



**OKSİRESVERATROL'ÜN SIÇANLARDA
İSOPROTERENOL İLE OLUŞTURULAN MİYOKARD
İNFARKTÜSÜ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

Huseyn ALIYEV

Biyokimya Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yasin BAYIR**

Yüksek Lisans Tezi-2022

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**OKSİRESVERATROL'ÜN SIÇANLARDA
İSOPROTERENOL İLE OLUŞTURULAN MİYOKARD
İNFARKTÜSÜ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Huseyn ALIYEV

**Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Yasin BAYIR**

**ERZURUM
2022**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
TABLolar DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kalbin yapısı ve anatomisi.....	3
2.1.2. Kalp histolojisi.....	3
2.1.3. Kalp fizyolojisi	4
2.1.4. Kalp Biyokimyası	4
2.2. Miyokard İnfarktüsü	5
2.2.1. Miyokard İnfarktüs Epidemiyolojisi.....	6
2.2.2. Miyokard İnfarktüs Patogenezi.....	7
2.2.3. Nekroz.....	8
2.2.4. Nekrozun Sebepleri.....	8
2.2.5. Mİ Klinik Belirtileri.....	10
2.2.5.2. Değiştirilebilir Risk Faktörleri.....	10
2.2.5.3. Değiştirilemez Risk Faktörleri	12
2.2.6. Mİ Tehşisi	13
2.2.7. Mİ Tedavisi.....	14
2.2.8. Miyokard İnfarktüsü ve Biyokimyasal Parametreler	15

2.2.8.1. Troponin.....	16
2.2.8.2. Kreatin Kinaz (CK-MB)	17
2.2.8.3. Laktat dehidrojenaz.....	17
2.2.8.4. Aspartat Transaminaz	18
2.2.8.5. Miyogloblin.....	19
2.3. Mİ Modelleri.....	20
2.4. İsoproterenol (İSO)	21
2.4.1. İsoproterenol'e Bağlı Kardiyotoksisite	22
2.5. Doğal Ürünlerin Mİ Üzerindeki Farmakolojik Potansiyelleri	24
2.5.1. Fenolik Bileşiklerin Rolü.....	25
2.6. Stilbenoidler ve KVH	26
2.7. Oksiresveratrol'ün Kimyası.....	27
2.7.1. Oksiresveratrol'ün Biyosentezi.....	28
2.7.2. Kimyasal sentezi	29
2.7.3. Farmakokinetik	30
2.7.4. Oksiresveratrol'ün Farmakolojik Etkileri	30
2.7.4.1. Tirozinaz aktivitesi	31
2.7.4.2. Nöroprotektif ve İskemi Üzerine Etkileri	31
2.7.4.3. Hepatoprotektif Aktivite	32
2.7.4.4. Metabolik Bozukluklar Üzerine Etkileri.....	33
2.7.4.5. Lipid Düzeyleri ve Kolesterol Sentezi Üzerinde Etkileri	34
2.7.4.6. Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkileri.....	35
2.8. Reaktif Oksijen Türleri	38
2.8.1. Süperoksit radikali	39
2.9. Antioksidanlar.....	42

2.9.1. Antioksidan enzimler	43
2.9.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar	46
3. MATERYAL VE METOT.....	48
3.1. Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar	48
3.2. Kullanılan Cihazlar	48
3.5. Tez çalışmasında kullanılan hayvanlar	49
3.5.1. İsopteranol İle Oluşturulan Mİ Modelinin Deneysel Tasarımı	49
3.6. Örneklerin Alınması	50
3.7. CK-MB ve TnI Analizleri.....	50
3.8. Kalp Doku Nümunesinin Biyokimyasal İncelenmesi.....	50
3.8.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini	51
3.8.2. Total Glutasyon (GSH) Aktivite Tayini.....	53
3.8.3. Malondialdehit (MDA) Analizi	54
3.8.4. Protein Tayini	56
3.9. İstatistiksel Analiz.....	57
4. BULGULAR.....	58
4.1. CK-MB Sonuçları	58
4.2. TnI Sonuçları	59
4.3. Süperoksit Dismutaz Miktarı Sonuçları.....	60
4.4. Glutasyon (GSH) Miktarı Sonuçları	61
4.5. Malondialdehit Sonuçları.....	63
5. TARTIŞMA.....	65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	75
KAYNAKLAR	77
EKLER	114

EK-1. ÖZGEÇMİŞ	114
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU.....	115
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	116



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, Sayın danışmanım Prof. Dr. Yasin BAYIR'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca, hep yanımda olduğunu hissettiren, engin bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, ilmiyle ve insani değerleri ile hayatım için bana katkılar sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Abdulmecit ALBAYRAK 'a ve her zaman, her sıkıntıda yanımda olan , insani ve ahlaki değerlerini örnek aldığım çok kıymetli hocam Arş. Gör. Taha TAVACI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Bilgilerini çok cömert bir şekilde bizlerle paylaşan çok değerli hocalarım Prof. Dr. Zekai HALICI, Prof. Dr. Elif ÇADIRCI, Doç. Dr. Nurcan Kılıç BAYGUTALP, Doç. Dr Harun ÜN'a sonsuz teşekkür ediyorum.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana büyük yardımları olan, birlikte çalışmaktan büyük zevk aldığım sevgili arkadaşlarım Nubar NURİYEVA, Ümran YILMAZ'a, desteklerini benden hiç esirgemeyen lisans dönemimdeki arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yoğun eğitim hayatım boyunca başından beri beni büyük sabırla destekleyen, sevgi ve güvenlerini benden esirgemeyen, maddi ve manevi olarak hep yanımda olan aileme, ablalarıma, özellikle anneme ve babama sonsuz sevgi, teşekkür ve şükranlarımı sunmağı bir borç bilirim.

Huseyn ALİYEV

ÖZET

Oksiresveratrol'ün Sıçanlarda İsoptererenol İle Oluşturulan Miyokard İnfarktüsü Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Amaç: Bu çalışmada, sıçanlarda isoproterenol (ISO) ile indüklenen miyokard infarktüsü (Mİ) modelinde Oksiresveratrol'ün kalp dokusunda biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkileri araştırıldı.

Materiyal ve Metod: OXY 5 günlük bir süre boyunca günde bir kez sırasıyla 10 ve 20 mg/kg dozlarda oral gavaj yoluyla uygulandı. 4. ve 5. günlerde OXY tedavisi grubu ve kontrol gruplarına 180 mg/kg ISO ip olarak uygulandı. Son ISO uygulamasından 24 saat sonra anestezi altında kanlar ve kalp dokusu alınarak biyokimyasal çalışmalar için – 80 derece ve formaline aktarıldı. Kandan elde edilen serumda CK-MB ve TnI seviyeleri ölçüldü. Kalp dokusunda ise antioksidan parametreler süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) seviyeleri üzerine değerlendirme yapıldı.

Bulgular: Analiz sonuçlarında sıçan kan serumlarında CK-MB ve TnI gibi kardiyak markerler ve sıçan kalp dokularında SOD, GSH ve MDA düzeyleri gözlemlenmiştir. ISO grubunda MDA, CK-MB ve TnI seviyeleri sağlıklı grupla kıyasladığımızda anlamlı şekilde artmış, SOD ve GSH aktiviteleri ise azalmıştır. ISO + OXY 20 mg ve ISO + OXY 10 mg gruplarını ISO grubu ile karşılaştırdığımızda MDA, CK-MB ve TnI düzeyleri anlamlı şekilde azalmış, SOD ve GSH seviyeleri ise anlamlı bir şekilde artmıştır. Sağlıklı grup ile OXY grubunu birbiri ile kıyasladığımızda CK-MB, TnI, SOD, GSH ve MDA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik fark edilmemiştir.

Sonuç: Kontrol grubunda ISO ile artmış rutin biyokimyasal kardiyak markerlardan CK-MB, TnI, OXY uygulaması ile azaldığı, aynı zamanda ISO uygulaması ile bozulmuş oksidatif stres parametrelerinden SOD, GSH ve MDA' nın OXY tedavisi ile olumlu şekilde modüle ettiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, sonuçlar OXY'nin bilhassa 20 mg/kg dozunda miyokard hasarını önemli ölçüde azalttığını ve bu ajanını kardiyoprotektif etkisinin olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar, İsoptererenol, Kardiyoprotektif, Miyokard İnfarktüsü, Oksiresveratrol, Sıçan.

ABSTRACT

Investigation of the effects of oxiresveratrol on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats

Objective: In this study, the effects of oxiresveratrol on biochemical and histopathological changes in heart tissue were investigated on isoproterenol-induced myocardial infarction (MI) model in rats.

Materials and Methods: OXY was administered by oral gavage at doses of 10 and 20 mg/kg, respectively, once daily for a period of 5 days. On the 4th and 5th days, 180 mg/kg ISO was administered ip to the OXY treatment group and control groups. 24 hours after the last ISO application, blood and heart tissue were taken under anesthesia and transferred to -80 degrees and formalin for biochemical studies. CK-MB and TnI levels were measured in serum obtained from blood. In the heart tissue, antioxidant parameters superoxide dismutase (SOD), Glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) levels were performed.

Results: As a result of the analysis, cardiac markers such as CK-MB and TnI were observed in rat blood serum and SOD, GSH and MDA levels were observed in rat heart tissues. MDA, CK-MB and TnI levels were significantly increased in the ISO group compared to the healthy group, while SOD and GSH activities were decreased. When the ISO + OXY 20 mg and ISO + OXY 10 mg groups were compared with the ISO group, MDA, CK-MB and TnI levels were significantly decreased, while SOD and GSH levels were significantly increased. When the healthy group and the OXY group were compared with each other, no significant change was noticed in the levels of CK-MB, TnI, SOD, GSH and MDA.

Conclusion: In the control group, it was observed that the routine biochemical cardiac markers CK-MB, TnI, and OXY increased with ISO, and decreased with the application of ISO, while the oxidative stress parameters SOD, GSH and MDA, which were impaired by ISO application, were positively modulated by OXY treatment. In conclusion, the results show that OXY significantly reduces myocardial damage, especially at a dose of 20 mg/kg, and that this agent has a cardioprotective effect.

Keywords: Antioxidants, Cardioprotective, Isoproterenol, Myocardial Infarction, Oxiresveratrol, Rat.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ACE	: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
ALT	: Alanin Aminotransferaz
ATADEM	: Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
ATP	: Adenozin trifosfat
BSA	: Sığır Serum Albumin
CDK4	: Siklin Dependant Kinaz 4
CK-MB	: Kreatin Kinaz MB
COX	: Siklooksijenaz
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DTNB	: 5,5-ditriyobis-(2- nitrobenzoic asit)
EKG	: Elektrokardiyografi
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ET-1	: Endotelin-1 Reseptörü
EtOH	: Etanol
GSH	: Glutatyon
HepG₂	: Hepatoma Hücreleri
HO₂⁻	: Peroksil
İL-6	: İnterlökin-6
İL-8	: İnterlökin-8
MnSOD	: Mangenez Süperoksit Dismutaz
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
ER	: Östrojen Reseptörü

FAD	: Flavın Adenin Dinükleotid
iNOS	: Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
İp	: İnteraperitoneal
İSO	: İsopterenol
KKH	: Koroner Kalp Hastalığı
KKY	: Koroner Kalp Yetmezliğı
KVH	: Kardiyovasküler Hastalıklar
LDH	: Laktat Dehidrojenaz
LPS	: Lipopolisakarid
MDA	: Malondialdehit
Mİ	: Miyokard İnfarktüsü
MİN 6	: Sıçan İnsulinoma Hücreleri 6
m-RNA	: Mesajcı Ribo Nukleik Asit
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NBT	: Nitrobulue tetrazolim
NF	: Nükleer Faktör
NF�B	: Nükleer Faktör Kappa B
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NO	: Nitrik Oksit
NSTEMİ	: ST Elevasyonu Olmayan Miyokard infarktüsü
O₂⁻	: Süperoksid radikali
OH	: Hidroksil
ONOO⁻	: Peroksinitrit
OXY	: Oksiresveratrol

PCI	: Perkutan Koroner Müdahale
PGE2	: Prostaglandin2
PLP	: Piridoksal Fosfat
PPAR-a	: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor
RNA	: Ribo nükleik asit
RO	: Alkoksil radikali
ROO	: Peroksil radikali
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SD	: Standart sapma
SOD	: Süperoksit dismutaz
STEMİ	: ST Elevasyonlu Miyokard İnfarktüsü
TAAR-1	: Amin İle İlişkili Reseptör 1
TGF-β1	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü β1
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör α
TnI	: Troponin I
UV	: Ultraviole
YKD	: Yüksek Kolestrollü Diyet

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Kreatin Kinazın kataliz ettiği reaksiyon	17
Şekil 2.2. Laktat Dehidrojenaz enziminin kataliz ettiği reaksiyon.....	18
Şekil 2.3. AST enziminin kataliz ettiği reaksiyon	19
Şekil 2.4. Miyoglobinin kimyasal yapısı	20
Şekil 2.5. İsoptererenol'ün Kimyasal Yapısı.....	22
Şekil 2.6. İSO'nun neden olduğu Kardiyotoksisite	24
Şekil 2.7. Bitkilerdeki Doğal Bileşikler.....	26
Şekil 2.8. Bazı Stilbenoidlerin Kimyasal Yapı Benzerlikleri	27
Şekil 2.9. Mulberosside A ve Oksiresveratrol ilişkileri.....	28
Şekil 2.10.. Oksiresveratrol'ün Biyosentezi	29
Şekil 2.11. Oksiresveratrol'ün Kimyasal Sentezi	29
Şekil 2.12. Ksantin Oksidaz	42
Şekil 2.13. Glutasyon molekülü	47
Şekil 4.1. CK-MB sonuçlarının grafiği	59
Şekil 4.2. TnI sonuçlarının grafiği.....	60
Şekil 4.3. SOD aktivitesi grafikte tarif edilmesi.....	61
Şekil 4.4. GSH seviyelerinin grafikte tarif edilmesi.....	63
Şekil 4.5. MDA seviyelerinin grafikte tarif edilmesi.	64

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Sıçanların gruplar halinde ayrılması ve deney planı.....	50
Tablo 4.1. CK-MB sonuçları.....	58
Tablo 4.2. TnI sonuçları	60
Tablo 4.3. OXY Süperoksit Dismutaz aktivitesi.....	61
Tablo 4.4. OXY Glutasyon miktarı.	62
Tablo 4.5. OXY Malondialdehit seviyeleri.....	64

1. GİRİŞ

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), küresel ölümlerin %30'unu ve küresel hastalık yükünün %10'unu oluşturan bir halk sağlığı sorunudur¹. Türkiye nüfusu ise giderek artan bulaşıcı olmayan hastalıklar riski ile karşı karşıya kalmaktadır. Bulaşıcı olmayan hastalıkların toplam ölümlerin %86'sını oluşturduğu tahmin edilmektedir ve yaklaşık olarak her beş kişiden biri erken ölmektedir². 2018'de ölümlerin %19,6'sı kanserden, %39,7'si KVH'lardan kaynaklanmıştır. 2030 yılına kadar KVH ölüm oranının erkeklerde $\approx 2,3$ kat, kadınlarda 1,8 kat artması beklenmektedir. Türkiye Avrupa'da en yüksek KVH ölüm oranına sahip ülkeler arasındadır³. KVH içinde en önemli yere sahip ve en çok ölümlerden sorumlu olan miyokard infarktüsüdür (Mİ). Mİ kalp dokusunun ani iskemik ölümü ile bilinen bir hastalıktır. Klinik olarak, miyokard infarktüsü kalbi besleyen koroner damarın trombotik tıkanmasından kaynaklanmaktadır. İskemiye uğrayan kalp dokusunda derin iyonik ve biyokimyasal bozulmalar ortaya çıkmakta ve bu da sistolik fonksiyonun depresyonu ile sonuçlanmaktadır. Metabolik reaksiyonların bozulması mitokondrial değişikliğe yol açmakta ve bu da kardiyomiyositlerin apoptoz ve nekrozuna sebep olmaktadır⁴.

Mİ tedavisinde ağrı kesiciler, beta blokörler, ACE inhibitörleri, lipid düşürücü, antiagregan ve antikoagülan etkili ilaçlar kullanılmaktadır.⁵ Yalnız bu ilaç gruplarının istenmeyen etkilerinin olması tedavinin seyrini olumsuz etkilemektedir. Bu yüzden son zamanlarda daha az yan etkiye sahip doğal moleküllerin Mİ üzerine terapötik yaklaşımları araştırmacılar tarafından incelenmektedir.^{6 7}. Araştırmaların yapılması için hayvanlar üzerinde Mİ modelleri çeşitli yöntemlerle oluşturulmaktadır. Bu yöntemlerin içinde en sık kullanılanları İSO (İsoproterenol) ile indüklenen ve sol koroner oklüzyona bağlı sıçanlarda oluşturulan Mİ modelidir. Sol koroner oklüzyona bağlı Mİ modeli cerrahi yöntemlerle yapılmaktadır⁸. Model oluşturulduğu zaman hayvanın daha çok hasar alması

ve iş gücünün fazla olması nedeniyle bu yöntem tercih edilmemektedir. Bir β -adrenerjik agonist olan isoproterenol deneysel çalışmalarda iskemik kalp hasarına neden olmaktadır. İSO uygulanması ile birlikte kalbin kasılma gücü ve sayısı artmakta, bu ise kalp dokusunun oksijen ihtiyacının açığa çıkmasına neden olmaktadır. Artmış oksijen ihtiyacı sonucu oluşan reaktif oksijen, lipid membranının bozulmasına ve Mİ benzeri bir tablonun ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu ise yeni moleküllerin etkilerini incelemek için araştırmalarda deneysel model olarak sıkça kullanılmaktadır⁹. İSO ile oluşturulan Mİ modelinde İSO İP (İntraperitoneal) uygulandığı için bu model herhangi bir cerrahi işlem gerektirmemektedir. Cerrahi işlem yapılmadığı için bu yöntemin daha pratik ve etik olduğu kabul edilmektedir. Tüm bu avantajları göz önünde bulundurarak İSO ile oluşturulan Mİ modeli tarafımızca tercih edilmiştir.

Mİ tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkileri nedeniyle son yüzyılda alternatif doğal kökenli ilaç çalışmaları hız kazanmıştır. Çalışılan doğal maddelerin antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerinin olması ise bu moleküllere olan ilgiyi hızla arttırmaktadır. Oksiresveratrol *Artocarpus lakoocha* ve *Morus alba*'da (Beyaz dut) bulunan bir stilbenoid bileşiği olan Mulberoside A maddesinin aglikonudur. Oksiresveratrol basit kimyasal yapısı ve geniş farmakolojik etkisi ile son zamanlarda çok dikkat çeken doğal stilbenoiddir¹⁰. Oksiresveratrol'un araştırmalardan aldığımız bilgilere göre çok yüksek antioksidan, anti-inflamatuar özelliklerinin olması Mİ önleyici ve tedavi edici etkileri hakkında düşündürmektedir.

Bu çalışmanın amacı Oksiresveratrol'un sıçanlarda İSO ile oluşturulan miyokard infarktüsüne karşı koruyucu etkisini, kalp hasarını gösteren rutin biyokimyasal parametreler olan CK-MB (Kreatin Kinaz MB) ve TnI (Troponin I) ve oksidatif stres parametreleri SOD (Süperoksit dismutaz), GSH (Glutasyon), MDA (Malondialdehid) üzerinden analizler yaparak incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalbin yapısı ve anatomisi

Kalp, göğsün ortasında bulunur ve kalbi diğer organlardan ayıran perikard zarı içerisinde yer alır. İnsan kalbi, venöz damarlardan kanın girdiği ve kanı bitişik arterlere pompaladığı koni şeklinde içi boş kaslı bir organdır. Kalbin boşluğu iki atriyum ve iki ventriküle ayrılmıştır. Sol kulakçık ve sol karıncık birlikte içinden geçen kanın türüne göre adlandırılan "arteriyel dolaşımı" oluşturur, sağ karıncık ve sağ kulakçık birleşerek aynı prensibe göre adlandırılan "venöz dolaşım" adını alır. Kalp, oda adı verilen sol kulakçık, sağ kulakçık, sol karıncık, sağ karıncık olmak üzere dört ayrı boşluktan oluşur.¹¹ Üst vena kava ile alt vena kava sağ atriya ve pulmoner venler ise sol atriya girer. Kalp, ön mediasteninin alt kısmında bulunur. Ön yüzeyinin çoğu, kaval ve pulmoner damarların akan bölümlerinin yanı sıra giden aort ve pulmoner gövde ile akciğerler tarafından kaplanır. Perikardiyal boşluk az miktarda seröz sıvı içerir. Sol ventrikülün duvarı, sağ ventrikülün duvarından yaklaşık üç kat daha kalındır, çünkü sol ventrikül kanı tüm vücut için sistemik dolaşıma itecek kadar güçlü olmalıdır.^{12, 13}

2.1.2. Kalp histolojisi

Kalbin duvarı epikard, miyokard ve endokard olmak üzere üç katmandan oluşur. Epikard, ince (0,3-0,7 mm'den fazla olmayan) bir bağ dokusu plakasından, endokard epitel dokudan ve miyokard kalp çizgili kas dokusundan oluşur. Olgun bir miyokardiyal hücre kardiyomiyosit olarak adlandırılır ve 25 µm çapa ve 100 µm uzunluğa sahiptir. Hücre, bir iskelet kası hücresine benzer olup çizgilidir. Bununla birlikte, çok çekirdekli iskelet miyofibrillerinin aksine, kardiyomiyositlerin hücrenin merkezinde yer alan bir veya iki çekirdeği vardır. Her kardiyomiyosit çevresinde kapiller ağdan zengin bir bağ dokusu vardır. Miyokard, kan damarları ve sinir lifleri ile yoğun bir şekilde nüfuz eder ve birkaç sinir pleksus oluşturur. Her miyokardiyal kapiller için yaklaşık dört sinir lifi vardır.

Miyokard hücrelerinin zarına sarkolemma denir. Membranın özel bir bölümünün interkalasyonlu bir disk ile temsil edilmesi kalp kası dokusunun ayırt edici bir özelliğidir. Araya giren diskler, normal bir mikroskop altında, kalp hücrelerinin zincirlerini düzensiz aralıklarla geçen koyu renkli enine çizgiler şeklinde görülebilir. Diskler, komşu kalp liflerini birbirine bağlayan, miyokardiyal hücreler arasında yapısal ve elektriksel bir bağlantı oluşturan karmaşık köprülerdir. Kalbin önemli metabolik ihtiyaçlarını karşılamak ve yüksek enerjili fosfat sağlamak için miyokardiyal hücreler bol miktarda mitokondri bulundurmaktadır. Bu organeller tek tek miyofibriller arasında yer alır ve hücre hacminin yaklaşık %35'ini kaplar.¹²

2.1.3. Kalp fizyolojisi

Kalbin kasılması, kalbin kendi içinden kaynaklanan impulsların etkisi altında ritmik olarak gerçekleşmektedir. Kalp dokusu hücrelerinde bir aksiyon potansiyeli oluşması nedeniyle elektriksel olarak kalp iletimi gerçekleştirilir. Lifler, uyarımın bir hücreden diğerine geçişine hizmet eder. Kalbin kasılması kalp kasının kasılma kuvveti, kas liflerinin başlangıçtaki uzunluğu ile doğru orantılıdır. Dolaşım sisteminde pompalama işlevi gören kalp, kanı sürekli olarak atardamarlara pompalamaktadır. İnsan kalbi, kanın damarlardan doğru yönde hareketini sağlayan bir tür pompadır. Biküspit ve triküspit kapakçıklar, kanın kulakçıklardan karıncıklara tek yönde akmasına izin verir. Sinir sistemi, kalp kasılmalarının sıklığını ve gücünü düzenler. Sempatik sinir sistemi kasılmalarda artışa neden olduğu halde, parasempatik sinir sistemi ise kasılmalarda azalmaya neden olmaktadır¹¹.

2.1.4. Kalp Biyokimyası

Endokrin sistemin kalp üzerindeki etkisi, kalp kasılmalarının kuvvetini artırabilen veya azaltabilen, frekanslarını değiştirebilen hormonlar aracılığıyla gerçekleşir. Adrenal bezler kalbin çalışmasını düzenleyen ana endokrin bezi olarak kabul edilmektedir.

Adrenal bezler adrenalin ve noradrenalin gibi hormonlar salgırlar ve buna karşılık olarak kalp kasılmasına sebep olurlar. Kalsiyum ve seratonin de kalp kası üzerinde bir sempatik işlev görmektedir. Kalsiyum ve potasyum iyonlarının yanı sıra endorfinler ve diğer birçok biyolojik olarak aktif maddeler de kalbin çalışması üzerinde etkilidir. Aynı zamanda asetilkolin, potasyum ve bradikinin kalp hızını azaltan maddeler arasındadır¹⁴.

2.2. Miyokard İnfarktüsü

Miyokard infarktüsü (kalp krizi), kalbi besleyen bir atardamarın tamamen veya kısmen tıkanması sonucu oluşmaktadır. Kalbe giden kan akışının kesilmesi, kalp kasında ciddi hasara veya ölüme neden olabilmektedir. Miyokard infarktüsü yaşamı tehdit eden bir durumdur. Miyokard infarktüsü vakalarının büyük çoğunluğu koroner kalp hastalığı (KKH) olan kişilerde gelişmektedir. Koroner arter hastalığında, kalbi besleyen atardamarların duvarları daralmakta ve kalbin daha az oksijen almasına neden olmaktadır. Çoğu zaman, arterlerin daralması, kan damarlarının duvarlarında kolesterol birikmesinin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır.¹⁵

İlk olarak, miyokard infarktüsünün semptomları arasında boyun, sol kol, sırt veya çeneye yayılabilen ağrı, nefes darlığı, basınç, yanma hissi yer almaktadır. Ayrıca mide bulantısı ve karın ağrısı da görülmektedir. Semptomların şiddeti değişebilmektedir. Bazı hastalarda şiddetli ağrı izlenmekte, diğer hastalarda ise hafif ağrılar görülmektedir. "Ağrısız" ("sessiz" olarak da adlandırılmakta) miyokard infarktüsünün yaşlılarda ve diyabetli hastalarda görülme olasılığı daha yüksektir. Kadınların kalp krizi sırasında üst sırt veya omuz ağrısı, baş dönmesi veya olağandışı yorgunluk gibi atipik semptomları olma olasılığı erkeklerden daha fazladır. Semptomlar saatler içinde değişkenlik göstermektedir¹⁶⁻¹⁸.

Miyokard infarktüsü için risk faktörleri arasında yüksek tansiyon ve kolesterol düzeyleri, sigara kullanımı, aşırı kilolu olmak, diyabetes mellitus ve fiziksel aktivite

eksikliği yer almaktadır. Kalp krizinin daha az yaygın bir nedeni, kalbi besleyen koroner arterlerin spazmidir. Bu spazma neyin neden olabileceği tam olarak belli değildir ancak olası nedenler arasında uyuşturucu kullanımı, sigara kullanımı, ateroskleroz ve şiddetli stres sayılabilir¹⁹. Kalp krizinin diğer bir nadir nedeni, arter duvarının diseksiyonudur (yırtılmasıdır) ²⁰.

Kalp krizini teşhis etmek için kalp krizi belirtileri gösterebilen bir elektrokardiyogram (EKG) ve miyokardiyal hasar belirteçleri (troponin I,CK-MB v.s) için bir kan testi kullanılmaktadır. Ek olarak, uzmanlar anjiyografi, kardiyak ultrason, röntgen, BT (Bilgisayar tomografi) veya kalbin MR (Manyetik rezonans) taramaları gibi diğer testleri önermektedirler ²¹.

2.2.1. Miyokard İnfarktüs Epidemiyolojisi

2020 itibariyle koroner kalp hastalıkları dünya çapında 126 milyon insan etkilenmektedir. Erkeklerde kadınlardan daha sık KKH (Koroner kalp hastalığı) vakaları görülmektedir. DSÖ'nün verilerine göre koroner kalp hastalığından ölüm oranı en yüksek Rusya, Ukrayna ve ABD'dedir ^{22 23}.

Akut miyokard infarktüsü, koroner kalp hastalığının en ciddi belirtisidir. Avrupa ve Kuzey Asya'da 4 milyondan fazla ölüme neden olmuştur. Mİ gelişmiş ülkelerde her yıl ölümlerin üçte birinden fazlasını oluşturmaktadır ²⁴. ABD'de Mİ her 40 saniyede bir meydana gelmektedir. Erkeklerde kalp krizi geçirme yaşı ortalama 66, kadınlarda 72'dir. Aynı zamanda, son 20 yılda akut miyokard infarktüsünden sonraki 6 ay içindeki mortalite oranı azalmıştır ^{25 26}.

Kadınlarda Mİ ve diğer kardiyovasküler hastalıklara yakalanma riski daha düşüktür. Bu farklılığın nedenleri hala belirsiz olarak kalmaktadır. Östrojenin koruyucu bir etkisi olabileceği düşünülmektedir ancak bu teori çalışmalarda doğrulanmamaktadır. Araştırmalar, kadınların kardiyovasküler hastalıklar için daha az risk faktörüne sahip

olduğunu göstermektedir. Kadınların erkeklere kıyasla daha az sigara içmeleri, daha düşük tansiyona sahip olmaları, diyabet tehlikesini daha az taşımaları sebep gösterilmektedir.^{25 27}.

2.2.2. Miyokard İnfarktüs Patogenezi

İnsan vücudundaki herhangi bir organ gibi kalp de oksijene ihtiyaç duymaktadır. Arterler kalbe oksijenli kan sağlamaktadır. Kalbe giden arterin hasar görmesi kalbe giden kan akışını azaltmaktadır. Daha sonra oksijensiz kalan kalp kasının (miyokard) bir kısmı iskemiye uğramaktadır. Oluşan bu durum miyokard infarktüsü olarak tanımlanmaktadır. Koroner kalp hastalığında damarlar duvarlardaki yağ birikintileri (plaklar) nedeniyle daralmaktadır. Arterin daralması kalbe giden kan akışını azaltarak anjina pectoris adı verilen göğüste ağrı ve sıkışmaya neden olmaktadır. Plak yırtıldığında kalbe giden arterdeki kan akışını engelleyebilen bir kan pıhtısı oluşabilmektedir. Kalp krizi, kalbin vücudun düzgün çalışmasını sağlamak için yeterli kanı pompalayamadığı bir durumdur. Neticede kalp yetmezliğine, yaşamı tehdit eden ritim bozukluklarına ya kalp durmasına neden olmaktadır²⁸.

EKG sonuçlarına göre Mİ, ST elevasyonsuz miyokard infarktüsü (NSTEMI) ve ST segment yükselmesi olan Mİ (STEMI) olarak ikiye ayrılmaktadır. Birinci tip, arterin kısmen bloke olduğu anlamına gelmektedir. İkinci tip ise tam bir blokaj olarak bilinmektedir²⁹.

Patomorfolojik, klinik ve prognostik farklılıklara bağlı olarak diğer Mİ türleri ayırt edilmektedir. Miyokard infarktüsünün tanımına göre, aşağıdaki Mİ türleri vardır (bazıları cerrahi prosedürler sırasında oluşan miyokard hasarı ile ilişkilidir)³⁰:

1. Aterosklerotik plakta yırtılma veya hasardan kaynaklanan Mİ;

2. Dokunun oksijen ihtiyacının arttığı zamanda oksijen arzında eksiklik ile ilişkili MI, Örneğin, taşiaritmi ve bradiaritmi aritmi türlerinde koroner damarların spazmı ve kanama nedeniyle hemoglobinde ciddi bir düşüş görülür³⁰.

2.2.3. Nekroz

Nekroz (eski Yunanca νέκρωσις , nekroz , "ölüm"), otoliz yoluyla canlı dokuda erken ölümlerine yol açan hücre hasarıdır³¹. Nekroz, bir hücre veya doku üzerindeki enfeksiyon veya yaralanma gibi hücrelerin hayati fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyen dış faktörlerin sonucudur. Buna karşılık, apoptoz, hücre ölümünün doğal olarak programlanmış ve amaçlı bir nedenidir. Apoptoz genellikle vücut üzerinde faydalı bir etkiye sahipken, nekroz hemen hemen her zaman zararlıdır ve ölümcül olabilmektedir³².

Nekroza bağlı hücre ölümü, apoptotik sinyal iletim yolunu takip etmez ancak çeşitli reseptörler aktive olur, bu da hücre zarı bütünlüğünün kaybına ³³ ve hücre ölümü ürünlerinin hücre dışı boşluğa kontrolsüz salınımına yol açmaktadır³¹. Bu, çevre dokularda lökositleri ve ölü hücreleri fagositoz yoluyla ortadan kaldıran fagositleri çeken inflamatuvar bir yanıt başlatmaktadır. Lökositler tarafından salınan zararlı mikrobiyal maddeler çevre dokularda ikincil hasar oluşturmaktadır. Bu hasar iyileşme sürecini engellemektedir. Bu nedenle, tedavi edilmeyen nekroz, hücre ölümü bölgesinde veya yakınında ayrıışan ölü doku ve hücre kalıntılarının birikmesine neden olmaktadır. Buna klasik örnek olarak kangreni gösterebiliriz³⁴.

