metoprolol, levofloksasin, ramipril, İnsülin detemir |
| 3 | E | 173 | 78 | 71 | 26 | 19 | 137 | 7,8 | 1,26 | 33 | var | yok | var | HT, Dispne | asetilsalisilik asit, metoprolol, Pantoprazol, gliklazid, metformin |
| 4 | E | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | E | 163 | 52 | 33 | 73 | <5 | 127 | 8,8 | 4,44 | 35,9 | yok | yok | yok | Kro. Böb. Hast. | Pantoprazol, levotiroksin, valproik asit, kalsiyum asetat |
| 6 | E | 172 | 62 | 73 | 30 | 7 | 136 | 8,4 | 1,19 | 21,6 | yok | yok | yok | HT | Dopamin, Sefazolin, Pantoprazol, furosemid, asetilsalisilik asit, varfarin, Hiyalüronik asit, netilmisin sülfat, metoprolol |
| 7 | E | 180 | 70 | 83 | 41 | 17 | 142 | 6,9 | 1,3 | 35,5 | yok | yok | yok | MI | amiodaron, enoxaparin, Pantoprazol, asetilsalisilik asit, isosorbid-5-mononitrat, atorvastatin, Sitalopram, metoprolol, levofloksasin |
| 8 | E | 177 | 75 | 81 | 55 | 14 | 139 | 6,6 | 1,1 | 38,3 | var | yok | yok | Prostat Guatr | Pantoprazol, varfarin, levotiroksin, asetilsalisilik asit, levofloksasin, Teofilin |
| 9 | K | 165 | 80 | 67 | 57 | 20 | 135 | 8 | 2,12 | 34,4 | yok | yok | yok | HT, HL | Asetilsalisilik asit, levofloksasin, isosorbid-5-mononitrat, metoprolol, klopidogrel |
| 10 | E | 172 | 82 | 59 | 42 | 20 | 136 | 8,2 | 0,86 | 35 | yok | yok | var | HL | Pantoprazol, rosuvastatin, asetilsalisilik asit, isosorbid-5-mononitrat, metoprolol, trimetazidin, gliklazid, metformin |

Tartışma

KYkeF (EF>%40) ve KYdEF (EF≤%40) tanısı konulan hastaların sağ atriyumlarından alınan trabeküllerde izoproterenole (İSOP) bağlı kasılma yanıtları, MMP-2 ve MMP-9 enzim ekspresyonu ile TIMP-2 ekspresyonunu incelediğimiz bu çalışmamızdan elde edilen bulguları aşağıdaki şekilde özetleyebiliriz;

- a) İSOP kasılma yanıtları KYdEF (EF≤%40) grubunda KYkeF (EF>%40) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde atmıştır,
- b) proMMP-2 enzim ekspresyonu KYkeF (EF>%40) grubunda, KYdEF (EF≤%40) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış ancak aktif MMP-2 ekspresyonu görülmemiştir,
- c) MMP-9 ve proMMP-9 ekspresyonları KYkeF (EF>%40) grubu ile KYdEF (EF≤%40) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir,
- d) TIMP-2 ekspresyonu KYkeF (EF>%40) grubunda, KYdEF (EF≤%40) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır.

Kalp yetmezliği, tanım olarak, kalbin vücudun gereksinimlerine yeterli oranda kan pompalayamadığı klinik bir sendromdur. Genel anlamda miyokarda hasar veren olaylardan ve/veya miyokardın normal kasılma yeteneğinin bozulmasından kaynaklanır. Bu duruma karşılık olarak, özellikle sempatik sinir sistemi başta olmak üzere kalbin β_1 ve β_2 adrenerjik reseptörlerinin (β_1/β_2 -AR) uyarılması ile inotropik desteği sağlayacak bazı düzenleyici mekanizmalar harekete geçer (Balligand & Michel LYM, 2017). Bu reseptörlerin kısa süreli stimülasyonu kardiyak fonksiyonun korunmasına yardımcı olur. Ancak sempatik sinir uçlarından ve adrenal medulladan salıverilen katekolaminlerin artan miktarlarına kardiyak β_1/β_2 -AR'lerinin kronik mazuriyeti kardiyak yapılanma ve performans üzerinde olumsuz etkiler gösterir ve bu durum da hastalığın ilerlemesine neden olur (Balligand, 2016). β_1 -AR'lerin pozitif inotropik fonksiyonu daha önceki çalışmalarda ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir (Christ, Molenaar, Klenowski, Ravens, & Kaumann, 2011). İzoproterenol (ISOP), β_1 -AR'leri adinilil siklaza bağımlı bir mekanizma ile uyarır (Joseph, Lynham, Grace, Colledge, & Kaumann, 2004). β_1 -AR'ler için pozitif inotropik etki oluşturan agonist

özelliklere sahip isoproterenolün insan sağ atriyumundan alınan trabeküllerdeki kardiyomiyositler üzerindeki etkisini saptamak için yapılan çalışmalarda, bu ajanın trabeküllerin kontraktıl kuvvetini arttırdığı gösterilmiştir (Lampert vd., 2007).

