

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KALP MYOSİTLERİNDE DOKSORUBİSİN İLE OLUŞTURULAN
HASARIN AZALTILMASINDA ÇİNKONUN ROLÜ**

**Tezi Hazırlayan
Songül BİLTEKİN**

**Danışman
Prof.Dr.Nurcan DURSUN**

Yüksek Lisans Tezi

**Haziran 2012
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KALP MYOSİTLERİNDE DOKSORUBİSİN İLE
OLUŞTURULAN HASARIN AZALTILMASINDA
ÇİNKONUN ROLÜ**

**Tezi Hazırlayan
Songül BİLTEKİN**

**Danışman
Prof.Dr.Nurcan DURSUN**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TSY-11-3754 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Haziran 2012
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

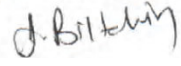
Adı-Soyadı: Songül BİLTEKİN

İmza : 

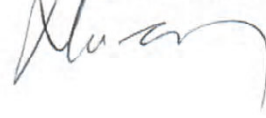
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Kalp Myositlerinde Doksorubisin ile Oluşturulan Hasarın Azaltılmasında Çinkonun Rolü” adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Songül BİLTEKİN



Danışman
Prof.Dr.Nurcan DURSUN



Anabilim Dalı Başkanı
Prof.Dr.Cem SÜER



Prof. Dr. Nurcan DURSUN danışmanlığında **Songül BİLTEKİN** tarafından hazırlanan **“Kalp Myositlerinde Doksorubisin ile Oluşturulan Hasarın Azaltılmasında Çinkonun Rolü”** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

18.06/2012

JÜRİ

Danışman : Prof.Dr. Nurcan DURSUN (Fizyoloji Anabilim Dalı)

İmza

Üye : Prof.Dr. Cem SÜER (Fizyoloji Anabilim Dalı)

Üye : Prof.Dr. Hamiyet ALTINTAŞ (.....Anabilim Dalı)

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 28/06/2012 tarih ve 550 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof.Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans eğitimim boyunca araştırmamın her safhasında görüş ve önerileriyle bana her türlü desteği sunan, yol gösteren, bilgi ve tecrübesinden çok şey öğrendiğim, bilimsel katkı ve desteğinden dolayı kıymetli danışmanım Prof. Dr. Nurcan DURSUN hocama teşekkür ederim.

Çalışmamın her aşamasında değerli fikirlerinden yararlandığımız ve sistemlerde oluşan sorunları hızlı bir şekilde düzeltmede yardımcı olan Prof. Dr. Cem SÜER'e, deneylerin yapılması ve sonuçların değerlendirilmesinde çok fazla emeği geçen, araştırma görevlisi Kalender ÖZDOĞAN'a, Dilek SİVRİ'ye, Elvan KUNDUZ'a, DEKAM personellerinden İsmail ÖZBOLAT'a ve A. Celil ÜNVER'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Son olarak Yüksek Lisans eğitimime katkısı olan bütün hocalarıma, destek ve güveniyle her zaman yanımda olan, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, çalışmalarım için motivasyon sağlayan, sevgili eşim Tacettin BİLTEKİN'e, sevgili oğluma ve ablam Hülya KAYA' ya sonsuz teşekkür ederim.

KALP MYOSİTLERİNDE DOKSORUBİSİN İLE OLUŞTURULAN HASARIN AZALTILMASINDA ÇİNKONUN ROLÜ

Songül BİLTEKİN

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Haziran 2012

Danışman: Prof. Dr. Nurcan DURSUN

ÖZET

Doksorubisin tümörlerin tedavisinde kullanılan antrasiklin grubu kemotörapotik bir ajandır. Klinikte kullanımında ciddi kardiyotoksik etkilere sahiptir. Doksorubisin hücrelerde reaktif oksijen türlerinin birikimine, çinkonun Metallothioneininden ayrılmasına ve oksidatif strese neden olmaktadır. Doksorubisin kalsinorin aktivitesini artırmakta ve apoptozu tetiklemektedir. Çinko Pirition; Oksidatif stresin azaltılmasında, apoptoz ve iltihabın engellenmesinde etkilidir. Lipofilik yapıya sahiptir ve hücre membranından kolaylıkla geçebilmektedir. DNA ve RNA sentezini katalize etmektedir.

Bu çalışmada; Doksorubisinin kalp myositlerinde oluşturduğu toksisite üzerine Çinko Piritionun iyileştirici etkisinin araştırılması amaçlandı. Deney planında 4 grup oluşturuldu. Kontrol (KONT, serum fizyolojik); Doksorubisin (DOX 10mg/kg hayvan başına 1ml intraperitoneal), Çinko Pirition (Znpyr 10 mg/kg hayvan başına 1ml intragastrik) ve Doksorubisin ile Çinko Piritionun birlikte verildiği (DOX+Znpyr Birinci gün tek doz doksorubisin 10 mg/kg/hayvan başına 1ml i.p. ,yedi gün boyunca 10mg/kg/hayvan başına 1ml i.g çinko Pirition verilen grup). 7 gün uygulanan çinko infüzyonunun bitiminden 24 saat sonra hayvanların vücut ağırlıkları tartıldı. Hayvanlar anestezi edilerek EKO' ları ve EKG' leri çekildi. Kan basıncı kayıtları alındı. CK-MB, LDH, AST ve ALT enzim aktivite ölçümleri için kan örnekleri alındı. Sakrifiye edilen hayvanların kalpleri çıkarıldı ve tartıldı. Doksorubisin belirgin bir şekilde kardiyotoksik etki oluşturmuş olup; Bunlar hemodinamik değişiklikler (EKO 'da azalmış HR ve CO, EF'de azalma, sol ventrikül diyastol sonu çapının artması) EKG değişiklikleri (artmış PR ve R-R intervalleri),biyokimyasal plazma kardiyak hasar belirleyicilerindeki değişiklikler ,SKB, DKB ve OKB'nin düşmesi. Doksorubisinin neden olduğu PR, R-R intervalleri, CK-MB, LDH, AST ve ALT enzim aktivite değerleri, HR, CO ve kan basıncındaki olumsuzluklar Çinko Pirition tarafından normal değerlerine yaklaştırılamamıştır.