2.2.4. Nekrozun Sebepleri

Nekroz dış veya iç etkenlere bağlı olarak ortaya çıkabilir. Dış faktörler mekanik travma (hücre yıkımına neden olan vücutta fiziksel hasar), kan damarlarında hasar (ilişkili dokulara kan akışını kesebilir) ve iskemi olabilir³⁵. Termal maruziyet (aşırı yüksek veya düşük sıcaklık), hücre tahribatı nedeniyle nekroza da yol açabilmektedir. Donma, kalan dokuya ve sıvıya basınç uygulayan ve hücrelerin ölümüne neden olan kristaller

oluşturur³⁵. Yukarıda bahsedilen koşullar altında, dokular ve hücreler, membranların ve sitozolün tahrip edilmesinin bir sonucu olarak ölmektedirler³⁶.

Nekroza neden olan iç faktörler ise nörotik bozukluklardan (bozulmuş sinir iletiminden kaynaklanan hastalıklar sebebiyle oluşan dokulardaki yetersiz beslenme ve sinir hücrelerinin hasarı ya da felci) kaynaklanmaktadır. Pankreas enzimleri (lipazlar) adipoz doku nekrozunun ana nedenidir³⁵. Nekroz, kompleman sistemi, bakteriyel toksinler, aktif doğal öldürücüler ve peritoneal makrofajlar gibi bağışıklık sisteminin bileşenleri tarafından aktive edilebilir. İmmünolojik bariyerleri (bağırsak mukozası) olan hücrelerde patojeni indükleyen bir nekroz, bunların inflamasyon yoluyla hafifletebilir. Toksinler ve patojenler nekroza neden olabilir; yılan zehiri gibi toksinler bazı enzimleri inhibe etmekte ve hücre ölümüne neden olabilmektedir³⁵.

Yetersiz sitokin salgılanması da patolojik durumlara neden olmaktadır. Nitrik oksit (NO) ve reaktif oksijen türleri (ROS) de yoğun nekrotik hücre ölümünü etkilemektedir³⁵. Nekrotik durumun iskemi ile oksijen, glikoz ve diğer distrofi nedenlerinin ciddi bir şekilde tüketilmesine yol açmaktadır. Bu durum endotel hücrelerinin ve çevreleyen dokular da ölümüne neden olabilmektedir³¹. Son sitolojik veriler, nekrotik ölümün yalnızca patolojik olaylar sırasında değil, aynı zamanda bazı fizyolojik süreçlerin ayrılmaz bir parçası olduğunu göstermektedir. Primer T-lenfositlerin ve immün yanıtın diğer önemli bileşenlerinin aktivasyon kaynaklı ölümü, morfolojide kaspazdan bağımsız ve nekrotiktir. Bu nedenle, modern araştırmacılar nekrotik hücre ölümünün sadece patolojik süreçler sırasında değil, aynı zamanda doku yenilenmesi, embriyogenez ve bağışıklık tepkisi gibi normal süreçler sırasında da meydana gelebileceğini göstermiştir³⁵.

2.2.5. Mİ Klinik Belirtileri

Mİ'nin en yaygın semptomları, göğsün orta ve sol tarafındaki ağrı veya rahatsızlıktır. Ağrı yerine basınç, sıkıştırma, yanma hissi de sıkça görülmektedir. Ağrı, üst karın, omuzlar, kollar, boyun, boğaz, alt çene ve dişler gibi vücudun diğer bölgelerine yayılabilmektedir. Yavaş yavaş belirmekte ve birkaç saniyeden fazla sürmektedir. Ağrının şiddeti kişiden kişiye değişmektedir. Bazı insanlar bu hissi hazımsızlık ağrısı olarak tanımlarken bazıları da (genellikle yaşlılar, diyabetli kişiler) hiç ağrı hissetmemektedirler¹⁵.

Mİ ile ortaya çıkabilecek diğer semptomlar: nefes darlığı, bulantı, kusma, soğuk terleme, çarpıntı, halsizlik, baş dönmesi, anksiyete, panik atağa benzer belirtilerdir. Mİ sırasında kadınlar erkeklerden daha sık nefes darlığı, bulantı ve kusma, sırt, omuz ve çene ağrısı yaşamaktadırlar.³⁷

Mİ semptomsuz veya hafif semptomlarla ortaya çıkabilmekte, bu durum "ağrısız" veya "sessiz" kalp krizi olarak adlandırılmaktadır. Çoğu zaman, daha sonra rutin bir EKG sırasında "ağrısız" bir Mİ ortaya çıkmaktadır. Semptomların yokluğu, zamanında tanı ve ikincil korunmayı zorlaştırmaktadır³⁸. Çoğu zaman, "ağrısız" Mİ yaşlılarda, diyabetli kişilerde görülmektedir³⁹.

2.2.5.1. Risk Faktörleri

Mİ için risk faktörleri değiştirilebilir ve değiştirilemez olarak ikiye ayrılır. Birkaç risk faktörünün kombinasyonu, Mİ ve diğer kardiyovasküler hastalıkların olasılığını artırmaktadır⁴⁰.

2.2.5.2. Değiştirilebilir Risk Faktörleri

Sigara içmek kan damarlarına zarar vermekte, ateroskleroz ve kan pıhtılaşması riskini arttırmaktadır. Sigara dumanı 7.000'den fazla kimyasaldan oluşmakta, bu nedenle pasif içicilik aynı zamanda kardiyovasküler hastalık riskini de artırmaktadır^{40,41, 42}.

Yüksek tansiyon (arteriyel hipertansiyon) kalp üzerindeki iş yükünü arttırmakta, kalbe kan sağlayan atardamarlara zarar vermekte, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği, Mİ ve felç riskini artırmaktadır. Kan basıncı, kanın kan damarlarının duvarlarına baskı yaptığı kuvvete denir. 120/80 kan basıncı normal kabul edilmektedir. 120-129/80'den büyük sayılar, hipertansiyon gelişme riskini artıran yüksek tansiyon olarak kabul edilmektedir ⁴³.

Vücutta yüksek kolesterol seviyeleri de risk faktörleri arasındadır. Kolesterol karaciğerde oluşmakta, bir kısmı vücuda besinlerle girmektedir. Bu madde, yiyecekleri sindirmeye yardımcı olan hormonlar, D vitamini ve safra asitlerinin üretiminde yer almaktadır. Kolesterol yüksek yoğunluklu lipoprotein "iyi" ve düşük yoğunluklu lipoprotein "kötü" kolesterol olarak ikiye ayrılmaktadır. "İyi" kolesterol, karaciğere geri dönmekte ve oradan vücuda terk etmektedir. Yaşam tarzı, yetersiz beslenme, genetik özellikler nedeniyle "kötü" kolesterol seviyesi artabilmekte ve kan damarlarının duvarlarında plak oluşumuna neden olmaktadır. Genel popülasyonda (düşük kardiyovasküler risk altında), toplam kolesterolün optimal seviyesi yaklaşık 3,8 mmol/l ve düşük yoğunluklu lipoprotein seviyesi ise 2,6 mmol/l'dir ⁴⁴⁻⁴⁷.

Fazla kilo, yüksek tansiyon ve kolesterol düzeyleri, metabolik sendrom, diyabetes mellitus, KVVH ve diğer hastalıklar için bir risk faktörüdür⁴⁸. Yanlış diyet, kolesterol, doymuş yağ (kırmızı ve işlenmiş et - sosis, jambon, domuz pastırması) ve trans yağlar (hamur işleri, cips) açısından yüksek bir diyet anlamına gelmektedir. Kötü beslenme, yüksek kolesterol düzeylerine, diyabet geliştirme riskine ve kilo alımına katkıda bulunmaktadır ⁴⁹. Fazla kilo, hipertansiyon ve yüksek kan şekeri sıklıkla metabolik sendrom adı verilen bir kombinasyonda ortaya çıkmaktadır. Metabolik sendromlu bir kişinin kalp hastası olma olasılığı iki kat, diyabet olma olasılığı beş kat daha fazladır ⁵⁰.

Fiziksel aktivite eksikliği başlı başına kalp hastalığı için bir risk faktörü olabilmekte ve aşırı kilo, hipertansiyon, yüksek kolesterol ve diyabet gibi diğer faktörlerin olasılığını artırabilmektedir. Düzenli orta (hızlı yürüyüş, dans) ve yoğun (koşma, yüzme) fiziksel aktivite, kardiyovasküler hastalık riskini azaltmakta ve kolesterol, kilo, diyabet kontrolüne yardımcı olmaktadır⁵¹⁻⁵³.

Yüksek seviyelerde glikoz (kan şekeri) kan damarlarına zarar verebilmektedir. Diabetes mellitus, özellikle kontrol altına alınmazsa, kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır^{53, 54}.

Stres güçlü bir risk faktörüdür. Bazı insanlar, kalp ve damar sağlığı için risk faktörleri olarak kabul edilen sigara, içki, aşırı yeme ve diğer kötü alışkanlıklar yoluyla stresle baş etmektedirler⁵⁵. Stres ayrıca kan basıncında artışa yol açarak Takotsubo sendromuna (kırık kalp sendromu) neden olmaktadır^{19, 56}.

2.2.5.3. Değiştirilemez Risk Faktörleri

Kardiyovasküler hastalık riski yaşla birlikte artmaktadır: erkeklerde 45 yaşından, kadınlarda ise 55 yaşından sonra (menopozdan sonra) daha fazla görülmektedir. Yakın akrabalarda (baba, anne, erkek kardeş, kız kardeş) kalp hastalığı olması durumunda, erkeklerde 55 yaşından, kadınlarda ise 65 yaşından sonra teşhis konulursa risk daha fazladır⁵⁷. Ailede kardiyovasküler hastalık öyküsü varsa, hangi yaşta başlanacağı, ne sıklıkta muayene olunacağı, hangi göstergelerin ve risk faktörlerinin izlenmesi gerektiği konusunda bir doktora danışılması önemlidir²⁵.

Preeklampsi, bazı kadınlarda genellikle gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkan bir komplikasyondur. Preeklampsinin yaygın semptomları yüksek tansiyon, idrarda protein ve şişliktir. Tedavi edilmeyen preeklampsi, erken doğum gibi hem anne hem de bebek için tehlikeli komplikasyonlara neden olabilmektedir. Preeklampsi, Mİ de dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalık riskini artırmaktadır⁵⁷. Yeni koronavirüs

enfeksiyonunun neden olduğu hastalık Mİ, felç ve diğerkomplikasyonlara yol açabilen kan pıhtılaşması riskini artırmaktadır^{58, 59}. Bireyin kardiyovasküler hastalık öyküsü olmasa bile COVID-19'da miyokardiyal hasar meydana gelebilmektedir⁶⁰.

Düşük eğitim seviyesi, düşük gelir ve yoksul bölgelerde yaşamak gibi sosyodemografik durumlar da KKH riskini artırmaktadır⁶¹. Öfke ve üzüntü gibi güçlü duygular, özellikle önceden kardiyovasküler hastalığı olan kişilerde Mİ riskini artırabilmektedir⁶². İşyerinde kronik stres (fazla mesai, uzun çalışma saatleri, mobing), erkeklerde koroner kalp hastalığının erken gelişiminde bir faktör olabilmektedir. Ailede uzun süreli stresli durumlar da bu riski artırmaktadır^{64, 65}. Diğerrisk faktörleri arasında klinik depresyon, panik ataklar ve kaygı yer almaktadır⁶⁶.

2.2.6. Mİ Tehşisi

Acil servislere göğüs ağrısı ile başvuranlarda Mİ prevalansı yaklaşık olarak %5–10 STEMI, %15–20 NSTEMI, %10 stabil olmayan anjina, %15 diğerkardiyovasküler ve %50 kardiyovasküler olmayan hastalıklar olarak gözlemlenmektedir. Özellikle uzmanlar aort diseksiyonu, pulmoner emboli ve pnömotoraks gibi yaşamı tehdit eden diğerdurumları ekarte etmektedirler. Göğüs ağrısı ayrıca pankreatit, kolesistit, göğüs travması, servikal omurganın patolojileri gibi diğerk hastalıkların bir belirtisi olmaktadır. Tipik olarak, Mİ'yi tehşis etmek için bazı kriterler kullanılmaktadır. Semptomların, EKG'de ST elevasyonunun varlığı veya yokluğu, yüksek troponin seviyeleri, anjiyografi veya bilgisayarlı tomografi ile bir trombüsün saptanması tehşis için önemli kriterlerin başında gelmektedir⁶⁷.

Elektrokardiyogram kalbin elektriksel aktivitesini ölçmektedir. Bir EKG, kalbin ne kadar hızlı attığını göstermekte ve ritmi (sabit veya düzensiz) kaydetmektedir. EKG, vakaların yaklaşık %80'inde tanıyı doğrulamaktadır. Miyokard infarktüsünün tanısında EKG birkaç kez yapılabilir⁶⁸.

Miyokardiyal hasarın belirteçlerini belirlemek için kardiyak troponin de ölçülmektedir. Bu protein normalde kanda bulunmamakta sadece miyokard nekrozu sırasında salınmaktadır. Mİ için en spesifik laboratuvar tanı araçlarından biri olarak kabul edilmektedir. Troponin seviyeleri 2-3 saat sonra yükselmeye başlamakta ve 24-28 saat sonra pik seviyeye ulaşmaktadır⁶⁸.

Koroner anjiyografi, arterde bir tıkanıklık veya daralma olup olmadığını belirlemeye yardımcı olmaktadır. Bu işlem sırasında uzman, kasık veya koldaki bir kan damarından vücuda ince bir tüp (kateter) ve bunun içinden tıkanıklığı veya daralmayı bulmaya yardımcı olmak için özel bir boya (kontrast madde) dahil etmektedir.

2.2.7. Mİ Tedavisi

Tedavi, miyokard infarktüsünün (NSTEMI veya STEMI) tipine bağlı olarak değişmektedir. Özellikle STEMI durumunda, en kısa sürede reperfüzyon tedavisinin yapılması, yani arterdeki kan akışının yeniden sağlanması gereklidir⁶⁹. Tedavinin amacı, nedeni ortadan kaldırıp tıkalı arteri yeniden açarak kalbi mümkün olduğunca kurtarmaktır⁷⁰.

Perkütan koroner müdahale (PCI), tıkalı bir arterde kan akışını düzeltmeyi amaçlayarak tercih edilen reperfüzyon tedavisi türüdür. Tıbbi yardım alındıktan sonraki 120 dakika içinde PCI yapılması önemlidir. Bu prosedür bir anjiyogram ile başlar; tıkanıklığın yerini ve boyutunu bulmak için kasık veya koldaki bir kan damarından kontrast maddeyle dolu bir kateter sokulmaktadır. Uzman, bir röntgen cihazı kullanarak kateterin yerini izler. Kateter özel bir balon ile donatılmıştır. Kateter daralan bölgeye ulaştığında balon şişerek arterin lümenini genişletir. Kural olarak, bundan sonra uzmanlar, gelecekte arterin yeniden daralması riskini azaltmak için derhal artere özel bir stent yerleştirirler⁵. Böyle bir prosedürün etkinliği % 90'a ulaşmakta, ancak bazı

durumlarda daralma tekrar meydana gelmektedir. Bu durum restenoz olarak bilinmektedir⁷¹.

Mİ tedavisinde ağrı kesiciler, beta blokörler, ACE inhibitörleri, hipolipidemik, antiagregan ve antikoagülan etkili ilaçlar kullanılmaktadır⁵. Ağrı kesiciler ağrıyı dindirmekte, sempatik sinir sisteminin aktivitesini ve kalp üzerindeki iş yükünü azaltmaktadır⁶⁹. Beta blokerler kalp kası üzerindeki yükü azaltmaya, kalp atış hızını yavaşlatmaya ve basıncı düşürmeye yardımcı olmaktadır. Bunun sonucunda iskeminin neden olduğu kalbe verilen zararı azaltmaktadır. ACE inhibitörleri (Renin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi üzerine etkili ilaçlar) kan basıncını düşürür ve kalp üzerindeki yükü azaltır. Lipid düşürücü tedavi kandaki kolesterol miktarını azaltarak başka bir kalp krizi ve felç riskini önlemektedir. Antiplatelet ajanlar yeni kan pıhtılarının oluşumunu engellemekte ve tekrarlayan Mİ riskini önlemektedir. Antikoagülanlar kan pıhtılaşmasını etkilemektedir. Kalp krizinden sonraki ilk birkaç saat içinde en iyi şekilde etki etmektedir⁷².

2.2.8. Miyokard İnfartüsü ve Biyokimyasal Parametreler

Kardiyak belirteçler, kalp fonksiyonunu değerlendirmek için kullanılan parametreler olup, hastalığın erken teşhisinde faydalı olmaktadır⁷³. Sıklıkla Mİ bağlamında tartışılabilirler da diğer koşullar kardiyak belirteç düzeyinde yükselmeye neden olabilmektedir. Tanımlanan erken belirteçlerin çoğu enzimlerdir ve "kalp enzimleri" terimi kullanılmaktadır. Bununla birlikte, şu anda kullanılan belirteçlerin tümü enzim değildir. Örneğin, resmi kullanımda troponin bir kardiyak enzim olarak tanımlanmaz. Troponin I (TnI), kreatin kinaz (CK-MB), laktat-dehidrojenaz (LDH), aspartat transaminaz (AST), miyogloblin (Mb), insan serum albümini, beyin natrium uretik peptid (BNP), glikojen fosforilaz izoenzim BB testleri kardiyak biyokimyasal parametrelerdir⁷⁴.

2.2.8.1. Troponin

Troponin veya troponin kompleksi, iskelet kası ve kalp kasındaki kas kasılmasının⁷⁵ ayrılmaz bir parçası olan üç düzenleyici proteinin (troponin C, troponin I ve troponin T) bir kompleksidir. Kardiyak spesifik troponin I ve T ölçümleri, Mİ ve akut koroner sendromun tedavisinde tanısal ve prognostik göstergeler olarak kullanılmaktadır⁷⁶.

Troponin, protein tropomiyosine bağlanmakta ve kas dokusundaki aktin filamentleri arasındaki oluk içinde bulunmaktadır. Gevşemiş bir kasta tropomiyozin, miyozin çapraz köprüsünün bağlanma bölgesini bloke ederek kasılmayı önlemektedir. Kas hücresi bir aksiyon potansiyeli tarafından kasılmak üzere uyarıldığında, sarkoplazmik membranda kalsiyum kanalları açılmakta ve kalsiyumu sarkoplazmaya bırakmaktadır. Bu kalsiyumun bir kısmı, aktin filamentleri üzerindeki miyozin (aktif bölgeler) için bağlanma bölgelerini açığa çıkaran şekil değiştirmesine neden olan troponine bağlanmaktadır. Miyosinin aktine bağlanması çapraz köprüye ve kasın kasılmasına sebep olmaktadır⁷⁷.

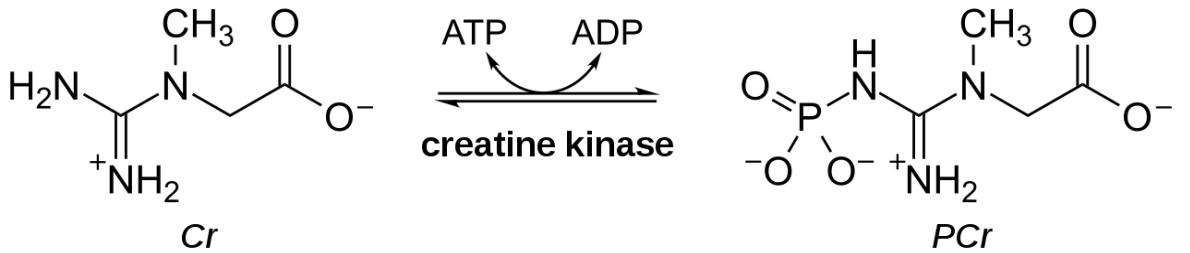
Troponin C (kırmızı), troponin I'in (sarı) artık aktine bağlı olmadığı aktif durumu stabilize eden Ca^{2+} ı bağlamaktadır. Troponin T (mavi), kompleksi tropomiyozin üzerinde tutulmaktadır. Troponin hem iskelet kasında hem de kalp kasında bulunmaktadır ancak troponinin spesifik versiyonları kas türleri arasında farklılık göstermektedir. Temel fark, iskelet kasındaki troponinin TnC alt biriminin dört kalsiyum iyon bağlama bölgesine sahip olması, oysa kalp kasında sadece üç tane olmasıdır. Troponine bağlanan gerçek kalsiyum miktarı kesin olarak belirlenmemiştir⁷⁸.

Troponin'in belirli alt tipleri (kardiyak I ve T) , kalp kasındaki (miyokard) hasarın hassas ve spesifik göstergeleridir. Göğüs ağrısı veya akut koroner sendromu olan kişilerde kararsız anjina ve Mİ (kalp krizi) arasında ayırım yapmak için kanda ölçülmektedir. Yakın zamanda Mİ geçirmiş bir kişi, kalp kası hasarlı bir alana ve kanda

yüksek kardiyak troponin seviyelerine sahip olması beklenmektedir⁷⁹. Bu, koroner vazospazmı olan kişilerde de ortaya çıkabilmektedir ve kalp kan damarlarının şiddetli daralmasını içeren bir tür miyokard infarktüsünden kaynaklanmaktadır. Miyokard infarktüsünden sonra troponinler 2 haftaya kadar yüksek seviyede olabilmektedir⁸⁰.

2.2.8.2. Kreatin Kinaz (CK-MB)

Kreatin kinaz (kreatin fosfokinaz, CPK), artan fiziksel durumlarda vücut tarafından tüketilen ATP ve kreatinden yüksek enerjili bir kreatin fosfat bileşiğinin oluşumunu katalize eden bir enzimdir. Kreatin kinazın kataliz ettiği reaksiyon şekil 2.1.'de gösterilmiştir⁸¹. Kalp kası, iskelet kası, beyin, tiroid bezi, akciğer hücrelerinde bulunmaktadır. Kreatin kinaz izoenzimleri arasında CK-MB , CK-BB, CK-MM büyük bir klinik öneme sahiptir. Kalp kası, iskelet kası, beyin, tiroid bezi, akciğer hücrelerinde herhangi biri hasar gördüğünde toplam kreatin kinaz aktivitesinde bir artış gözlemlenmektedir. Çoğu zaman, akut miyokard infarktüsünde bu enzimin aktivitesinde önemli bir artış görülmektedir. Kreatin kinazın ve özellikle CK-MB düzeyleri, miyokard infarktüsünün erken teşhisi için yaygın olarak kullanılmaktadır⁸².

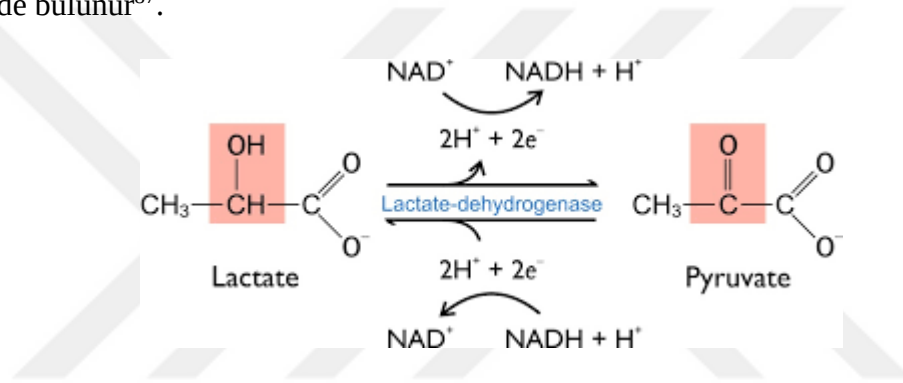


Şekil 2.1. Kreatin Kinazın kataliz ettiği reaksiyon

2.2.8.3. Laktat dehidrojenaz

Laktat dehidrojenaz (LDH veya LD) neredeyse tüm canlı hücrelerde bulunan bir enzimdir. Laktat dehidrojenazın kataliz ettiği reaksiyon şekil 2.2.'de gösterilmiştir⁸³. LDH, NAD^+ yı NADH 'a ve laktatın piruvata geri dönüşümünü katalize eder. LDH, kan hücreleri ve kalp kası gibi vücut dokularında yoğun olarak üretilir. Doku hasarı sırasında

salındığından, yaygın yaralanmaların ve kalp yetmezliği gibi hastalıkların bir göstergesidir^{84, 85}. LDH'nin LDHA ve LDHB olmakla iki farklı alt birimi bulunmaktadır⁸⁶. Enzimatik olarak aktif laktat dehidrojenaz, dört alt birimden (tetramer) oluşur. En yaygın iki alt birim, kas ve kalp dokusundaki keşiflerinden dolayı adlandırılan ve sırasıyla LDHA ve LDHB genleri tarafından kodlanan LDH-M ve LDH-H peptitleridir. LDH-1 (4H)—kalpte, RBC'de (kırmızı kan hücreleri) ve beyinde⁸⁷, LDH-2 (3H1M)—retiküloendotelyal sistemde, LDH-3 (2H2M) —akciğerlerde, LDH-4 (1H3M) - böbreklerde, plasentada ve pankreasta, LDH-5(4M)—karaciğer ve çizgili kasta⁸⁸ ve beyinde bulunur⁸⁷.

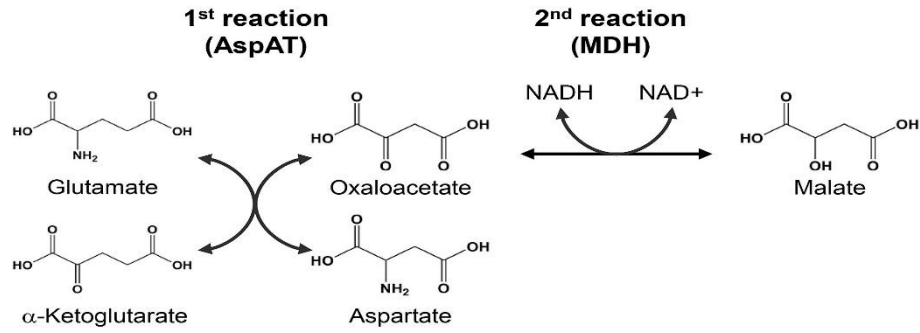


Şekil 2.2. Laktat Dehidrojenaz enziminin kataliz ettiği reaksiyon

2.2.8.4. Aspartat Transaminaz

AspAT/ASAT/AAT veya glutamik oksaloasetik transaminaz (GOT ,SGOT) olarak da bilinen aspartat transaminaz (AST) veya aspartat aminotransferaz , piridoksal fosfata (PLP) bağımlı bir transaminaz enzimidir. Arthur Karmen ve meslektaşları tarafından 1954'te tanımlanmıştır^{89, 90}. AST enziminin katalize ettiği reaksiyon şekil 2.3.'de gösterilmiştir⁹¹. AST, aspartat ve glutamat arasında bir α -amino grubunun tersinir transferini katalize eder ve bu nedenle amino asit metabolizmasında önemli bir enzimdir. AST karaciğerde, kalpte, iskelet kası, böbrekler, beyin, kırmızı kan hücreleri ve safra kesesinde bulunmaktadır. Serum AST düzeyi, serum ALT (alanin transaminaz) düzeyi ve bunların oranı (AST/ALT oranı) genellikle karaciğer sağlığı için biyobelirteçler gibi klinik olarak ölçülmektedir. Dolaşımdaki toplam AST'nin yarı ömrü yaklaşık 17 saat ve

mitokondriyal AST için ortalama 87 saattir. Aminotransferaz, karaciğerdeki sinüzoidal hücreler tarafından temizlenir⁹². Aspartat transaminaz, aspartat ile α -ketoglutaratın oksaloasetat ve glutamata karşılıklı dönüşümünü katalize etmektedir. Aspartat aminotransferaz tarafından katalize edilen reaksiyonda prototipik bir transaminaz olarak AST, amino grubunu aspartat veya glutamattan ilgili ketoasite transfer etmek için bir kofaktör olan PLP'ye (Vitamin B6) ihtiyaç duymaktadır. Bu süreçte, kofaktör PLP ile piridoksamin fosfat (PMP) formu arasında değişiklik göstermektedir⁹³. Bu enzim tarafından katalize edilen amino grup transferi, hem amino asit yıkımında hem de biyosentezde çok önemli bir rol oynamaktadır⁹⁴. AST, 1954'te akut miyokard infarktüsünün teşhisi için bir biyokimyasal belirteç olarak tanımlanmıştır⁹⁵.



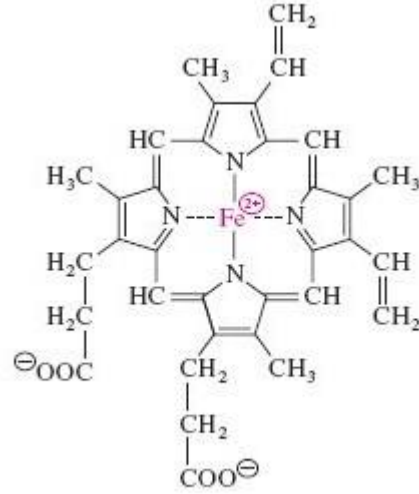
Şekil 2.3. AST enziminin kataliz ettiği reaksiyon

2.2.8.5. Miyoglobin

Miyoglobin (sembol Mb veya MB), genel olarak omurgalıların kalp ve iskelet kas dokusunda, hemen hemen tüm memelilerde bulunan demir ve oksijen bağlayıcı bir proteindir⁹⁶⁻⁹⁸ ,⁹⁹, ¹⁰⁰. Miyoglobinin kimyasal yapısı şekil 2.4.'de gösterilmiştir¹⁰¹. Miyoglobin, hemoglobin ile uzaktan ilişkilidir. Hemoglobin ile karşılaştırıldığında, miyoglobin oksijen için daha yüksek bir afiniteye sahiptir ve hemoglobinin yaptığı gibi oksijen ile işbirliğine dayalı bağlanmaya sahip değildir⁹⁹, ¹⁰². İnsanlarda miyoglobin sadece kas yaralanmasından sonra kan dolaşımında bulunmaktadır¹⁰³⁻¹⁰⁵. Kas

hücrelerindeki yüksek miyoglobin konsantrasyonları, organizmaların oksijeni daha uzun süre tutmalarına izin verir. Balinalar ve foklar gibi dalış yapan memeliler, özellikle yüksek miktarda miyoglobin içeren kaslara sahiptir¹⁰⁵.

Miyoglobin, kas yaralanması için hassas bir belirteçtir ve göğüs ağrısı olan hastalarda Mİ tanısı için potansiyel bir parametredir¹⁰⁶.



Şekil 2.4. Miyoglobinin kimyasal yapısı

2.3. Mİ Modelleri

Mİ dünya çapında yüksek ölüm oranlarına sahip olan hastalıklar içerisinde yer almaktadır. Bu nedenle Mİ tedavisinde daha yüksek terapötik potansiyele sahip yeni moleküllerin bulunmasına yönelik ilgi günümüzde hızla artmaktadır. Bu ilaç moleküllerinin araştırılması için Mİ modelleri üzerinde deneyler yapılmaktadır. Genel olarak Mİ modelleri kimyasal ve cerrahi yöntemlerle oluşturulmaktadır.

Cerrahi yöntemde Mİ modeli sol koroner arterin oklüzyonu (bağlanması) ile oluşturulmaktadır. Bu yöntemde önce sıçanlara anestezi uygulanmakta ve daha sonra göğüs torakotimize edilmektedir. Sol koroner arter bulunarak bir tıkaçıcı yardımıyla bağlanmakta ve bağlanma sonucunda ise kalpte iskemi oluşmaktadır. Oluşan Mİ modelini

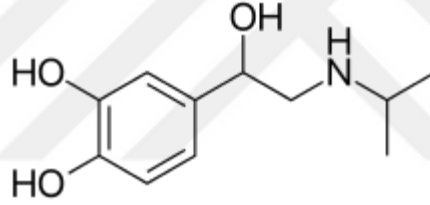
kanıtlamak için morfolojik, elektrofizyolojik ve biyokimyasal parametreler incelenmektedir¹⁰⁷.

Kimyasal yöntemde ratlara hiçbir cerrahi yöntem uygulanmamaktadır. Bu yöntemde sıkça isoproterenol (İSO) kullanılmaktadır. Sentetik bir β -adrenoseptör agonisti olan izoproterenolün, serbest radikallerin üretimi ile antioksidatif savunma sistemi arasındaki biyokimyasal dengenin bozulmasının bir sonucu olarak sıçanlarda miyokard infarktüsünü indüklediği bilinmektedir¹⁰⁸. İSO kaynaklı artmış kardiyak belirteç enzimleri, değişen iskemik elektrokardiyografi, birikmiş lipid peroksitler ve hasarlı kardiyak fonksiyonun eşlik ettiği miyokard nekrozunun akut durumu olarak değerlendirilmektedir¹⁰⁹.