Kalp yetmezliği, korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (KYkef) veya düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (KYdef) olmak üzere iki farklı klinik sendroma sahiptir (Massie & Shah, 1997; Tromp vd., 2018). Söz konusu iki sendromun altında yatan patofizyolojik mekanizmaların farklı olduğu bilinmektedir (Hunt vd., 2009). Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyotensin reseptör blokörleri ve mineralokortikoid reseptör antagonistleri ile düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (KYdef) olan hastalarda yararlı klinik sonuçlar elde edilmiş ancak korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (KYkef) olan hastalar tedaviye yanıt vermemiştir (Iwano & Little, 2013; Pitt, 2014). Son yıllarda yapılan araştırmalar bu iki sendromun altında yatan patofizyolojik mekanizmalarının ayırıcı nitelikte önemli farklılığa sahip olduğunu ortaya koymuştur. Korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliği (KYkef) DNA-bağlayıcı transkripsiyon faktör aktivitesi, hücrel protein metabolizması ve nitrik oksid regülasyonu ile ilişkilendirilmiş; düşük ejeksiyon fraksiyonlu kalp yetmezliğinin (KYdef) ise sitokin yanıtlar, ekstrasellüler matriks organizasyonu ve inflamasyon ile birlikte geliştiği belirtilmiştir (Tromp vd., 2018). Bu bulgular ışığında çalışmamızda yetmezlik halindeki kalbin inotropik performansını belirlemek için KYkef ve KYdef tanısı koyulan hastaların sağ atriyumlarından alınan trabeküllerde izoproterenol ile stimülasyon gerçekleştirdik. Çalışmamızda KYdef hastalarından alınan atriyal trabeküllerin izoproterenole verdiği yanıtın istatistiksel olarak KYkef'den daha fazla olduğu ortaya konmuştur (Şekil 12). Bu durum olasılıkla KYkef hastalarında artmış duvar kalınlığı, aşırı mekanik yük sonucu β -AR desensitizasyonu ve artmış proMMP-2 düzeylerinden kaynaklanan bozulmuş kasılma fonksiyonundan kaynaklanabilir. Ancak, bu bulgumuz, özellikle β -AR uyarılması sonucu meydana gelen post-reseptör olaylar açısından da daha ileri çalışmaları gerektirmektedir. Diğer yandan son yıllarda yapılan kardiyovasküler araştırmalar üçüncü bir β -adrenoreseptör tipi olan β_3 -adrenoreseptör (β_3 -AR) varlığını ortaya koymuştur (Balligand, 2016). β_3 -AR'ler kardiyak miyositler ve endotel hücrelerde bulunurlar ve farklı sinyalleme yolları ile kenetlenmişlerdir. Temel olarak β_1/β_2 -AR'ler ile stimüle edilen etkileri karşılarlar; kalbin fonksiyonları, metabolizmayı ve remodeling'i koruyucu etkiler gösterirler (Balligand, 2016; Kayki-

Mutlu, Karaomerlioglu, Arioglu-Inan, & Altan, 2019). Bu açıdan çalışmamızda İSOP yanıtları ile elde ettiğimiz bulgunun β 3-adrenoreseptör ekspresyonu açısından da ileri düzeyde incelenmesi bu iki farklı klinik sendromun patofizyolojisi tedavisi ve/veya oluşumunun engellenmesi açısından önemli katkılar sağlayabilecektir.

Kardiyak ekstrasellüler matriks (ESM), matriks proteinlerinin sentez ve yıkımı arasındaki dengeyi sağlayarak miyokardın yapısal bütünlüğünü korur ve kardiyak geometriyi korur. ESM, özgül bir katlanma sağlayarak matriks proteinlerinin kalp hücrelerinin fonksiyonlarını tam olarak uygun şekilde görmelerine yardımcı olur. ESM yıkım ve yapımı (turnover) hücre proliferasyonu ve farklılaşması ve doku morfojenezi gibi çeşitli tipteki fizyolojik ve patolojik süreçleri etkiler (Kobusiak-Prokopowicz & Krzysztolik, 2018). ESM'deki bu dengeyi sağlayan ana araçlar olan matriks metalloproteinazlar (MMPler), kalp fibroblastlarının migrasyonunda, yara iyileşmesinde, yeniden modellenme (remodeling), hipertrofide, kalp yetmezliği gelişiminde rol oynar (Guo & Piacentini, 2003). Normal koşullar altında bu süreç transkripsiyon, prekürsör zimojenlerin aktivasyonu, spesifik ESM komponentleri ile interaksiyon ve endojen inhibitörler düzeyinde olmak üzere çok sıkı bir şekilde düzenlenmektedir (Visse & Nagase, 2003). MMP'ler ve onların doku tipi inhibitörleri olan TIMP'ler ESM'nin yeniden modellenmesinden sorumludurlar. MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki dengede meydana gelen değişiklikler patolojik kardiyak yeniden modellenmede önemli roller oynamaktadır (Kobusiak-Prokopowicz & Krzysztolik, 2018). İnsan kalbinde matriks metalloproteinazların Jelatinazlar sınıfına ait MMP-2 ve MMP-9 üyeleri bulunduğu bilinmektedir. Bu enzimler denatüre kolajen ve jelatinleri parçalamanın yanında Troponin I ve miyozin hafif zincirini parçalama özelliğine sahiptirler (Visse & Nagase, 2003). 72 kDa jelatinaz A olarak adlandırılan MMP-2 ve 92 kDa jelatinaz B olarak adlandırılan MMP-9 farklı hücrelerde sentez edilmektedirler. MMP-2, esas olarak fibroblastlar, endotel hücreleri ve osteoblastlar tarafından embriyonik dönemden itibaren sentez edilirken MMP-9, tümoral hücreler, keratinositler ve bazı epitel hücreleri tarafından üretilir (Rouet-Benzineb vd., 1999). Son yıllarda deney hayvanlarında yapılan çeşitli araştırmalar MMP-2 ve MMP-9'un kardiyovasküler sistemin patolojik koşullarındaki rollerinin araştırılması üzerinde yoğunlaşmıştır (Dollery & Libby, 2006). Örneğin iskemik bir durumda reperfüzyonun ilk birkaç saniyesinde, aterosklerozda lezyon başlangıcı ve ilerlemesi dahil olmak üzere her evrede hem proMMP-2 hem aktif MMP-2 ekspresyon ve aktivitelerinin