Çinko piritionun doksorubisinin kalpte yaptığı hasarı azaltıcı etkisi bulunmamaktadır.

Anahtar kelimeler: Doksorubisin, Çinko Pirition, Kardiyotoksisite, Antioksidan.

THE ROLE OF ZINC IN REDUCING THE DEMAGE INDUCED BY DOXORUBICIN CARDIAC MYOCYTES

Songül BİLTEKİN

Erciyes University, Graduate School of Health Sciences

Department of Physiology

Master Thesis, June 2012

Supervisor: Prof. Dr. Nurcan DURSUN

ABSTRACT

Doxorubicin is a chemotherapeutic agent in anthracycline group for the treatment of tumors. It has serious cardiotoxic effects in clinical use. Doxorubicin accumulation of reactive oxygen species in cells, separation of zinc Metallothioneins and oxidative stress. Doxorubicin increases the activity of calcineurin and triggers apoptosis. Zinc pyrithione is effective in reduction of oxidative stress, effective in preventing apoptosis and inflammation. It has lipophilic structure and can pass easily through cell membrane. It catalyzes the synthesis of DNA and RNA. In this study, it was aimed to investigate the healing effect of zinc pyrithione on heart myocytes toxicity induced by doxorubicin. 4 groups were formed for experimental plan. Control (KONT, saline), doxorubicin (DOX 10 mg/kg intraperitoneally 1 ml per animal), zinc pyrithione (Znpyr 10 mg/kg intragastric 1 ml per animal) and supplied Doxorubicin together with zinc pyrithionein (DOX + Znpyr the first day, a single dose of doxorubicin 10 mg/kg/ 1 ml i.p. per animal for seven days, 10 mg/kg/ per animal in the group of zinc 1 ml i.g.). After 24 hours from end of 7 days zinc infusion, body weight of animals was weighed. Animals were anesthetized and EKO and ECG records were taken. Blood pressure of animals was measured. For CK-MB, LDH, AST and ALT enzymes activities measurements, blood samples were taken. The animals were sacrificed and their hearts were removed and weighed. Doxorubicin has created a significant cardiotoxic effects, these are hemodynamic changes (decreased HR and CO at EKO, a decrease in EF, increase on diameter of left ventricular end-diastolic), ECG changes (increased PR and R-R intervals), changes in biochemical plasma cardiac damage indicators, reduction of SKB, DKB and OKB. PR, R-R intervals, CK-MB, LDH, AST and ALT values, negative effects in HR, CO and blood pressure caused by doxorubicin, were not approximated to the normal value by the of zinc pyrithione. Zinc pyrithione's have no effect on reducing damage to the heart of doxorubicin.

Keywords: Doxorubicin, zinc pyrithione, cardiotoxicity, antioxidant

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ	x
KISALTMALAR	xi
 1.GİRİŞ VE AMAÇ	 1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. ÇİNKO	3
2.1.1. Çinkonun Tarihçesi	4
2.1.2. Çinkonun Emilimi	5
2.1.3. Çinkonun Biyokimyasal Yapısı ve Fonksiyonları	6
2.1.4. Çinkonun önemli işlevleri	9
2.1.5. Çinko Eksikliği	10
2.2. METALLOTİYONİNİN YAPISI VE FONKSİYONLARI	11
2.3. ÇİNKO PİRİTİYONUN ÖZELLİKLERİ	15
2.4. DOKSORUBİSİN	16
2.4.1. Doksorubisin'in Etki Mekanizması	17
2.4.2. Yan Etkileri	18
2.5. KEMOTERAPİK BİR AJAN OLAN DOKSORUBİSİN VE DOKSORUBİSİNE BAĞLI GELİŞEN KARDİYOTOKSİSİTE	19
2.5.1. Patafizyolojisi	20
2.5.2. Oksidatif Stres ve Demir Hipotezi	21
2.5.3. Mitokondriyal Apoptozis ve Nekrozis Yolu	21
2.5.4. Alternatif Hücre Ölümleri	22

Sayfa No

3. GEREÇ VE YÖNTEM.	24
3.1. DENEY HAYVANLARI.....	24
3.2. DENEY GRUPLARI	25
3.3. ARTERİYAL KAN BASINCI ÖLÇÜMÜ.....	25
3.4. EKG KAYDI	26
3.5.EKOKARDİYOĞRAFI	27
3.6. BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN ÖLÇÜMÜ.....	28
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	28
4.BULGULAR	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	34
6.KAYNAKLAR	40
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO, ŞEKİL VE RESİMLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Çinkonun fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	3
Tablo 2.2. Çinko ile ilgili bazı enzimler ve çinkonun rolü	8
Tablo 2.3. ZnPyr' nin fiziksel ve kimyasal özellikleri	16
Tablo 4.1. Deney öncesi, sonrası sıçanların vücut ağırlık ortalamaları.....	30
Tablo 4.2. Sıçanların plazma CK-MB, LDH AST ve ALT Enzim aktiviteleri	30
Tablo 4.3. Sıçanların EKG parametre değerleri.....	31
Tablo 4.4. Sıçanların EKO parametre değerleri.....	32
Tablo 4.5. Sıçanların kan basıncı değerleri.....	33
Şekil 2.1. Reperfüzyonda çinkonun kalbi korumadaki önemli sinyal iletim yolları.....	15
Şekil 2.2. ZnPyr' nin molekül formülü	15
Şekil 2.3. Doksorubisinin Yapısı	17
Şekil 2.4. Doksorubisin- DNA Kompleksi.....	18
Şekil 4.1. Eko değerleri.....	32
Resim 3.1. Femoral arter kateterizasyonu sonrası kan basıncı kaydı alınması	26
Resim 3.2. Sıçanların EKG ve Kan basıncı kaydı... ..	27
Resim 3.3. M-mode ekokardiyografi cihazı	28