2.4. İsooproterenol (İSO)

İSO (3,4-dihidroksi-a-[(izopropilamino)metil] benzil alkol hidroklorür), moleküler formülü $C_{11}H_{17}NO_3HCl$ olan sentetik bir semptomimetik seçici olmayan β -adrenerjik agonisttir. İsooproterenolün kimyasal yapısı şekil 2.5.'de gösterilmiştir¹¹⁰. İsooproterenol veya isoprenalin bradikardi, atriyoventriküler blok ve bronşiyal astımı tedavisinde kullanılan ilaçlardan biridir^{111 112}. Klinikte, tabletler şeklinde sıkça yavaş nabız (bradikardi) tedavisi için kullanılmaktadır. Özellikle Adams-Stokes sendromunun önlenmesi için bir tedavi olarak isoproterenol enjeksiyon şeklinde kullanılmaktadır¹¹³. Adams-Stokes sendromu atakları, akut kalp yetmezliği ve cerrahi sonrası düşük kalp hızı sendromu, şiddetli bronşiyal astım tedavisi¹¹⁴ için bir inhalasyon ilaç olarak onaylanmıştır¹¹⁵. Kalpteki adrenerjik β_1 reseptörünü uyarması sonucu pozitif kronotropik, dromotropik ve inotropik etki açığa çıkarmaktadır. Bronşiyal astımı tedavi etmek için inhaler olarak da kullanılmakta ancak fazla tercih edilmemektedir¹¹². Tüm β -reseptör tiplerini uyardığı için, sempatik bir β_2 reseptör agonisti olan salbutamole benzer şekilde solunum yolundaki düz kasları gevşetmekte ve ventilasyonu artırmaktadır. Bazı ülkelerde

bronşiyal astım, bronşit ve kronik obstrüktif akciğer hastalığının tedavisi için enjeksiyon ve dil altı uygulama ampulleri mevcuttur. İSO, β_2 selektif agonist olan salbutamolün geliştirilmesinden önce astım tedavisi ilacı olarak yaygın şekilde kullanılmıştır. 1963'ten 1968'e kadar İngiltere, Galler, İskoçya, İrlanda, Avustralya ve Yeni Zelanda'da astım tedavisi için isoproterenol kullanan hastaların ölüm sayılarındaki artış fark edilmiştir. Ölüm nedenlerinin çoğu aşırı doz kullanımına bağlıdır. Bu bölgelerde tek seferde kullanılan ilaç miktarı Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'dakinden beş kat daha fazla olmuştur¹¹⁶. Miyokardiyal iskemi (atipik anjina, Q dalgası olmayan infarktüs vb.) de enjeksiyonların ciddi bir yan etkisi olarak kabul edilmektedir. İsoproterenolün yan etkileri de sıklıkla kardiyovasküler etkilerinin sonucudur. Erken ventriküler kasılmalara, taşikardiye ve hatta ölümcül aritmilere neden olabilmektedir¹¹⁶.

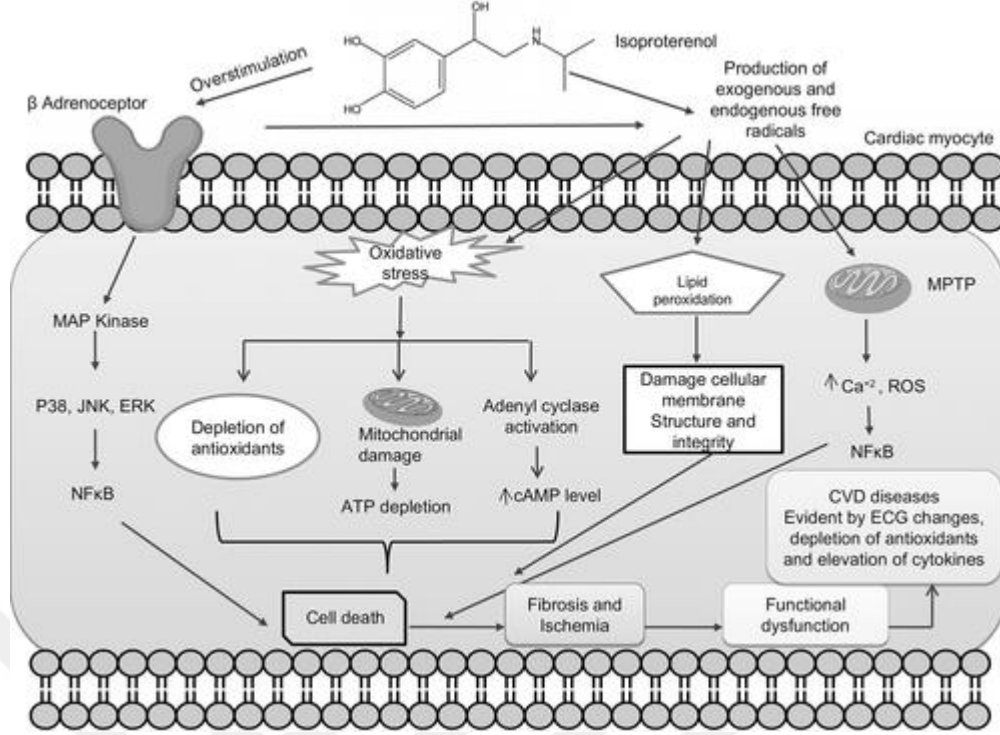


Şekil 2.5. İsoproterenol'ün Kimyasal Yapısı

2.4.1. İsoproterenol'e Bağlı Kardiyotoksisite

İSO, yüksek dozlarda verildiğinde ilerleyici bir kardiyak hasara yol açmaktadır. İSO'nun neden olduğu kardiyotoksisite, akut ve kronik kalp hasarı için en çok kullanılan modellerden biridir. Bu model, çok sayıda bitki bazlı ürünün ve bunların aktif bileşenlerinin taranması için kullanılmaktadır^{117, 118}. İSO'ya bağlı kardiyotoksisitenin şeması şekil 2.6.'da gösterilmiştir¹¹⁹. İSO tedavisinin en büyük dezavantajı, ilerleyici mitokondriyal ve kardiyak hasara neden olmasıdır. Bunun nedeni de kardiyak biyokimyasal parametrelerde değişikliklere yol açarak oksidatif strese neden olan serbest radikaller oluşturma yeteneğindedir¹²⁰⁻¹²⁴. Bu dezavantaj, çeşitli test yöntemleri ile

kardiyoproteksiyonu incelemek için deneysel bir tarama modeli olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, miyokardiyal iskemi, Mİ ve kardiyak fibrozise karşı koruyucu aynı zamanda da önleyici ilaçları incelemek için standart bir indükleyici ajan olarak kullanılmaktadır¹²⁵. İzoproterenol (İSO), kalp dokusunda oksidatif stresi indükleyerek toksikolojik değişikliklere yol açarak antioksidan enzimlerin tükenmesine neden olmaktadır. İSO kalbin oksijen ihtiyacını indüklemekte, bu da kardiyak hipoksiye ve ardından nekroza yol açmaktadır. Artan lipid peroksidasyonu ise kardiyak hipertrofiye neden olmaktadır. Fosfolipaz aktivasyonu, yüksek düzeyde inflamasyona, akut kalp hasarına ve miyokardiyal iskemiye neden olan ST segment yükselmesine yol açmaktadır. Tüm bu olaylar, kronik olarak kardiyak fibrozise yol açan İSO'nun neden olduğu toksisitenin tipik özelliklerini oluşturmaktadır¹¹⁹. İSO, akut toksisite çalışmalarında 24 saat arayla iki gün boyunca 85-100 mg/kg dozunda bir defa subkutan olarak uygulanmaktadır. Kronik çalışmalarda ise 21-28 gün boyunca uygulanmaktadır. Bu model için tercih edilen türler genellikle kemirgenlerdir. Tercihen erkek cinsi albino Wistar fareleri ve İsviçre fareleri kullanılmaktadır. İSO'nun neden olduğu kardiyotoksisitenin mekanizması net olarak bilinmemektedir. İSO'nun miyositlerde oksidasyon sonucu oluşan apoptozu ve nekrozu indükleyen sitotoksik serbest radikallerin ürettiği varsayılmaktadır¹²⁰. Üretilen bu serbest radikaller miyokardiyal hasara yol açan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlatmaktadır¹²⁶. Lipid peroksidasyonunu değerlendirmek için Malondialdehid (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, kreatin fosfokinaz-MB (CK-MB), laktat dehidrojenaz (LDH), alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST) ve alkalın fosfat biyokimyasal testler incelenmektedir.¹²⁷



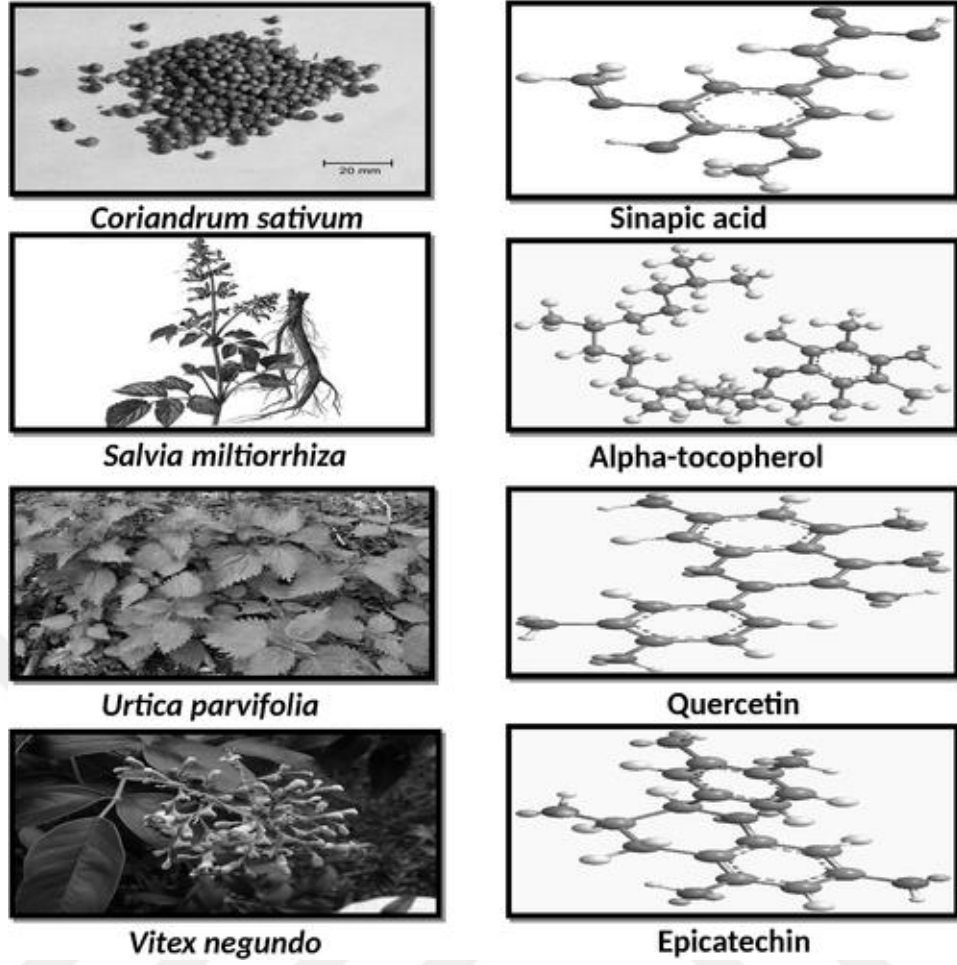
Şekil 2.6. İSO'nun neden olduğu Kardiyotoksisite

2.5. Doğal Ürünlerin Mİ Üzerindeki Farmakolojik Potansiyelleri

Doğa, çeşitli hastalıkların tedavisinde farmakolojik etkilere sahip çok sayıda bitkiyi bünyesinde bulundurmaktadır. Bitkilerin hastalıkları tedavi etmesindeki rolünü ortaya çıkarmak için dünyanın dört bir yanında araştırmalar yapılmaktadır. Doğal ürünler birden fazla hastalıkta yüksek farmakolojik potansiyel göstermektedir. Konjestif Kalp Yetersizliğinde (KKY) dijitalis, gut hastalığında tiyokolşisin, astımda teofilin gibi birçok doğal bileşik günümüzde klinik olarak kullanılmaktadır. Çok sayıda bitkisel fitokimyasallardan alkaloidler, fenoller, glikozitler, flavonoidler, kinonlar ve terpenlerin kardiyoprotektif etkileri incelenmiştir. Oksidatif stres nedeniyle kardiyak hasara yol açan serbest radikal üretiminin baskılanması doğal ürünlerin kardiyak toksisiteye karşı etkilerinden birisidir. Bu sebeple, güvenilir kardiyoprotektif ilaçlar geliştirmek için bitkisel kaynaklara ihtiyaç duyulmaktadır.¹¹⁹

2.5.1. Fenolik Bileşiklerin Rolü

Fenolik bileşikler grubu bitkilerde normal büyüme, gelişme, enfeksiyon ve yaralanmaya karşı savunma için büyük bir öneme sahiptir. Bitkilerde bulunan bazı doğal bileşikler şekil 2.7.'de gösterilmiştir¹¹⁹. Bitki fenolikleri hem yenilebilir hem de yenilemeyen kısımlarda yaygın olarak bulunmakta ve antioksidan aktivite dahil olmak üzere çeşitli biyolojik etkilere sahip olduğu bilinmektedir¹²⁸. Fenolik bileşikler hidrojen vericileri, indirgeyici ajanlar ve tekli oksijen söndürücüler olarak hareket etmelerini sağlayan redoks özelliklerinden kaynaklanabilecek güçlü antioksidan potansiyele sahiptir¹²⁹. Ayrıca metal şelasyon özellikleri de mevcuttur¹³⁰. Birçok araştırma bulgusunda fenolik bileşiklerin kanser ve kalp hastalıklarının gelişiminde önleyici rol oynadığı öne sürülmektedir¹³¹. İnsanlarda plazma antioksidan düzeylerinin fenolik bileşiklerin, alkolsüz kırmızı şarabın ve kırmızı şaraptan ekstrakte edilen bir karışımın tüketilmesi sırasında yükseldiği farkedilmiştir¹³². Kırmızı kuş üzümü, böğürtlen, yaban mersini ve siyah kuş üzümü de kimyasal olarak üretilen süperoksit radikallerine karşı oldukça yüksek temizleme aktivitesine sahiptir. Bataklık biberiye, funda, çayır tatlısı ve söğüt otu da fenolik bileşikler açısından zengin kaynaklardır. Güçlü antioksidan etkileri ve metal şelatlama özellikleri nedeniyle fenolik bileşiklerin, İSO'nun neden olduğu kardiyak hasara karşı koruyucu etkisinin olduğu belirlenmiştir. Doğal fitokimyasallar olan stilbenoidler üzüm, çilek ve diğer şifalı bitkilerde bulunmaktadır. Çileklerde bol miktarda bulunan bir bitki polifenol sınıfı olan stilbenoidlerin birçok biyolojik etkiye sahip olduğu farkedilmiştir¹³³.



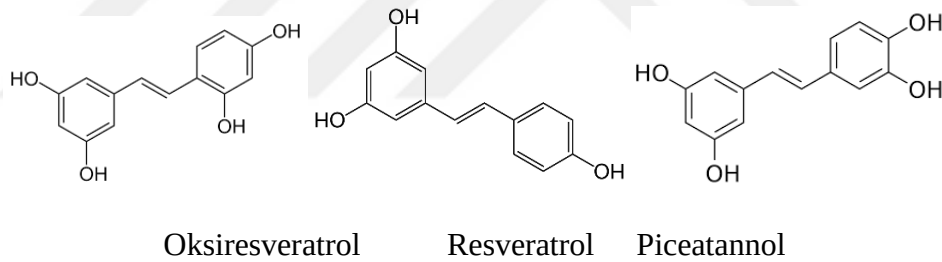
Şekil 2.7. Bitkilerdeki Doğal Bileşikler

2.6. Stilbenoidler ve KVH

Stilbenoidler grubuna resveratrol, oksiresveratrol, piceatannol ve diğerleri aittir¹³⁴. Stilbenoidlerin kimyasal yapı benzerlikleri şekil 2.8,'de gösterilmiştir¹³⁵. İnsan vasküler endotel hücrelerinde resveratrol, endotelial nitrik oksit sentazın (eNOS) ekspresyonunu artırarak damar genişletici etki göstermektedir. Stilbenler vazokonstriktörler arasında bir denge sağlayarak aterosklerozi önlemekte ve tromboz oluşumunu engellemektedir. Bir vazokonstriktör olan endotelin-1 (ET-1) ekspresyonunu azaltmaktadır. Kolesterol metabolizması üzerinde olumlu etkilere sahiptir¹³⁶. In vivo çalışmalar, resveratrolün hayvan modellerinde kan basıncı üzerinde doza bağlı bir etkiye sahip olduğunu doğrulamaktadır. Ayrıca resveratrol, hem hayvan hem de insan

çalışmalarında trombosit agregasyonunu inhibe etmektedir¹³⁷. Çok sayıda in vivo ve in vitro çalışma, piceatannol'ün kardiyovasküler hastalıklar üzerinde de etkisi olduğunu göstermiştir. Piceatannol, plazmadaki LDL-c, trombosit agregasyonu, inflamasyon gibi çoklu mekanizmalar yoluyla ateroskleroz ve kardiyak aritmi dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalıkların önlenmesine yardımcı olabilmektedir. Ayrıca PPAR-a reseptörlerinin aktivasyonu ile hiperkolesterolemiyi de önlemektedir¹³⁸. İskemi reperfüzyonlu sıçan kalplerinde yapılan bir çalışma, piceatannol'ün daha büyük bir anti-aritmik etkiye sahip olduğu için resveratrol'den daha güçlü olduğunu kanıtlamıştır¹³⁹.

Ayrıca, in vivo çalışmalar, pterostilbenin sıçan iskemi-reperfüzyon modellerinde kalp fonksiyonunu iyileştirdiğini, vasküler endotel hücrelerini otofajiye karşı koruduğunu ve yüksek dozlarda insanlarda sistolik ve diyastolik kan basıncını azalttığını kanıtlamıştır. Resveratrol gibi, pterostilben de pelet agregasyonunu inhibe etmektedir¹⁴⁰.

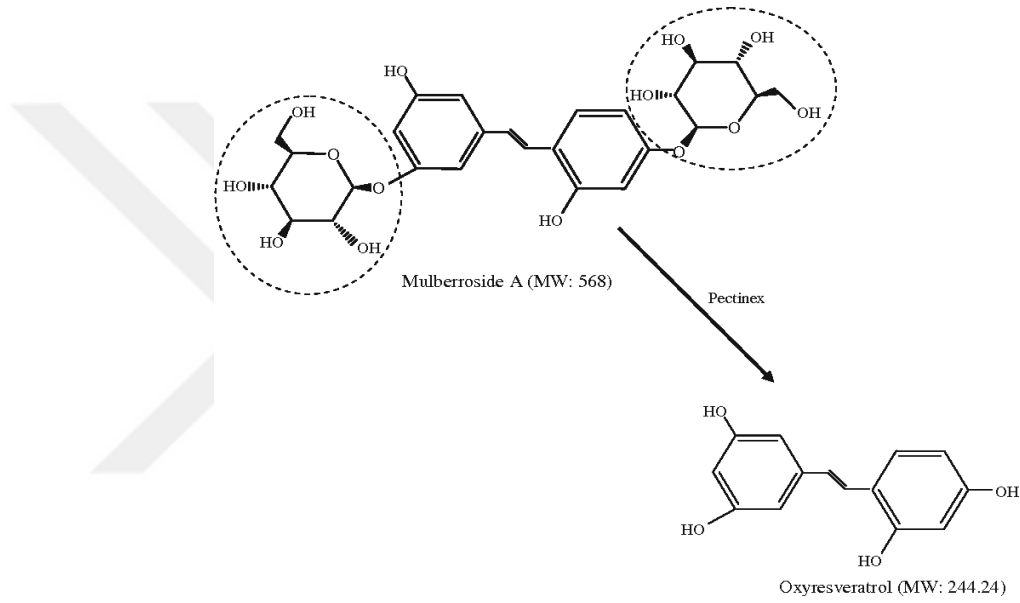


Şekil 2.8. Bazı Stilbenoidlerin Kimyasal Yapı Benzerlikleri

2.7. Oksiresveratrol'ün Kimyası

Oksiresveratrol'ün yapısı (sistemik adı: 4-[(E)-2-(3,5-dihidroksifenil)-etenil]benzen-1,3-diol; $C_{14}H_{12}O_4$) bir trans -1,2 aromatik halkaların her biri üzerinde iki OH grubu bulunan difeniletlen çekirdeği içeren doğal bir stilbenoiddir. Oksiresveratrol bitkilerde hem serbest hem de glikozidik formlarda bulunmaktadır. Yakın zamana kadar sadece mono- ve di-O-glukosidik oksiresveratrol izole edilmiştir. Mono-O-glukozillenmiş oksiresveratrol'ün 2-, 4- veya 3'-O- glukozit olarak var olduğu bulunmuştur^{141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149}. Şimdiye kadar tanımlanan tek doğal

di-glukosidik oksiresveratrol, çoğunlukla mulberrosid A olarak bilinen oksiresveratrol 3',4-diglukozittir¹⁵⁰. Bazı glikozidik oksiresveratrol bir cis konfigürasyonuna sahiptir. Oksiresveratrol *Artocarpus lakoocha* ve *Morus alba*'da (Beyaz dut) bulunan bir stilbenoid bileşiği olan Mulberrosside A maddesinin aglikonudur. Mulberrosside A, *Mori cortex*'in bileşenlerinden biridir ve organizmada oksiresveratrole dönüştükten sonra farmakolojik etki göstermektedir.¹⁵¹ Mulberrosside A ve OXY ilişkileri şekil 2.9.'da gösterilmiştir¹⁵².

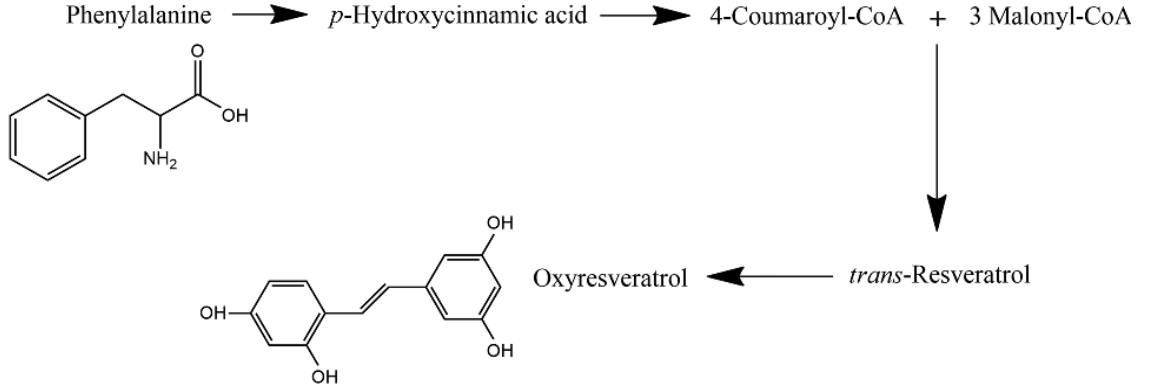


Şekil 2.9. Mulberrosside A ve Oksiresveratrol ilişkileri

2.7.1. Oksiresveratrol'ün Biyosentezi

Oksiresveratrolün daha iyi bilinen bir polihidroksistilben olan resveratrol'den türetildiğine inanılmaktadır¹⁵³, ancak henüz deneysel bir kanıt elde edilmemiştir^{154,155}. Oksiresveratrol'ün biyosentezi şekil 2.10.'da gösterilmiştir¹⁰. A halkası ve etilen köprü karbonlarının 4-hidroksisinnamoil-CoA'dan üretildiği, B halkası karbonlarının ise karışık şikimat-asetat yoluyla üç birim malonil-CoA'dan geldiği varsayılmaktadır. Başlangıç moleküllerin aldol reaksiyonu, dekarboksilasyondan sonra resveratrol üretmeye

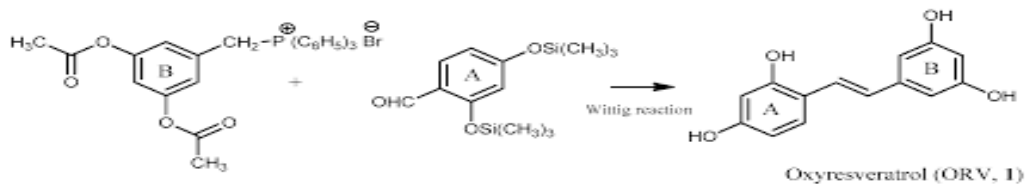
başlamaktadır. Resveratrolün C-2'deki hidroksilasyonu oksiresveratrolü oluşturmaktadır¹⁵⁵.



Şekil 2.10.. Oksiresveratrol'ün Biyosentezi

2.7.2. Kimyasal sentezi

Oksiresveratrol'ün geniş farmakolojik etkisinin olması çeşitli hastalıkların tedavisi için yapılan araştırmalara olan ilgiyi hızla arttırmaktadır. Çeşitli farmakolojik etkilerinden dolayı oksiresveratrol üretimine ihtiyaç duyulmaktadır. Tüm doğal bileşikler gibi oksiresveratrol'ün de droglarda az rastlanıldığı göz önünde bulundurularak daha ekonomik ve verimli olan kimyasal sentez yöntemi tercih edilmektedir. OYX'nin kimyasal sentezi şekil 2.11.'de gösterilmiştir¹⁰. OXY'nin ilk kimyasal sentezi 1970'de rapor edilmiştir^{156, 157}. OXY, trifenil-[3,5-dihidroksibenzil]-fosfonyum bromür ile silillenmiş 2,4-dihidroksibenzaldehidin fazla miktarda fenil lityum varlığında Wittig reaksiyonuyla elde edilmiştir. Bu sentetik yöntem aynı zamanda bir sitotoksisite çalışmasında OXY ve ilgili bileşikleri sentezlemek için de kullanılmıştır¹⁵⁸.



Şekil 2.11. Oksiresveratrol'ün Kimyasal Sentezi

2.7.3. Farmakokinetik

Oksiresveratrol'ün metabolizmasına ilişkin ilk çalışma, ana bileşik olarak Oksiresveratrol-3',4-diglukozid (Mulberroside A) içeren bir *Morus alba* özütü üzerinde gerçekleştirilmiştir. Deneysel kanıtlar, ekstraktın sıçanlara oral yoldan uygulanmasından sonra, mulberrosid A'nın karaciğerde metabolize edildiğini, kan dolaşımına geri salındığını ve daha sonra OXY-2,3'-O-β-D-diglukuronid ve OXY-2-O-β-D-glukuronid-3'-O -sülfat şeklinde safra ve idrarla atıldığını göstermiştir^{159, 160}. Ancak, daha yakın tarihli bir çalışmada, hayvanların bağırsak içerikleri ve dışkılarının analizinden elde edilen sonuçlar, mulberrosid A'nın hidrolizinin bağırsak absorpsiyonundan önce meydana geldiğini göstermiştir¹⁶¹. OXY oral yoldan uygulanan sıçanlardan toplanan plazmanın analizinden elde edilen sonuçlarda gastrointestinal kanaldan hızla emildiğini (t max 15 dakika), safra ve idrarla atıldığını göstermiştir^{162,163,164}. Birkaç çalışma, oral OXY'nin hızla emildiği ve solüsyondaki OXY'nin süspansiyon formundan daha hızlı emildiği ve elimine edildiği sonucuna varmıştır^{165,166, 167}. İnsanlarda mulberrosid A, OXY oluşturmak için bağırsak bakterileri tarafından hızla deglikosilasyona uğramaktadır. OXY daha sonra hızla emilmekte ve OXY 2-O-β-D-glukuronid, OXY sülfat oluşturmak için hepatik konjugasyona uğramaktadır. Piperinin oral OXY'nin farmakokinetik profili üzerindeki etkisine ilişkin bir çalışma yapılmıştır. OXY'nin emilimi piperin ile kombinasyon halinde verildiğinde iki kat artmaktadır¹⁶⁸.

2.7.4. Oksiresveratrol'ün Farmakolojik Etkileri

Oksiresveratrol geniş farmakolojik etkilere sahip olan doğal bir moleküldür. Farmakolojik etkileri arasında tirozinaz inhibasyonu, antioksidan, antiinflamatuvar, nöroprotektif, hepatoprotektif, antimikrobiyal, antifungal, antiviral, metabolik aktiviteleri vardır¹⁰.

2.7.4.1. Tirozinaz aktivitesi

Tirozinaz, bakır içeren bir enzimdir ve çoğunlukla ciltte, gözlerde ve saçta melanin pigmentlerinin (melanogenez) üretiminde ayrıca sebze ve meyvelerin esmerleşmesinde rolleri vardır¹⁶⁹. Enzim, l-tirozin veya l-dopa'nın dopakinona dönüşümünü katalize eder, bu da siklizasyon, oksidasyon ve polimerizasyon sonrasında melanin üretir. OXY substrat olarak l-dopa kullanıldığında mantar tirozinazını rekabetçi olmayan bir şekilde inhibe etmektedir^{152, 170, .171} Bu aynı zamanda floresan spektroskopisi ve dairesel dikroizm kombine tekniklerinin kullanıldığı ayrıntılı bir çalışma ile de doğrulanmıştır¹⁷². Mantar tirozinaz ile yapılan bir çalışmada OXY'nin steroidal saponin olan dioscin ile sinerjistik bir inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur¹⁷³.

2.7.4.2. Nöroprotektif ve İskemi Üzerine Etkileri

Smilacis çin kök sapından (ana bileşen olarak OXY ile) hazırlanan bir ekstrakt, sıçan beyin iskemisi modelinde nörolojik bozukluklardaki potansiyel uygulamalar için incelenmiştir. Oral olarak uygulanan ekstrakt, vücut sıcaklığında önemli bir değişiklik olmaksızın infarktüs hacmini azaltmıştır¹⁷⁴. Başka bir araştırmada, sıçan orta serebral arter oklüzyonu modeli kullanılmıştır. İntraperitoneal olarak uygulanan OXY, beyin infarktüsü hacmini, sitokrom c salınımını ve kaspaz-3 aktivasyonunu azaltarak apoptotik nöronların sayısında azalmaya neden olmuştur¹⁷⁵. İnfarktüs bölgesinde gözlemlenen yüksek OXY seviyeleri, kan dolaşımında OXY'nin yüksek bir kan-beyin bariyeri geçirgenliğini ortaya koymuştur. OXY'nin iskemi üzerindeki doğrudan etkisi felçte potansiyel kullanımını kanıtlamaktadır¹⁷⁶. Etanol İP olarak enjekte edilen farelere oral OXY uygulanması, serebral kortekste DNA hasarında bir azalmaya neden olmaktadır¹⁷⁷. OXY'nin intraperitoneal enjeksiyonu, motor bozukluklarını iyileştirmekte ve omurilik su içeriğindeki artışı hafifletmektedir. Hayvanların göz yuvası ve omurilik dokusundan elde

edilen numunenin biyokimyasal analizleri, OXY'nin NF- κ B/p65, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 aktivitelerinin baskılandığını kanıtlamıştır¹⁷⁸.

2.7.4.3. Hepatoprotektif Aktivite

OXY'nin HepG₂ hücrelerini takrin kaynaklı toksisiteden koruduğu kanıtlanmıştır¹⁷⁹. Nikotin ile etkileşen HepG₂ hücrelerinde OXY, mitokondride ROS oluşumunu azaltarak sitotoksisiteyi önlemekte ve böylece nikotinin kotinine dönüşümünü hızlandırmaktadır¹⁸⁰. OXY ayrıca terta-butyl hidroperoksit tarafından indüklenen ROS üretimini ve hücre ölümünü azaltabilmektedir¹⁸¹. OXY'nin yağlı karaciğer hastalığındaki potansiyel etkileri değerlendirilmiştir. Bileşik, LKB₁/AMPK yoluyla LXR α -SREBP-1c aracılı lipojenik gen indüksiyonunu baskılayarak HepG₂ hücrelerinde hepatik lipogenezi inhibe etmektedir¹⁸². Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde yağ birikimi, vücut ağırlığı OXY oral uygulama ile azaltılmıştır. OXY, lipid damlacıklarını ve hepatik steatoz bölgelerini ayrıca plazma açlık glukozu, toplam kolesterol ve LDL düzeylerini içeren çeşitli serum parametrelerini azaltmaktadır¹⁸². OXY, EtOH uygulanan farelerin karaciğerinde koruyucu aktivite göstermektedir¹⁸³. OXY'nin oral yoldan verilmesi, etanol tarafından azaltılmış glutatyon ve antioksidan enzim düzeylerini restore etmektedir. OXY ayrıca yüksek lipid peroksidasyon seviyelerini, sitokrom P450 2E1 aktivitesini, demir konsantrasyonunu ve mitokondriyal geçirgenliğini bastırmaktadır. Karbon tetraklorür (CCl₄) intraperitonel olarak enjekte edilen farelerde OXY'nin oral uygulaması sonucunda akut karaciğer hasarı önlenmiştir¹⁸¹. OXY'nin hepatoprotektif aktivitesi, CCl₄ uygulanan sıçanlarda yapılan bir çalışma ile de doğrulanmıştır¹⁸⁴. OXY'nin oral uygulanması karaciğer oksidatif hasarını engellemektedir. OXY ayrıca karaciğer dokusunda dönüştürücü büyüme faktörü β_1 (TGF- β_1) ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK) 1/2'nin aşağı regülasyonuna neden olmaktadır. Başka bir çalışmada, OXY'nin

ayrıca Smad 3'ün aktivasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Resveratrol ile karşılaştırıldığında, OXY daha yüksek bir koruyucu etki göstermektedir¹⁸⁵.

Lipopolisakkarit ve D-galaktozamin (LPS/D-GalN) enjekte edilen farelerde, OXY'nin oral yoldan verilmesiyle akut karaciğer hasarı önlenmektedir. Bileşik, ALT ve AST'nin aktivitelerini azaltmakta, oksidatif stresin neden olduğu enzim ve ürün seviyelerinin yanı sıra çeşitli inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonlarını azaltmaktadır^{186,187}.