arttığı bildirilmiştir (Wilson, Evans, Bell, & Thompson, 2005). Bizim laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada, tavşanlarda bütyonin sülfoksimin (BSO) ile oluşturulan oksidatif stres modelinde, kalp dokusunda, jelatinaz yöntemi ile proMMP-2 ve MMP-2'nin ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir (Sevin vd., 2013). Genel olarak deney hayvanlarında yürütülen çalışmalar, iskemi-reperfüzyon hasarı başta olmak üzere, miyokardın kontraktıl fonksiyonlarında meydana gelen hasarda rolü olan baskın jelatinazın MMP-2 olduğuna işaret etmektedir (Ali, Fan, & Schulz, 2011; Castro, Cena, Cho, Walsh, & Schulz, 2012). Chan ve arkadaşları (Chan vd., 2019) yakın zamanda yaptıkları bir çalışmada, miyokardın iskemi-reperfüzyon hasarı patojenezinde MMP-2'nin Junktofilin-2'nin (JPH-2) proteolizisine neden olarak kardiyak ekzitasyon-kontraksiyon kenetinin bozulmasına neden olabileceği ortaya koymuşlardır. Junktofilin-2, kardiyomiyositlerde kalsiyuma bağlı-kalsiyum salıverişini koordine eden bir membran proteinidir. Araştırmacılar, JPH-2'nin kalsiyuma bağlı-kalsiyum salıverilişindeki önemi nedeniyle MMP-2 ile bu molekülün proteolizisinin engellemesinin iskemik kalp hasarında koruyucu olabileceğine işaret etmişlerdir. MMP-2 enziminin kalp yetmezliğindeki rolünü ortaya çıkarmak üzere insanlarda da araştırmalar yapılmaktadır. Zhao ve arkadaşları 2014 yılında insan transplantlarında yaptıkları bir çalışmada, kalp yetmezliği olan dokularda MMP-2 aktivitesinin 4 kat arttığını, buna karşılık MMP-9'daki artışın anlamlı olmadığını göstermişlerdir (Zhao vd., 2014). Yakın zamanda yapılan bir araştırmada ise MMP-2 ve TIMP-2 serum düzeylerinin, KYkEF ve KYdEF hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bildirmiştir (Kobusiak-Prokopowicz & Krzysztofik, 2018). Tromp ve ark (Tromp vd., 2018) tarafından son yıllarda yapılan bir araştırmada, NT-proBNP başta olmak üzere çeşitli biyomarkırların network analizleri ekstrasellüler matriks organizasyonunun korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu (KYkEF) hastalardaki biyolojik süreçlerde önemli olabileceğini ortaya koymuştur.

Bu bulgulardan yola çıkarak, çalışmamızda KYkEF ve KYdEF hastalarının sağ atriyumlarından aldığımız trabeküllerin homojenatlarında MMP-2 ekspresyon düzeylerini jelatin zimografi yöntemi ile inceledik. Çalışmamızda, proMMP-2 enzim ekspresyonu KYkEF (EF>40) grubunda, KYdEF (EF≤40) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır (Şekil 14). Bulgumuz, KYkEF ve KYdEF gruplarında, insan sağ atriyum trabeküllerinde proMMP-2 ekspresyon artışının karşılaştırmalı olarak jelatin zimografi yöntemi ile doğrudan ölçülerek belirlenmesi

açısından literatürde bir ilk olma özelliği taşımaktadır. Elde ettiğimiz bu sonuç, literatür ile uyumlu olarak, KYkEF’de görülen miyokardiyal sertleşme ve hipertrofik kardiyomyopatiye MMP-2 enzimlerinin rolünün olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda, jelatin zimografi görüntülerinde aktif MMP-2 bandı gözlenmemiştir. Bu durum, doku tipi matriks metalloproteinaz inhibitörü olan TIMP-2’nin aktif MMP-2 formunu spesifik olarak inhibe ettiğini düşündürmektedir. Yüksek proMMP-2 ekspresyon düzeyleri, KYkEF örneklerinde kontraktıl disfonksiyonun önemli belirleyicisi olarak değerlendirilebilir. MMP-9 ekspresyon düzeylerinde ise KYkEF ile KYdEF örnekleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 15 ve Şekil 16). Bu durum da MMP-9’nin kalp yetmezliğinde birinci derecede önemli olan bir MMP olmayabileceğini düşündürmektedir.

Kollajen kaynaklı MMP-2’lerin dokulardaki lokal aktivitesi doku tipi matriks metalloproteinaz inhibitörü olan TIMP-2 ile spesifik olarak inhibe edilmektedir (Visse & Nagase, 2003). Yukarıda da belirtildiği gibi Kobusiak ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada TIMP-2 serum düzeylerinin, KYkEF ve KYdEF hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bildirmiştir (Kobusiak-Prokopowicz & Krzysztófik, 2018). İnsan sağ atriyum trabekülleri ile yaptığımız bu çalışmada da proMMP-2 ekspresyonları ile TIMP-2 ekspresyonları arasında paralel bir artış olduğu görülmektedir ayrıca aktif MMP-2 bandı gözlenmemiştir (Şekil 18). Önceki çalışmalardan elde edilen veriler MMP-2’nin proinflamatuvar sitokinler ile uzun süreli stimülasyonu sonucu (Nalawansha, Dhanusha A. Pflum, 2017) MMP-2 ekspresyonunun arttığını bildirmektedir. Bu duruma koşut olarak TIMP-2 ekspresyonunun artmış olabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak, araştırmamızda, insan atriyal trabeküllerin kontraktıl fonksiyonunu araştırmak için yaptığımız organ banyosu çalışmalarında KYkEF hasta grubundan elde edilen doku örneklerinin kasılma yanıtlarının, KYdEF hasta grubundan elde edilen doku örneklerinin kasılma yanıtlarının, KYdEF hasta grubundan elde edilen doku örneklerinin kasılma yanıtlarından istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde az; buna karşılık proMMP-2 ekspresyonlarının ise KYkEF hasta grubunda KYdEF hasta grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazla olduğu ortaya konmuştur. Bu bulgular, artmış proMMP-2 ekspresyonunun KYkEF hasta grubundaki atriyal doku örneklerindeki kontraktıl disfonksiyondan sorumlu olabileceğini düşündürmektedir (Hughes & Schulz, 2014). Çalışmamızda aktif MMP-2 bandının görülmemesi artmış

TIMP-2 ekspresyonu ile ilişkili olabilir. Benzer şekilde TIMP-2 ekspresyonu, artmış MMP-2 ekspresyonunu inhibe etmek üzere artıyor ise, TIMP-2, kontraktıl disfonksiyon kaynaklı kardiyovasküler hastalıklarda önemli bir hedef olabilecektir.