KISALTMALAR

NOS	: Nitrik oksit sentaz
Zn	: Çinko
ZnPyr	: Çinko Piriton
CO ₂	: Karbondioksit
HCO ₃	: Bikarbonat
DNA	: Deoksiribonükleikasit
RNA	: Ribonükleikasit
O ₂	: Süperoksit radikali
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
MT	: Metallathionein (Metallotiyonin)
MRE	: Metal response element
GRE	: Glucocorticoid response element
ARE	: Antioxidant response element
STAT	: Signal transducers and activasers of transcription
MTF	: Metal tranakripsiyon faktör
MTI	: Message Type Indicator
UV	: Ultraviyole
Cu	: Bakır
Cd	: Kadmiyum
Hg	: Civa
İp	: İntraperitoneal
mPTP	: Mitochondrial Permeabilty Transation Pore
İg	: İntragastrik
Dox	: Doksorubisin
KONT	: Kontrol
EKG	: Elektrokardiyografi
EKO	: Ekokardiyografi
CK-MB	: Kreatinin kinaz-MB
AST	: Aspartat aminotransferaz

ALT	: Alanin aminotransferaz
LDH	: Laktat dehidrogenaz
CO	: Kardiyak output
HR	: Kalp hızı
EF	: Ejeksiyon fraksiyonu
FS	: Fraksiyonel kısalma
IVSD	: İnterventriküler septum diyastolik çapı
LVIDd	: Sol ventrikül diyastol sonu çapı
ATP	: Adenozintrifosfat
Ca-ATP az	: Kalsiyum ATP az
ROS	: Reaktif oksijen partikülleri
ERK Kinase	: Extracellular signal-regulated kinases
mTOR	: Target of rapamycin
GSK3 β	:Glycogen Synthase
NF-kB	: Nuclear Kinase-3Factor kappa B
Erb β 2	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
PI3k/Akt	: Fosfoinosit 3 kinase aktivasyonu
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
SD	: Standart Sapma

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklar gelişmiş toplumlarda majör hastalık ve ölüm sebebidirler. Kardiyovasküler hastalık oluşumunda etkin neden ise kardiyak ve endotelial oksidatif hasardır. Doksorubisin, medikal onkolojide kullanılan antrasiklin grubu bir kemoteropötik ajandır. Geniş spektrumlu bir ajan olmasından dolayı, gastrointestinal tümör, sarkomlar, lenfomalar, göğüs ve yumurtalık kanseri gibi tümörler ve lösemi gibi kan kanserlerinde halen kullanılan bir ilaçtır. Bununla birlikte klinikteki kullanımında ciddi kardiyotoksik etkilere sahiptir. Kemoterapiye bağlı kardiyotoksisite ilk kez 1960'lı yıllarda Doksorubisin tedavisi alan çocuklarda kalp yetmezliği geliştiğinin fark edilmesiyle dikkat çekmiştir. Yan etkisi nedeni ile insanlarda tedavi amaçlı kullanımı sınırlı kalmaktadır. Fakat kalpte oluşturduğu iskemi, apoptozis ve buna bağlı gelişen kardiyomiyopati özelliği hayvanlarla yapılan oksidatif stres çalışmalarında metod olarak kullanılmaktadır. Metabolizma için gerekli esansiyel bir iz element olan çinkonun insan sağlığı bakımından öneminin anlaşılması son yıllarda olmuştur. Çinko 300'den fazla enzimin biyolojik fonksiyonları için gereklidir. Çinko DNA sentezinde, normal büyümede, beyin gelişiminde, üremede, fetal gelişimde, membran stabilitesinde kemik formasyonunda ve yara iyileşmesinde görevli enzimlerin katalizlenmesinde gereklidir. Çinkonun antioksidan etkisini; Hücre membran yapısını koruyarak, süperoksit dismutaz (SOD) enziminin yapısına katılarak, metalloproteinin doku konsantrasyonlarını

artırarak, tiol grubu içeren proteinlerin oksidasyonunu engelleyerek gerçekleştirdiği bilinmektedir. Çinko kalbi koruyucu etkiye sahiptir ve apoptozisi önlemektedir. Kardiyak hücrelerin çinko ile tedavi edilmesinin reperfüzyon injurisine karşı kalbi koruyucu olduğu Karagulova ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada izole rat kalplerini çinko piriton ile reperfüze ederek ortaya koymuşlardır.

Bu tezin yapılma amacı; Doksorubisinin yaptığı kardiyotoksik etkiyi doksorubisin ile birlikte verilen çinko piritonun azalttığını göstermektir. Çinko piritonun iyileştirici etkisi EKG, EKO ve biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi ile gösterilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ÇİNKO

Çinko organizmada demirden sonra en çok bulunan iz elementlerdendir (1). Hücre sinyalizasyon yolları ve transkripsiyon faktörlerinin içerdiği binlerce enzimin esansiyel ,katalitik ya da yapısal bileşeni olan çinko bu özelliklerinden dolayı önemli bir besindir (2). Çinkonun fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2.1’de gösterilmektedir.

Tablo 2.1. Çinkonun fiziksel ve kimyasal özellikleri

Sembol:	Zn
Atom numarası:	30
Atom ağırlığı:	65,409(4)g/mol
Erime noktası:	692,68°K, 419,53°C
Isı iletkenliği:	116W/mK

Çinko; Mavimsi, açık gri renkte, kırılğan bir metaldir. Elementlerin periyodik tablosunda geçiş elementleri grubunda yer alır. Çinko, yerkabuğunda en çok bulunan elementler arasında 23. sıradadır. Düşük kaynama sıcaklığı dikkat çekicidir. Dökülmüş halde sert ve kırılğandır. 120°C'de şekillendirilebilir. Elektrokimyasal potansiyel dizisinde demirden daha negatif değerdedir. Böylece çinko anot olarak katodik korozyon korumada önemli bir kullanım bulur. Galvanizleme bu tür uygulamalardan biridir. Çinko, bileşiklerinde (+2) değerlikli olarak bulunur. Oluşturduğu bileşiklerde kovalent bağ yapar. Çinko, özellikle toz halde çok etkili bir redükleyicidir (3-4, 5-6)