2.7.4.4. Metabolik Bozukluklar Üzerine Etkileri

α -Glukozidaz, bağırsak emilimi için diyet karbonhidratlarının glikoza sindirilmesinden sorumlu bir bağırsak enzimidir. Bu enzimin inhibitörleri, postprandiyal hiperglisemiye kontrol etmek için klinik olarak kullanılmaktadır. *Saccharomyces cerevisiae* kaynaklı α -glukosidaz ile yapılan bir çalışmada, OXY'nin bu enzimi akarboza göre daha yüksek bir şekilde inhibe ettiği ortaya çıkmıştır¹⁸⁸. OXY-enzim kompleksi, floresan söndürme spektrumunun analiziyle incelenmiş ve bir moleküler yerleştirme çalışmasıyla doğrulanmıştır. Bununla birlikte, Caco-2 hücrelerinde değerlendirilme yapılmış, OXY, maltoz hidrolizinde akarbozdan daha zayıf inhibitör aktivite göstermiştir¹⁸⁹. Daha da önemlisi, OXY pankreas amilazını inhibe etmemektedir. Bu OXY için bir avantajdır çünkü OXY, akarboz ilacında görüldüğü gibi abdominal şişkinliğe, gaza veya ishale neden olmamaktadır. OXY ayrıca doza bağımlı bir şekilde Caco-2 hücrelerinde glukoz taşınmasını da azaltmakta ve bu özellik onun yemek sonrası hiperglisemiye baskılama yeteneğini arttırmaktadır¹⁹⁰.

Glukokinaz ayrıca karaciğerde glukoz atılımını ve glikojen sentezini kontrol ettiği için kan glukoz homeostazında önemli rolü olan bir enzimdir. HepG2 hücrelerinde bir in vitro tahlilden elde edilen sonuçlar, OXY'nin glukokinaza bağlanabileceğini ve enzimin aktivitesini stimüle edebileceğini öne sürmektedir¹⁹¹.

OXY, güçlü hipoglisemik aktiviteye sahiptir. İleri glikasyon son ürünlerinin oluşumunu pozitif kontrol aminoguanidin'den daha etkili bir şekilde bloke etmektedir¹⁹²,¹⁹³, ¹⁹⁴.

OXY ve *Morus alba* ekstraktlarının tokluk hipoglisemik etkileri, streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlarda ve farelerde araştırılmıştır. OXY'nin oral yoldan verilmesi, açlık plazma glukoz seviyesini azaltmakta, ancak hepatik glukoz taşıyıcı 2 transkripsiyonunu ve glikojen içeriğini arttırmaktadır¹⁹⁵. OXY, INS-1 hücrelerinde insülin sekresyonunu uyarmakta ve hipoglisemik potansiyel göstermektedir ¹⁹⁶.

2.7.4.5. Lipid Düzeyleri ve Kolesterol Sentezi Üzerinde Etkileri

OXY, 3T₃-L₁ hücrelerinde adipogenez üzerindeki etkiler açısından araştırılmıştır. Bileşik, siklin D₁, sikline bağımlı kinaz 4 (CDK₄) ve sikline bağımlı kinaz inhibitörü 1B ekspresyonunun aşağı regülasyonu yoluyla G₁ fazında hücre döngüsünün durmasını indükleyerek hücrel triaçilgliserol birikimini azaltmıştır ¹⁹⁷. Ana bileşen olarak OXY içeren bir *Morus alba* ekstresi ile yapılan bir çalışmada, karşılaştırılabilir sonuçlar elde edilmiştir ¹⁹⁸. OXY, sıçan 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A (HMG-CoA) redüktaz ve skualen sentaz üzerinde önemli inhibitör aktivite göstermektedir ¹⁹⁹. C₂C₁₂ miyoblastlarında yapılan bir çalışma, OXY'nin östrojen reseptörü ile ilişkili reseptör (ERR)/PGC-1 β kompleksi aracılı genin ekspresyonunu aktive edebildiğini ve dolayısıyla enerji harcamasını artırma kabiliyetine sahip olabileceğini ortaya koymuştur ²⁰⁰.

Triton WR-1339 ile indüklenen hiperlipidemik sıçanlarla yapılan bir çalışmada, oral OXY ile ön tedavi serum lipid düzeylerini düşürmüş ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-C) düzeylerini artırmıştır²⁰¹. Yüksek kolesterol diyeti (YKD) ile indüklenen hiperlipidemik sıçanlarda, oral OXY serum lipidlerinde, koroner arter risk indekisinde (CRI) ve aterosjenik indekste (AI) bir azalma göstermiştir²⁰¹. Yüksek miktarda OXY içeren bir *Morus alba* ekstresi için karşılaştırılabilir sonuçlar elde edilmiştir ²⁰².

Anti-hiperlipidemik etkiler, lesitin kolesterol asiltransferaz (LCAT), kolesterol 7 α -hidroksilaz (CYP7A1), düşük yoğunluklu lipoprotein reseptörünün (LDLR) yüksek ekspresyonları ve 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A'nın baskılanması ile ortaya çıkmaktadır²⁰². OXY'nin obeziteye karşı aktivitesi, yüksek yağlı diyetle beslenen farelerle yapılan bir çalışmada da gözlemlenmiştir. OXY'nin 3T₃-L₁ ve C₃H₁₀T_{1/2} hücrelerinde lipid birikimini ve adiposit farklılaşmasını azalttığı ve termojenik genlerin Foxo3a aracılı indüksiyonu yoluyla C₃H₁₀T_{1/2} adipositlerinde enerji harcamasındaki artışı baskıladığı bulunmuştur²⁰³.

YKD beslenen C₅₇BL₆ obez fareler üzerinde birkaç çalışma yapılmıştır^{204, 205, 206}. OXY ile takviye, insülin direncini, hiperglisemiye ve hepatik steatozu azaltmıştır. Gözlenen hipolipidemik etkilerde birkaç biyokimyasal yollar yer almıştır^{204, 205}

2.7.4.6. Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkileri

OXY, antioksidan ve anti-inflamatuvar aktiviteler için kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır, çünkü bu özellikler geniş ölçüde çeşitli farmakolojik özelliklerin altında yatan mekanizmalar olarak kabul edilmektedir. OXY, DPPH, O₂^{•-}, HO[•], ABTS^{•+}, H₂O₂ ve NO[•] gibi çeşitli reaktif kimyasal türlere karşı inhibitör aktivite için incelenmiştir. OXY'nin lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu aktivitesi, sıçan karaciğer mikrozomlarında FeSO₄/H₂O₂²⁰⁷, sıçan beyin homojenatlarında FeSO₄/askorbik asit²⁰⁸, AAPH (2, 2'-Azobis-2-metil-propanimidamit dihidroklorür) lipozomlarda incelenmiştir¹⁹². OXY, COX-1, COX-2 ve lipoksijenaz-1^{209, 210} üzerinde ve MMOC (organ kültüründe fare memesi) ve DMBA (7,12-dimetilbenz antrasen) ile indüklenen preneoplastik lezyonlara karşı inhibitör aktivite göstermektedir²⁰⁹. OXY, sıçan polimorfonükleer lökositlerinde trombosit aktive edici faktör (PAF) ile indüklenen β -glukuronidaz salınımını inhibe etmektedir²¹¹.

Birçok çalışma, antioksidan/anti-inflamatuar aktivite ile OXY'nin nöroprotektif etkileri arasındaki bağlantıları araştırmayı amaçlamıştır. OXY'nin hem ROS oluşumunu hem de hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonundaki artışı baskılayarak N -metil-D-aspartat (NMDA) ile indüklenen toksisiteden kültürlenmiş sıçan kortikal nöronlarını koruduğu bulunmuştur ¹⁷⁴. Murin N₉ mikrogial hücreleri ve birincil karışık glial kültürlerin kullanıldığı bir çalışmada, OXY NO üzerine aktivite göstermiş ancak iNOS (uyarılabılır nitrik oksit sentaz) aktivitesini ve iNOS proteininin ekspresyonunu inhibe etmemiştir ²¹². Oksidatif stresin neden olduğu kültürlenmiş P₁₉ hücreleriyle yapılan bir çalışmada, OXY nöronal hücre ölümünü önlemiştir²¹³. Lipopolisakkarit (LPS) uygulanan murin BV-2 mikrogial hücrelerinde OXY, NO, TNF- α , iNOS, IL-1 β ve IL-6'nın ve NF salınımını bastırmıştır²¹⁴. OXY, PC₁₂ hücrelerinde H₂O₂ ile indüklenen hasara karşı doza bağlı bir şekilde koruyucu aktivite göstermektedir ²¹⁵. Murin makrofaj RAW 264.7 hücreleri, anti-inflamatuar aktiviteye ilişkin çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır. OXY, iNOS aktivitesi üzerinde çok az etki ile iNOS ekspresyonunu baskılayarak LPS kaynaklı NO üretimini azaltmıştır ^{207, 216}. OXY ayrıca COX-2 protein ekspresyonunun aşağı regülasyonu yoluyla PGE₂ oluşumunu da azaltmaktadır ^{217, 216}. Ayrıca OXY, IL-6 ve granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör üretimini ayrıca mitojenle aktive olan protein kinazların, hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazın fosforilasyonunu inhibe etmektedir²¹⁸.

OXY'nin anti-inflamatuar aktivitesi üzerine bazı çalışmalar, insan hücre dizileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. LPS uygulanan insan periodontal ligament hücrelerinde OXY, hem mRNA hem de protein seviyelerinde IL-6 ve IL-8 ekspresyonunu inhibe etmiştir ²¹⁹. UV-A ile ışınlanmış insan birincil epidermal keratinositleri ile yapılan bir çalışmada, OXY, ROS ve nitrotirozin oluşumunu, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin ve siklobütan pirimidin seviyelerindeki artışı baskılayarak hücre hasarını önlemiştir²²⁰. OXY, insan lens epitel hücrelerini H₂O₂ ile indüklenen oksidatif stresten korumakta,

hemoksijenaz-1 yollarının aktivasyonu yoluyla apoptozu inhibe etmektedir²²¹. FOXO3a (Forkhead box O3), DNA onarımı ve ROS'un detoksifikasyonu gibi çeşitli biyolojik fonksiyonlarda önemli olduğu bilinen bir transkripsiyon faktörüdür. OXY'nin, FOXO3a'nın aktivasyonu yoluyla Manganez süperoksit dismutazı (MnSOD) yukarı regüle ederek insan embriyonik fibroblast hücrelerinde ROS seviyesini baskıladığı gösterilmiştir²²².

OXY, MEK/ERK yollarının inhibisyonu yoluyla SDF-1 (stromal hücre kaynaklı faktör 1) tarafından indüklenen insan Jurkat lösemik T hücrelerinin oluşumunu bastırmaktadır²²³. İnterlökin-1 β (IL-1 β) ile uyarılan C_{28/I2} insan kondrosit hücreleri ile yapılan bir çalışmada, OXY, MMP-13 (matriks metalloproteinaz-13) üretimini baskılamıştır²¹⁶. IL-1 β ile tedavi edilen HMC₃ insan mikrogial hücrelerinde OXY, PI3K/AKT/p70S6K ve ERK1/2 MAPK yollarının baskılanması yoluyla IL-6 ve MCP-1 salınımını azaltmıştır²²⁴. MCF-7 (insan meme adenokarsinomu) hücreleri ile yapılan bir çalışmada, OXY'nin östrojen reseptörü (ER) aracılı transkripsiyonu aktive ederek hücre proliferasyonunu indüklediği ve östrojen hedefli gen ekspresyonu, ER α / β protein üretimi seviyelerini arttırdığı bulunmuştur²²⁵. Moleküler yerleştirme puanları, bileşiğin her iki ER reseptörüne bağlanabileceğini ve bir agonisti olarak hareket edebileceğini göstermektedir. LPS ile uyarılan RAW264.7 hücrelerinde yapılan detaylı bir çalışma, OXY'nin NF-KB transkripsiyonunu aşağı regüle ettiğini ve ER'ye bağlı bir şekilde fosfo-I κ B- α ve fosfo-p65 protein seviyelerindeki artışı baskıladığını göstermiştir²²⁵. Bu deneysel veriler, östrojenik reseptör sinyalinin olası etki mekanizmalarından biri olduğunu ileri sürmektedir. OXY, karagenan ile indüklenen arka pençe ödeminin bir sıçan modelinde önemli anti-inflamatuar aktivite göstermektedir²⁰⁷. LPS ile simüle edilmiş RAW 264.7 hücreleri ile yapılan sonraki çalışmalar, anahtar mekanizmaların NF-

KB'nin nükleer translokasyonunun baskılanması, prostaglandin E2 (PGE 2) üretimi ve siklooksijenaz-2'nin (COX-2) aktivitesini içerdiğini öne sürmüştür^{207 , 216}.

Sıçan mast hücrelerinde OXY, concanvalin A tarafından indüklenen histamin salınımını inhibe etmiştir²²⁶. Moleküler mekanizmalar, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ve goblet hücre hiperplazisinin zayıflamasının yanı sıra T yardımcı hücreler tipi immün yanıtın baskılanmasını içermektedir²²⁷.

OXY'nin kanıtlanmış anti-inflamatuvar özellikleri, aynı zamanda, OXY'nin Crohn hastalığı ve ülseratif kolit gibi inflamatuvar bağırsak hastalıkları için terapötik bir ajan olma potansiyeline de işaret etmektedir. İnsan bağırsak LS₁₇₄T hücrelerinde yapılan çalışmalar, OXY'nin müsin üretimini uyarabildiğini ortaya çıkarmıştır. Aktivitenin NAD⁺'ya bağımlı olduğu ve endoplazmik retikulum stres yolu yoluyla otofajinin indüklenmesini içerdiği bulunmuştur^{228 , 229}. *Morus alba* ekstresi LPS uygulanan RAW 264.7 murin makrofaj hücreleri ve dekstran sodyum sülfat uygulanan farelerin modelleri kullanılarak kolitte terapötik potansiyel için oksiresveratrol içeren bir ilaç araştırılmıştır. Ekstrakt, OXY'ninkine benzer bir şekilde iltihabı bastırmış ve müsin üretimini uarmıştı²³⁰. Dekstran sülfat sodyum ile indüklenen kolitin sıçan modelinde OXY, COX-2'yi, iNOS ekspresyonunu ve epitel hücrelerinin apoptozunu inhibe ederek bağırsak içindeki inflamasyonu azaltmıştır²³¹.

2.8. Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri veya ROS, genellikle hücre hasarı ile ilişkili olan süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi çeşitlendirilirler. ROS, normal oksijen metabolizmasının doğal bir yan ürünü olarak oluşur ve hücre sinyalleşmesinde önemli rollere sahiptir. İki önemli oksijen merkezli radikal, süperoksit ve hidroksil radikali. İndirgeyici koşullar altında moleküler oksijenden türerler. Bununla birlikte, reaktivlikleri nedeniyle, aynı radikaller hücre hasarı ile sonuçlanan istenmeyen yan

reaksiyonlara katılabilmektedirler. Bu radikallerin aşırı miktarları hücre hasarına neden olabilmekte ve bu da kanser, felç, Mİ, diyabet ve majör bozukluklar gibi birçok hastalığa yol açmaktadır.²³² Birçok kanser formunun, radikaller ile DNA arasındaki reaksiyonların sonucu olduğu ve potansiyel olarak hücre döngüsünü olumsuz yönde etkileyerek maligniteye yol açabilecek mutasyonlarla sonuçlandığı düşünülmektedir²³³. Ateroskleroz gibi bazı yaşlanma belirtileri de kolesterolün 7-ketokolesterolle radikal kaynaklı oksidasyonuna esaslanmaktadır²³⁴. Sigara dumanı tarafından üretilen radikaller, akciğerde alfa 1-antitripsin inaktivasyonunda rol oynamaktadır. Bu süreç amfizem gelişimini desteklemektedir²³⁴.

Oxybenzon'un güneş ışığında radikaller oluşturduğu bulunmuştur ve bu nedenle hücre hasarı ile de ilişkili olabilmektedir²³⁵.

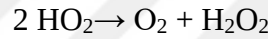
ROS, oluşumlarına neden olan doku hasarına karşı tepkileri tetikleyebilen sinyal molekülleri olarak görev yapan bir dizi 13-hidroksioktadekadienoik asit ve 9-hidroksioktadekadienoik asit ürünleri oluşturmak için birçok doymamış yağ asidi linoleik aside saldırır. ROS benzer bir dizi sinyal ürünü üretmek için diğer doymamış yağ asitlerine, örneğin araşidonik asit ve dokosaheksaenoik asit'e saldırır²³⁶.

2.8.1. Süperoksit radikali

Süperoksit radikali, kimyasal formülü O_2^- sahip olan süperoksit iyonunu içeren bir bileşiktir²³⁷. Anyonun sistematik adı dioksit(1-)'dir. Reaktif oksijen iyonu olan süperoksit, doğada yaygın olarak bulunan O_2 'nin bir elektron indirgenme ürünü olarak açığa çıkmaktadır.²³⁸ Moleküler oksijen (O_2), iki eşleşmemiş elektron içeren bir diradikaldir. Süperoksit, iki dejenere moleküler orbitalden birini dolduran bir elektronun eklenmesinden kaynaklanmakta ve tek bir eşleşmemiş elektron ile net bir negatif yüklü bir iyondur. Hem dioksijen hem de süperoksit anyonu serbest radikallerdir²³⁹. Süperoksit, tarihsel olarak "hiperoksit" olarak biliniyordu²³⁷. Süperoksit ve hidroperoksil (HO_2),

fizyolojik pH'larda süperoksit baskın olmasına rağmen, sıklıkla birbirinin yerine kullanılabilir. Hem süperoksit hem de hidroperoksil reaktif oksijen türleri olarak sınıflandırılmaktadır. Patojen mikroorganizmaları öldürmek için bağışıklık sistemi tarafından üretilmektedir. Fagositlerde süperoksit, istilacı patojenlerin oksijene bağlı öldürme mekanizmalarında kullanılmak üzere NADPH oksidaz enzimi tarafından büyük miktarlarda üretilmektedir. NADPH oksidazı kodlayan gendeki mutasyonlar, özellikle enfeksiyona karşı aşırı duyarlılıkla karakterize kronik granülomatöz hastalık adı verilen bir immün yetmezlik sendromuna neden olmaktadır²³⁹.

Süperoksit yüksek konsantrasyonlarda toksik olduğundan, oksijen varlığında yaşayan hemen hemen tüm organizmalar SOD ifade eder. SOD, süperoksitin orantısızlığını verimli bir şekilde katalize eder²⁴⁰:

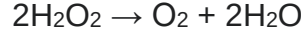
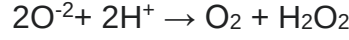


Süperoksit tarafından hem oksitlenebilen hem de indirgenebilen diğer proteinler (hemoglobin gibi) zayıf SOD benzeri aktiviteye sahiptir. SOD'un genetik inaktivasyonu bakterilerden farelere kadar organizmalarda zararlı fenotipler üretmekte ve süperoksidin in vivo toksisite mekanizmaları hakkında önemli ipuçları sağlamaktadır.

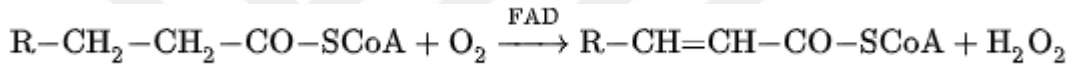
Hem mitokondriyal hem de sitozolik SOD içermeyen maya, havada çok zayıf, ancak anaerobik koşullar altında oldukça iyi büyümektedir. Sitozolik SOD'un yokluğu, mutajenezde ve genomik kararsızlıkta çarpıcı bir artışa neden olmaktadır. Süperoksit birçok hastalığın patogeneze katkıda bulunmakta ve hücrelere verdiği oksidatif hasardan dolayı yaşlanmaya da yol açmaktadır.²⁴⁰

Hidrojen peroksit (H₂O₂): Hücreler için toksik bir ürün olan hidrojen peroksit insanlarda ve diğer hayvanlarda biyokimyasal süreçlerde kısa ömürlü bir ürün olarak oluşmaktadır. Toksisite, proteinlerin, membran lipidlerinin ve DNA'nın peroksit iyonları tarafından oksidasyonundan kaynaklanmaktadır.²⁴¹ Süperoksit oksijen ve hidrojen

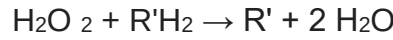
peroksiti oluşturmakta ve oluşan H₂O₂ daha sonra katalaz enzimi tarafından hızla oksijen ve suya paralanmaktadır²⁴².



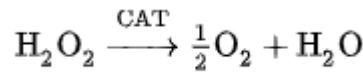
Peroksizomlar, hemen hemen tüm ökaryotik hücrelerde bulunan organellerdir²⁴³. Uzun zincirli yağ asitleri, dallı zincirli yağ asitleri, D-amino asitler, poliaminlerin katabolizmasında ve memeli beyinleri ile akciğerlerinin normal işlevi için kritik olan plazmalojenlerin , eter fosfolipidlerin biyosentezinde yer almaktadır²⁴⁴. Oksidasyon zerine, flavin adenin dinükleotidi (FAD) tarafından katalize edilen aşağıdaki süreçte hidrojen peroksit retilmektedir²⁴⁵.



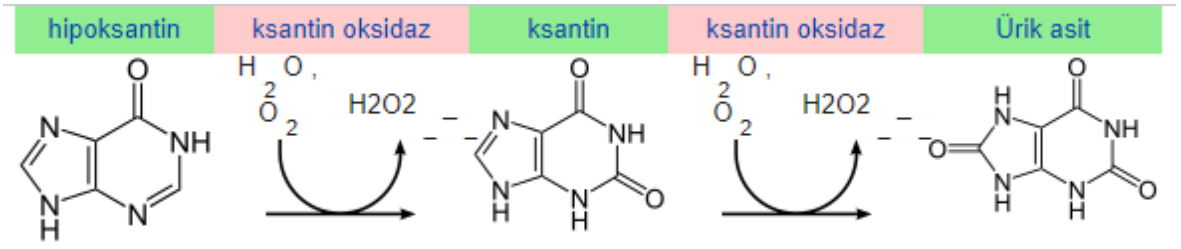
Başka bir peroksizomal enzim olan katalaz, bu H₂O₂'yi fenoller, formik asit, formaldehit ve alkol dahil olmak üzere diğer substratları oksitlemek için kullanmaktadır.



Bu reaksiyon, peroksizomların kana giren çeşitli toksik maddeleri nötralize ettiği karaciğer ve böbrek hücreleri için önemlidir. İnsanların içtiği etanolün bir kısmı bu şekilde asetaldehide oksitlenmektedir. Ayrıca hücrede fazla H₂O₂ biriktiğinde katalaz bu reaksiyonla onu suya dnřtrmektedir²⁴⁶.



Hidrojen peroksitin bir başka kaynağı, hipoksantin oluşturan adenosin monofosfatın bozulmasıdır. Hipoksantin daha sonra oksidatif olarak önce ksantine sonra ürik aside katabolize olmakta ve reaksiyon ksantin oksidaz enzimi tarafından katalize edilmektedir²⁴⁷. Ksantin oksidazın katalize ettiği reaksiyon şekil 2.12.'de gsterilmiřtir²⁴⁸.



Şekil 2.12. Ksantin Oksidaz

Hidroksil radikali: Hidroksil, oksijen ve hidrojen atomlarının bir araya gelmesiyle oluşan, oldukça reaktif ve kısa ömürlü bir $\bullet\text{OH}$ radikalidir. Genellikle, uyarılmış oksijen moleküllerinin su ile etkileşimi veya iyonlaştırıcı radyasyonun etkisiyle hidroperoksitlerin ayrışması sırasında oluşur²⁴⁹.



Hidroksil radikali reaktif oksijen türlerine aittir ve oksidatif stresin en aktif bileşenidir.

Hücrede esas olarak bir geçiş metali (demir gibi) varlığında hidrojen peroksitin indirgenmesiyle oluşmaktadır. Hidroksil radikalının in vivo yarı ömrü $t_{1/2}$ çok kısadır. Yüksek reaktivitesi onu vücutta oluşan en tehlikeli ajanlardan biri yapmaktadır²⁵¹. Süperoksit dismutaz ile detoksifiye edilebilen süperoksitten farklı olarak, hidroksil radikalını ortadan kaldıracak olan enzim, çok kısa ömrü nedeniyle etkisi fazla görülmemektedir²⁵². Hücrenin bu radikale karşı tek savunması, glutatyon gibi yüksek düzeyde düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlardır. Ortaya çıkan hidroksil radikali, yakın çevredeki herhangi bir oksitlenebilir molekül ile anında reaksiyona girmektedir. Hücrenin biyolojik olarak en önemli bileşenlerinden olan hidroksil radikali, karbonhidratları , nükleik asitleri, lipidleri ve amino asitleri oksitleyebilmektedir.²⁵²

2.9. Antioksidanlar

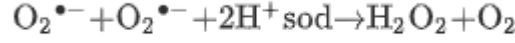
Antioksidanlar vücudun doğal ürünleri ve gıdalardan alınan besinler de dahil olmak üzere çok sayıda maddelerden biri olarak oksidasyonu engellenmesi, serbest

radikallerin ve diğer maddelerin oksidatif etkilerini nötralize edilmesi özelliklerine sahiptir ²⁵³. Antioksidanlar enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. En çok bilinen antioksidan enzimler süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve peroksidazlardır. Bu enzimler vücudun antioksidan sisteminin en önemli parçasıdır²⁵⁴.

En iyi bilinen enzimatik olmayan antioksidanlar askorbik asit (C vitamini), tokoferol (E vitamini), β - karoten (provitamin A) ve likopendir. Ayrıca polifenollere ait olan, flavin ve flavonoidler, tanenler, antosiyaninler de bu gruba girmektedirler. Antioksidanlar, suda çözünür (hidrofilik) veya lipide çözünür (lipofilik) olmalarına bağlı olarak iki geniş alt sınıfa ayrılmaktadır. Genel olarak suda çözünen antioksidanlar hücre sitozolünde ve kan plazmasında oksitlenirken, yağda çözünen antioksidanlar hücre zarlarını lipid peroksidasyonundan korumaktır²⁵⁵. Antioksidanlar vücutta sentezlenebilmekte veya diyetle alınmaktadır²⁵⁶. Çeşitli antioksidanlar vücut sıvılarında ve dokularında farklı konsantrasyonlarda bulunmakta bazıları ise esas olarak intraselüler görülmektedirler. Bazı antioksidanlar sadece belirli organizmalarda bulunabilmekte, bu bileşikler mikroorganizmaların patogenezinde ve virülans faktörlerinde önemli olabilmektedirler ²⁵⁷. Lipid peroksidasyon süreçleri vücutta sürekli olarak meydana gelmektedir. Taze bitki gıdalarının düzenli alımı kardiyovasküler ve nörolojik hastalık riskini azalttığından, antioksidanların serbest radikallerin canlı organizmaların hücreleri üzerindeki zararlı etkisini önleyebileceği ve böylece yavaşlatabileceğine dair çalışan bir hipotez formüle edilmiştir. Sonuç olarak, antioksidan özelliklere sahip diyet takviyeleri için milyarlarca dolarlık bir pazar ortaya çıkmıştır ²⁵⁸

2.9.1. Antioksidan enzimler

SOD enzimi veya Süperoksit dismutaz, yüksek reaktif süperoksit anyonunun O_2' ye ve daha az reaktif H_2O_2 türüne katalize eden antioksidan enzimdir. Peroksit, katalaz (CAT) veya glutatyon peroksidaz (GPX) enzimleriyle yok edilebilmektedir ²⁵⁹.

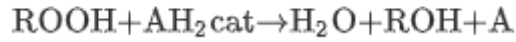
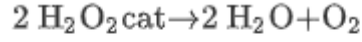


İnsanlarda üç SOD formu vardır: sitozolik Cu/Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD ve hücre dışı SOD ²⁶⁰. SOD, Ping Pong tipi bir mekanizmada aktif bölgedeki geçiş metali iyonunun art arda oksidasyonu ve indirgenmesiyle $O_2^{\bullet-}$ 'yi oldukça yüksek reaksiyon oranlarıyla yok etmektedir. Tüm SOD türleri, azid ve florür gibi tek yüklü anyonları bağlamaktadır. Fe-, Mn - veya Cu/Zn-SOD'ların duyarlılıklarında belirgin farklılıklar kaydedilmiştir. Cu/Zn-SOD, N³⁻, CN⁻ ve F⁻ tarafından yarışmalı olarak inhibe edilmektedir. Mn-SOD, süperoksidin iki aşamalı dismutasyonu sırasında Mn (III)'den Mn (II)'ye ve tekrar Mn (III)'e döngü yapan alt birim başına bir mangan atomu içeren bir homotetramerdir. Mitokondrideki solunum zinciri, oksijen radikallerinin ana kaynağıdır. Mn-SOD'un sitokinler tarafından büyük ölçüde indüklendiği ve bastırıldığı, ancak oksidanlardan sadece orta derecede etkilendiği gösterilmiştir. Peroksinitrit tarafından rekombinant insan mitokondriyal Mn-SOD'nin etkisizleştirilmesine, spesifik bir tirozin kalıntısının nitrasyonu neden olmaktadır^{261, 262}.

Cu/Zn-SOD (SOD-1), evrim boyunca korunmuş olan başka bir enzim türüdür. Her alt birim, bir bakır ve bir histamin kalıntısı tarafından köprülenmiş bir çinko atomundan oluşan aktif bölge olan bir metal kümesi içermektedir²⁶³. Cu/Zn-SOD'nin antioksidan savunmanın ilk satırında önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. 25 ppm Cu ve 100 ppm Zn ile takviye edilmiş sütle beslenen buzağılar, daha güçlü bir bağışıklık tepkisi ve daha yüksek bir SOD aktivitesi göstermektedir ²⁶⁴.

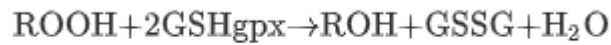
Hücre dışı süperoksit dismutaz (EC-SOD) salgılayıcı, tetramerik, bakır ve çinko içeren bir glikoproteindir. Heparin ve heparan sülfat gibi belirli glikozaminoglikanlara yüksek afiniteye sahiptir. EC-SOD, dokuların interstisyel boşluklarında ve ayrıca hücre dışı sıvılarda bulunmakta, plazma, lenf ve sinovyal sıvıdaki SOD aktivitesinin çoğunluğunu oluşturmaktadır ²⁶⁵.

Katalaz enzmi (CAT): Katalaz, alt birim başına tek bir ferriprotoporfirin grubu içeren tetramerik bir enzimdir. CAT, su ve moleküler oksijen oluşturmak için H₂O₂ ve peroksidaz aktivitesine sahip H donörleri (metanol, etanol, formik asit veya fenoller) ile çok verimli bir şekilde reaksiyona girmektedir.



Hayvanlarda hidrojen peroksit, CAT ve GPX tarafından detoksifiye edilmektedir. Katalaz, hücreleri üretilen hidrojen peroksitten korumaktadır. CAT normal koşullarda bazı hücrelerin adaptif yanıtında oksidatif strese toleransın kazanılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada SOD ve CAT içeren lipozomlar maruziyet öncesi ve sırasında intravenöz olarak enjekte edildiğinde %100 oksijene maruz kalan sıçanların hayatta kalma oranları arttırmıştır²⁶⁶.

Glutasyon Peroksidaz (GPX): Selenyum içeren glutasyon peroksidaz, enzim aktivitesi için gerekli olan dört alt birimin her birinde tek bir selenosistein (Sec) kalıntısı içermektedir. GPX, GSH kullanarak hidroperoksitlerin indirgenmesini katalize ederek memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı korumaktadır. Aslında, glutasyon metabolizması en önemli antioksidan savunma mekanizmalarından biridir²⁶⁷.



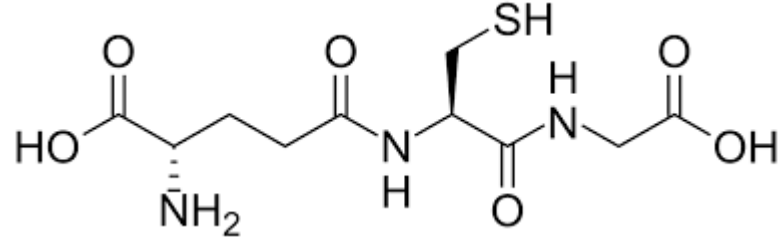
Farklı genler tarafından kodlanan birkaç izozimi vardır. İzoenzimler, hücre lokalizasyonu ve substrat spesifikliğı bakımından farklılık göstermektedirler. İnsanlarda, 5'i selenyum bağımlı (selenyum aktif merkezin bir parçasıdır) olan 8 GPx formu ayırt edilmektedir²⁶⁸. Glutasyon peroksidaz 1 (GPx1) - tetramerik form, enzimin en yaygın şeklidir ve hemen hemen tüm memeli dokularının sitoplazmasında bulunmaktadır. GPx1'in substratı hidrojen peroksittir. Glutasyon peroksidaz 2 (GPx2) de tetramerik bir

enzimdir ve bağırsakta eksprese edilmektedir. Bu enzimin en yüksek konsantrasyonları bağırsak kriptlerinin tabanında bulunmuştur. GPx3, hücre dışı bir tetramerik enzimdir ve esas olarak plazmada bulunmaktadır²⁶⁹. Esas olarak böbrekler tarafından plazmaya salgılanmaktadır. Glutasyon peroksidaz 4 (GPx4), lipid hidroperoksitlerin metabolizmasında büyük önemi olan monomerik bir izoenzimdir; GPx4 de ifade edilir ve hemen hemen tüm memeli hücrelerinde daha düşük seviyelerde bulunur. Sığır eritrositlerinden izole edilen glutasyon peroksidaz, yaklaşık 84 kDa'lık bir moleküler ağırlığa sahiptir²⁶⁸.