Sonuç ve Öneriler

Kardiyovasküler hastalıklar uzun zamandan bu yana insan hayatını tehdit eden rahatsızlık olmaya devam etmektedir. Çalışmamızda kalp yetmezliği tanısı alan hastalar KYkef ve KYdef olarak iki gruba ayrılmış ve bu iki gruptan elde edilen atriyal trabeküllerin beta reseptörler üzerinden gelişen kontraktıl fonksiyonları karşılaştırılmıştır. Ayrıca sözü edilen iki tip kalp yetmezliği arasında kardiyak yeniden yapılanma ve kontraktıl disfonksiyonda rol oynayan matriksmetalloproteinaz enzim ailesinden jelatinaz alt grubuna dahil olan MMP-2 ve MMP-9 ile TIMP-2 ekspresyon düzeyleri araştırılmıştır. Sonuçlar KYkef hasta grubunda artan proMMP-2 ekspresyonuna paralel olarak TIMP-2 ekspresyonunun da arttığını ortaya koymaktadır. Bu araştırmadan elde edilen söz konusu veriler kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yeni bir hedef olarak MMP-2 ve TIMP-2'nin önemini düşündürmektedir.

Kaynaklar

- Ali, M. A. M., Fan, X., & Schulz, R. (2011). Cardiac Sarcomeric Proteins: Novel Intracellular Targets of Matrix Metalloproteinase-2 in Heart Disease. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 21(4), 112–118. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2012.03.008>
- Balligand, J. L. (2016). Cardiac salvage by tweaking with beta-3-Adrenergic Receptors. *Cardiovascular Research*, 111(2), 128–133. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvw056>
- Balligand, J. L., & Michel LYM. (2017). Letter by Balligand and Michel Regarding Article, “Adrenergic Receptors in Individual Ventricular Myocytes: the Beta-1 and Alpha-1B Are in All Cells, the Alpha-1A Is in a Subpopulation, and the Beta-2 and Beta-3 Are Mostly Absent”. *International Journal of Phytoremediation*, 20(1), 135–136. <https://doi.org/10.1080/13518040701205365>
- Battista, N. A., Lane, A. N., Liu, J., & Miller, L. A. (2018). Fluid dynamics in heart development: Effects of hematocrit and trabeculation. *Mathematical Medicine and Biology*, 35(4), 493–516. <https://doi.org/10.1093/imammb/dqx018>
- Becker, J. W., Marcy, A. I., Rokosz, L. L., Axel, M. G., Burbaum, J. J., Fitzgerald, P. M. D., ... Springer, J. P. (1995). Stromelysin-1: Three-dimensional structure of the inhibited catalytic domain and of the C-truncated proenzyme. *Protein Science*, 4(10), 1966–1976. <https://doi.org/10.1002/pro.5560041002>
- Boixel, C., Fontaine, V., Rücker-Martin, C., Milliez, P., Louedec, L., Michel, J. B., ... Hatem, S. N. (2003). Fibrosis of the left atria during progression of heart failure is associated with increased matrix metalloproteinases in the rat. *Journal of the American College of Cardiology*, 42(2), 336–344. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(03\)00578-3](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(03)00578-3)
- Bone, U., Steller, E., Warner, J. F., Harpole, M. G., & Crerar, L. D. (2017). Western Blot Techniques, 1606, 205–217. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6990-6>
- Castro, M. M., Cena, J., Cho, W. J., Walsh, M. P., & Schulz, R. (2012). Matrix metalloproteinase-2 proteolysis of calponin-1 contributes to vascular hypocontractility in endotoxemic rats. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 32(3), 662–668.

<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.242685>

- Castro, M. M., Kandasamy, A. D., Youssef, N., & Schulz, R. (2011). Matrix metalloproteinase inhibitor properties of tetracyclines: Therapeutic potential in cardiovascular diseases. *Pharmacological Research*, *64*(6), 551–560. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2011.05.005>
- Chan, B. Y. H., Roczkowsky, A., Cho, W. J., Poirier, M., Lee, T. Y. T., Mahmud, Z., & Schulz, R. (2019). Junctophilin-2 is a target of matrix metalloproteinase-2 in myocardial ischemia–reperfusion injury. *Basic Research in Cardiology*, *114*(6). <https://doi.org/10.1007/s00395-019-0749-7>
- Chaudhry, S. P., & Stewart, G. C. (2016). Advanced Heart Failure: Prevalence, Natural History, and Prognosis. *Heart Failure Clinics*, *12*(3), 323–333. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2016.03.001>
- Chou, R. H., Huang, P. H., Hsu, C. Y., Chang, C. C., Leu, H. B., Huang, C. C., ... Lin, S. J. (2016). Circulating fibroblast growth factor 21 is associated with diastolic dysfunction in heart failure patients with preserved ejection fraction. *Scientific Reports*, *6*(May), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep33953>
- Christ, T., Molenaar, P., Klenowski, P. M., Ravens, U., & Kaumann, A. J. (2011). Human atrial β 1L-adrenoceptor but not β 3- adrenoceptor activation increases force and Ca²⁺ current at physiological temperature. *British Journal of Pharmacology*, *162*(4), 823–839. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00996.x>
- de Lucia, C., Eguchi, A., & Koch, W. J. (2018). New insights in cardiac β -Adrenergic signaling during heart failure and aging. *Frontiers in Pharmacology*, *9*(AUG), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00904>
- Dollery, C. M., & Libby, P. (2006). Atherosclerosis and proteinase activation. *Cardiovascular Research*, *69*(3), 625–635. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.11.003>
- El-Sherief, A. H., Wu, C. C., Schoenhagen, P., Little, B. P., Cheng, A., Abbara, S., & Roselli, E. E. (2013). Basics of cardiopulmonary bypass: Normal and abnormal postoperative ct appearances. *Radiographics*, *33*(1), 63–72. <https://doi.org/10.1148/rg.331115747>