2.1.1. Çinkonun Tarihçesi

Çinko, antik çağlardan beri bilinen ancak üretimi ve kullanılması tam anlaşılamadığından diğer metallerle karıştırılan bir elementtir. Çinkonun ilk tanımlanması 1509 yılında Erasmus Ebener tarafından yapılmıştır. 1869'da Raulin Aspergillus niger adlı siyah ekmek mantarında, çinkonun büyüme için gerekli bir element olduğunu göstermiştir (7-3, 4-5, 8-9, 10). Çinkonun sıçanlarda normal büyüme ve sağlık için gerekli olduğu 1934 yılında kesin olarak kanıtlanmıştır (11). Biyolojik fonksiyonu ise 1940 yılında karbonik anhidrazın katalitik aktivitesi için çinkoya gereksinim olduğunun Keilin ve Mann tarafından saptanması ile ortaya çıkarılmıştır (7, 3, 12). Prasad'ın 1961 yılında sunduğu vakada; 1958 yılında Dr. Halsted ile birlikte gördüğü cücelik, hipogonadizm, hepatosplenomegali, toprak yeme, kuru cilt ve demir eksikliği anemisi ile gelen 21 yaşında İran'lı bir hastada çinko eksikliği tanımlanmıştır (7, 9, 12). 1963 yılında Mısır'da benzer bulguları taşıyan çocuklarda ilk defa kanda çinko ölçümleri yapılarak bu elementin eksik olduğu saptanmış ve sonrasında bu klinik tablo 'Prasad Sendromu' olarak literatüre geçmiştir. Aslında toprak yiyen çocuklarda, anemi, gelişme geriliği, dalak- karaciğer büyüklüğünün meydana geldiği 1942 yılında Dr. Memduh Tayanç tarafından gösterilmiş ve yayınlanmıştır (9, 12). 1973'de Barnes ve Moynahan, akrodermatitis enteropatikanın çinko desteğiyle düzeldiğini bildirmişlerdir (7, 9, 13).

1974'de Amerika'daki Ulusal Bilimsel Akademi Gıda ve Beslenme konseyi tarafından çinkonun esansiyel bir besin maddesi olduğu açıklanmış ve daha sonrada parenteral beslenme sıvılarına katılması zorunlu kılınmıştır (7-13, 9-12, 14). İnsan vücudunda yaklaşık 2-3 gr çinko mevcut olup bunun da önemli bir miktarı kemik, kas, pankreas, testis, böbrek, karaciğer, deri, tırnak, kan ve saçlarda bulunmaktadır (15, 16, 17). Tüm vücut çinkosunun % 85'i iskelet kasında ve kemikte, %11'i deri ve karaciğerde, geriye kalan %2-3'lük oranı da diğer dokularda bulunur. Labil havuz, plazma ve karaciğerdedir (18). Plazmada ortalama 70-120 µg/dl çinko bulunur ve bu miktarın 60 µg/dl'si plazmada, 50 µg/dl 'si lenfositlerde 42 µg/dl 'si ise granülositlerdedir. İntrasellüler çinkonun yaklaşık %40 'ı çekirdekte, %50'si ise stoplazmadadır (1).

Organizmada dört adet çinko taşıyıcısı tanımlanmıştır (Zn T1-4). T-1, çinkonun emilmesinde önemli rol alırken, T-(2-4) çinkonun değişik dokulara alınmasında ve dışarı atılmasında rol oynar. T-2 bağırsak, böbrek ve testislerde bulunurken T-3 sinir dokusunda, T-4 ise daha çok beyin ve meme dokusunda bulunur. Zn T-1 miktarı diyetle alınan çinko ile ayarlanır (19, 20). Çinko elementinin ilginç bir özelliği, hiçbir organın gerçek depolama fonksiyonunun olmamasıdır. Kandaki çinko miktarı, toplam vücut çinkosunun yüzde biri kadardır. Çinko kinetiği dokuların ihtiyacına göre değişir. Dolayısıyla plazmada çinko eksikliğinin saptanması kolay değildir (21). Gerçek çinko eksikliği ise uzun süreli yetersiz alımlarda ortaya çıkar, fakat kas, kemik ve parankimal dokulardan salınan çinko ile kompanse edileceğinden tanınması zor olabilir. İzotop tekniği tanıda en iyi yöntemdir (22, 23).

2.1.2. Çinkonun Emilimi

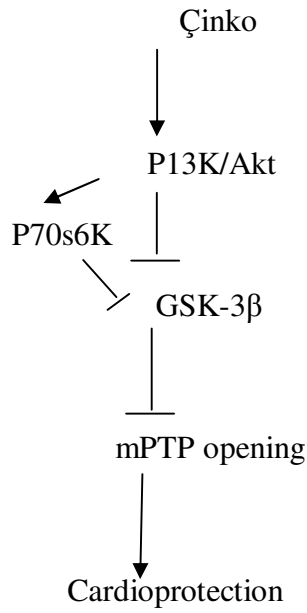
Çeşitli yiyeceklerde bol miktarda bulunur. Kırmızı et, kümes hayvanları, tam tahıllı gevrekler, fasulye, fındık ve bazı deniz ürünleri yüksek konsantrasyonda çinko içerir (24). Çinkonun emilimi bağırsaklardan olmaktadır. Jejunum, ileum ve duodenumdan çinko emilimi gerçekleşir. Alınan çinkonun %15-40'ı duodenumdan emilmektedir (16, 25). Çinko emilimi ortamda bulunan glikoz, pikolinik asit, prostoglandin E₂, sitrik asit, laktaz, kazein ile kolaylaşmaktadır. Öte yandan ise tahıl ve baklagillerde çok bulunan fitik asit, fiber (lif), fosfat, bakır, demir, selenyum, toprak ve kil ile emilimin azaldığı belirtilmiştir (16, 26). Emilim hem pasif difüzyonla hem de bilinmeyen bir taşıyıcı aracılığıyla aktif transportla olur (17, 25). Çinko bağırsak duvarından emilip hücrelere girdikten sonra bu hücreler çinkoyu kendi metabolizmalarında kullanabilir ya da çinko