2.9.2. Non-Enzimatik Antioksidanlar

Glutasyon. Glutasyon (2-amino-5-[2-[(karboksimetil)amino]-1-(merkaptometil)-2-oksoetil]amino-5-oksopentanoik asit, , GSH) üç peptitli bir y-glutamilsisteinilglisindir. Glutasyon, sisteinin amino grubu ile glutamatın yan zincirinin karboksil grubu arasında bir peptit bağı içermektedir. Glutasyon molekülü şekil 2.13.'de gösterilmiştir²⁷⁰. Hücredeki glutasyonun değeri, antioksidan özellikleri ile belirlenmektedir. Aslında glutasyon sadece hücreyi toksik serbest radikallerden korumakla kalmaz, aynı zamanda genellikle hücre içi ortamın redoks özelliklerini de belirlemektedir ²⁷¹. Glutasyon, lökotrienlerin sentezinde yer alır ve glutasyon peroksidaz enzimi için bir kofaktördür. Ayrıca karaciğer enzimleri tarafından hidrofobik toksik maddelere biyotransformasyon sürecinde bağlanarak safranin bir parçası olarak vücuttan atılmak üzere hidrofilik bir molekül görevi görmektedir. Glioksalaz enzim sisteminin bir parçası olarak glutasyon, metabolizmanın toksik bir yan ürünü olan metilglioksalin detoksifikasyon reaksiyonunda yer almaktadır. Glyoxalase I metilglioksal ve indirgenmiş glutasyonu laktoilglutasyona dönüştürülmektedir. Glutasyon, sitozol, mikrozomlar ve mitokondride glutasyon-S-transferaz tarafından katalize edilen konjugasyon ve indirgeme reaksiyonları için bir substrattır. Glutasyon, gastrointestinal kanalda ²⁷²zayıf bir şekilde emilir, bu nedenle

patolojik koşullarda normal glutatyon seviyelerini eski haline getirmek için N-asetilsistein reçete edilmektedir²⁷³.



Şekil 2.13. Glutatyon molekülü

Vitamin E (Tokoferol). E Vitamini, hücre zarlarının oksidatif hasara karşı bir koruyucusudur. Oksijenin doymamış zar lipidleriyle temas etmesini önleyen zarda bir pozisyon tutmaktadır. Bu, biyomembranları peroksit bozulmasından korumaktadır. Tokoferolün antioksidan özellikleri aynı zamanda molekülünün kroman çekirdek hidroksilinin serbest oksijen radikalleri (O_2 , HO, HO_2), doymamış yağ asitlerinin serbest radikalleri (RO , RO_2) ile doğrudan etkileşime girme yeteneğinden de kaynaklanmaktadır. Vitaminin membran stabilize edici etkisi, SH-grubu membran proteinlerini oksidasyondan koruma kabiliyetinde de kendini göstermektedir.²⁷⁴ Vitamin E (askorbat ile birlikte), selenyumun glutatyon peroksidazın aktif merkezine dahil edilmesine katkıda bulunarak enzimatik antioksidan korumayı etkinleştirmektedir (glutatyon peroksidaz, lipid hidroperoksitleri nötralize eder)²⁷⁵. Tüm hücre organelleri içinde mitokondriler, en kolay oksitlenen doymamış lipidleri içerdiklerinden, hasara en duyarlı olanlardır. E vitamininin mitokondrideki membran stabilize edici etkisinden dolayı oksidatif fosforilasyonun konjugasyonu, ATP ve kreatin fosfat oluşumu artmaktadır. Vitamin solunum zincirinin bir bileşeni ve mitokondrinin ana antioksidanı olan ubiquinone'un biyosentezini kontrol etmektedir²⁷⁶.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar

Tez çalışmalarımızda laboratuvarda bulunan tüm maddeler Sigma Chemical Co. şirketinden (Munich, Germany) alınmıştır. İsoproterenol ve oksiresveratrol (Sigma Chemical Co.), ketamin (Ketalar 500 mg Pfizer İlaçlar Ltd. Şti.) ve ksilazin (Xylazinbio 20 mg/ml İNTERMED Ecza Deposu İthalat İhracat Ticaret ve Taahhüt Limited Şirketi) kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasının yapılması için Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji anabilim dalında bulunmakta olan;

Magnetik karıştırıcı cihazı	: Wids WiseStir MSH-20A, Almanya
Etüv cihazı	: Memmert WNB 7-45, Almanya
Hassas terazi cihazı	: Shimadzu ATX224, ABD
Elisa Reader cihazı	: Epoch Microplate Spectrophotometre, BioTek, ABD
Doku Homejenizatörü cihazı	: Tissue Lyser II Qiagen, Almanya
Otomatik Multikanal pipet	: Eppendorf Research Plus
pH metre cihazı	: SCHOTT Instruments Lab 850, Almanya
Buzdolabı (-80)	: Nuaire NU-9483E, ABD

Çalışmalar çeşitli boyutlarda eppendorf tüpleri, cerrahi eldiven, beherler, deney tüpü, balon joje, cerrahi makas, vs malzemeler steril olacak şekilde farklı laboratuvar deneylerinde kullanılmıştır.

3.4. Deneyde Kullanılan İlaçların Hazırlanması

Oksiresveratrol: 10 ve 20 mg dozlara uygun her bir sıçana 1 ml hacimde uygulanacak şekilde saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

İsoproterenol: Her bir hayvana 180 mg/kg dozda 1 ml İP uygulanacak şekilde

hazırlandı.

Ksilazin ve Ketamin: Deney sonunda ötenazi yapmak için intraperitoneal (i.p) uygulanacak şekilde 0.1 ksilazin ve 0.9 ketamin karıştırılarak sıçanlara 0.25 cc verilip sakrifiye edildi.

3.5. Tez çalışmasında kullanılan hayvanlar

Tez çalışmasında Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (ATADEM) yetiştirilen 220-240 gr arası 30 tane dişi Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Hayvanların deneyde kullanımı ile bakımı ulusal düzenlemeler esasında gerçekleştirilmiştir. Atatürk Üniversitesi Hayvan deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından (28.12.2021 tarihinde) kabul edilmiştir (E-93722986-000-2100359379). Tez çalışması için kullanılan sıçanlar, 220-240 gr ağırlığında ve deney öncesi oda sıcaklığı ortamında ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) farklı gruplar halinde beslenmiştir. Deneyde kullanılacak olan sıçanlar ad libitum beslenmiştir.

3.5.1. İsopterrenol İle Oluşturulan Mİ Modelinin Deneysel Tasarımı

Çalışma sıçanlar 5 gruba ve her grupta 6 sıçan olmak üzere yürütülmüştür. Çalışmada Deney grupları; Grup 1. Kontrol (sağlıklı), Grup 2. OXY 20 mg/kg, Grup 3. İSO 180 mg/kg, Grup 4. OXY 10 mg/kg + İSO 180 mg/kg, Grup 5. OXY 20 mg/kg + İSO 180 mg/kg olmak üzere isimlendirip gruplandırılmıştır. Çalışmadaki deney grupları ilaç uygulama öncesi bir gün sürede aç bırakılmıştır. Çalışma 3 gün süreli olan adaptasyon sürecinden sonra başlatılmıştır. Bu sürede sıçanlara uygulanacak olan maddelerin dozları hesaplanmıştır. İSO 180 mg/kg, OXY 10 ve 20 mg/kg verildi. Sıçanlara çalışmada oral verilmek üzere ilaçların fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre uygun çözücüler kullanılarak eritilip uygulanmıştır. 16 G kalınlığında olan eğri bir gavaj (Harvard Apparatus) kullanılmakla ilaçlar uygulanmıştır. Uygulamadan 6 saat sonrasında yüksek doz anestezi (Ksilazin ve Ketamin) kullanılmakla hayvanlar sakrifiye edilmiş ve

sıçanların kalpleri çıkarılmıştır. Çıkarılmış kalpler serum izotonik yardımıyla yıkanmış ve makroskopik olmakla kalp incelenmesi yapıldıktan sonra kalp dokuları biyokimyasal incelemeler yapılması için -80°C buzdolabında muhafaza edilmiştir. OXY'nin kardiyoprotektif etkileri, biyokimyasal analiz yöntemleri ile belirlenmiştir. OXY ve İSO gruplarından alınmış sonuçlar kontrol grubu ile mukayese edilmiştir.

Tablo 3.1. Sıçanların gruplar halinde ayrılması ve deney planı.

Grup No	Grup İsimleri
1. Grup	Sağlıklı Kontrol
2. Grup	OXY 20 mg/kg
3. Grup	İSO kontrol (180 mg/kg)
4. Grup	OXY 10 mg/kg + İSO 180 mg/kg
5. Grup	OXY 20 mg/kg + İSO 180 mg/kg

3.6. Örneklerin Alınması

7 günlük çalışma sonrası deney hayvanlar ksilazin ve ketamin kombinesi ile anestezi edilmiştir. Sonra ise kalbin sol ventrikülüne bir enjektör yardımıyla girilip alınan kanlar antikoagülansız tüplere ilave edildi. Hayvanlardan elde edilen numuneler 30 dakika sürede bekletilmiş ve son on dakikada +4°C'de 4000 g'de santrifüj edilmiştir.

3.7. CK-MB ve TnI Analizleri

CK-MB ve TnI Analizleri Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarında yapılmıştır.

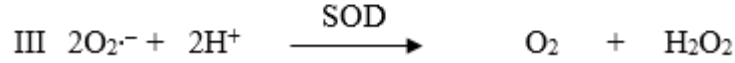
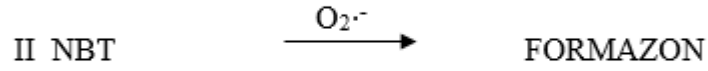
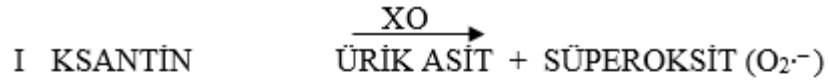
3.8. Kalp Doku Nümunesinin Biyokimyasal İncelenmesi

Sıçanlardan elde edilen kalp nümuneleri makroskopik incelenmeden sonra kalp dokuları biyokimyasal incelemelerin yapılması için -80°C'de buzdolabına bırakıldı. Doku numunelerinin enzim aktiviteleri analizini yapmak için sıçanlardan elde edilen kalp dokusu nümuneleri, TissueLyser II cihazı yardımıyla sıvı nitrojen ilave edilerek

öğütülmüştür. Yaklaşık olarak 100 mg ağırlığında öğütülen doku nümunesi, Tissue Lyser II yardımıyla eppendorf tüpü içerisinde 1 ml hacimde homojenat tamponu olan PBS ilave edilerek homojenize edildi (30 hz 3 dk) ve daha sonra santrifüj kullanılarak döndürüldü. Her bir örnek standartlarından ve üst fazından, glutatyon (GSH), protein seviyeleri, malondialdehit (MDA) süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD) seviyeleri ELISA okuyucu ile oda sıcaklığı ortamında literatürler bilgilerine uygun olarak 96'lık well plate'e modifiye edilmekle üç defa tekrar ölçüm gerçekleştirildi. Her standardın ve nümunenin ortalama absorbansı hesaplanmıştır. Standart eğrisi çizilerek denklem standartların absorbansından elde edildi. Dokulardaki MDA, SOD, ve GSH miktar sonuçları, sırasıyla nmol/ mg protein, U/mg protein, ve nmol/mg protein olarak isimlendirildi. Bu çalışmadaki veriler mg protein başına ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak belirlendi.

3.8.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivite Tayini

Deney Metodu: SOD aktivite tayini Sun ve yoldaşlarının uyguladığı yöntem izlenilerek yapıldı. Bu yöntemin esas içeriği nitroblue tetrazolium' un (NBT) bir süperoksit radikalini oluşturan ksantin-ksantin oksidaz sistemi yardımıyla indirgenmesine dayanır. Metodun prensibi, ksantin ksantin oksidaz ile oksidasyonunda oluşan $O_2^{\cdot-}$ nin Nitroblue Tetrazolium (NBT)' u redüksiyona uğratarak, farmazonu açığa çıkartması temeline dayanır. SOD konsantrasyonu arttıkça, NBT ile tepkimeye tabi tutulan süperoksit radikalinin konsantrasyonu düşürecek ve bu sebeple formazonun oluşumunda azalma görülecektir.



Kullanılan Reaktifler

1. SOD standart.
2. Xanthine Oxidase
3. Ölçüm karışımı içerisinde 150 μM NTB, 0.3 mM Xanthine, 0.4 M Na_2CO_3 , 1.2 g/L BSA ve 0.6 mM EDTA maddeleri bulunur.
4. Homojenat tamponu görevini PBS almaktadır.
5. 50 mM pH: 0.8 Tris-HCl.

Deneyin Yapılışı

Doku homojenize edilmesi;

1. Nümuneler sıvı nitrojen yardımıyla homojenizasyona tabi tutulmuştur.
2. Nümuneleri kandan ayırmak için PBS yardımıyla yıkanmıştır.
3. Nümunelerin her birine 1 ml PBS ilave edilerek Qiagen Tissue Lyser II cihazı yardımıyla homojenizasyona tabi tutulmuştur (30 hz 3 dk).
4. 1500 g' de +4 °C' de 15 dakika süre zarfında santrifüj işlemi yapıldı.
5. Nümuneden süpernatant elde edilip ölçüm yapıldı.

Tez çalışması deneyi gerçekleşmesi için 96 kuyucuklu plate' ler kullanıldı. Ölçüm işlemi aşağıda gösterilen basamaklarla gerçekleştirildi;

1. Kuyulara standartlar ve örnekler 50 μl eklendi.
2. Homojenat tamponu 50 μl olacak şekilde plate' in blind kısmına ilave edildi.

3. Ölçme yapılacak karışımından tüm kuyuların içine 200 µl ilave edildi.
4. Xanthine Oxidase tüm kuyulara 20 µl olacak şekilde ilave edildi.
5. Xanthine Oxidase ilave edildikten sonra 20 dakika 25°C’de sıcaklıkta inkübasyon işlemi yapıldı.
6. İnkübasyon bittikten sonra Elisa readerda 560 nm’ de okutuldu.

SOD Enzim Aktivitesinin Hesaplanması:

Mavi-mor renkli bilşik olan formazondaki absorbans 560 nm’ de 96’ lık well plate yardımıyla okutuldu ve seyreltme katsayılarına dayanarak önceden hazırlanmış SOD stok solüsyonu yardımıyla standart oluşturulup bir grafik kullanılarak hesaplamalar yapıldı. Örneklerin SOD aktivitesi, U/mg protein şeklinde isimlendirildi. 3 defa tekrar yapılmakla her bir nümune faktörünün etkisi belirlendi.

$$\text{EU/mg doku} = \left(\frac{A_{Kör} - A_{numune}}{A_{Kör}} \right) \times 100$$

3.8.2. Total Glutasyon (GSH) Aktivite Tayini

Deney Metodu: GSH tayini Sedlak ve yoldaşlarının (refere etmelisin) uyguladığı metod izlenilerek yapıldı. Ölçüm ortamında bulunan DTNB 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) yapısında disulfit (S-S) bulunduran kromojen bir madde olup, sülfhidril grubuna sahip maddeler ile reaksiyona girerek kolay bir şekilde indirgenmektedir. Bulunan sarı renk 412 nm spektrofotometrik yöntemle ölçülmektedir.

Kullanılan Reaktifler

1. Homojenat tamponu görevini PBS almaktadır.
2. Ölçüm tamponu; 200 mM Tris-HCl, 0.2 mM EDTA içermektedir pH: 8.2
3. 10 mM DTNB ve metanol
4. Standart olarak GSH stok

Deneyin Aşamaları

Doku nümunesinin homojenizasyona tabi tutulması;

1. 0.1 g (100 mg) doku nümunesine 1 ml hacimde PBS eklendi.
2. Karışımın Qiagen Tissue Lyser II cihazı yardımıyla homojenizesi gerçekleştirildi (30 hz 3 dk).
3. Homojenat üzerinde 15 dk sürede 12000 rpm' de +4 °C' de santrifüj işlemi yapıldı.
4. Elde edilen süpernatantlar GSH ölçümünde kullanıldı.

Ölçüm 96 kuyucuklu plate' te aşağıdaki basamaklarla gerçekleştirildi;

1. Kuyucuklara standart ve nümuneler 25 µl ilave edildi.
2. Homojenat tamponu 50 µl olacak şekilde plate' in kör kısmına ilave edildi.
3. 150 µl olacak şekilde tüm kuyulara ölçüm tamponu eklendi.
4. DTNB 10 µl olacak şekilde pipetlenip karıştırıldı.
5. 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakılmak için Plate'e gerekli olan yüklemeler yapıldı.
6. Elisa'da sonra ölçüm 412 nm'de yapıldı.

GSH Miktarının Hesaplanması:

Açığa çıkan sarı renk 412 nm' de 96' lık well plate yardımıyla okutuldu, önceden hazırlanmış ve seyreltme katsayıları esas alınarak GSH stok solüsyonu yardımıyla oluşturulan standart bir grafik kullanılarak ölçmeler yapıldı. Örneklerin GSH konsantrasyonları, nmol/mg protein şeklinde isimlendirildi. 3 defa tekrar yapılmakla her bir nümune faktörünün etkisi belirlendi.

3.8.3. Malondialdehit (MDA) Analizi

Deney Metodu: Ohkawa ve yoldaşlarının uyguladığı metod izlenilerek yapıldı. Malondialdehit (MDA) düzeyleri, lipid peroksidasyon göstergesi olarak bilinmektedir.

Lipit Peroksidasyon düzeyi, tiyobarbitürik asitin reaktif tür miktarlarına hesaplandı. Malondialdehit ile tiyobarbitürik asit 90-95 °C' ısıda tepkimeye girip pembe renginde bir kromojen oluşturmaktadır.

Kullanılan Reaktifler

1. Homojenat tamponu görevini PBS almaktadır.
2. % 8 SLS, % 20 Asetik asit ve % 0.08 TBA içerikli Ölçüm tamponu.
3. 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (MDA) stok standart.

Deneyin Aşamaları

Doku nümunesinin homojenizasyona tabi tutulması;

1. 100 mg doku numunesine 1 ml hacimde PBS eklendi.
2. Karışımın Qiagen Tissue Lyser II cihazı yardımıyla homojenizesi gerçekleştirildi (30 hz 3 dk).
3. Homojenat üzerinde 15 dk sürede 4000 rpm' de +4 °C' de santrifüj işlemi yapıldı.
4. Elde edilen süpernatantlar MDA ölçümünde kullanıldı.

96 well plate' te ölçüm aşağıdaki basamaklarla yapıldı;

1. Kuyulara standartlar ve numunelere sırasıyla 10 ve 50 µl olacak şekilde eklendi.
2. Homojenat tamponu 10 µl olacak şekilde plate'in kör kısmına ilave edildi.
3. 190 µl olacak şekilde tüm kuyulara ölçüm tamponu eklendi.
4. Elde edilen karışım, bir saat 100 °C' ısıda inkübe edildi.
5. İnkübasyon bittikten sonra plate'in soğuması için beklemeye bırakıldı.
6. Elisa'da ölçüm 532 nm'de yapıldı.

MDA Miktarının Hesaplanması:

100 mM olan stok standart solüsyonundan farklı konsantrasyonlarda alınan standartlar ile numuneler beraber koşullarda çalışılıp, bulunan pembe renk miktarları 532 nm' 96' lık well plate yardımıyla Elisa' da okutuldu ve belirlenen sonuçlarla standart grafiği oluşturuldu. Grafikten belirlenen eğim sabiti örneklerle uygulandı, MDA düzeyleri gram doku nümunesi başına nanomol olacak şekilde ölçüldü. Sonra ise nümune örneklerinin MDA düzeyleri nmol/mg protein olarak belirlendi. 3 defa tekrar yapılmakla her bir nümune faktörünün etkisi belirlendi.

3.8.4. Protein Tayini

Deneyin Metodu: Ticari protein standartları (Total protein kiti-TP0300-1 KT; Sigma Chemical Co. (Münih, Almanya))yardımıyla kalp dokusundaki protein tayininin gerçekleştirilmesi Lowry yöntemine dayanarak ölçümler yapılmıştır. Bu metoda göre peptid bağları ve alkali bakır tartarat ayırıcı kompleks bileşik oluşturmaktadır. Bakırla etki edilmiş karışıma fenol ayırıcı ilave edildiğinde mor-mavi renk oluşumunun olduğu fark edilmektedir. Sonda görülen bu renk 650 nm' dalga boyunda okutulmaktadır.

Kullanılan Reaktifler

1. Lowry Reagent Çözeltisinin Hazırlanışı: 40 ml hacimde distile su ile 1 şişe hacimde Lowry Reagent karıştırılarak çözelti hazırlandı.
2. Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent (Working) Çözeltisinin Hazırlanışı: 450 µl Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent 4.75 ml distile su ilave edilerek hazırlandı.
3. Protein Standart Çözeltisinin Hazırlanışı: 20 ml distille su içinde 32 mg BSA çözülüp hazırlandı.

Deney Prosedürü

Standartlar dışında tüm kuyuların içine 95 µl distile su ilave edildi.

1. Örnekler kuyulara (well) 5 µl ilave edilir. Standartlar ise 100 µl hacimde eklendi.
2. Plate shaker ile sallayıp on dakika sürede inkübasyona tabi tutuldu.
3. 50 µl hacimde Lowry Reagent çözeltisi her bir kuyuya ilave edilir (kör ve standart dahil olmakla).
4. Oda sıcaklığında 20 dakika sürede inkübasyona bırakılır.
5. 50 µl hacime Working çözeltisi her bir kuyuya ilave edilir.
6. Oda sıcaklığında 30 dakika sürede inkübasyona bırakılır.
7. Elisa'da sonra 750 nm'de ölçme yapıldı.

Dokuda Proteinin Hesaplanması:

$$\mu\text{g protein / ml} = (\text{Örnek Abs. / Std. Abs.}) \times \text{Std. Konsantrasyonu}$$

3.9. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışması sonucunda istatistiksel değerlendirmeler ve kıyaslamalar SPSS 20.0 software uygulaması yardımıyla gerçekleştirildi. Deneylerden belirlenen veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verildi ve 0.05' ten küçük P verileri, istatistiksel olarak çok önemli olduğu belirlendi. Gruplar arasındaki farkların önemlilik derecesi One-Way ANOVA testinde Post Hoc Çoklu karşılaştırmalı testlerden Duncan'a göre gerçekleştirildi. $p < 0.05$ anlamlı olduğu belirlendi. Farklı harflerin yazılması grupların istatistiksel anlamda farklı olduğunu ifade etmektedir. Aynı harflerle ifade gruplar arasında farkın çok az veya olmadığını göstermektedir.

4. BULGULAR

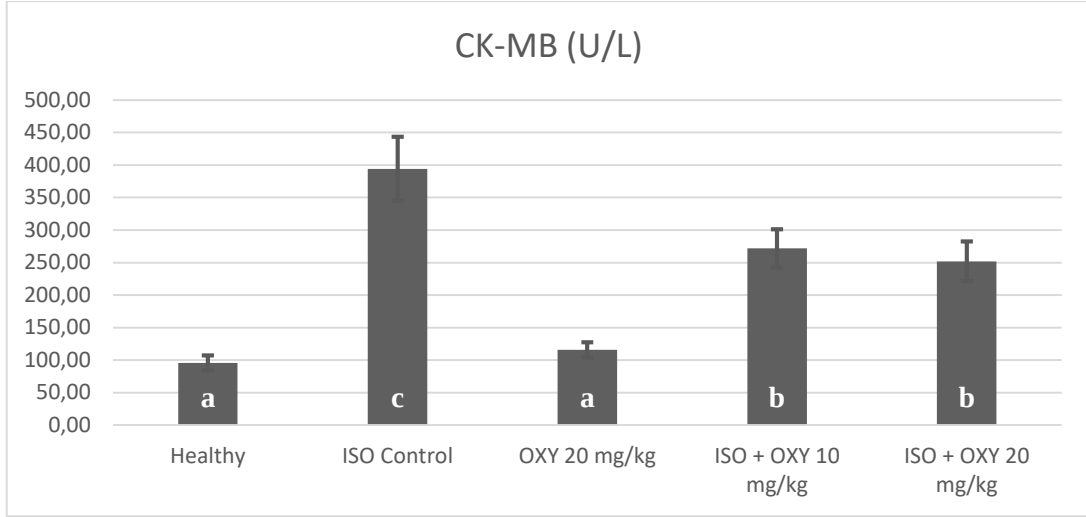
Yaptığımız tez çalışmasından sıçanların serumlarında CK-MB ve TnI, kalp dokusunda ise SOD, GSH ve MDA seviyesi verileri aşağıdaki gibi sunulmuştur.

4.1. CK-MB Sonuçları

OXY (20 mg/kg), OXY + İSO, İSO ve Sağlıklı kontrol gruplarının kan serumlarında CK-MB miktarını açıklayan veriler Şekil 4.1. ve Tablo 4.1’de tarif edilmiştir. Şekil 4.1. ve Tablo 4.1.’de görüldüğü gibi CK-MB seviyeleri Sağlıklı kontrol grubunda 95.76 ± 11.46 , İSO kontrol grubunda 394.18 ± 49.49 , OXY 20 mg/kg grubunda 115.92 ± 11.61 , İSO + OXY 10 mg/kg ve İSO + OXY 20 mg/kg gruplarında ise sırasıyla 271.69 ± 29.64 ve $251.89 \pm 30,44$ olarak belirlenmiştir. İSO grubunu sağlıklı grupla karşılaştırdığımızda CK-MB seviyeleri anlamlı bir şekilde yükselmiştir. İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını ise İSO grubu ile karşılaştırdığımızda CK-MB seviyeleri anlamlı bir şekilde azalmıştır. İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda birinci grubun CK-MB seviyelerinin daha düşük olduğu fark edilmiştir. OXY 20 mg/kg grubunu Sağlıklı grupla kıyasladığımızda anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir.

Tablo 4.1. CK-MB sonuçları

Uygulamalar	CK-MB düzeyleri		
	Doz mg/kg	N	nmol/mg
Sağlıklı kontrol	-	6	95.76 ± 11.46
İSO kontrol	180	6	394.18 ± 49.49
OXY 20 mg/kg	20	6	115.92 ± 11.61
OXY 10 mg/kg + İSO	10	6	271.69 ± 29.64
OXY 20 mg/kg + İSO	20	6	$251.89 \pm 30,44$



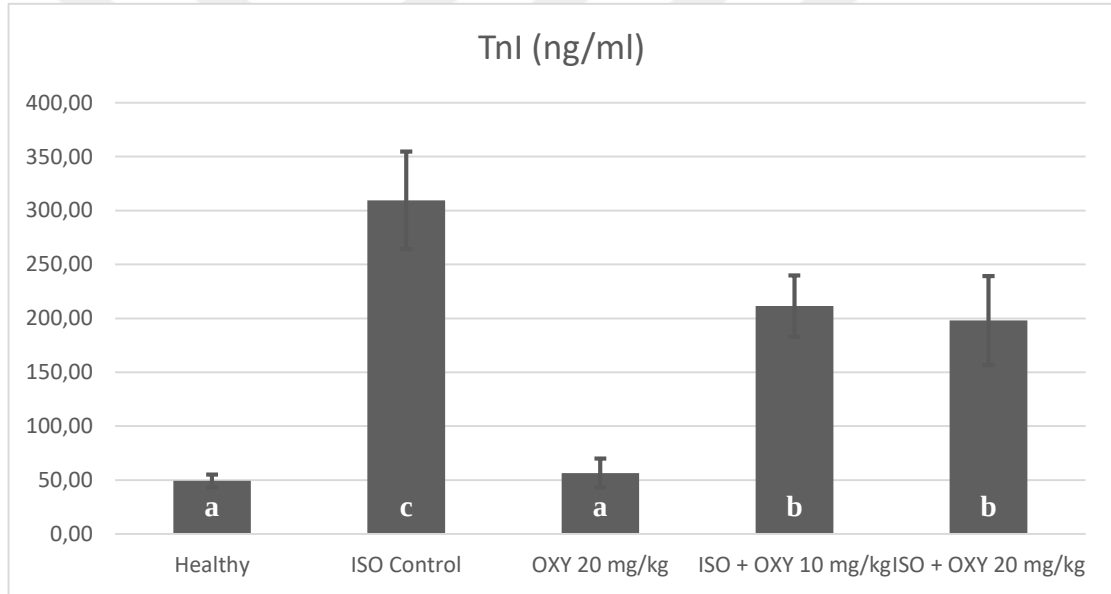
Şekil 4.1. CK-MB sonuçlarının grafiği

4.2. TnI Sonuçları

OXY (20 mg/kg), OXY + İSO, İSO ve Sağlıklı kontrol gruplarının kan serumlarında belirlenmiş TnI miktarını açıklayan veriler Şekil 4.2. ve Tablo 4.2.'de tarif edilmiştir. Şekil 4.2. ve Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi TnI seviyeleri Sağlıklı kontrol grubunda 49.22 ± 5.80 , İSO kontrol grubunda 309.47 ± 45.28 , OXY 20 mg/kg grubunda 56.57 ± 13.36 , İSO + OXY 10 mg/kg ve İSO + OXY 20 mg/kg gruplarda ise sırasıyla 211.28 ± 28.56 ve 197.97 ± 41.27 olarak belirlenmiştir. İSO grubunu sağlıklı grupla karşılaştırdığımızda TnI seviyeleri anlamlı bir şekilde yükselmiştir. İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını ise İSO grubu ile karşılaştırdığımızda TnI seviyeleri anlamlı bir şekilde azalmıştır. İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda birinci grubun TnI seviyelerinin daha düşük olduğu fark edilmiştir. OXY 20 mg/kg grubunu Sağlıklı grupla kıyasladığımızda anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir.

Tablo 4.2. TnI sonuçları

Uygulamalar	Doz mg/kg	N	TnI düzeyleri
			nmol/mg
Sağlıklı kontrol		6	49.22 ± 5.80
İSO kontrol	180	6	309.47 ± 45.28
OXY 20 mg/kg	20	6	56.57 ± 13.36
OXY 10 mg/kg + İSO	10	6	211.28 ± 28.56
OXY 20 mg/kg + İSO	20	6	197.97 ± 41.27



Şekil 4.2. TnI sonuçlarının grafiği

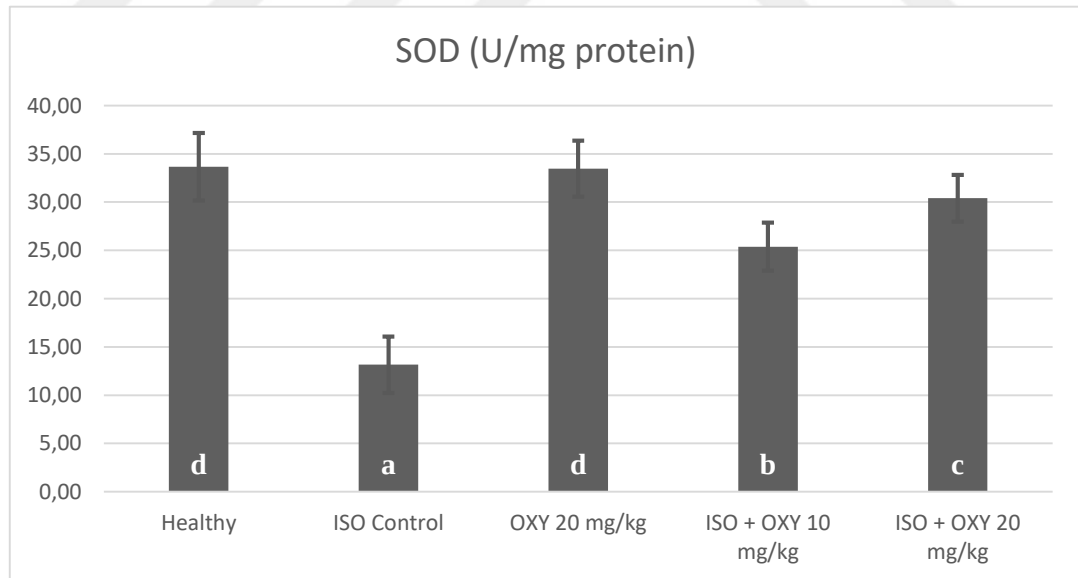
4.3. Süperoksit Dismutaz Miktarı Sonuçları

Uygulanan OXY (10 ve 20 mg/kg), İSO ve Sağlıklı kontrol gruplarının kalp dokularının SOD aktivitelerini belirleyen neticeler Şekil 4.3. ve Tablo 4.3.'de belirlenmiştir. SOD sonuçları Sağlıklı kontrol grubunda $33,66 \pm 4,81$, İSO kontrol grubunda $13,16 \pm 1,92$, OXY 20 mg/kg grubunda $33,47 \pm 1,66$, İSO + OXY 10 mg/kg ve İSO + OXY 20 mg/kg gruplarında ise sırasıyla $25,39 \pm 2,04$ ve $30,40 \pm 2,29$ olarak sonuçlar belirlenmiştir. Tablo 4.3. ve Şekil 4.3.' den görüldüğü gibi Sağlıklı grup ile İSO

grubunu kıyaslandığımızda SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür ($P<0.05$). İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını ise İSO grubu ile karşılaştırdığımızda SOD aktiviteleri anlamlı bir şekilde yükselmiştir. İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda birinci grubun SOD aktivitelerinin daha yüksek olduğu olduğu fark edilmiştir. OXY 20 mg/kg grubunu Sağlıklı grupla kıyasladığımızda anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir.