- Fan, C., Meng, Y., & Guo, F. (2019). Fuziline alleviates isoproterenol - induced myocardial injury by inhibiting ROS - triggered endoplasmic reticulum stress via PERK / eIF2 α / ATF4 / Chop pathway, (October), 1–13. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14803>
- Gazewood, J. D., & Turner, P. L. (2017). Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: Diagnosis and Management. *American family physician*, 96(9), 582–588.
- Guo, C., & Piacentini, L. (2003). Type I Collagen-induced MMP-2 Activation Coincides with Up-regulation of Membrane Type 1-Matrix Metalloproteinase and TIMP-2 in Cardiac Fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 278(47), 46699–46708. <https://doi.org/10.1074/jbc.M307238200>
- Hughes, B. G., & Schulz, R. (2014). Targeting MMP-2 to treat ischemic heart injury. *Basic Research in Cardiology*, 109(4). <https://doi.org/10.1007/s00395-014-0424-y>
- Hunt, S. A., Abraham, W. T., Chin, M. H., Feldman, A. M., Francis, G. S., Ganiats, T. G., ... Tarkington, L. G. (2009). 2009 focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 guidelines for the diagnosis and management of heart failure in adults: A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines: Develop. *Circulation*, 119(14). <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192065>
- Inoue, N., Takeshita, S., Gao, D., Ishida, T., Kawashima, S., Akita, H., ... Yokoyama, M. (2001). Lysophosphatidylcholine increases the secretion of matrix metalloproteinase 2 through the activation of NADH/NADPH oxidase in cultured aortic endothelial cells. *Atherosclerosis*, 155(1), 45–52. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(00\)00530-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(00)00530-X)
- Iwano, H., & Little, W. C. (2013). Heart failure: What does ejection fraction have to do with it? *Journal of Cardiology*, 62(1), 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2013.02.017>
- Iyngkaran, P., Liew, D., Neil, C., Driscoll, A., Marwick, T. H., & Hare, D. L. (2018). Moving From Heart Failure Guidelines to Clinical Practice: Gaps Contributing to Readmissions in Patients With Multiple Comorbidities and Older Age. *Clinical*

Medicine Insights: Cardiology, 12. <https://doi.org/10.1177/1179546818809358>

Janel, N., & Noll, C. (2013). *Protection and Reversal of Hepatic Fibrosis by Polyphenols. Polyphenols in Human Health and Disease* (C. 1). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00051-7>

John R. Giudicessi, BA. Michael J. Ackerman., 2013. (2008). Global Cardiovascular Reserve Dysfunction in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Bone*, 23(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>

Joseph, S. S., Lynham, J. A., Grace, A. A., Colledge, W. H., & Kaumann, A. J. (2004). Markedly reduced effects of (-)-isoprenaline but not of (-)-CGP12177 and unchanged affinity of β -blockers at Gly389- β 1-adrenoceptors compared to Arg389- β 1-adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*, 142(1), 51–56. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705753>

Kayki-Mutlu, G., Karaomerlioglu, I., Arioglu-Inan, E., & Altan, V. M. (2019). Beta-3 adrenoceptors: A potential therapeutic target for heart disease. *European Journal of Pharmacology*, 858(June), 172468. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172468>

Kobusiak-Prokopowicz, M., & Krzysztofik, J. (2018). MMP-2 and TIMP-2 in patients with heart failure and chronic kidney disease. *Open Medicine (Poland)*, 13(1), 237–246. <https://doi.org/10.1515/med-2018-0037>

Lafleur, M. A., Handsley, M. M., & Edwards, D. R. (2003). Metalloproteinases and their inhibitors in angiogenesis. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 5(23), 1–39. <https://doi.org/10.1017/S1462399403006628>

Lampert, F. M., Matt, P., Grapow, M., Lefkovits, I., Zerkowski, H. R., & Grussenmeyer, T. (2007). “Turnover proteome” of human atrial trabeculae. *Journal of Proteome Research*, 6(11), 4458–4468. <https://doi.org/10.1021/pr0704229>

Lefkowitz, R. J., Rockman, H. A., & Koch, W. J. (2000). Catecholamines, Cardiac Beta Adrenergic Receptors, and Heart Failure, 11, 1634–1637.

Lindsey, M. L., Goshorn, D. K., Squires, C. E., Escobar, G. P., Hendrick, J. W., Mingoia, J. T., ... Spinale, F. G. (2005). Age-dependent changes in myocardial matrix metalloproteinase/tissue inhibitor of metalloproteinase profiles and