kana geçerek karaciğer ve pankreas başta olmak üzere vücudun diğer bölümlerine gönderilir (26). Emilen çinko, bağırsak hücrelerinde bulunan spesifik bir bağlayıcı protein ile hücrede tutulur. Bu proteinin işleyişi demiri bağlayan proteinlere benzer ve metabolik ihtiyaca göre az veya çok miktarda emilim gerçekleşmesi sağlanır. Vücut ihtiyaca göre çinko düzeyini ayarlar. Bu iki şekilde yapılır: Birincisinde çinkonun organizmaya girmesi engellenir, ikincisinde ise çinko bağırsak hücrelerinde tutulur (17, 26). Çinkonun kanda taşınması albümin ve transferrin ile gerçekleşir, dolayısıyla plazma albümin seviyesinin düşmesine neden olan durumlar çinko seviyesinin de azalmasına neden olmaktadır. Çinkoya bağırsak mukoza hücreleri iki yönlü geçiş sağlar. Bağırsaktan kana geçiş demirin geçişine benzerken, tekrar bağırsağa geçiş demirden farklıdır. Emilen çinkonun bir kısmı pankreasta bazı sindirim enzimlerinin yapımında kullanılır ve bu enzimler öğün zamanlarında bağırsak lümenine bırakılır. Yemek sırasında iki farklı kaynaktan çinko emilimi olur. İlki gıdalardan elde edilen çinko iken ikinci kaynak ise çinkodan zengin olan pankreatik salgılardır. Çinkonun bağırsaklardan pankreasa ve oradan da tekrar bağırsağa geçmesine enterohepatik sirkülasyon denir (26).Başlıca atılım yolu dışkı olan çinko, daha az miktarda idrarla da atılmaktadır. Dışkıdaki çinko miktarı çinko alımındaki artışa bağlı olarak artarken, idrarla atılan çinko miktarında değişiklik olmaz(27).

2.1.3. Çinkonun Biyokimyasal Yapısı ve Fonksiyonları

Çinko çeşitli hücresel fonksiyonlara sahip yapısal, katalitik, enzimatik ve düzenleyici işlevleri olan bir iz elementidir. Çinko kardiyoprotektif etkiye sahiptir ve apoptozise giden yolları baskılamaktadır. Özellikle kaspas 3 aktivitesini inhibe eder ve böylece kaspas 3 bağımlı apoptozisi önler (28) .Hem kuvvetli bir elektron alıcısı hem de oksidan durumuna bağlı olarak yüksek affiniteli bir elektron vericisi olan çinkonun önemli fonksiyonları vardır (29). Bunlar arasında bazı protein ve makro moleküllerdeki yapısal parçaların sarmal biçimlerini sabitlemek (30, 31), genetik ekspresyona etki etmek (32, 33), hücre bölünmesi ve büyümeyi sağlamak sayılabilir (30) .Böbrek hücreleri kültüründe yapılan bir çalışmada gösterilmiştir ki, DNA sentezi için hücre siklusunun G1 ikinci fazında çinkoya ihtiyaç vardır. DNA polimeraz için çinko esansiyeldir (31). RNA sentezinde ise, RNA içerisindeki dört ribonükleosid topluluğunu katalize etmek için RNA polimerazın çinkoya ihtiyacı vardır. Bu elementin eksikliğinde RNA içeriği değişmez fakat mRNA sentezinin kompozisyonu değişir. Çinko gen

expresyonunda rol oynar ve hücre bölünmesi, farklılaşması, böbrekler ve kalp dahil pek çok organ gelişmesinde gereklidir. 300'ün üzerinde enzimin çinko içerdiği gösterilmiştir (24). İnsan metabolizmasında çinkonun iki farklı koordinasyon görevi mevcuttur. Bunlardan birincisi metalloproteinlerin yapısına katılmak, ikincisi ise enzimlerin yapısına katılarak enzim aktivitelerinin katalizasyonu veya koaktivasyonunu sağlamaktır (34, 35).



Şekil 2.1. Reperfüzyonda çinkonun kalbi korumadaki önemli sinyal iletim yolları (73)

Çinko iki mekanizma ile antioksidan görev görür: Bunlardan ilki çinkonun sülfhidril gruplarını oksidasyona karşı koruması, ikincisi ise transisyon metaller tarafından reaktif oksijen oluşumunu engellemesidir (36). Otuz yıl öncesine kadar aktivite gösterebilmesi için çinkoya ihtiyacı olduğu bilinen yalnız 3 enzim (karbonikanhidraz, karboksipeptidaz ve alkol dehidrogenaz) mevcuttu. Gümüzde ise 300'den fazla enzimin düzenli çalışabilmesi için çinkoya ihtiyacı olduğu anlaşılmıştır. Tablo 2.2'de çinko ile ilgili bazı enzimler ve çinkonun rolü gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Çinko ile ilgili bazı enzimler ve çinkonun rolü

Enzim ismi	Görev Aldığı Reaksiyon
Karbonik anhidraz	CO ₂ ve HCO ₃ metabolizması
Timidin kinaz	Nükleik asit ve protein sentezi
DNA polimeraz	Nükleik asit ve protein sentezi
RNA polimeraz	Nükleik asit ve protein sentezi
Delta amino levunilikasit dehidrataz	Porfirin sentezi
Glutamat dehidrojenaz	Amino asit deaminasyonu ve üre siklusu
Ornitin transkarbamilaz	Amino asit deaminasyonu ve üre siklusu
Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz	Glikoliz ve glukoneogenez
Laktat dehidrojenaz	Glikoliz
Alkol ve retinol dehidrojenaz	Alkol-retinaldehit dönüşümü
Karboksipeptidaz	Protein sindirimi, folat absorpsiyonu
Aminopeptidaz	Protein sindirimi, folat absorpsiyonu
Süperoksit dismutaz	Süperoksitlerin O ₂ ve H ₂ O ₂ 'e dönüşümü