Tablo 4.3. OXY Süperoksit Dismutaz aktivitesi

Uygulamalar	Doz mg/kg	N	SOD sonuçları
			U/mg
Sağlıklı kontrol		6	33,66 ± 4,81
İSO kontrol	180	6	13.16 ± 1.92
OXY 20 mg/kg	20	6	33.47 ± 1.66
OXY 10 mg/kg + İSO	10	6	25.39 ± 2.04
OXY 20 mg/kg + İSO	20	6	30.40 ± 2.29



Şekil 4.3. SOD aktivitesi grafikte tarif edilmesi

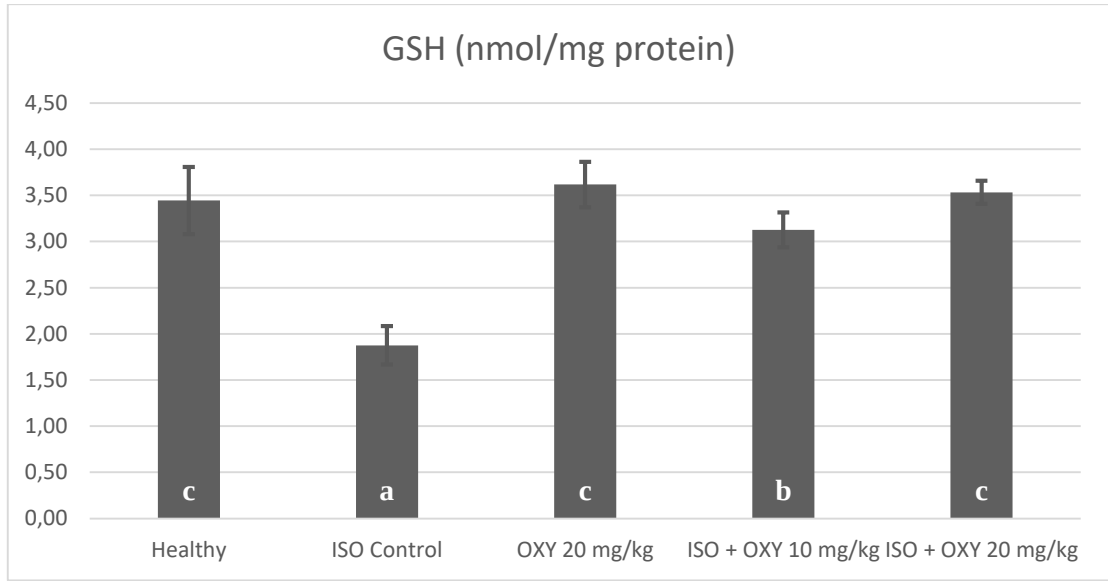
4.4. Glutasyon (GSH) Miktarı Sonuçları

OXY (20 mg/kg), OXY + İSO, İSO ve Sağlıklı kontrol gruplarının kalp dokularında belirlenmiş GSH miktarını açıklayan veriler Şekil 4.4. ve Tablo 4.4.'de tarif

edilmiştir. Şekil 4.4. ve Tablo 4.4.'de görüldüğü gibi GSH düzeyleri Sağlıklı kontrol grubunda 3.44 ± 0.59 , İSO kontrol grubunda 1.88 ± 0.23 , OXY 20 mg/kg grubunda 3.62 ± 0.19 , İSO + OXY 10 mg/kg 3.13 ± 0.18 , İSO + OXY 20 mg/kg grubunda ise 3.53 ± 0.13 olarak belirlenmiştir. İSO grubunu sağlıklı grupla karşılaştırdığımızda İSO grubunun GSH miktarları anlamlı bir şekilde azalmıştır. İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını ise İSO grubu ile karşılaştırdığımızda İSO ile beraber OXY uygulanan iki grubun GSH miktarları anlamlı bir şekilde yükselmiştir. İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda birinci grubun GSH miktarları daha yüksek olduğu olduğu fark edilmiştir. OXY 20 mg/kg grubunu sağlıklı grupla kıyasladığımızda anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir.

Tablo 4.4. OXY Glutasyon miktarı.

Uygulamalar	GSH düzeyleri		
	Doz mg/kg	N	nmol/mg
Sağlıklı kontrol		6	3.44 ± 0.59
İSO kontrol	180	6	1.88 ± 0.23
OXY 20 mg/kg	20	6	3.62 ± 0.19
OXY 10 mg/kg + İSO	10	6	3.13 ± 0.18
OXY 20 mg/kg + İSO	20	6	3.53 ± 0.13



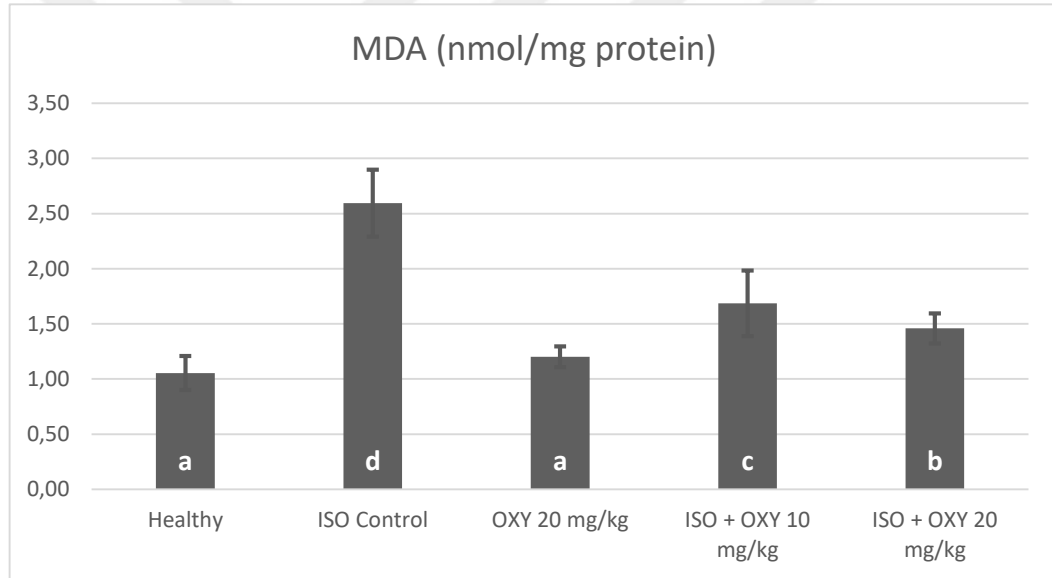
Şekil 4.4. GSH seviyelerinin grafikte tarif edilmesi.

4.5. Malondialdehit Sonuçları

OXY (20 mg/kg), OXY + İSO, İSO ve sağlıklı kontrol gruplarının kalp dokularında belirlenmiş MDA miktarını açıklayan veriler Şekil 4.5. ve Tablo 4.5.'de tarif edilmiştir ve Şekil 4.5. ve Tablo 4.5.'de görüldüğü gibi MDA düzeyleri Sağlıklı kontrol grubunda 1.05 ± 0.15 , İSO kontrol grubunda 2.59 ± 0.30 , OXY 20 mg/kg grubunda 1.20 ± 0.09 , İSO + OXY 10 mg/kg ve İSO + OXY 20 mg/kg gruplarında ise sırasıyla 1.69 ± 0.30 ve 1.46 ± 0.14 olarak belirlenmiştir. İSO grubunu sağlıklı grupla karşılaştırdığımızda MDA seviyeleri anlamlı bir şekilde yükselmiştir. İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını ise İSO grubu ile karşılaştırdığımızda MDA seviyeleri anlamlı bir şekilde azalmıştır. İSO + OXY 20 mg/kg ve İSO + OXY 10 mg/kg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda birinci grubun MDA seviyelerinin daha düşük olduğu fark edilmiştir. OXY 20 mg/kg grubunu sağlıklı grupla kıyasladığımızda anlamlı bir değişkenlik belirlenmemiştir.

Tablo 4.5. OXY Malondialdehit seviyeleri.

Uygulamalar	Doz mg/kg	N	MDA düzeyleri
			nmol/mg
Sağlıklı kontrol		6	1.05 ± 0.15
İSO kontrol	180	6	2.59 ± 0.30
OXY 20 mg/kg	20	6	1.20 ± 0.09
OXY 10 mg/kg + İSO	10	6	1.69 ± 0.30
OXY 20 mg/kg + İSO	20	6	1.46 ± 0,14



Şekil 4.5. MDA seviyelerinin grafikte tarif edilmesi.

5. TARTIŞMA

Mİ dünya çapında önemli morbidite ve mortalite nedeni olan bir hastalıktır. Her yıl 3 milyondan fazla kişinin akut ST yükselmeli Mİ (STEMI) ve 4 milyondan fazla kişinin ST elevasyonlu olmayan Mİ (NSTEMI) hastası olduğu görülmektedir. Ağırlıklı olarak gelişmiş ülkelerde görülen bir hastalık olan Mİ, gelişmekte olan ülkelerde giderek daha yaygın hale gelmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, ateroskleroz ve miyokard infarktüsünün gelişiminde yaşam tarzı faktörlerinin katkısının altını çizmiştir²⁷⁷. 15.000'den fazla hastayı kapsayan 25 INTERHEART çalışmasında, miyokard infarktüslerinin %90'ı sigara, dislipidemi, hipertansiyon, abdominal obezite ve diyabet gibi risk faktörlerinden kaynaklı olarak olduğu ifade edilmiştir. ²⁷⁸⁻²⁸⁰. Rüptür veya erozyona açık plaklardan kaynaklanan kısmi veya tam epikardiyal koroner arter tıkanıklığı, ölümcül olayların yaklaşık %70'inden sorumlu olan miyokard infarktüsünün en yaygın nedenidir. ^{281,282} Bu trombotik süreç, trombüsün distal embolizasyonunun yanı sıra koroner arter akışının duraklamasıyla perfüzyonunu azaltmaktadır. Böylelikle miyokard iskemisi oluşur ve bu nedenle oksidatif stres başlamakla dokuda ROS üretilmektedir. Akut Mİ tedavisindeki en önemli hedef doku perfüzyonun sağlanmasıdır. Bunun için en önemli tedavi PCA stenttir, stent öncesi dönemde anjiyo tedavisine kadar olan süreçte ve ilk müdahalede en önemli tedavi fibrinolitik ve antitrombotik tedavidir. Rüptür veya aşınma olasılığı olan hassas plaklar, monositler, makrofajlar ve T hücre infiltratları ile birlikte ince fibröz kapaklar ve büyük lipid çekirdekleri oluşturmaktadır. Bu süreç tüm koroner damar sistemini içermekte ve sorumlu lezyonu tanımlamak zor olabilmektedir^{283,284}. Mİ tedavisi ve profilaksisi için incelenen ilaçlar diğer tüm aday ilaçlar veya moleküller gibi prelinik faz çalışmaları ve daha sonrasında yapılması gereken klinik faz çalışmaları nedeniyle uzun süreçler sonunda güvenliği ve tedavi edici etkisi ispatlandıktan sonra tüm aday ilaçların içinden ancak çok küçük bir yüzdesi klinik

tedavi için FDA onayı alabilmektedir. Bu yüzden ileri yönelik başarıda iyi bir aday ilaç veya molekül seçimi son derece önem arz etmektedir. Bu ilaçların veya moleküllerin hayvan deneyi modellerinde kullanımı son derece önemlidir. Çünkü model oluşturulan memeli hayvanların sistemleri insan sistemlerine oldukça benzemektedir. Başarılı bir hayvan deneyi modeli ile ardından gelecek olan klinik faz çalışmalarının da sonucunun öngörülmesi muhtemeldir. Deneysel Mİ modellerini oluşturmak için pekçok model bulunmaktadır. Bu yöntemlerin içinde en sık kullanılanları ISO ile indüklenen ve sol koroner oklüzyona bağlı sıçanlarda oluşturulmuş Mİ modelidir. Sol koroner oklüzyona bağlı Mİ modeli cerrahi yöntemlerle yapılmaktadır⁸. Model oluşturulduğu zaman yapılan işlemlerden dolayı hayvanın cerrahi strese girmesi, ek anestezi etkisi ve model yapımının uzun sürmesi nedeniyle aynı gruptaki hayvanların arasında iskemi zamanının farklılık gösterebilmesinden dolayı bu yöntemi çok tercih edilmemektedir. ISO ile oluşturulan Mİ modelinde ISO, intraperitoneal uygulandığı için herhangi bir cerrahi işlem gerektirmemektedir. Mİ modelini oluşturmak için kullandığımız ISO semptomimetik bir ilaçtır. ISO pozitif inotropik ve kronotropik etkisinden dolayı kalbin kasılma gücünü ve kalbin atım sayısını arttırmaktadır. Kalbin kasılma gücünün ve sayısının artması ise taşikardiye neden olmakta ve kalbin oksijen ihtiyacını arttırmaktadır. ISO'nun neden olduğu taşikardi oksidatif stresin artmasıyla başlayan lipid peroksidasyonundaki artış; lökotrienlerin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ve miyokard hasarını daha da kötüleştiren hidrolitik enzimlerin salınımına neden olmaktadır. Öte yandan, özellikle katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidanların seviyeleri önemli ölçüde değişiklikler olmaktadır^{285 286}. CAT ve SOD süperoksit radikallerinin hidrojen peroksite dönüştürülmesi yoluyla ROS üretimini azaltarak oksidatif strese karşı koruma görevi yapan enzimlerdir. GSH, süperoksit

radikallerini temizleyerek ve nötralize ederek miyokardı serbest radikallerden korumaktadır^{285 286}.

İSO uygulaması ayrıca iyonik bir dengesizliğe neden olmaktadır. Ca^{2+} iyonları, adenilat siklaz enzim aktivasyonunun yanı sıra ATP seviyelerinin tükenmesinin bir sonucu olarak artmaktadır²⁸⁵. Ca^{2+} iyonlarının birikmesi kalsiyum ve magnezyum bağımlı endonükleazı aktive eden ve DNA'yı parçalayarak hasara uğratan ROS ve serbest radikallerin oluşumunu indükleyerek, sonunda iskemik hasara ve hücrel apoptoza yol açmaktadır²⁸⁶. Mİ hem nekroz hem de apoptozu içermektedir.²⁸⁷ Ban ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada OXY'nin hem ROS oluşumunu hem de hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonundaki artışı baskılayarak, kültürlenmiş sıçan kortikal nöronlarını N -metil-D-aspartat (NMDA) ile indüklenen toksisiteden koruduğu bulunmuştur¹⁷⁴. İSO uygulanan ratların kan serumlarında CK-MB ve TnI seviyelerinde artış belirlenmiştir. Ahmed ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada İSO uygulanan albino sıçanlarda isoproterenolün neden olduğu kalp hasarı, serumda Kreatin Kinaz (CK-MB), Laktat dehidrojenaz (LDH), Serum Glutamat Oksaloasetik Transaminaz (SGOT) ve Serum Glutamat Piruvat Transaminaz (SGPT) gibi enzimlerin seviyelerinin yükselmesiyle açıklanmıştır. Bizim de yapmış olduğumuz çalışmada İSO uygulanan ratlarda TnI ve CK-MB serum seviyelerinin artışı gözlemlenmiştir. Kreatin kinaz (kreatin fosfokinaz, CPK), artan fiziksel durumlarda vücut tarafından tüketilen ATP ve kreatinden yüksek enerjili bir kreatin fosfat bileşiğinin oluşumunu katalize eden bir enzimdir. Kalp kası, iskelet kası, beyin, tiroid bezi, akciğer hücrelerinde bulunur. Çoğu zaman, akut miyokard infarktüsünde bu enzimin aktivitesinde önemli bir artış gözlenir. Keleş ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada İSO uygulanan ratlarda serum TnI seviyeleri sağlıklı grup ile kıyasladığımızda anlamlı şekilde artmıştır²⁸⁸. Troponin'in belirli alt tipleri (kardiyak I ve T), kalp kasındaki (miyokard) hasarın hassas ve spesifik göstergeleridir. Göğüs ağrısı

veya akut koroner sendromu olan kişilerde kararsız anjina ve Mİ (kalp krizi) arasında ayırım yapmak için kanda ölçülmektedir. Yakın zamanda Mİ geçirmiş bir kişide kanda yüksek kardiyak troponin seviyelerine sahip olması beklenen bir durumdur⁷⁹. Yaptığımız tez çalışmasında rutin biyokimyasal parametreler içerisinde TnI olduğunu göz önünde bulundurarak İSO uygulanan grupta serum TnI seviyelerinin anlamlı şekilde yükseldiğini farkedilmiştir. Meeran ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada İSO ile indüklenen Mİ modelinde timolün koruyucu etkileri incelenmiştir. Deney sonuçlarında İSO uygulanan ve timol ile profilaktik tedavi alan sıçanlarda İSO grubu ile kıyaslandığında serum CK-MB seviyelerinin düşük olduğu fark edilmiştir. Deneyin sonuçlarında İSO uygulanan ve timol profilaksisi uygulanan gruplarda CK-MB seviyeleri İSO grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde azaldığı fark edilmiştir²⁸⁹. Bizim çalışmamızda da sağlıklı grup ile İSO grubu karşılaştırıldığında İSO grubunun CK-MB seviyelerinin yükselmiş, OXY grubunu sağlıklı grupla karşılaştırdığımızda ise önemli bir değişiklik fark edilmemiştir. İSO + OXY 10 mg ve İSO + OXY 20 mg gruplarını İSO grubu ile karşılaştırdığımızda bu grupların CK-MB seviyeleri anlamlı şekilde azalmıştır. İSO + OXY 10 mg ve İSO + OXY 20 mg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda İSO + OXY 20 mg grubunun CK-MB seviyelerinin daha düşük olduğu fark edilmiştir. Albayrak ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada ise İSO ile indüklenen Mİ modelinde amiodaronun etkileri araştırılmıştır. Deneyin sonuçlarında İSO uygulanan ve amiodaron ön tedavisi alan gruplarda TnI seviyeleri İSO grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde azaldığı fark edilmiştir²⁹⁰. Bizim çalışmamızda da sağlıklı grup ile İSO grubu karşılaştırıldığında İSO grubunun TnI seviyelerinin yükselmiş, OXY grubunu ise sağlıklı grupla karşılaştırdığımızda ise önemli bir değişiklik fark edilmemiştir. İSO + OXY 10 mg ve İSO + OXY 20 mg gruplarını İSO grubu ile karşılaştırdığımızda bu grupların TnI seviyeleri anlamlı şekilde azalmıştır. İSO + OXY 10 mg ve İSO + OXY 20

mg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda İSO + OXY 20 mg grubunun TnI seviyelerinin daha düşük olduğu fark edilmiştir. Mevcut sonuçlarımız İSO ile oluşturulan Mİ modelleri ile uyumlu olduğunu göstermekle beraber profilaktik etkisini değerlendirdiğimiz oksiresveratrol molekülünün ise İSO kaynaklı biyokimyasal değişikliklerde CK-MB ve TnI seviyesi bakımında anlamlı olarak özellikle 20 mg/kg dozunda koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir. Bunun sebebinin kalp dokusunun perfüzyonunun artmasıdır. Perfüzyonun artmasının sebebi OXY'nin antiagregan etkilerinin olmasından kaynaklanmaktadır. Lee ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada sıçanlarda FeCl₃ ile indüklenen arteriyel tromboz modeli kullanılarak %6.79 oksiresveratrol içeren *Ramulus mori* etanol ekstraktının antitrombotik, antiplatelet ve antikoagülasyon aktivitesi incelenmiştir. Ekstrenin pıhtılaşma önleyici etkisini araştırmak için, 3 haftalık oral uygulamadan sonra sıçan kanından plazma alınmıştır. Ekstrenin antikoagülasyon etkisi, protrombin zamanı (PT) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ölçülerek değerlendirilmiştir. İlgili çalışmaya göre OKS ekstrenin trombosit agregasyonunu inhibe ederek trombotik ve kardiyovasküler hastalıkları önleyebileceğini göstermiştir²⁹¹.

Son yıllarda, ilaçlar, miyokard infarktüsü ve diğer kardiyovasküler ilişkili hastalıkların tedavisi için araştırmacılar ve doktorlar tarafından geniş çapta araştırılmaktadır.⁶ Ayrıca, bitki kaynaklı fitokimyasallar gibi doğal ürünlerin Mİ'ye karşı kardiyoprotektif etkilerini araştırmak için de birçok çalışma yapılmaktadır.²⁹² Bunlar arasında kurkumin²⁹³, resveratrol²⁹⁴, kuversetin²⁹⁵, berberin²⁹⁶ en iyi bilinenleridir ve birçok faydalı ortak özelliği vardır. Bu bileşiklerin anti-aterosklerotik, anti-inflamatuar, antioksidan ve anti-apoptotik aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır⁷. Örneğin kurkumin; kalbin iş yükünü, inflamasyonu, oksidatif stresi ve apoptozu azaltabilir²⁹⁷. Resveratrol, apoptotik yolları faydalı bir şekilde etkileyebilmektedir²⁹⁸. Kuversetinin bu hastalarda potansiyel bir lipid düşürücü ajan olduğu bildirilmiştir²⁹⁹. Sentetik ilaçlara artan

güvensizlikle birlikte daha doğal ilaç moleküllerine olan yönelim, bu bileşiklerin gelecekte daha geniş uygulamalar göreceğini göstermektedir. Doğal ilaç moleküllerin içerisinde, stilbenoidler en çok ilgi gören maddeler grubundadır. Stilbenoidler grubuna resveratrol, oksiresveratrol, piceatannol ve diğerleri aittir¹³⁴. Oksiresveratrol, *Artocarpus lakoocha*'nın öz odununda ve beyaz dut olan *Morus alba* bitkisinde bulunan bir bileşik olan mulberroside A'nın aglikonudur¹⁵². Çeşitli farmakolojik etkilerinden dolayı oksiresveratrol günümüzde çoğu araştırmacının dikkatini çekmektedir. Wongwat ve arkadaşlarının RAW 264.7 hücreleri ve C28/I2 insan kondrositlerinde yapmış olduğu bir çalışmada *Morus alba* kök ekstresi ve OXY'nin anti-inflamatuar etkileri incelenmiştir. Çalışma sonuçlarında OXY'nin COX-2 enzimi inhibe ettiği belirlenmiştir²¹⁶. Bildiğimiz üzere Mİ tedavisi ve profilaksisi için araştırılması gereken ilacın antioksidan ve antiinflamatuar etkilerinin olması beklenen özelliklerdendir. Choi ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada tetra-butilhidroperoksit (tBHP) ile indüklenen hücre ölümüne karşı oksiresveratrolün etkileri incelenmiştir. HepG2 hücreleri, 1 saat boyunca 1–30 µM OXY ile muamele edilmiş ve daha sonra 12 saat boyunca tBHP'ye (200 µM) maruz bırakılmıştır. OXY ön tedavisi, hücreleri doza bağlı bir şekilde tBHP'nin neden olduğu ölümden önemli ölçüde korumuş ve 10 µM OXY tedavisinin üzerinde bir antioksidan etki gözlemlenmiştir.¹⁸¹ Hur ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada ise PC₁₂ hücrelerinde hidrojen peroksitin neden olduğu oksidatif strese karşı OXY'nin etkileri araştırılmıştır. Deney için PC₁₂ hücreleri 90 dakika OXY'e, sonra 24 saat sürede ise H₂O₂'e maruz bırakılmıştır. Çalışma ulaşılan sonuçlara göre PC₁₂ hücrelerinde oluşturulan oksidatif hasar üzerine OXY %33,1 koruyucu etki göstermiştir²¹⁵. Araştırmalardan bulunan sonuçlara istinaden OXY'nin güçlü antioksidan özelliğinden dolayı kalp dokusunda oksidatif stress oluşumunu azaltması ve Mİ profilaksisinde etkili olarak kullanılması bizi bu çalışmaya yapmamıza teşvik etmiştir.

İSO kalp dokusunda oksidatif stresi indükleyerek toksikolojik değişikliklere yol açmakta ve bu da antioksidan enzimlerin tükenmesine neden olmaktadır. İSO kalbin oksijen ihtiyacını indüklemekte, bu da kardiyak hipoksiye ve ardından nekroza yol açmaktadır. Artan lipid peroksidasyonu ise kardiyak hipertrofiyi desteklemektedir. Fosfolipaz aktivasyonu, yüksek düzeyde inflamasyona, akut kalp hasarına ve miyokardiyal iskemiye neden olan ST segment yükselmesine yol açmaktadır. Ek olarak, NFκB gibi çeşitli sinyal yolları, p38 gibi mitojenle aktive olan protein kinazlar stimule edilmekte ve bu ise hücresel ölüm riskini arttırmaktadır. Tüm bu olaylar, kronik olarak kardiyak fibroze yol açan İSO'nun neden olduğu toksisitenin tipik özelliklerini oluşturmaktadır.¹¹⁹Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile vücuttaki antioksidan savunma sistemleri arasında bir dengesizlik olduğunda ortaya çıkmaktadır³⁰⁰. ROS, memeli hücrelerinde enzimatik veya non-enzimatik şekilde oluşarak hücre hasarına neden olmaktadır. Antioksidan savunmalar enzimatik ve non-enzimatik olarak ikiye ayrılmaktadır. Enzimatik antioksidan savunmalar, diğerlerinin yanı sıra esas olarak süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve tioredoksin peroksidazı içermektedir. Enzimatik olmayan antioksidan bileşikler, askorbik asit (C vitamini), α-tokoferol (E vitamini), indirgenmiş glutatyon (GSH), koenzim Q10, sistein, karotenoidler, flavonoidler, polifenoller ve diğer çeşitli ekzojenler biyolojik molekülleri içermektedir³⁰¹. Polifenoller, ROS'tan kaynaklanan hasarın önlenmesiyoluyla antioksidan görevi yaparak hücrelerin antioksidan potansiyelini arttırmaktadır. Kalpteki ve çoğu dokudaki oksidatif hasara karşı hücresel savunmayı, antioksidan enzimler olan CAT, SOD ve GSH-Px sağlamaktadır³⁰². Reaktif oksijen türleri (ROS), iskemi/reperfüzyon sırasında miyokardiyal hasarın en önemli başlatıcılarıdır. Buna göre Mİ, genellikle koroner arter tıkanıklığına bağlı miyokard iskemisi ile başlamaktadır. Patofizyolojik koşullarda, ROS kaynakları mitokondriyal solunumun

elektron taşıma zincirini, iskemi-reperfüzyona bağlı ksantin oksidaz aktivasyonunu, nötrofil aktivasyonu ile ilişkili solunum yetmezliği ve araşidonik asit metabolizmasını içermektedir. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarının patogeneğinde ROS'un temel rolünün olduğu bilinmektedir. SOD (Süperoksit dismutaz), yüksek reaktif süperoksit anyonunun O₂'ye ve daha az reaktif H₂O₂ türüne çevrilmesini katalize eden antioksidan enzimdir. Peroksit, katalaz (CAT) veya glutatyon peroksidaz (GPX) enzimleriyle yok edilebilmektedir²⁵⁹. Prabhu ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada sıçanlara 2 gün boyunca 200 mg/kg dozda sk (subkutan) İSO ve ön tedavi ilaç gibi 28 gün boyunca magniferin ip uygulanmıştır. Deneyin sonuçlarında İSO uygulanmış ve mangiferin ile ön işleme tabi tutulmuş sıçanlarda SOD aktivitelerinde önemli bir artış görülmüştür³⁰³. Bizim çalışmamızda da sağlıklı grup ile İSO grubunu kıyasladığımızda İSO grubunda SOD aktivitesi anlamlı şekilde azalmış, SO + OXY 10 mg ve İSO+OXY 20 mg gruplarını İSO grubu ile karşılaştırdığımızda ise bu grupların SOD aktiviteleri anlamlı şekilde artmıştır. İSO + OXY 10 mg ve İSO + OXY 20 mg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda İSO + OXY 20 mg grubunun SOD aktivitesinin daha yüksek olduğu fark edilmiştir. OXY grubunda ise sağlıklı grupla kıyasladığımızda anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.

Glutatyon, üç peptitli bir γ -Lglutamilsisteinilglisindir. Glutatyon, sisteinin amino grubu ile glutamatın yan zincirinin karboksil grubu arasında bir peptit bağı içermektedir. Hücredeki glutatyonun değeri, antioksidan özellikleri ile belirlenmektedir. Aslında glutatyon sadece hücreyi toksik serbest radikallerden korumakla kalmaz, aynı zamanda genellikle hücre içi ortamın redoks özelliklerini de belirlemektedir ²⁷¹. Ganesan ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada sıçanlarda İSO ile indüklenen Mİ modelinde betainin etkileri araştırılmıştır. Deneyin sonuçlarında İSO uygulanmış ve betain ile ön işleme tabi tutulmuş sıçanlarda GSH aktivitelerinde önemli bir artış görülmüştür³⁰³. Bizim çalışmamızda da sağlıklı grup ile İSO grubunu kıyasladığımızda İSO grubunda

GSH aktivitesi anlamlı şekilde azalmış, İSO + OXY 10 mg ve İSO+OXY 20 mg gruplarını İSO grubu ile karşılaştırdığımızda ise bu grupların GSH aktiviteleri anlamlı şekilde artmıştır. İSO + OXY 10 mg ve İSO + OXY 20 mg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda İSO + OXY 20 mg grubunun GSH aktivitesinin daha yüksek olduğu fark edilmiştir. OXY grubunda ise sağlıklı grupla kıyasladığımızda anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. SOD ve GSH seviyelerinin artması OXY'nin antioksidan özelliklerinin olmasından kaynaklanmıştır. OXY'nin antioksidan etki mekanizmasının esas nedeni kimyasal yapısında fenol bulundurmasıdır. Fenolik bileşikler hidrojen vericileri, indirgeyici ajanlar ve tekli oksijen söndürücüler olarak hareket etmelerini sağlayan redoks özelliklerinden kaynaklanabilecek güçlü antioksidan potansiyele sahiptir ¹²⁹

Malondialdehit, doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonundan kaynaklanan bir oksidatif stress markeridir. Reaktif oksijen türleri, doymamış yağ asitlerini bozarak malondialdehit oluşturmaktadır³⁰⁴. Bu bileşik reaktif bir aldehittir ve hücrelerde toksik etkiye sahip olmaktadır³⁰⁵. Bu aldehitin üretimi, bir organizmadaki oksidatif stres seviyesini ölçmek için bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır³⁰⁶. Ojha ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada sıçanlarda İSO ile indüklenen Mİ üzerine likopenin etkileri incelenmiştir. Deneyin sonuçlarında İSO uygulanan ve likopen ön tedavisi alan gruplarda MDA seviyeleri İSO grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde azaldığı fark edilmiştir³⁰⁷. Bizim çalışmamızda da sağlıklı grup ile İSO grubu karşılaştırıldığında İSO grubunun MDA seviyelerinin yükselmiş, İSO + OXY 10 mg ve İSO + OXY 20 mg gruplarını İSO grubu ile karşılaştırdığımızda bu grupların MDA seviyeleri anlamlı şekilde azalmıştır. İSO + OXY 10 mg ve İSO + OXY 20 mg gruplarını birbiri ile kıyasladığımızda İSO + OXY 20 mg grubunun MDA seviyelerinin daha düşük olduğu fark edilmiştir. OXY grubunu ise sağlıklı grupla karşılaştırdığımızda ise önemli bir değişiklik fark edilmemiştir. Saadah ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 30

gün YKD ile beslenen sıçanlarda serum MDA seviyelerinin yükseldiği ve bu yükselmenin sebebinin hiperlipidemiye bağlı oksidatif stress olduğu belirlenmiştir³⁰⁸. Bizim çalışmamızda da MDA seviyelerinin OXY uygulanan gruplarda düşmesi OXY'nin hem antioksidan hem de hipolipidemik etkisinden kaynaklanmaktadır. Tazarrat ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada hiperlipidemik sıçan modelinde oksiresveratrol ve çinko kompleksinin simvastatine karşı toplam kolesterol üzerindeki anti hiperlipidemik etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonunda OXY-Zn kompleksini simvastatinle kıyaslandığında daha olumlu hipolipidemik etkisinin olduğu gözlemlenmiştir³⁰⁹. Jo ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada Triton WR-1339 ve YKD (Yüksek Kolestrollü Diyet) ile oluşturulmuş hiperlipidemi modelinde oksiresveratrol (Mulberroside A aglikonu) ile zengin *Morus Alba* ekstresi kullanılarak Mulberosid veya OXY ile oral ön tedavi, doza bağlı bir şekilde Triton WR-1339 ve YKD ile indüklenen hiperlipidemik sıçanlarda serum lipid seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. Ek olarak, YKD ile beslenen sıçanların karaciğerlerinde OXY'nin antihiperlipidemik etkileri için histolojik kanıtlar sağlanmıştır. OXY'nin tedavi konsantrasyonları içinde nispeten güvenli olduğu belirlenmiş ve ayrıca glikozile edilmiş ana bileşiği MUL'den daha belirgin serum lipid düşürme kapasitesi göstermiştir²⁰¹.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mİ dünya çapında en yüksek ölüm oranlarına sahip olan hastalıkların başında gelmektedir. Mİ tedavisi ve profilaksisi ilaç arge çalışmalarının sayısı günden güne hızla artmaktadır. Mİ tedavisindeki en büyük amaç miyokard dokusunun reperfüzyonunu iyileştirmek ve yeniden sağlamaktır. Bunun için antiagregan ve fibrinolitik ajanlar sıkça kullanılmaktadır. Ama bu ilaçların istenmeyen etkilerinin olması tedavinin seyrini yanlış yönlendirmektedir. Bu yüzden daha az yan etkiye sahip mevcut ilaçlar veya yeni doğal ilaç moleküllerinin Mİ üzerinde koruyucu etkisinin bulunması son derece önemli bir değer arz etmektedir.