- fibroblast function. *Cardiovascular Research*, 66(2), 410–419.
<https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2004.11.029>
- Lohse, M. J., Engelhardt, S., & Eschenhagen, T. (2003). What Is the Role of β -Adrenergic Signaling in Heart Failure? *Circulation Research*, 93(10), 896–906.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000102042.83024.CA>
- MacIver, D. H. (2012). The relative impact of circumferential and longitudinal shortening on left ventricular ejection fraction and stroke volume. *Experimental and Clinical Cardiology*, 17(1), 5–11.
- Magid, N. M., Borer, J. S., Young, M. S., Wallerson, D. C., & DeMonteiro, C. (1993). Suppression of protein degradation in progressive cardiac hypertrophy of chronic aortic regurgitation. *Circulation*, 87(4), 1249–1257.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.87.4.1249>
- Massie, B. M., & Shah, N. B. (1997). Evolving trends in the epidemiologic factors of heart failure: Rationale for preventive strategies and comprehensive disease management. *American Heart Journal*, 133(6), 703–712.
[https://doi.org/10.1016/S0002-8703\(97\)70173-X](https://doi.org/10.1016/S0002-8703(97)70173-X)
- Nalawansha, Dhanusha A. Pflum, M. K. (2017). Matrix Metalloproteinases in Myocardial Infarction and Heart Failure. *Physiology & behavior*, 176(5), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Noji, Y., Shimizu, M., Ino, H., Higashikata, T., Yamaguchi, M., Nohara, A., ... Mabuchi, H. (2004). Increased Circulating Matrix Metalloproteinase-2 in Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy with Systolic Dysfunction. *Circulation Journal*, 68(4), 355–360. <https://doi.org/10.1253/circj.68.355>
- Noma, T., Lemaire, A., Prasad, S. V. N., Barki-harrington, L., Tilley, D. G., Chen, J., ... Rockman, H. A. (2007). transactivation of the EGFR confers cardioprotection. *the Journal of Clinical Investigation*, 117(9), 2445–2458.
<https://doi.org/10.1172/JCI31901.extracellular>
- O.Zitka, J. K. (2010). Matrix Metalloproteinases. *Current Medicinal Chemistry*, 3751–3768.
- O’Neal, W. T., Sandesara, P., Patel, N., Venkatesh, S., Samman-Tahhan, A., Hammadah, M., ... Soliman, E. Z. (2017). Echocardiographic predictors of atrial

- fibrillation in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *European Heart Journal Cardiovascular Imaging*, 18(7), 725–729. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jex038>
- Pitt, B. (2014). Spironolactone for heart failure with preserved ejection fraction. *New England Journal of Medicine*, 371(2), 179–182. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1405715>
- Ponikowski, P., Voors, A. A., Anker, S. D., Bueno, H., Cleland, J. G. F., Coats, A. J. S., ... Document Reviewers. (2016). 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure The. *European Journal of Heart Failure*, 18(8), 891–975. <https://doi.org/10.1002/ejhf.592>
- Reddy, Y. N. V., & Borlaug, B. A. (2016). Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Current Problems in Cardiology*, 41(4), 145–188. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2015.12.002>
- Reel, B. (2006). Matrix Metalloproteinases And Atherosclerosis: Review. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 26(5), 527–537.
- Rouet-Benzineb, P., Buhler, J. M., Dreyfus, P., Delcourt, A., Dorent, R., Perennec, J., ... Lafuma, C. (1999). Altered balance between matrix gelatinases (MMP-2 and MMP-9) and their tissue inhibitors in human dilated cardiomyopathy: Potential role of MMP-9 in myosin-heavy chain degradation. *European Journal of Heart Failure*, 1(4), 337–352. [https://doi.org/10.1016/S1388-9842\(99\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S1388-9842(99)00048-3)
- Sevin, G., Ozsarlak-Sozer, G., Keles, D., Gokce, G., Reel, B., Ozgur, H. H., ... Kerry, Z. (2013). Taurine inhibits increased MMP-2 expression in a model of oxidative stress induced by glutathione depletion in rabbit heart. *European Journal of Pharmacology*, 706(1–3), 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.02.052>
- Slawomir M. Wojtowicz-Praga, R. B. D. and M. J. H. (2006). Matrix Metalloproteinase Inhibitors. *Encyclopedia of Respiratory Medicine, Four-Volume Set*, 9–18. <https://doi.org/10.1016/B0-12-370879-6/00243-X>
- Tokgözoğlu, L., & Yılmaz, M. B. (2019). TÜRKİYE’DE KALP YETERSİZLİĞİ YOL HARİTASI Kalp yetersizliğinin ve buna bağlı ölümlerin önlenmesi amacıyla geliştirilebilecek politikalara ilişkin öneriler, 2–29.
- Tromp, J., Westenbrink, B. D., Ouwerkerk, W., van Veldhuisen, D. J., Samani, N. J.,

Ponikowski, P., ... Voors, A. A. (2018). Identifying Pathophysiological Mechanisms in Heart Failure With Reduced Versus Preserved Ejection Fraction. *Journal of the American College of Cardiology*, 72(10), 1081–1090. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.06.050>

TÜİK. (2018). Ölüm Nedeni İstatistikleri, 2018, 2017–2018.

Visse, R., & Nagase, H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry. *Circulation Research*, 92(8), 827–839. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D>

Wilson, W. R. W., Evans, J., Bell, P. R. F., & Thompson, M. M. (2005). HMG-CoA reductase inhibitors (Statins) decrease MMP-3 and MMP-9 concentrations in abdominal aortic aneurysms. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 30(3), 259–262. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2005.02.044>

Zhao, S., Wu, H., Xia, W., Chen, X., Zhu, S., Zhang, S., ... Zhang, J. (2014). Periostin expression is upregulated and associated with myocardial fibrosis in human failing hearts. *Journal of Cardiology*, 63(5), 373–378. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2013.09.013>

Zhou, B., & Tian, R. (2018). Mitochondrial dysfunction in pathophysiology of heart failure. *Journal of Clinical Investigation*, 128(9), 3716–3726. <https://doi.org/10.1172/JCI120849>