Çinko, enzimin ya hayati bir parçası, ya katalitik faktörü ya da koaktif faktörüdür. En iyi bilinen metalloenzim, yüksek çinko içeriğine sahip olan karbonik anhidrazdır. İşlevi eritrosit ve böbrekte karbondioksidin, karbonik aside hidratazasyonunu sağlamaktadır (37). Nitrik oksit sentaz (NOS) ailesinden olan metalloenzimler kan basıncının düzenlenmesini sağlar. Kan basıncını düzenlerken hem kardiyovasküler hem de renal fonksiyonları etkiler. İşte çinko bu enzim grubunda da bir kofaktördür. NOS ailesi üç izoformdan oluşur. Nöral, endotelial ve indüklenebilir. Pekçok dokunun vasküler, düz kaslar, kalp ve böbreğin endoteliumunda bulunduğu ifade edilmiştir. NOS'un kan akışının düzenlenmesi, arteryal kan basıncı düzenlenmesi, glomerüler filtrasyon hızı, sodyum ve suyun renal atılımının düzenlenmesi, miyokardiyal kontraktilitede ve memelilerin kalp atımında önemli bir faktör olduğu iyi bilinir. Bu mikro besin ayrıca oksidatif stresin azaltılmasında, apoptozis ve iltihabın önlenmesinde de önemli bir etkiye sahiptir (24).

Çinko serbest radikallere bağlı hasarın boyutunu sınırlar ve böylece de bazı sinyal yollarını baskılar. Çinko doğrudan doğruya belli apoptotik düzenleyiciler olan kaspaz 3,6,9 ve kalsiyum-mağnezyum bağımlı endonükleazı inhibe etmektedir (24). Bir başka örnek olarak verilebilecek alkol dehidrogenaz ise alkolü aldehit ve ketonlara dehidrate eder. Çinkonun bir başka özelliği de direkt enzim katalizine katılmasıdır. Fosfataz, peptidaz veya kinazlar gibi hidrolaz enzimlerinin birçoğu katalitik aktiviteleri için özellikle çinko başta olmak üzere eser elementlerin varlığına ihtiyaç duyarlar. Çinko eksikliğinde bu enzimler inaktif duruma geçerler.

2.1.4. Çinkonun önemli işlevleri

Çinkonun vücuttaki önemli işlevleri şunlardır:

- Çinko, yara iyileşmesinde rol oynar.
- Çinko, karbonhidrat metabolizması için önemli bir hormon olan insülin molekülünün bir parçasıdır.
- Çinko, tat duyusunda temel rol oynayan tükrük yapısına katılır.
- Çinko, beyin ve koroner damarlarda genişlemeler sağlayarak iskemik durumları önler.
- RNA ve DNA oluşumu ve proteinlerin enerjiye dönüştürülmesi için çok önemlidir. Özellikle kalp, beyin ve üreme sistemi çinkoya ihtiyaç duyar.
- Zihinsel fonksiyonlarda, vücudun kendi kendini iyileştirmesi ve yenilemesi gereken durumlarda, kanın stabilizasyonunda, vücuttaki alkali dengesinin korunmasında önemli roller üstlenir.
- Prostat bezi, göz, dalak ve kas dokularına olumlu etkisi vardır.
- Enerji üretiminde ve fosforun kemiğe tutunmasında etkilidir. Kemik ve dişlerin yapısında rol alır.
- Bağışıklık sistemine oldukça büyük destek verir. Kış aylarında soğuk algınlığı ve gribe karşı oldukça etkilidir.
- Bakterilere ve virüslere karşı direnci arttırır, dış enfeksiyon etkenlerine karşı antikor üretimine katkıda bulunur. Aşıların etkilerini göstermesinde yardımcıdır.

- Alkol dehidrogenaz enziminin yapısına girerek içki ile alınan ve ayrıca vücuttaki kimyasal olaylarla oluşan alkolü etkisizleştirir.
- Deri sağlığına yararlıdır. Deri hücrelerinin çoğalmasına, yağ bezlerinin çalışmasına ve kollajen dokuya etki eder. Böylelikle hem cildin sağlığını korunmasına hem de yanık gibi nedenlerle oluşan hasarların tamir edilmesine yardımcı olur. Hücre yenilenmesinde payı olduğu için cildi güzelleştirerek el tırnaklarını sertleştirir, nörodermatiti ve uçukları hafifletir. Ayrıca saç dökülmesi üzerinde olumlu etkileri vardır.
- A vitamininin etkisiyle mikropları öldürür ve vücuttaki aknelerin kaybolmasını sağlar.
- Hücre büyüme ve bölünmesi, cinsel olgunlaşma ve üreme, karanlığa adaptasyon ve gece görme, tat ve olasılıkla koku alma duyusunun tamlığı gibi fizyolojik fonksiyonların gerçekleşebilmesi için vücudumuz çinkoya bağımlıdır.
- Antioksidan özelliği ile hem hücreleri serbest radikallerden korur, hem de hücre zarı ve fonksiyonlarına yardım eder.
- Çocukların büyüme ve gelişmelerinin desteklenmesinde, akut alt solunum yolu enfeksiyonlarının önlenmesinde, diyare süresinin kısaltılmasında, diyare prevalansının ve pnömoni prevalansının azaltılmasında kullanılır (12, 38-39, 40-41, 42-43)

2.1.5. Çinko Eksikliği

Dünya çapında marjinal veya orta derecede görülen çinko eksikliğinde çinko alımının yetersiz olması yada diyetteki çinko biyoyararlanımının az olduğu düşünülmektedir (24).