Bizim çalışmamızda sıçanlarda İSO ile indüklenen Mİ modelinde Oksiresveratrol'un etkileri rutin biyokimyasal parametreler ölçülerek incelenmiştir. İncelenen rutin biyokimyasal parametrelerde SOD, GSH, MDA ve kardiyak markerler olan CK-MB ile TnI yer almaktadır. Sonuçlarda Oksiresveratrol uygulanan gruplarda yüksek SOD, GSH aktiviteleri ve düşük MDA, CK-MB ve TnI seviyelerinin olması çalışmanın başarılı sonuçlandığını ve incelediğimiz molekülün sıçan Mİ modelinde beklediğimiz neticeleri verdiğini göstermektedir. Tez çalışmasının sonucunda oksiresveratrol'un Mİ profilaksisinde kardiyoprotektif etkilerinin olduğu bulunmuştur. Oksiresveratrol'un kardiyoprotektif molekül gibi davranmasının altını çizen etkisinin yüksek antioksidan ve anti-inflamatuar mekanizmalar sayesinde gerçekleştiğini düşünmekteyiz. Ek olarak, hipolipidemik, antiagregan ve hepatoprotektif etkilerinin olması Mİ profilaksisi için avantajlı bir molekül olduğunu göstermektedir.

Beyaz dut bitkisinin içeriğinde oksiresveratrol bulunmaktadır. Bu çalışmayı yaparak oksiresveratrol ve Beyaz dutun aslında kalp sağlığı açısından büyük bir önem arz ettiğini bulmuş olduk. Bu tez çalışması literatür bilgisi gibi ileride Mİ tedavisi için denenen yeni moleküllerin araştırılması için bir kaynak olabilir. Tez çalışmamızda klinik

faz deneyleri yapmasakta sıçan Mİ modelinde gerçekleştirdiğimiz incelemeler ileride daha detaylı bilgi veren klinik denemelerin temelini çizebilir.



KAYNAKLAR

1. Organization WH. *The world health report 2002: reducing risks, promoting healthy life*. Baskı. World Health Organization, 2002.
2. Breda J, Allen LN, Tibet B, Erguder T, Karabulut E, Yildirim HH, Mok A, Wickramasinghe K. Estimating the impact of achieving Turkey's non-communicable disease policy targets: A macro-simulation modelling study. *The Lancet Regional Health-Europe*, 2021, 1: 100018.
3. Kayıkcıoğlu M, Oto A. Control and management of cardiovascular disease in turkey. *Circulation*, 2020, 141: 7-9.
4. Frangogiannis NG. Pathophysiology of myocardial infarction. *Comprehensive Physiology*, 2011, 5: 1841-1875.
5. Путило Н, Маличенко В. Роль клинических рекомендаций в организации оказания медицинской помощи. *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*, 2021, 29: 331-338.
6. Wong ZW, Thanikachalam PV, Ramamurthy S. Molecular understanding of the protective role of natural products on isoproterenol-induced myocardial infarction: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 94: 1145-1166.
7. Sheida A, Taghavi T, Shafabakhsh R, Ostadian A, Razaghi Bahabadi Z, Khaksary Mahabady M, Hamblin MR, Mirzaei H. Potential of natural products in the treatment of myocardial infarction: focus on molecular mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021: 1-18.
8. Zornoff LA, Paiva SA, Minicucci MF, Spadaro J. Experimental myocardium infarction in rats: analysis of the model. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 2009, 93: 434-440.

9. Mukherjee D, Ghosh AK, Dutta M, Mitra E, Mallick S, Saha B, Reiter RJ, Bandyopadhyay D. Mechanisms of isoproterenol-induced cardiac mitochondrial damage: protective actions of melatonin. *Journal of pineal research*, 2015, 58: 275-290.
10. Likhitwitayawuid K. Oxyresveratrol: sources, productions, biological activities, pharmacokinetics, and delivery systems. *Molecules*, 2021, 26: 4212.
11. Аскарьянц ВП, Абдувалиева МХ In *К вопросу о функциональных особенностях и дисфункциях сердечной деятельности*, The 11 th International scientific and practical conference “Modern scientific research: achievements, innovations and development prospects”(April 24-26, 2022) MDPC Publishing, Berlin, Germany. 2022. 460 p., (editör).^(editörler). 2022; 70.
12. Атауллина И. ПРИБОРЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК. *ТРАДИЦИОННАЯ И ИННОВАЦИОННАЯ НАУКА: ИСТОРИЯ, СОВРЕМЕННОЕ*, 2019: 42.
13. Лилли ЛС. *Патофизиология заболеваний сердечно-сосудистой системы*. Baskı. БИНОМ. Лаб. знаний, 2007.
14. Glantz SA, Parmley WW. Passive smoking and heart disease. Epidemiology, physiology, and biochemistry. *Circulation*, 1991, 83: 1-12.
15. Kuan V, Denaxas S, Gonzalez-Izquierdo A, Direk K, Bhatti O, Husain S, Sutaria S, Hingorani M, Nitsch D, Parisinos CA. A chronological map of 308 physical and mental health conditions from 4 million individuals in the English National Health Service. *The Lancet Digital Health*, 2019, 1: e63-e77.
16. No TA. Mayo Foundation for Medical Education and Research. *Intellectual Property*, 2001, 632: 632-5539480.
17. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith Jr SC. Diagnosis and management of the

metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Current opinion in cardiology*, 2006, 21: 1-6.

18. Cho L, Hoogwerf B, Huang J, Brennan DM, Hazen SL. Gender differences in utilization of effective cardiovascular secondary prevention: a Cleveland clinic prevention database study. *Journal of women's health*, 2008, 17: 515-521.

19. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD, Infarction EGobotJESoCACoCAHAWHFTFftUDoM. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Journal of the American College of Cardiology*, 2018, 72: 2231-2264.

20. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, Das SR, De Ferranti S, Després J-P, Fullerton HJ. Heart disease and stroke statistics—2016 update: a report from the American Heart Association. *circulation*, 2016, 133: e38-e360.

21. Yang JH, Obokata M, Reddy YN, Redfield MM, Lerman A, Borlaug BA. Endothelium-dependent and independent coronary microvascular dysfunction in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *European Journal of Heart Failure*, 2020, 22: 432-441.

22. Khan MA, Hashim MJ, Mustafa H, Baniyas MY, Al Suwaidi SKBM, AlKatheeri R, Alblooshi FMK, Almatrooshi MEAH, Alzaabi MEH, Al Darmaki RS. Global epidemiology of ischemic heart disease: results from the global burden of disease study. *Cureus*, 2020, 12.

23. Nowbar AN, Gitto M, Howard JP, Francis DP, Al-Lamee R. Mortality from ischemic heart disease: Analysis of data from the World Health Organization and coronary artery disease risk factors From NCD Risk Factor Collaboration. *Circulation: cardiovascular quality and outcomes*, 2019, 12: e005375.

24. Reed GW, Rossi JE, Cannon CP. Acute myocardial infarction. *The Lancet*, 2017, 389: 197-210.
25. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Das SR. Heart disease and stroke statistics—2019 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 2019, 139: e56-e528.
26. Puymirat E, Simon T, Cayla G, Cottin Y, Elbaz M, Coste P, Lemesle G, Motreff P, Popovic B, Khalife K. Acute myocardial infarction: changes in patient characteristics, management, and 6-month outcomes over a period of 20 years in the FAST-MI program (French Registry of Acute ST-Elevation or Non-ST-Elevation Myocardial Infarction) 1995 to 2015. *Circulation*, 2017, 136: 1908-1919.
27. Walli-Attaei M, Joseph P, Rosengren A, Chow CK, Rangarajan S, Lear SA, AlHabib KF, Davletov K, Dans A, Lanas F. Variations between women and men in risk factors, treatments, cardiovascular disease incidence, and death in 27 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet*, 2020, 396: 97-109.
28. Reeder GS, Prasad A. Management and prognosis of stress (takotsubo) cardiomyopathy. *UpToDate*, 2020.
29. Малютина НН, Парамонова СВ, Сединина НС, Устинова ОЮ. РИСК РАЗВИТИЯ СИНДРОМА АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У РАБОТНИКОВ ПОДЗЕМНОГО ТРУДА ПРИ ТРАНСФОРМАЦИИ ПСИХОВЕГЕТАТИВНОГО СТАТУСА. *Анализ риска здоровью*, 2021: 100-108.
30. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD, Mickley H, Crea F, Van de Werf F. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *European heart journal*, 2019, 40: 237-269.

31. Proskuryakov S, Konoplyannikov AG, Gabai VL. *Necrosis: a specific form of programmed cell death*: 1-16.
32. Kasper D, Zaleznik D. Gas gangrene, antibiotic-associated colitis, and other clostridial infections. *HARRISONS PRINCIPLES OF INTERNAL MEDICINE*, 1998: 906-909.
33. Nirmala JG, Lopus M. Cell death mechanisms in eukaryotes. *Cell biology and toxicology*, 2020, 36: 145-164.
34. Loftus JC, Smith JW, Ginsberg MH. Integrin-mediated cell adhesion: the extracellular face. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269: 25235-25238.
35. Raffray M. Apoptosis and necrosis in toxicology: a continuum or distinct modes of cell death? *Pharmacology & therapeutics*, 1997, 75: 153-177.
36. Nazarian RM, Van Cott EM, Zembowicz A, Duncan LM. Warfarin-induced skin necrosis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2009, 61: 325-332.
37. Mosca L, Manson JE, Sutherland SE, Langer RD, Manolio T, Barrett-Connor E. Cardiovascular disease in women: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, 1997, 96: 2468-2482.
38. Arenja N, Mueller C, Ehl NF, Brinkert M, Roost K, Reichlin T, Sou SM, Hochgruber T, Osswald S, Zellweger MJ. Prevalence, extent, and independent predictors of silent myocardial infarction. *The American journal of medicine*, 2013, 126: 515-522.
39. Valensi P, Lorgis L, Cottin Y. Prevalence, incidence, predictive factors and prognosis of silent myocardial infarction: a review of the literature. *Archives of cardiovascular diseases*, 2011, 104: 178-188.
40. von Mering GO, Arant CB, Wessel TR, McGorray SP, Bairey Merz CN, Sharaf BL, Smith KM, Olson MB, Johnson BD, Sopko G. Abnormal coronary vasomotion as a prognostic indicator of cardiovascular events in women: results from the National Heart,

Lung, and Blood Institute–sponsored Women’s Ischemia Syndrome Evaluation (WISE). *Circulation*, 2004, 109: 722-725.

41. National Heart L, Institute B. Know the differences: cardiovascular disease, heart disease, coronary heart disease. 2019.

42. Medicine Io, Exposure CoSS, Events AC. *Secondhand smoke exposure and cardiovascular effects: Making sense of the evidence*. Baskı. National Academies Press, 1900.

43. Mann JF. Patient education: High blood pressure in adults (Beyond the Basics). 2017.

44. Goldberg IJ, Reue K, Abumrad NA, Bickel PE, Cohen S, Fisher EA, Galis ZS, Granneman JG, Lewandowski ED, Murphy R. Deciphering the role of lipid droplets in cardiovascular disease: A report from the 2017 National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop. *Circulation*, 2018, 138: 305-315.

45. Hebert PR, Gaziano JM, Chan KS, Hennekens CH. Cholesterol lowering with statin drugs, risk of stroke, and total mortality: an overview of randomized trials. *Jama*, 1997, 278: 313-321.

46. Nakamura M, Koyama I, Iso H, Sato S, Okazaki M, Kiyama M, Shimamoto T, Konishi M. Measurement performance of reagent manufacturers by Centers for Disease Control and Prevention/Cholesterol Reference Method Laboratory Network lipid standardization specified for metabolic syndrome-focused health checkups program in Japan. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 2009, 16: 756-763.

47. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, Braun LT, De Ferranti S, Faiella-Tommasino J, Forman DE. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol: executive summary: a report of the

American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology*, 2019, 73: 3168-3209.

48. Eckel RH, Barouch WW, Ershow AG. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute-National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Working Group on the pathophysiology of obesity-associated cardiovascular disease. *Circulation*, 2002, 105: 2923-2928.

49. Association AH. Guideline on the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*, 2019, 140: e596-e646.

50. Davidson KW, Kupfer DJ, Bigger JT, Califf RM, Carney RM, Coyne JC, Czajkowski SM, Frank E, Frasure-Smith N, Freedland KE. Assessment and treatment of depression in patients with cardiovascular disease: National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group Report. *Annals of Behavioral Medicine*, 2006, 32: 121-126.

51. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon III RO, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *circulation*, 2003, 107: 499-511.

52. Association AH. American Heart Association recommendations for physical activity in adults. *USA: AHA*, 2014.

53. Association AH. Understand your risks to prevent a heart attack. *AHA Website*, 2016.

54. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, Biller J, Brown M, Demaerschalk BM, Hoh B. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: 2019 update to the 2018 guidelines for the early

- management of acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 2019, 50: e344-e418.
55. Schiffrin E. Stress and Heart Health. American Heart Association. 2014.
56. Spruill TM. Chronic psychosocial stress and hypertension. *Current hypertension reports*, 2010, 12: 10-16.
57. Ahluwalia A, Gladwin M, Coleman GD, Hord N, Howard G, Kim-Shapiro DB, Lajous M, Larsen FJ, Lefer DJ, McClure LA. Dietary nitrate and the epidemiology of cardiovascular disease: report from a National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop. *Journal of the American Heart Association*, 2016, 5: e003402.
58. Cuker A, Peyvandi F. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): hypercoagulability. *Up to Date*, 2020.
59. Control CfD, Prevention. Interim clinical guidance for management of patients with confirmed coronavirus disease (COVID-19). 2020.
60. Pinto D, Cutlip D. COVID-19: Myocardial infarction and other coronary artery disease issues. *Uptodate. searchbox. science*, 2020.
61. Alter DA, Franklin B, Ko DT, Austin PC, Lee DS, Oh PI, Stukel TA, Tu JV. Socioeconomic status, functional recovery, and long-term mortality among patients surviving acute myocardial infarction. *PloS one*, 2013, 8: e65130.
62. Mostofsky E, Penner EA, Mittleman MA. Outbursts of anger as a trigger of acute cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *European heart journal*, 2014, 35: 1404-1410.
63. Mostofsky E, Maclure M, Sherwood JB, Tofler GH, Muller JE, Mittleman MA. Risk of acute myocardial infarction after the death of a significant person in one's life: the Determinants of Myocardial Infarction Onset Study. *Circulation*, 2012, 125: 491-496.

64. Kivimaki M, Nyberg S, Batty G, Fransson E, Heikkila K, Alfredsson L, Bjorner J, Borritz M, Steptoe A, Theorell T. Job strain as a risk factor for future coronary heart disease: collaborative meta-analysis of 2358 events in 197,473 men and women. *Lancet*, 2012, 380: 1491-1497.
65. Eaker E, Sullivan L, Kelly-Hayes M. D'Agostino Sr., RB. 2004.
66. Piepoli M, Hoes A, Agewall S. CVD Prevention in Clinical Practice (European Guidelines on) Guidelines. *Eur Heart J*, 2016, 37: 2315-2381.
67. Collet J, Thiele H, Barbato E, Barthelémy O, Bauersachs J, Bhatt D, Dendale P, Dorobantu M, Edvardsen T, Folliguet T. Group ESCSD (2020) 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J* ehaa575. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa575>. (Online ahead of print. *Eur Heart J*. 2020. PMID: 32860058).
68. Kacharava AG, Clements Jr SD, Zafari AM. *Pocket guide to diagnostic cardiac catheterization*. Baskı. Cardiotext Publishing, 2015.
69. Ilanez B, James S, Agewall S, Antunes M, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 2018, 39: 119-177.
70. Reeder GS, Kennedy HL, Rosenson R. Overview of the non-acute management of ST elevation myocardial infarction. 2016.
71. Aroesty JM. Patient education: Stenting for the heart (Beyond the Basics).
72. Bittner V. The new 2019 AHA/ACC guideline on the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*, 2020, 142: 2402-2404.

73. Halushka PV, Goodwin AJ, Halushka MK. Opportunities for microRNAs in the crowded field of cardiovascular biomarkers. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2019, 14: 211-238.
74. Rao SP, Miller S, Rosenbaum R, Lakier JB. Cardiac troponin I and cardiac enzymes after electrophysiologic studies, ablations, and defibrillator implantations. *American Journal of Cardiology*, 1999, 84: 470.
75. Nayak SB, Pinto Pereira LM, Boodoo S, KimberlyAli A, Baptiste C, Maraj S, Persad N, Khan N, Surendran S, Legall G. Association of troponin T and altered lipid profile in patients admitted with acute myocardial infarction. *Archives of physiology and biochemistry*, 2010, 116: 21-27.
76. Brush JE, Kaul S, Krumholz HM. Troponin testing for clinicians. *Journal of the American College of Cardiology*, 2016, 68: 2365-2375.
77. Edition TE. *Anatomy and Physiology Volume 2 of 3*. Baski. Lulu. com, 2014.
78. Gillis TE, Marshall CR, Tibbits GF. Functional and evolutionary relationships of troponin C. *Physiological genomics*, 2007, 32: 16-27.
79. Antmann EM, Tanasijevic M, Thompson B, Schactman M, McCabe C, Cannon C, Fischer G, Fung A, Thompson C, Wybenga D. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 1996, 335: 1342-1349.
80. Amsterdam EA, Wenger NK, Brindis RG, Casey Jr DE, Ganiats TG, Holmes Jr DR, Jaffe AS, Jneid H, Kelly RF, Kontos MC. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with non–ST-elevation acute coronary syndromes: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*, 2014, 130: 2354-2394.

81. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Creatine-Kinase.svg#/media/File:Creatine-Kinase.svg>.
82. Bong SM, Moon JH, Nam KH, Lee KS, Chi YM, Hwang KY. Structural studies of human brain-type creatine kinase complexed with the ADP–Mg²⁺–NO₃––creatine transition-state analogue complex. *FEBS letters*, 2008, 582: 3959-3965.
83. <https://healthjade.com/lactate-dehydrogenase/>.
84. Holmes RS, Goldberg E. Computational analyses of mammalian lactate dehydrogenases: human, mouse, opossum and platypus LDHs. *Computational biology and chemistry*, 2009, 33: 379-385.
85. Wilks H. KW Han. R. Feenev. CR Dunn. H. Muihead, WN Chai, DA Barstow, T. Atkinson; AR Clarke and JJ Holbrook. *Science*, 1988, 242: 1541.
86. Eventoff W, Rossmann MG, Taylor SS, Torff H-J, Meyer H, Keil W, Kiltz H-H. Structural adaptations of lactate dehydrogenase isozymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1977, 74: 2677-2681.
87. Zhang Y, Chen K, Sloan SA, Bennett ML, Scholze AR, O'Keefe S, Phatnani HP, Guarnieri P, Caneda C, Ruderisch N. An RNA-sequencing transcriptome and splicing database of glia, neurons, and vascular cells of the cerebral cortex. *Journal of Neuroscience*, 2014, 34: 11929-11947.
88. Van Eerd J, Kreutzer E. Mouse anti-malaria PAN pLDH monoclonal antibody. *Klinisch. Chem. Analisten Deel*, 1996, 2: 138-139.
89. Karmen A, Wróblewski F, LaDue JS. Transaminase activity in human blood. *The Journal of clinical investigation*, 1955, 34: 126-133.
90. Karmen A, Wróblewski F, LaDue J. Transaminase activity in human blood. Appendix: Karmen. A.: A note on the spectrophotometry assay of glutamic oxalacetic transaminase in human blood serum, *J. Clin. Investigation*, 1955, 34: 126-133.

91. Son HF, Kim K-J. Structural insights into a novel class of aspartate aminotransferase from *Corynebacterium glutamicum*. *PloS one*, 2016, 11: e0158402.
92. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Cmaj*, 2005, 172: 367-379.
93. Kirsch JF, Eichele G, Ford GC, Vincent MG, Jansonius JN, Gehring H, Christen P. Mechanism of action of aspartate aminotransferase proposed on the basis of its spatial structure. *Journal of molecular biology*, 1984, 174: 497-525.
94. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemistry (Loose-Leaf)*. Baskı. Macmillan, 2007.
95. Gaze DC. The role of existing and novel cardiac biomarkers for cardioprotection. *Current opinion in investigational drugs*, 2007, 8: 711-717.
96. Ordway GA, Garry DJ. Myoglobin: an essential hemoprotein in striated muscle. *Journal of Experimental Biology*, 2004, 207: 3441-3446.
97. Wick MR, Hornick JL. Immunohistology of soft tissue and osseous neoplasms. İçinde: *Diagnostic immunohistochemistry*, Elsevier, 2011: 83-136.
98. Feher J. 6.4 Oxygen and carbon dioxide transport. *Quantitative Human Physiology*, 2017, 442: 656-664.
99. Wilson M, Reeder B. Myoglobin. 2006.
100. Boncyk JC. Perioperative Hypoxia. İçinde: *Complications in Anesthesia*, Elsevier, 2007: 193-199.
101. https://collab.its.virginia.edu/access/content/group/f85bed6c-45d2-4b18-b868-6a2353586804/2/Ch15_Ahn_J_Myoglobin_-_index.html.
102. Hardison RC. Evolution of hemoglobin and its genes. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2012, 2: a011627.

103. Chung MJ, Brown DL. Diagnosis of acute myocardial infarction. *Cardiac Intensive Care-E-Book*, 2018: 90.
104. Sekhon N, Peacock WF. Biomarkers to Assist in the Evaluation of Chest Pain: A Practical Guide. İçinde: *Biomarkers in Cardiovascular Disease*, Elsevier, 2019: 115-128.
105. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. Baskı. Macmillan, 2005.
106. Weber M, Rau M, Madlener K, Elsaesser A, Bankovic D, Mitrovic V, Hamm C. Diagnostic utility of new immunoassays for the cardiac markers cTnI, myoglobin and CK-MB mass. *Clinical biochemistry*, 2005, 38: 1027-1030.
107. Himori N, Matsuura A. A simple technique for occlusion and reperfusion of coronary artery in conscious rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1989, 256: H1719-H1725.
108. Rathore N, John S, Kale M, Bhatnagar D. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in isoproterenol induced oxidative stress in rat tissues. *Pharmacological Research*, 1998, 38: 297-303.
109. Rajadurai M, Prince PSM. Preventive effect of naringin on lipid peroxides and antioxidants in isoproterenol-induced cardiotoxicity in Wistar rats: biochemical and histopathological evidences. *Toxicology*, 2006, 228: 259-268.
110. Kumar N, Devineni SR, Gajjala PR, Dubey SK, Kumar P. Synthesis, isolation, identification and characterization of new process-related impurity in isoproterenol hydrochloride by HPLC, LC/ESI-MS and NMR. *Journal of pharmaceutical analysis*, 2017, 7: 394-400.
111. Kleinau G, Pratzka J, Nürnberg D, Grüters A, Führer-Sakel D, Krude H, Köhrle J, Schöneberg T, Biebermann H. Differential modulation of Beta-adrenergic receptor signaling by trace amine-associated receptor 1 agonists. *PloS one*, 2011, 6: e27073.

112. Shen H. Illustrated pharmacology memory cards. *Pharmnemonics, Minireview*. (This set of PharMnemonics cards makes medical pharmacology fun to learn and easy to memorize). Minireview LLC, PO Box, 2008, 260.
113. Vogel JH. Use of isoproterenol in the treatment of complete heart block complicating acute myocardial infarction. *The American Journal of Cardiology*, 1961, 7: 746-752.
114. Johnsson G. Use of β -adrenoreceptor blockers in combination with β -stimulators in patients with obstructive lung disease. *Drugs*, 1976, 11: 171-177.
115. Iikura Y, Matsumoto T, Fujita K, Otsuka T, Sakamoto Y, Yun S, Saito H, Obata T, Akasawa A, Capulong M. Continuous isoproterenol inhalation therapy in children with severe asthmatic attack. *International archives of allergy and immunology*, 1997, 113: 370-372.
116. Pearce N, Hensley MJ. Epidemiologic studies of beta agonists and asthma deaths. *Epidemiologic reviews*, 1998, 20: 173-186.
117. Kemper AJ, Dunlap R, Pietro DA. Thioridazine-induced torsade de pointes: successful therapy with isoproterenol. *JAMA*, 1983, 249: 2931-2934.
118. McMahon AW, Levenson MS, McEvoy BW, Mosholder AD, Murphy D. Age and risks of FDA-approved long-acting β_2 -adrenergic receptor agonists. *Pediatrics*, 2011, 128: e1147-e1154.
119. Allawadhi P, Khurana A, Sayed N, Kumari P, Godugu C. Isoproterenol-induced cardiac ischemia and fibrosis: Plant-based approaches for intervention. *Phytotherapy Research*, 2018, 32: 1908-1932.
120. Benjamin IJ, Jalil JE, Tan L, Cho K, Weber KT, Clark WA. Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circulation research*, 1989, 65: 657-670.

121. CP H. Isoproterenol-induced myocardial infarction in animals. *Archives of pathology*, 1962, 73: 161-165.
122. Jia Y-X, Yang J-H, Pan C-S, Geng B, Zhang J, Xiao Y, Zhao J, Gerns H, Yang J, Chang J-K. Intermedin1–53 protects the heart against isoproterenol-induced ischemic injury in rats. *European journal of pharmacology*, 2006, 549: 117-123.
123. Jiang JP, Downing SE. Catecholamine cardiomyopathy: review and analysis of pathogenetic mechanisms. *The Yale journal of biology and medicine*, 1990, 63: 581.
124. Kahn D, Rona G, Chappel C. Isoproterenol-induced cardiac necrosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1969, 156: 285-293.
125. Yates JC, Dhalla NS. Induction of necrosis and failure in the isolated perfused rat heart with oxidized isoproterenol. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 1975, 7: 807-816.
126. KONDO T, OGAWA Y, SUGIYAMA S, ITO T, SATAKE T, OZAWA T. Mechanism of isoproterenol induced myocardial damage. *Cardiovascular research*, 1987, 21: 248-254.
127. Schirone L, Forte M, Palmerio S, Yee D, Nocella C, Angelini F, Pagano F, Schiavon S, Bordin A, Carrizzo A. A review of the molecular mechanisms underlying the development and progression of cardiac remodeling. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 2017.
128. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 2010, 15: 7313-7352.
129. Swaroop A, Ramasarma T. Inhibition of H₂O₂ generation in rat liver mitochondria by radical quenchers and phenolic compounds. *Biochemical Journal*, 1981, 194: 657-665.

130. Andjelković M, Van Camp J, De Meulenaer B, Depaemelaere G, Socaciu C, Verloo M, Verhe R. Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food chemistry*, 2006, 98: 23-31.
131. Huang W-Y, Cai Y-Z, Zhang Y. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutrition and cancer*, 2009, 62: 1-20.
132. Serafini M, Maiani G, Ferro-Luzzi A. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *The Journal of Nutrition*, 1998, 128: 1003-1007.
133. Chou Y-C, Ho C-T, Pan M-H. Stilbenes: chemistry and molecular mechanisms of anti-obesity. *Current Pharmacology Reports*, 2018, 4: 202-209.
134. Gorham J. The stilbenoids. *Progress in phytochemistry*, 1980, 6: 203-252.
135. Choi B, Kim S, Jang B-G, Kim M-J. Piceatannol, a natural analogue of resveratrol, effectively reduces beta-amyloid levels via activation of alpha-secretase and matrix metalloproteinase-9. *Journal of Functional Foods*, 2016, 23: 124-134.
136. Colica C, Milanović M, Milić N, Aiello V, De Lorenzo A, Abenavoli L. A systematic review on natural antioxidant properties of resveratrol. *Natural product communications*, 2018, 13: 1934578X1801300923.
137. Akinwumi BC, Bordun K-AM, Anderson HD. Biological activities of stilbenoids. *International journal of molecular sciences*, 2018, 19: 792.
138. Wang D, Zhang Y, Zhang C, Gao L, Li J. Piceatannol pretreatment alleviates acute cardiac injury via regulating PI3K-Akt-eNOS signaling in H9c2 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 109: 886-891.
139. Ellermann C, Wolfes J, Kochhäuser S, Dechering DG, Reinke F, Wasmer K, Eckardt L, Frommeyer G. Divergent antiarrhythmic effects of resveratrol and piceatannol

in a whole-heart model of long QT syndrome. *International Journal of Cardiology*, 2017, 243: 233-238.

140. Otręba M, Kośmider L, Stojko J, Rzepecka-Stojko A. Cardioprotective Activity of Selected Polyphenols Based on Epithelial and Aortic Cell Lines. A Review. *Molecules*, 2020, 25: 5343.

141. Kanchanapoom T, Suga K, Kasai R, Yamasaki K, Kamel MS, Mohamed MH. Stilbene and 2-arylbenzofuran glucosides from the rhizomes of *Schoenocaulon officinale*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 2002, 50: 863-865.

142. Awaad AS. Phenolic glycosides of *Juncus acutus* and its anti-eczematic activity. *Chemistry of natural compounds*, 2006, 42: 152-155.

143. Dai L-M, Tang J, Li H-L, Shen Y-H, Peng C-Y, Zhang W-D. A new stilbene glycoside from the n-butanol fraction of *Veratrum dahuricum*. *Chemistry of natural compounds*, 2009, 45: 325-329.

144. Yang Z-G, Matsuzaki K, Takamatsu S, Kitanaka S. Inhibitory effects of constituents from *Morus alba* var. *multicaulis* on differentiation of 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW264. 7 cells. *Molecules*, 2011, 16: 6010-6022.

145. Aydin T, Cakir A, Kazaz C, Bayrak N, Bayir Y, Taşkesenligil Y. Insecticidal metabolites from the rhizomes of *Veratrum album* against adults of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Chemistry & Biodiversity*, 2014, 11: 1192-1204.

146. Hanawa F, Tahara S, Mizutani J. Antifungal stress compounds from *Veratrum grandiflorum* leaves treated with cupric chloride. *Phytochemistry*, 1992, 31: 3005-3007.

147. Choi SW, Jang YJ, Lee YJ, Leem HH, Kim EO. Analysis of functional constituents in mulberry (*Morus alba* L.) twigs by different cultivars, producing areas, and heat processings. *Preventive nutrition and food science*, 2013, 18: 256.

148. Hakim EH, Achmad SA, Aimi N, Indrayanto G, Kitajima M, Makmur L, Surya MD, Syah YM, Takayama H. Regioselective glucosylation of oxyresveratrol by cell suspension cultures of *Solanum mammosum*. *Journal of Chemical Research*, 2004, 2004: 706-707.
149. Zheng Z-P, Cheng K-W, Zhu Q, Wang X-C, Lin Z-X, Wang M. Tyrosinase inhibitory constituents from the roots of *Morus nigra*: A structure– activity relationship study. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2010, 58: 5368-5373.
150. Qiu F, Komatsu K, Kawasaki K, Saito K, Yao X, Kano Y. A novel stilbene glucoside, oxyresveratrol 3'-O- β -glucopyranoside, from the root bark of *Morus alba*. *Planta medica*, 1996, 62: 559-561.
151. Chung T, Terry D, Smith L, Markossian S, Sittampalam G, Grossman A. In Vitro and. 2003.
152. Kim J-K, Kim M, Cho S-G, Kim M-K, Kim SW, Lim Y-H. Biotransformation of mulberroside A from *Morus alba* results in enhancement of tyrosinase inhibition. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2010, 37: 631-637.
153. Jeandet P, Delaunois B, Conreux A, Donnez D, Nuzzo V, Cordelier S, Clément C, Courot E. Biosynthesis, metabolism, molecular engineering, and biological functions of stilbene phytoalexins in plants. *Biofactors*, 2010, 36: 331-341.
154. Wang C, Zhi S, Liu C, Xu F, Zhao A, Wang X, Ren Y, Li Z, Yu M. Characterization of stilbene synthase genes in mulberry (*Morus atropurpurea*) and metabolic engineering for the production of resveratrol in *Escherichia coli*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65: 1659-1668.
155. Maneechai S, De-Eknamkul W, Umehara K, Noguchi H, Likhitwitayawuid K. Flavonoid and stilbenoid production in callus cultures of *Artocarpus lakoocha*. *Phytochemistry*, 2012, 81: 42-49.

156. Reimann E. Natürliche polyhydroxystilbene. Die synthese von oxyresveratrol, piceatannol und rhapontigenin. *Tetrahedron Letters*, 1970, 11: 4051-4053.
157. Reimann E. Natürliche stilbene, II. Synthese von polyhydroxystilbenen. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 1971, 750: 109-127.
158. Lee SK, Nam K, Hoe YH, Min H-Y, Kim E-Y, Ko H, Song S, Lee T, Kim S. Synthesis and evaluation of cytotoxicity of stilbene analogues. *Archives of pharmacal research*, 2003, 26: 253-257.
159. Qiu F, Komatsu K-i, Saito K-i, KAWASAKI K, YAO X, KANO Y. Pharmacological Properties of Traditional Medicines (XXI): Analysis of Plasma, Urine and Bile of Rats after Oral Administration of Water Extract of Mori Cortex. *Natural medicines= 生薬学雑誌*, 1996, 50: 103-108.
160. Qiu F, Komatsu K-i, Saito K-i, KAwAsAKI K, YAO X, KANO Y. Pharmacological properties of traditional medicines. XXII. Pharmacokinetic study of mulberroside A and its metabolites in rat. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 1996, 19: 1463-1467.
161. Zhaxi M, Chen L, Li X, Komatsu K, Yao X, Qiu F. Three major metabolites of mulberroside A in rat intestinal contents and feces. *Planta medica*, 2010, 76: 362-364.
162. Huang H, Zhang J, Chen G, Lu Z, Wang X, Sha N, Shao B, Li P, Guo Da. High performance liquid chromatographic method for the determination and pharmacokinetic studies of oxyresveratrol and resveratrol in rat plasma after oral administration of Smilax china extract. *Biomedical Chromatography*, 2008, 22: 421-427.
163. Huang H, Chen G, Lu Z, Zhang J, Guo D. Distribution study of two constituents in rat after oral administration of Smilax china extract. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, 2009, 34: 2512-2515.