Ekler



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel : 0 232 390 2134 e-mail: tibbietik@yahoo.com.
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

| | | | | | | |
|--|--|---|-----------|---|---|------|
| BAŞVURU BİLGİLERİ | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI | Düşük ve Korunmuş Ejeksiyon Fraksiyonlu Koroner Arter Hastalığı Olan Hastaların Sağ Atriyum Dokularında Kontraktik Aktivite ve Komponentleri, MMP-2 Aktivitesi, b-reseptör Yanıtları ve Sitokin Profili İlişkinin İncelenmesi | | | | |
| | ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU | - | | | | |
| | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI | Prof. Dr. Tahir YAĞDI | | | | |
| | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI | Kalp Damar Cerrahisi | | | | |
| | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ | Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı | | | | |
| | DESTEKLEYİCİ | TÜBİTAK / BAP | | | | |
| | PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için) | - | | | | |
| | DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ | - | | | | |
| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER | Belge Adı | Tarihi | | | | |
| | ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU | - | | | | |
| | BİLGİLENDİRME FORMU | - | | | | |
| | VERİ İZLEME FORMU/ ANKET | <input type="checkbox"/> | | | | |
| | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ | <input checked="" type="checkbox"/> | | | | |
| Diğer | <input type="checkbox"/> | | | | | |
| KARAR BİLGİLERİ | Karar Nu: 19-12T/ 30 | Tarih: 11.12.2019 | | | | |
| | Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. | | | | | |
| EGE ÜNİVERSİTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU | | | | | | |
| ÇALIŞMA ESASI | | Ege Üniversitesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu | | | | |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI: | | Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU | | | | |
| Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliliği | Uzmanlık Dalı | Kurumu | Cinsiyeti | İlişki (*) | Katılım (**) | İmza |
| Prof. Dr. Aliye MANDIRACIOĞLU Başkan | Halk Sağlığı AD | Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD | K | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |
| Prof. Dr. Şafak DAĞHAN Başkan Yardımcısı | Halk Sağlığı Hemşireliği AD. | Ege Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD | K | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |
| Prof. Dr. Sadık AKŞİT Üye | Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları | Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları AD | E | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:
Prof. Dr. Aliye
MANDIRACIOĞLU

İMZA

Araştırma Başvurusu Onay Belgesi

Sayı:

1/2



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel: 0 232 390 2134 e-mail: tibbietik@yahoo.com.
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

| | |
|-------------------------|---|
| ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI | Düşük ve Korunmuş Ejeksiyon Fraksiyonlu Koroner Arter Hastalığı Olan Hastaların Sağ Atriyum Dokularında Kontraktik Aktivite ve Komponentleri, MMP-2 Aktivitesi, b-reseptör Yanıtları ve Sitokin Profili İlişkisinin İncelenmesi |
| ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU | |

| KARAR BİLGİLERİ | | Karar Nu: 19-121/ 30 | | | | |
|--|--|--|-----------|---|---|----------------------|
| Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği | Uzmanlık Dalı | Kurumu | Cinsiyeti | İlişki (*) | Katılım (**) | İmza |
| Prof. Dr. Ayhan DÖNMEZ Üye | İç Hastalıkları | Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı | E | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |
| Prof. Dr. Murat ULUKUŞ Üye | Kadın Hastalıkları ve Doğum | Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı | E | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |
| Prof. Dr. Ceyda KABAROĞLU Üye | Klinik Biyokimya BD. | Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD. Klinik Biyokimya BD. | K | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |
| Prof. Dr. Özen Önen SERTÖZ Raportör Üye | Ruh Sağlığı ve Hastalıkları | Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı | K | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |
| Prof. Dr. Günay YETİK ANACAK Üye | Farmakoloji | Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD | K | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |
| Prof. Dr. H. Oya TÜRKÖĞLU ÇAKAL Üye | Periodontoloji | Ege Üniversitesi Diş Hek. Fakültesi Periodontoloji AD | K | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | TOPLANTIYA KATILMADI |
| Doç. Dr. Recı MESERİ Üye | Beslenme ve Diyetetik AD | Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik AD | K | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |
| Doç. Dr. Tahir ATİK Üye | Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları | Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve | E | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |
| Doç. Dr. Tolga AKŞİT Üye | Antrenörlük Eğitimi - Hareket ve Antrenman Bilimleri | Ege Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi Hareket ve Antrenman Bilimleri AD | E | <input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H | <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H | |

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

| | | | | | |
|---|--|----------------------------------|------------|----------------------|-------|
| Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Altye MANDIRACIOĞLU | | Araştırma Başvurusu Onay Belgesi | Belge Kodu | Rev. Tarihi / No.su: | Sayfa |
| | | | 22 | 28.09.2011/05 | 2/2 |

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU
LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Çalışmanın adı “düşük ve korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu koroner arter hastalığı olan hastaların sağ atriyum dokularında kontraktıl aktivite ve komponentleri, MMP-2 aktivitesi, β -reseptör yanıtları ve sitokin profili ilişkisinin incelenmesi” dir.

Çalışmanın amacı kalp yetmezliğinin gelişiminde önemli olan hücresel düzeydeki mekanizmaların araştırılmasıdır.

Bu çalışmaya katılmayı kabul ederseniz kalp ameliyatınız sırasında kanül yerleştirilmesi sırasında uzaklaştırılması gereken sağ kalp dokusundan nohut tanesi kadar bir kısmı alınarak saklanacaktır. Çalışmaya katılmayı kabul ederseniz ameliyattan önce 1 tüp kan örneğiniz olarak saklanacaktır. Sizden alınan (zaten uzaklaştırılacak olan dokulardır) dokularda kalp yetmezliğinin araştırılması için laboratuvar çalışmaları yapılacaktır. Bu laboratuvar sonuçları değerlendirilirken sizin kimlik bilgileriniz verilmeden kullandığımız ilaçlar, mevcut diğer hastalıklarınız ve kan değerleriniz karşılaştırma amaçlı kullanılacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda size yapılacak olan ameliyatın süresinde herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Kan alma işleminiz sırasında ilave 1 tüp daha kan alınması sadece 1-2 dakika sürecektir.

Araştırmaya tahmini olarak 40 gönüllünün katılması beklenmektedir.