Gebe kadınlarda, bebeklerde, çocuklarda ve yaşlı insanlarda çinko eksikliği önemli bir durumdur. Çinko eksikliği az rastlanan bir durumdur, vücuttaki çinko kaybının arttığı dönemlerde ya da vücudun çinko gereksiniminin arttığı zamanlarda görülebilir. Çinko yetersizliği eğer ciddi bir boyuta ulaşırsa tehlikeli ve ciddi sağlık sorunlarına neden olabilir. Büyümenin gecikmesinde, sinirlerin duyarlılığında (karanlığa adaptasyonda ve tat algılamada) anormalliklere, yaraların iyileşmesinde gecikmelere, bağışıklık sisteminde anormalliklere, fetal gelişme geriliklerine neden olmaktadır (7, 39, 44). Bu

rahatsızlıklar çinkonun tekrar eski seviyesine gelmesiyle düzelir. Fizyolojik olarak çinko serum seviyesi gebelik sırasında hemodilüsyon ve albümin seviyesinin azalması nedeni ile düşer. Dahası intestinal emilim gebelik sırasında artmaz. Fetal ve plasental dokular ek çinkoya ihtiyaç duyar (24). Hamilelerde çinko eksikliği hamilelik döneminin uzaması, anormal tatlar algılanması, sağlıklı doğum yapılması, zayıf kanamalar ve embriyon üzerindeki risklerin artması gibi sorunlara yol açabilmektedir. (7-13, 39-45). Arjantin de 2004-2005 yılları arasında anne ve bebek sağlığı ile ilgili yapılan ulusal bir ankette bebeklerin % 11.6 'sının (6-23 günlük), çocukların % 4.2 'sinin (2-5yaş) ,kadınların % 33.5 'inin (10-33 yaş) ve gebe kadınların %52' sinin çinko bakımından yetersiz beslendiği gösterilmiştir (24).Çinko kalbi koruyucu etkiye sahiptir ve apoptozisi önlemektedir. Damarları ateroskleroza karşı korumaktadır. Eksikliğinde kalp fonksiyonları etkilenebilir.

2.2. METALLOTİYONİNİN YAPISI VE FONKSİYONLARI

Metallotiyonin (MT) sülfidrilden zengin, düşük molekül ağırlıklı proteindir. Bakteri, mantar, bitki ve tüm ökoryotik hücrelerde bulunur (46). Çinko bağlayıcı protein olan metallotiyonin miyokardiyal apoptozis ve kalp hipertrofisini azaltır.61 aminoasitten ve 20 sistein artıklarından oluşur. Fakat aromatik aminoasit, histidin ve lösin içermez. metallotiyoninin güçlü antoksidan fonksiyonu in vitro ve in vivo çalışmalarda ortaya konulmuştur. Son zamanlardaki çalışmalar metallotiyoninin antioksidan etkisinin redoks döngüsü ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (28). Timulin, steroid reseptörleri ve regülasyon proteinleri gibi çinko içeren metalloproteinler; karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasının bir bölümünde ve nükleik asitlerin sentez ve katabolizmasında yer alırlar (47, 48). Çinko, çift sarmal DNA'nın yüksek afiniteli ve spesifik bağlarını stabilize eder. Çinkonun yapısında bulunduğu metalloproteinlerin bir görevi de ağır metalleri detoksifiye ederek hücreleri koruması, membran stabilizasyonunu sağlaması ve radikal iyonları dengelemesidir (49, 50).

Metallotiyonin yapısını ve regülasyonunu anlamaya yönelik çalışmalar, daha çok fare ve insan genlerinden elde edilen bilgiler ışığında yürütülmektedir. Metallotiyonin dokularda genellikle çinko ile kompleks halde bulunur. Memelilerde MT1'den MT4'e kadar dört metallotiyonin izoformu bulunduğu bilinmektedir. Fare metallotiyonin gen ailesi 8. kromozom üzerinde lokalize olmuş dört gen (MT1, MT2, MT3, MT4) içermesine rağmen, insanlar ve primatlarda metallotiyoninler 16. kromozoma lokalize

olmuş en az 15 metallothionein geni içerir. Bunlardan birer tanesi MT2, MT3, MT4 geni olmasına rağmen en az 13 tane MT1 geni vardır. Memelilerde en çok üretilen metallothionein geni MT1 ve MT2'dir. Bunlar metaller, ilaçlar, inflamasyon ajanların uyarısı ile karaciğer, pankreas, ince barsak ve böbrekte bol miktarda üretilmektedir (48-51,52-53). İnsanda MT1 ve MT2 geni total MT ekspresyonunun %50'sini oluşturan ve en çok eksprese edilen metallothionein genleridir ve tüm dokularda mevcuttur. Metallothionein olarak adlandırılan genellikle MT1 ve MT2'dir. Mide ve pankreasta MT1 ve MT2 özellikle çinko homeostazından sorumludur. MT3 özellikle beyinde üretilir ve hücre proliferasyonunu baskıladığı bilinir. MT4 genellikle yassı epitelium hücrelerinde eksprese edilir, dil ve deri gibi dokularda bulunur. MT4 orijinal keşfinin yanı sıra pek bilindik bir metallothionein izoformu değildir. MT1 ve MT2 transkripsiyon aşamasında gözlenmiş ve tanımlanmıştır. Metaller, glikokortikoidler, sitokinler, kimyasal ve fiziksel stres ortamları bu genlerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Fakat MT3 ve MT4 bu uyaranlara cevap vermemektedir. Bununla beraber plasentada bu dört izoformun da eksprese edildiği saptanmıştır (48-51, 52-54, 55-56).

Metallothionein ekspresyonu temel olarak transkripsiyon aşamasında kontrol edilir. Metallothionein geninin promotor bölgesi, farklı ajanlara cevap veren bölümlere sahiptir. Bunlar metal transkripsiyon faktörlerinin etkilediği MRE, glikokortikoidlere cevap veren GRE, oksidatif stres ürünleri ile aktive olan ARE ve sitokin sinyalleri ile aktive olan STAT promotor bölgeleridir. Dolayısıyla çinko, glikokortikoidler, reaktif oksijen molekülleri ve sitokinler metallothionein ekspresyonunu başlatıcı ajanlardır. Fakat bazı tümör hücrelerinin metilasyonu metallothionein ekspresyonunu inhibe etmektedir. Metallothioneinin metallerle yüksek afinitesinden dolayı transkripsiyonunu aktive eden mekanizmalardan en çok MRE üzerinde çalışılmıştır. Yapılan bu çalışmalar ile metal bağımlı transkripsiyon faktörlerinin (MTF-1) bu bölgeye bağlandığı gösterilmiştir. MTF-1 aracılı metallothionein ekspresyonu için metal zorunludur. Çinko yokluğunda MTF-1, metallothionein transkripsiyon inhibitörü (MTI) ile kompleks halde olup aktif değildir. Diyetle alınan çinko arttığında MTF-1, MTI'dan ayrılır. MTF-1 aktifleşerek, metallothionein gen promotor bölgesindeki MRE bölümüne bağlanarak metallothionein ekspresyonunu başlatır. Yeni sentezlenen ve metal bağılı olmayan metallothionein (Apo-MT)'lere çinkoların bağlanması MTF-1 ile MTI kompleksini yeniden oluşturarak metallothionein sentezi durdurulur. Yapılan invitro çalışmalar stresin MT1 ve MT2'den çinko serbestleşmesini sağladığını ve bunun da MTF-1'in aktivitesini ayarlamaya