164. Huang H-l, Zhang J-q, Chen G-t, Lu Z-q, Sha N, Guo D-a. Simultaneous determination of oxyresveratrol and resveratrol in rat bile and urine by HPLC after oral administration of Smilax china extract. *Natural Product Communications*, 2009, 4: 1934578X0900400617.
165. Tian F, Wei H, Jia T, Tian H. An improved highly sensitive method to determine low oxyresveratrol concentrations in rat plasma and its pharmacokinetic application. *Biomedical Chromatography*, 2014, 28: 667-672.
166. Huang H, Huang G, Liang F, Liu K, Ren G, Shao F, Liu R. LC-MS/MS method for the determination of oxyresveratrol in rat plasma and its application to pharmacokinetic study. *Chin. J. New Drugs*, 2014, 23: 76-79.
167. Chen W, Yeo SCM, Elhennawy MGAA, Lin H-S. Oxyresveratrol: A bioavailable dietary polyphenol. *Journal of Functional Foods*, 2016, 22: 122-131.
168. Junsang D, Anukunwithaya T, Songvut P, Sritularak B, Likhitwitayawuid K, Khemawoot P. Comparative pharmacokinetics of oxyresveratrol alone and in combination with piperine as a bioenhancer in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 2019, 19: 1-10.
169. Likhitwitayawuid K. Stilbenes with tyrosinase inhibitory activity. *Current Science*, 2008: 44-52.
170. Shin N-H, Ryu SY, Choi EJ, Kang S-H, Chang I-M, Min KR, Kim Y. Oxyresveratrol as the potent inhibitor on dopa oxidase activity of mushroom tyrosinase. *Biochemical and biophysical research communications*, 1998, 243: 801-803.
171. Likhitwitayawuid K, Sornsute A, Sritularak B, Ploypradith P. Chemical transformations of oxyresveratrol (trans-2, 4, 3', 5'-tetrahydroxystilbene) into a potent tyrosinase inhibitor and a strong cytotoxic agent. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2006, 16: 5650-5653.

172. Li J, Lin Z, Tang X, Liu G, Chen Y, Zhai X, Huang Q, Cao Y. Oxyresveratrol extracted from *Artocarpus heterophyllus* Lam. inhibits tyrosinase and age pigments in vitro and in vivo. *Food & Function*, 2020, 11: 6595-6607.
173. Liang C, Lim J-H, Kim S-H, Kim D-S. Dioscin: a synergistic tyrosinase inhibitor from the roots of *Smilax china*. *Food chemistry*, 2012, 134: 1146-1148.
174. Ban JY, Cho SO, Choi S-H, Ju HS, Kim JY, Bae K, Song K-S, Seong YH. Neuroprotective effect of *Smilacis chinae* rhizome on NMDA-induced neurotoxicity in vitro and focal cerebral ischemia in vivo. *Journal of pharmacological sciences*, 2008, 106: 68-77.
175. Andrabi SA, Spina MG, Lorenz P, Ebmeyer U, Wolf G, Horn TF. Oxyresveratrol (trans-2, 3', 4, 5'-tetrahydroxystilbene) is neuroprotective and inhibits the apoptotic cell death in transient cerebral ischemia. *Brain research*, 2004, 1017: 98-107.
176. Breuer C, Wolf G, Andrabi SA, Lorenz P, Horn TF. Blood–brain barrier permeability to the neuroprotectant oxyresveratrol. *Neuroscience letters*, 2006, 393: 113-118.
177. Wu Y, Li S, Liu J, Liu X, Ruan W, Lu J, Liu Y, Lawson T, Shimoni O, Lovejoy DB. Stilbenes from *Veratrum maackii* Regel protect against ethanol-induced DNA damage in mouse cerebellum and cerebral cortex. *ACS Chemical Neuroscience*, 2018, 9: 1616-1624.
178. Du H, Ma L, Chen G, Li S. The effects of oxyresveratrol abrogates inflammation and oxidative stress in rat model of spinal cord injury. *Molecular medicine reports*, 2018, 17: 4067-4073.
179. Oh H, Ko E-K, Jun J-Y, Oh M-H, Park S-U, Kang K-H, Lee H-S, Kim Y-C. Hepatoprotective and free radical scavenging activities of prenylflavonoids, coumarin, and stilbene from *Morus alba*. *Planta Medica*, 2002, 68: 932-934.

180. Kim KM, Suh JW, Yang SH, Kim BR, Park TS, Shim SM. Smilax China root extract detoxifies nicotine by reducing reactive oxygen species and inducing CYP2A6. *Journal of food science*, 2014, 79: H2132-H2139.
181. Choi HY, Lee J-H, Jegal KH, Cho IJ, Kim YW, Kim SC. Oxyresveratrol abrogates oxidative stress by activating ERK–Nrf2 pathway in the liver. *Chemico-biological interactions*, 2016, 245: 110-121.
182. Lee J-H, Baek SY, Jang EJ, Ku SK, Kim KM, Ki SH, Kim C-E, Park KI, Kim SC, Kim YW. Oxyresveratrol ameliorates nonalcoholic fatty liver disease by regulating hepatic lipogenesis and fatty acid oxidation through liver kinase B1 and AMP-activated protein kinase. *Chemico-Biological Interactions*, 2018, 289: 68-74.
183. Zhang Z, Jin J, Shi L. Protective function of cis-mulberroside A and oxyresveratrol from *Ramulus mori* against ethanol-induced hepatic damage. *Environmental Toxicology and pharmacology*, 2008, 26: 325-330.
184. Yang G, Zhan J, Yang Y, Yuan L, Wang P, Ho C-T, Li S. Inhibitory effects of oxyresveratrol on ERK and Smad1/2 phosphorylation and HSC activation in preventing carbon tetrachloride-induced rat liver fibrosis. *Food Science and Human Wellness*, 2021, 10: 6-12.
185. Lee EH, Park KI, Kim KY, Lee JH, Jang EJ, Ku SK, Kim SC, Suk HY, Park JY, Baek SY, Kim YW. Liquiritigenin inhibits hepatic fibrogenesis and TGF- β 1/Smad with Hippo/YAP signal. *Phytomedicine*, 2019, 62: 152780.
186. Jia YN, Lu HP, Peng YL, Zhang BS, Gong XB, Su J, Zhou Y, Pan MH, Xu L. Oxyresveratrol prevents lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute liver injury in mice. *Int Immunopharmacol*, 2018, 56: 105-112.

187. Jia YN, Peng YL, Zhao YP, Cheng XF, Zhou Y, Chai CL, Zeng LS, Pan MH, Xu L. Comparison of the Hepatoprotective Effects of the Three Main Stilbenes from Mulberry Twigs. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 5521-5529.
188. He H, Lu YH. Comparison of inhibitory activities and mechanisms of five mulberry plant bioactive components against alpha-glucosidase. *J Agric Food Chem*, 2013, 61: 8110-8119.
189. Wongon M, Limpeanchob N. Inhibitory effect of Artocarpus lakoocha Roxb and oxyresveratrol on alpha-glucosidase and sugar digestion in Caco-2 cells. *Heliyon*, 2020, 6: e03458.
190. Wongon M, Limpeanchob N. Artocarpus lacucha Extract and Oxyresveratrol Inhibit Glucose Transporters in Human Intestinal Caco-2 Cells. *Planta Med*, 2021, 87: 709-715.
191. He H, Yu WG, Yang JP, Ge S, Lu YH. Multiple Comparisons of Glucokinase Activation Mechanisms of Five Mulberry Bioactive Ingredients in Hepatocyte. *J Agric Food Chem*, 2016, 64: 2475-2484.
192. Povichit N, Phrutivorapongkul A, Suttajit M, Leelapornpisid P. Antiglycation and antioxidant activities of oxyresveratrol extracted from the heartwood of Artocarpus lakoocha Roxb. 2010.
193. Yoon J, Lee H, Chang HB, Choi H, Kim YS, Rho YK, Seong S, Choi DH, Park D, Ku B. DW1029M, a novel botanical drug candidate, inhibits advanced glycation end-product formation, rat lens aldose reductase activity, and TGF- β 1 signaling. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2014, 306: F1161-F1170.
194. Wang W, Yang R, Yao H, Wu Y, Pan W, Jia A-Q. Inhibiting the formation of advanced glycation end-products by three stilbenes and the identification of their adducts. *Food chemistry*, 2019, 295: 10-15.

195. Park SY, Jin BR, Lee YR, Kim YJ, Park JB, Jeon YH, Choi SW, Kwon O. Postprandial hypoglycemic effects of mulberry twig and root bark in vivo and in vitro. *Journal of Nutrition and Health*, 2016, 49: 18-27.
196. Park S-y, Jin B, Shin J-H, Adisakwattana S, Kwon O. Standardized Mori ramulus extract improves insulin secretion and insulin sensitivity in C57BLKS/J db/db mice and INS-1 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 92: 308-315.
197. Tan H-Y, Iris M, Li ET, Wang M. Inhibitory effects of oxyresveratrol and cyanomaclurin on adipogenesis of 3T3-L1 cells. *Journal of Functional Foods*, 2015, 15: 207-216.
198. Hwang S, Kim JK, Kim IH, Lim YH. Inhibitory effect of ethanolic extract of Ramulus mori on adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells and their antioxidant activity. *Journal of Food Biochemistry*, 2018, 42: e12469.
199. Kim DH, Kim JH, Baek SH, Seo JH, Kho YH, Oh TK, Lee CH. Enhancement of tyrosinase inhibition of the extract of Veratrum patulum using cellulase. *Biotechnology and bioengineering*, 2004, 87: 849-854.
200. Uchitomi R, Nakai S, Matsuda R, Onishi T, Miura S, Hatazawa Y, Kamei Y. Genistein, daidzein, and resveratrols stimulate PGC-1 β -mediated gene expression. *Biochemistry and biophysics reports*, 2019, 17: 51-55.
201. Jo S-P, Kim J-K, Lim Y-H. Antihyperlipidemic effects of stilbenoids isolated from Morus alba in rats fed a high-cholesterol diet. *Food and Chemical Toxicology*, 2014, 65: 213-218.
202. Hwang D, Jo S-P, Lee J, Kim J-K, Kim K-H, Lim Y-H. Antihyperlipidaemic effects of oxyresveratrol-containing Ramulus mori ethanol extract in rats fed a high-cholesterol diet. *Journal of Functional Foods*, 2015, 19: 353-362.

203. Choi JH, Song N-J, Lee AR, Lee DH, Seo M-J, Kim S, Chang S-H, Yang DK, Hwang Y-J, Hwang K-A. Oxyresveratrol increases energy expenditure through Foxo3a-mediated Ucp1 induction in high-fat-diet-induced obese mice. *International journal of molecular sciences*, 2018, 20: 26.
204. Tan HY, Tse IMY, Li ETS, Wang M. Oxyresveratrol supplementation to C57bl/6 mice fed with a high-fat diet ameliorates obesity-associated symptoms. *Nutrients*, 2017, 9: 147.
205. Pan M-H, Koh Y-C, Lee T-L, Wang B, Chen W-K, Nagabhushanam K, Ho C-T. Resveratrol and oxyresveratrol activate thermogenesis via different transcriptional coactivators in high-fat diet-induced obese mice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2019, 67: 13605-13616.
206. Park J-E, Lee G-H, Kim J, Choi S-W, Kim E. Anti-obesity effect of Ramulus mori extracts and stilbenes in high fat dietfed C57BL/6J mouse. *Journal of Nutrition and Health*, 2020, 53: 570-582.
207. Chung K-O, Kim B-Y, Lee M-H, Kim Y-R, Chung H-Y, Park J-H, Moon J-O. In-vitro and in-vivo anti-inflammatory effect of oxyresveratrol from Morus alba L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2003, 55: 1695-1700.
208. Jin W-Y, Na M-K, An R-B, Lee H-Y, Bae K-H, Kang S-S. Antioxidant compounds from twig of Morus alba. *Natural Product Sciences*, 2002, 8: 129-132.
209. Su B-N, Cuendet M, Hawthorne ME, Kardono LB, Riswan S, Fong HH, Mehta RG, Pezzuto JM, Kinghorn AD. Constituents of the Bark and Twigs of Artocarpus d adah with Cyclooxygenase Inhibitory Activity. *Journal of natural products*, 2002, 65: 163-169.

210. Kutil Z, Kvasnicova M, Temml V, Schuster D, Marsik P, Cusimamani EF, Lou J-D, Vanek T, Landa P. Effect of dietary stilbenes on 5-lipoxygenase and cyclooxygenases activities in vitro. *International Journal of Food Properties*, 2015, 18: 1471-1477.
211. Tan Y, Liu C, Chen R. Phenolic constituents from stem bark of *Morus wittiorum* and their anti-inflammation and cytotoxicity. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, 2010, 35: 2700-2703.
212. Lorenz P, Roychowdhury S, Engelmann M, Wolf G, Horn TF. Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells. *Nitric oxide*, 2003, 9: 64-76.
213. Tadtong S, Chatsumpun N, Sritularak B, Jongbunprasert V, Ploypradith P, Likhitwitayawuid K. Effects of oxyresveratrol and its derivatives on cultured P19-derived neurons. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2016, 15: 2619-2628.
214. Wang L, Zhao H, Wang L, Tao Y, Du G, Guan W, Liu J, Brennan C, Ho C-T, Li S. Effects of selected resveratrol analogues on activation and polarization of lipopolysaccharide-stimulated BV-2 microglial cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2020, 68: 3750-3757.
215. Hur J, Kim S, Lee P, Lee Y, Choi S. The protective effects of oxyresveratrol imine derivative against hydrogen peroxide-induced cell death in PC12 cells. *Free Radical Research*, 2013, 47: 212-218.
216. Wongwat T, Srihaphon K, Pitaksutheepong C, Boonyo W, Pitaksuteepong T. Suppression of inflammatory mediators and matrix metalloproteinase (MMP)-13 by *Morus alba* stem extract and oxyresveratrol in RAW 264.7 cells and C28/I2 human chondrocytes. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2020, 10: 132-140.

217. Fang S-C, Hsu C-L, Yen G-C. Anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the fruits of *Artocarpus heterophyllus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56: 4463-4468.
218. Lee H, Kim D, Hong J, Lee J, Kim E. Oxyresveratrol suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages. *Human & Experimental Toxicology*, 2015, 34: 808-818.
219. Phoolcharoen W, Sooampon S, Sritularak B, Likhitwitayawuid K, Kuvatanasuchati J, Pavasant P. Anti-periodontal pathogen and anti-inflammatory activities of oxyresveratrol. *Natural Product Communications*, 2013, 8: 1934578X1300800518.
220. Hu S, Zheng Z, Zhang X, Chen F, Wang M. Oxyresveratrol and trans-dihydromorin from the twigs of *Cudrania tricuspidata* as hypopigmenting agents against melanogenesis. *Journal of Functional Foods*, 2015, 13: 375-383.
221. Hu X, Liang Y, Zhao B, Wang Y. Oxyresveratrol protects human lens epithelial cells against hydrogen peroxide-induced oxidative stress and apoptosis by activation of Akt/HO-1 pathway. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2019, 139: 166-173.
222. Heo J-I, Kim J-H, Lee J-M, Kho Y-J, Lim SS, Park J-B, Kim J, Kim SC, Lee J-Y. FOXO3a activation by oxyresveratrol of *Morus bombycis koidzumi* extract mediates antioxidant activity. *Animal Cells and Systems*, 2016, 20: 39-47.
223. Chen Y-C, Tien Y-J, Chen C-H, Beltran FN, Amor EC, Wang R-J, Wu D-J, Mettling C, Lin Y-L, Yang W-C. *Morus alba* and active compound oxyresveratrol exert anti-inflammatory activity via inhibition of leukocyte migration involving MEK/ERK signaling. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 13: 1-10.
224. Hankittichai P, Lou HJ, Wikan N, Smith DR, Potikanond S, Nimlamool W. Oxyresveratrol inhibits IL-1 β -induced inflammation via suppressing AKT and ERK1/2

activation in human microglia, HMC3. *International journal of molecular sciences*, 2020, 21: 6054.

225. Wei J, Chen J-R, Pais EMA, Wang T-Y, Miao L, Li L, Li L-Y, Qiu F, Hu L-M, Gao X-M. Oxyresveratrol is a phytoestrogen exerting anti-inflammatory effects through NF- κ B and estrogen receptor signaling. *Inflammation*, 2017, 40: 1285-1296.

226. TSURUGA T, CHUN Y-T, EBIZUKA Y, SANKAWA U. Biologically active constituents of *Melaleuca leucadendron*: inhibitors of induced histamine release from rat mast cells. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 1991, 39: 3276-3278.

227. Ashraf MI, Shahzad M, Shabbir A. Oxyresveratrol ameliorates allergic airway inflammation via attenuation of IL-4, IL-5, and IL-13 expression levels. *Cytokine*, 2015, 76: 375-381.

228. Hwang D, Jo H, Ma S-H, Lim Y-H. Oxyresveratrol stimulates mucin production in an NAD⁺-dependent manner in human intestinal goblet cells. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, 118: 880-888.

229. Yeom J, Ma S, Lim Y-H. Oxyresveratrol induces autophagy via the ER stress signaling pathway, and oxyresveratrol-induced autophagy stimulates MUC2 synthesis in human goblet cells. *Antioxidants*, 2020, 9: 214.

230. Hwang D, Jo H, Kim J-K, Lim Y-H. Oxyresveratrol-containing *Ramulus mori* ethanol extract attenuates acute colitis by suppressing inflammation and increasing mucin secretion. *Journal of Functional Foods*, 2017, 35: 146-158.

231. Yeom J, Ma S, Kim J-K, Lim Y-H. Oxyresveratrol ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in rats by suppressing inflammation. *Molecules*, 2021, 26: 2630.

232. Rajamani K, Manivasagam T, Anantharaman P, Balasubramanian T, Somasundaram S. Chemopreventive effect of *Padina boerghesii* extract on ferric

nitrilotriacetate (Fe-NTA)-induced oxidative damage in Wistar rats. *J Appl Physiol*, 2011, 23: 257-263.

233. Mukherjee P. V, Marcheselli L, Serhan CN, Bazan NG. Neuroprotectin D1: a docosahexaenoic acid-derived docosatriene protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 8491-8496.

234. Lyons MA, Brown AJ. 7-Ketocholesterol. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 1999, 31: 369-375.

235. Serpone N, Salinaro A, Emeline AV, Horikoshi S, Hidaka H, Zhao J. An in vitro systematic spectroscopic examination of the photostabilities of a random set of commercial sunscreen lotions and their chemical UVB/UVA active agents. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2002, 1: 970-981.

236. Njie-Mbye YF, Chitnis MK, Opere CA, Ohia SE. Lipid peroxidation: pathophysiological and pharmacological implications in the eye. *Frontiers in physiology*, 2013, 4: 366.

237. Hayyan M, Hashim MA, AlNashef IM. Superoxide ion: generation and chemical implications. *Chemical reviews*, 2016, 116: 3029-3085.

238. Sawyer D. Superoxide chemistry. *McGraw-Hill. Doi*, 2014, 10: 1097-8542.669650.

239. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007, 39: 44-84.

240. Marnett LJ. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 1999, 424: 83-95.

241. Petrides P. Genetisch bedingte Proteine Defekte. *İçinde: Physiologische Chemie*, Springer, 1988: 257-296.

242. Löffler G, Petrides PE. *Physiologische Chemie*. Baskı. Springer-Verlag, 2013.
243. Gabaldón T. Peroxisome diversity and evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2010, 365: 765-773.
244. Amery L, Fransen M, De Nys K, Mannaerts GP, Van Veldhoven PP. Mitochondrial and peroxisomal targeting of 2-methylacyl-CoA racemase in humans. *Journal of lipid research*, 2000, 41: 1752-1759.
245. Nelson DL, Cox MM, Häcker B. *Lehninger biochemie*. Baskı. Springer, 2009.
246. Riley EP, McGee CL. Fetal alcohol spectrum disorders: an overview with emphasis on changes in brain and behavior. *Experimental biology and medicine*, 2005, 230: 357-365.
247. Nelson DL, Lehninger AL, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. Baskı. Macmillan, 2008.
248. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Xanthine_oxidase_reaction.png.
249. Целищев А, Лория М, Захаров И. Анализ физико-химических методов получения гидроксильного радикала. 2011.
250. Bielski BH, Cabelli DE, Arudi RL, Ross AB. Reactivity of HO₂/O⁻ 2 radicals in aqueous solution. *Journal of physical and chemical reference data*, 1985, 14: 1041-1100.
251. Degtyarenko K, De Matos P, Ennis M, Hastings J, Zbinden M, McNaught A, Alcántara R, Darsow M, Guedj M, Ashburner M. ChEBI: a database and ontology for chemical entities of biological interest. *Nucleic acids research*, 2007, 36: D344-D350.
252. Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J, Ortiz GG, AcuñaCastroviejo D. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of pineal research*, 1995, 18: 1-11.
253. Law J, Martin E. *Concise medical dictionary*. Baskı. Oxford University Press, 2020.

254. Сахаров И. ПЕРОКСИДАЗЫ ПАЛЪМ Обзор. *Биохимия*, 2004, 69: 1013-1020.
255. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 1997, 82: 291-295.
256. Vertuani S, Angusti A, Manfredini S. The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Current pharmaceutical design*, 2004, 10: 1677-1694.
257. Miller RA, Britigan BE. Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clinical microbiology reviews*, 1997, 10: 1-18.
258. Талантов П. 0, 05. *Доказательная медицина от магии до поисков бессмертия*. Баскi. Litres, 2022.
259. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Oxygen and living processes*, 1981: 250-272.
260. Sandström J, Nilsson P, Karlsson K, Marklund SL. 10-fold increase in human plasma extracellular superoxide dismutase content caused by a mutation in heparin-binding domain. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269: 19163-19166.
261. MacMillan-Crow LA, Crow JP, Thompson JA. Peroxynitrite-mediated inactivation of manganese superoxide dismutase involves nitration and oxidation of critical tyrosine residues. *Biochemistry*, 1998, 37: 1613-1622.
262. Yamakura F, Taka H, Fujimura T, Murayama K. Inactivation of human manganese-superoxide dismutase by peroxynitrite is caused by exclusive nitration of tyrosine 34 to 3-nitrotyrosine. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273: 14085-14089.
263. Battistoni A, Folcarelli S, Cervoni L, Polizio F, Desideri A, Giartosio A, Rotilio G. Role of the Dimeric Structure in Cu, Zn Superoxide Dismutase: pH-dependent, reversible denaturation of the monomeric enzyme from *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273: 5655-5661.

264. Prasad T, Kundu M. Serum IgG and IgM responses to sheep red blood cells (SRBC) in weaned calves fed milk supplemented with Zn and Cu. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 1995, 11: 712-715.
265. Marklund S. Distribution of CuZn superoxide dismutase and Mn superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. *Acta physiologica scandinavica. supplementum*, 1980, 492: 19-23.
266. Turrens JF, Crapo JD, Freeman B. Protection against oxygen toxicity by intravenous injection of liposome-entrapped catalase and superoxide dismutase. *The Journal of clinical investigation*, 1984, 73: 87-95.
267. Tappel A. [53] Glutathione peroxidase and hydroperoxides. İçinde: *Methods in enzymology*, Elsevier, 1978: 506-513.
268. Разыграев АВ, Матросова МО, Титович ИА. Роль глутатионпероксидаз в ткани эндометрия: факты, гипотезы, перспективы изучения. *Журнал акушерства и женских болезней*, 2017, 66: 104-111.
269. Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H. Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Biology and Medicine*, 2007, 43: 477-503.
270. <https://tr.m.wikipedia.org/wiki/Dosya:Glutathione-skeletal.svg>.
271. Strużyńska L, Chalimoniuk M, Sulkowski G. The role of astroglia in Pb-exposed adult rat brain with respect to glutamate toxicity. *Toxicology*, 2005, 212: 185-194.
272. Witschi A, Reddy S, Stofer B, Lauterburg B. The systemic availability of oral glutathione. *European journal of clinical pharmacology*, 1992, 43: 667-669.
273. Gross CL, Innace JK, Hovatter RC, Meier HL, Smith WJ. Biochemical manipulation of intracellular glutathione levels influences cytotoxicity to isolated human lymphocytes by sulfur mustard. *Cell biology and toxicology*, 1993, 9: 259-267.

274. Мойсеёнок А, Морозкина Т, Мойсеенок ЕА, Янковская Л. Безопасность витаминов: возможные и мнимые угрозы. 2013.
275. Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology and Medicine*, 2011, 51: 1000-1013.
276. Zielinski H. Tocotrienols: distribution and sources cereals—role in human health. *Tocotrienols: Vitamin E Beyond Tocopherols. Boca Raton: CRC Press. p*, 2008: 23-42.
277. Fox KA, Steg PG, Eagle KA, Goodman SG, Anderson FA, Granger CB, Flather MD, Budaj A, Quill A, Gore JM. Decline in rates of death and heart failure in acute coronary syndromes, 1999-2006. *Jama*, 2007, 297: 1892-1900.
278. Furman MI, Dauerman HL, Goldberg RJ, Yarzbeshi J, Lessard D, Gore JM. Twenty-two year (1975 to 1997) trends in the incidence, in-hospital and long-term case fatality rates from initial Q-wave and non-Q-wave myocardial infarction: a multi-hospital, community-wide perspective. *Journal of the American College of Cardiology*, 2001, 37: 1571-1580.
279. Mandelzweig L, Battler A, Boyko V, Bueno H, Danchin N, Filippatos G, Gitt A, Hasdai D, Hasin Y, Marrugat J. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: characteristics, treatment, and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean Basin in 2004. *European heart journal*, 2006, 27: 2285-2293.
280. Liew R, Sulfi S, Ranjadayalan K, Cooper J, Timmis AD. Declining case fatality rates for acute myocardial infarction in South Asian and white patients in the past 15 years. *Heart*, 2006, 92: 1030-1034.
281. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation*, 1995, 92: 657-671.
282. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*, 2001, 104: 365-372.

283. Casscells W, Naghavi M, Willerson JT. Vulnerable atherosclerotic plaque: a multifocal disease. *Circulation*, 2003, 107: 2072-2075.
284. Rioufol G, Finet G, Ginon I, Andre-Fouet X, Rossi R, Vialle E, Desjoyaux E, Convert G, Huret J, Tabib A. Multiple atherosclerotic plaque rupture in acute coronary syndrome: a three-vessel intravascular ultrasound study. *Circulation*, 2002, 106: 804-808.
285. Lobo Filho HG, Ferreira NL, Sousa RBd, Carvalho ERd, Lobo PLD, Lobo Filho JG. Modelo experimental de infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 2011, 26: 469-476.
286. Shukla SK, Sharma SB. b-Adrenoreceptor Agonist Isoproterenol Alters Oxidative Status, Inflammatory Signaling, Injury Markers and Apoptotic Cell Death in Myocardium of Rats. 2014.
287. Baroldi G. Myocardial necrosis: the need for definition. 1974.
288. Keles MS, Bayir Y, Suleyman H, Halici Z. Investigation of effects of Lacidipine, Ramipril and Valsartan on DNA damage and oxidative stress occurred in acute and chronic periods following isoproterenol-induced myocardial infarct in rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 2009, 328: 109-117.
289. Nagoor Meeran MF, Stanely Mainzen Prince P. Protective effects of thymol on altered plasma lipid peroxidation and nonenzymic antioxidants in isoproterenol-induced myocardial infarcted rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2012, 26: 368-373.
290. Albayrak F, Bayir Y, Halici Z, Kabalar E, Bayram E, Ozturk C, Suleyman H, Keles MS, Kurt M, Bakan E. Preventive effect of amiodarone during acute period in isoproterenol-induced myocardial injury in Wistar rats. *Cardiovascular toxicology*, 2009, 9: 161-168.

291. Lee J, Kwon G, Park J, Kim J-K, Choe SY, Seo Y, Lim Y-H. An ethanol extract of *Ramulus mori* improves blood circulation by inhibiting platelet aggregation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2016, 80: 1410-1415.
292. Zhang M-x, Song Y, Xu W-l, Zhang L-x, Li C, Li Y-l. Natural Herbal Medicine as a Treatment Strategy for Myocardial Infarction through the Regulation of Angiogenesis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 2022.
293. Nirmala C, Puvanakrishnan R. Protective role of curcumin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 1996, 159: 85-93.
294. Lin J-F, Lin S-M, Chih C-L, Nien M-W, Su H-H, Hu B-R, Huang S-S, Tsai S-K. Resveratrol reduces infarct size and improves ventricular function after myocardial ischemia in rats. *Life sciences*, 2008, 83: 313-317.
295. Li B, Yang M, Liu J, Yin G. Protective mechanism of quercetin on acute myocardial infarction in rats. *Genet. Mol. Res*, 2016, 15: 15017117.
296. Lau CW, Yao XQ, Chen ZY, Ko WH, Huang Y. Cardiovascular actions of berberine. *Cardiovascular Drug Reviews*, 2001, 19: 234-244.
297. Kuo M-L, Huang T-S, Lin J-K. Curcumin, an antioxidant and anti-tumor promoter, induces apoptosis in human leukemia cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1996, 1317: 95-100.
298. Ling L, Gu S, Cheng Y. Resveratrol activates endogenous cardiac stem cells and improves myocardial regeneration following acute myocardial infarction. *Molecular medicine reports*, 2017, 15: 1188-1194.
299. Prince PSM, Sathya B. Pretreatment with quercetin ameliorates lipids, lipoproteins and marker enzymes of lipid metabolism in isoproterenol treated cardiotoxic male Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, 2010, 635: 142-148.

300. Juránek I, Bezek S. Controversy of free radical hypothesis: reactive oxygen species-cause or consequence of tissue injury? *General physiology and biophysics*, 2005, 24: 263.
301. Perron NR, Brumaghim JL. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell biochemistry and biophysics*, 2009, 53: 75-100.
302. Rodrigo R, Prieto JC, Castillo R. Cardioprotection against ischaemia/reperfusion by vitamins C and E plus n-3 fatty acids: molecular mechanisms and potential clinical applications. *Clinical science*, 2013, 124: 1-15.
303. Prabhu S, Jainu M, Sabitha K, Devi CS. Role of mangiferin on biochemical alterations and antioxidant status in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 2006, 107: 126-133.
304. Pryor W, Stanley J. A suggested mechanism for the production of malonaldehyde during the autoxidation of PUFA. Nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. *J. Org. Chem*, 1975, 40: 3615-3617.
305. Farmer EE, Davoine C. Reactive electrophile species. *Current opinion in plant biology*, 2007, 10: 380-386.
306. Reilly CA, Aust SD. Measurement of lipid peroxidation. *Current protocols in toxicology*, 1999: 2.4. 1-2.4. 13.
307. Ojha S, Goyal S, Sharma C, Arora S, Kumari S, Arya D. Cardioprotective effect of lycopene against isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *Human & experimental toxicology*, 2013, 32: 492-503.
308. SA'ADAH NN, INDIANI AM, NURHAYATI APD, ASHURI NM. Anthocyanins content of methanol extract of parijoto (*Medinilla speciosa*) and its effect

on serum malondialdehyde (MDA) level of hyperlipidemic rat. *Nusantara Bioscience*, 2019, 11.

309. Tazarrat A, Ayub F, Rehman B, Khan WU, Salim S, Ashfaq S. Anti hyperlipidemic effect of Oxyresveratrol and Zinc complex versus simvastatin on Total Cholesterol in Hyperlipidemic rat Model. *The Professional Medical Journal*, 2022, 29: 740-744.



EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Doğum Tarihi: Doğum Yeri: Medeni Hali: Uyruğu: Adres: Tel: Faks: - E-mail:
Eğitim
Lise: Lisans:
Yabancı Dil Bilgisi
Türkçe: İngilizce: Rusça:
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
-
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

 SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences		
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹		
Öğrencinin Adı ve Soyadı	Huseyn ALIYEV	
Öğrencinin Numarası	20020901006	
Ana Bilim Dalı	Biyokimya	
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans	
Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.		
Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 4	% 15
II. Genel Bilgiler	% 9	% 35
III. Materyal ve Metod	% 26	% 35
IV. Bulgular	% 8	% 15
V. Tartışma	% 3	% 20
<i>Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.</i>		
Tez Yazarı (Öğrenci)		Tez Danışmanı

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük



Sayı : E-75296309-050.01.04-2200006521
Konu : HADYЕК Kararı.

10.01.2022

ECZACILIK FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 27.12.2021 tarihli ve E-93722986-000-2100359379 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 28.12.2021 tarihli ve 11 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 285 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYЕК Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 28.12.2021

TOPLANTI SAYISI : 11

KARAR N0 285: Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanlığı, Temel Eczacılık Bilimleri Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Yasin BAYIR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **“Oksiresveratrol’ün Sıçanlarda İsopteranol İle Oluşturulan Miyokard İnfarktüsü Üzerine Etkilerinin İncelenmesi”** isimli araştırma çalışması ile ilgili Eczacılık Fakültesi Dekanlığının 27.12.2021 tarihli ve E-93722986-000-2100359379 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