Analizler Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı ile Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılacaktır. Dokular yurt dışına gönderilmeyecektir.

Sizden beklediğimiz kan ve kalp dokusu örneklerinizi çalışmamız için kullanmamıza izin vermenizdir. Kan ve kalp dokusu örneklerinin sizden alınması, standart tedaviniz sırasında yapılacaktır. Dolayısıyla bu çalışmaya katılmanız size ilave bir müdahale yapılmasını gerektirmeyecektir.

Yapacağımız analizler kalp hastalığının tedavisinin geliştirilmesi ve ilerlemesinin önlenmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size bir

Fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak yapacağımız çalışmalar ileride bu hastalıktan etkilenmiş bireylerin tedavisine fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına sahipsiniz. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar verirsiniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayarak kan ve kalp dokunuza ait örnekler imha edilecektir.

Çalışmaya katılmak size herhangi bir zarar vermeyecektir. Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar verirsiniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız veya katılmamanız durumunda size uygulanacak tedavi değişmeyecek ve size alternatif bir yöntem uygulanmayacaktır. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme yapılmayacaktır.

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluşa ödetilmeyecektir.

Tüm kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli kalacak, sadece bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.

Bu çalışmanın sorumlusunun iletişim bilgileri

- 1- Adı, soyadı: Prof. Dr. Tahir YAĞDI**
- 2- Ulaşılabilir telefon numarası: +905324638306**
- 3- Görev yeri: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Bornova, 35100, İzmir**

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama

ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bilgilendirilmiş gönüllü olurunun imzalı ve tarihli bir kopyasının bana verileceğini biliyorum.

Gönüllünün;

Adı Soyadı

İmza



OLGU RAPOR FORMU

Çalışmanın Adı: Düşük ve korunmuş ejeksiyon fraksiyonlu koroner arter hastalığı olan hastaların sağ atriyum dokularında kontraktil aktivite ve komponentleri, MMP-2 aktivitesi, β -reseptör yanıtları ve sitokin profile ilişkisinin incelenmesi

AdıSoyadı:

Protokol Numarası:

Tarih:

Yaş:

Cinsiyet:

Boy:

Kilo:

Tamısı:

EF değeri:

Eşlikeden hastalıklar:

Kullandığı ilaçlar:

Olgu No:

YapılacakÇalışmalar:

- *Dokuların çıkarılması*
- İzole Organ Banyosu Çalışmaları
- Dokularda Sitokin profilinin incelenmesi
- Dokularda zimografi yöntemiyle MMP-2/MMP-9 aktivitelerinin incelenmesi
- TIMP-1/TIMP-2 protein düzeylerinin Western Blot ile belirlenmesi
- İmmunhistokimyasal incelemeler
- Kan örneklerinde natriüretik peptid B (BNP) ve NT-proBNP plazma düzeylerinin incelenmesi

Teşekkür

Tez çalışmamın planlanması, uygulanması, ve sonuçlandırılması aşamalarında beni hep destekleyen, kıymetli deneyim ve bilgilerinden severek yararlandığım, eğitimim boyunca ilgisi, sevgisi, güler yüzü ve yardımları ile yanımda olan, danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı başkanı Prof. Dr. Zeliha KERRY'ye,

Tez çalışmam boyunca bana sabırla ve ilgiyle yardımcı olan, kendisine ne zaman danışsam konu, kaynak, yöntem açısından desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Gönen Özşarlak SÖZER'e,

Tez çalışmamın ana ögesi olan preparatlarımızı bize sağlayan, ihtiyacım olan her durumda engin bilgilerini paylaşan, pozitif enerjisi ve samimiyetini benden esirgemeyen Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı Kalp Damar Cerrahisi Prof. Dr. Tahir YAĞDI'ya, Çalışmamıza katkılarından dolayı Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı Uzm. Dr. Emre DEMİR'e

Örneklerin toplanmasında yoğun iş temposuna rağmen bana yardımcı olan Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Kalp Damar Cerrahisi Ana Bilim Dalı sekreteri Aybala BAYBOSTAN'a,

Dokuz Eylül Üniversitesi'nde yaptığımız laboratuvar çalışmalarında bize destek olan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Gülgün OKTAY'a ve değerli bilgileriyle bana yardımcı olan ve çalışmalarına kazandırdığı büyük katkılarından dolayı Dr. Şeniz İnanç'a,

TIMP-2 Primer antikor temini ile çalışmamıza önemli bir katkı sağlayan Ege Üniversitesi Klinik Eczacılık Ana Bilim Dalı başkanı Prof. Dr. Buket REEL'e,

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma ve sevgili arkadaşlarıma,

Çalışmalarım, lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca tolerans ve desteğiyle beni motive eden, gelecek hayatlarında daha başarılı olacaklarına inandığım sevgili arkadaşlarım Kumru TURHAN ve Damla GETBOĞA'ya,

Tüm hayatım boyunca beni hiç yalnız bırakmayan, düştüğümde kaldıran anneme, her zaman arkamda olan babama ve doğduğumdan beri bana her daim arkadaşlık eden abime, yıllardır bana sabırla destek olan, her anımda beni dinleyen, anlayan, ümit

veren, yreklendiren çok sevdiğim eşim Halil İbrahim DURSUN'a yürekten teşekkür ederim.

İzmir, 4.02.2020

Meltem SEZEN



Özgeçmiş

A. KİŞİSEL BİLGİLER

Adı soyadı: Meltem SEZEN

Doğum tarihi: 14.01.1993

Yabancı dil bilgisi: İngilizce

E-posta adres: meltemsezenn@gmail.com

Telefon: 05543963188

B. EĞİTİM BİLGİLERİ

Ege Üniversitesi / Fen Fakültesi

Mezuniyet tarihi: 2016

C. ÖZGEÇMİŞ SAHİBİ

Adı soyadı: Meltem SEZEN

Tarih : 20/11/2019