yardımcı olduğunu göstermiştir. Ortamda artan ağır metallerin metallothioneine bağlanması veya oksidatif stres sonucunda metallothioneinden çinko salınımının MTF-1'i aktive etmesi ile metallothionein sentezinin arttığı belirtilmektedir (51-52, 57-58, 59).

MTF-1'den yoksun mutant farelerde MT1 ve MT2 genlerinin transkript edilememesinin yanında, γ -glutamilsistein sentezinin transkripsiyonu da önemli ölçüde azalır. Bu bulgu MTF-1'in glutatyon sentezi içinde önemli bir enzim olduğunu gösterir. MTF-1'den yoksun mutant fare embriyolarının gebeliğin 14. gününde ölmeleri, MTF-1'in yaşam için mutlak gerekli olduğunu gösterir (52).

Fiziksel travma ve mikrobiyal enfeksiyon gibi çeşitli stres durumları hayvanlarda metallothionein sentezini artırır ve buna bağlı metallothionein gen ekspresyonu interleukin-1 aracılığıyla gerçekleşir. Non-steroidal inflamasyon ilaçları da karaciğerde metallothionein seviyesini artırır ve dokudaki metallothionein dağılımını düzenler. Ayrıca metallothioneinin insan derisini UV radyasyona karşı koruduğu gözlemlenmiştir(54, 59). Metallothioneinin metal içeriği üretildiği doku, yaş ve gelişim safhasına göre değişmektedir (55).

Metallothioneinlerden özellikle MT1 ve MT2 belirli bir düzen içinde koordine edilir ve çeşitli patolojik koşullar tarafından hızlıca artırıldığı belirtilmektedir (61). Dokularda Zn, Cu, Cd, Hg gibi esansiyel ya da toksik elementlerin artması da MT1 ve MT2 transkripsiyon faktörlerinin uyarılmasını sağlar. Çinko taşıyıcılarının aktivitesinin intrasellüler çinko havuzunun regülasyonuna bağlı olarak değişimi metallothionein dönüşüm hızını etkilemektedir. (52, 59).

Sentezlenen metallothionein proteininin yıkımı regülasyonu açısından önemlidir. Sentezlenen metallothioneinin yarı ömrü saatlerle ifade edilmektedir ve metallothionein genini uyaran faktöre göre büyük farklar göstermektedir. Çinko bağlanmış metallothionein (Zn-MT)'in yarı ömrü 18-20 saat, Cd bağlanmış metallothionein (Cd-MT)'in yarı ömrü ise 3 gündür. Yetişkin sıçanlarda metallothioneinin yarı ömrü 4 saattir, yeni doğanlarda ise bu süre 49 saate kadar çıkabilmektedir. Metallothioneinin yıkımı metal içeriği ve canlının yaşına göre farklılık göstermektedir (52, 59, 62).

Fetal gelişim boyunca dokulardaki MT1 ve MT2 konsantrasyonları büyük değişimler gösterir. MT1 ve MT2 sıçan karaciğerinde en erken gebeliğin 18. gününde belirlenebilir ve doğumda maksimum konsantrasyona erişir. Yeni doğan sıçan karaciğerindeki metallothionein konsantrasyonu yetiştikine göre 20 kat daha fazladır. Doğumda erişilen bu

yüksek metallotiyonin konsantrasyonu doğumdan sonra iki hafta devam eder, sonrasında hızla düşerek 35 günde yetişkin seviyesine iner. Sıçanlara benzer şekilde yeni doğan farelerde de böbrek, dalak, kalp, akciğer, pankreas ve mide metallotiyonin değerleri yetişkinlerden 3-10 kat fazladır ve 3-4 hafta sonra yetişkin düzeyine iner. Çalışılan tüm dokularda fetüs ve yeni doğanlarda metallotiyonin konsantrasyonu yüksek bulunmasına rağmen, sadece beyin metallotiyonin konsantrasyonu yeni doğanda yetişkine göre %50 azdır, doğumdan sonra yükselir ancak 21. günde yetişkin seviyesine erişir (52, 63).

Metallotiyoninin hücresel lokalizasyonunun bilinmesi fizyolojik fonksiyonlarının aydınlatılması açısından önemlidir. Metallotiyonin genellikle sitoplazmada bulunur fakat hücre diferansiyasyonu ve poliferasyonunun özellikle hücre döngüsü aşamaları sırasında metallotiyonin çekirdeğe taşınır (64). Buna bağlı olarak fetüs ve yeni doğanda metallotiyoninin daha çok çekirdekte olduğu, oysa yetişkin hücrelerde daha çok sitoplazmada bulunduğu gösterilmiştir. Bu da fetüs ve yeni doğanda, metallotiyoninin intrasellüler yıkım sistemlerinden uzak kalarak yüksek konsantrasyonda bulunduğunu gösterir. Sitoplazmada ve çekirdekte bulunan metallotiyoninlerin fonksiyonlarının araştırılması amacıyla metallotiyonin-null hücrelerde yapılan çalışmada, sitoplazmada bulunan metallotiyonin oksidatif hasarı ve ağır metal toksisitesini baskılayıcı etki gösterirken, çekirdekte bulunan metallotiyoninin böyle bir etki sağlamadığı tespit edilmiştir. Çekirdekte bulunan metallotiyoninin ise ultraviyole ışınlar ve hidrojen peroksit'e bağlı olarak oluşan DNA hasarında koruyucu etki sağladığı saptanmıştır (52-54, 55-59, 65-66).

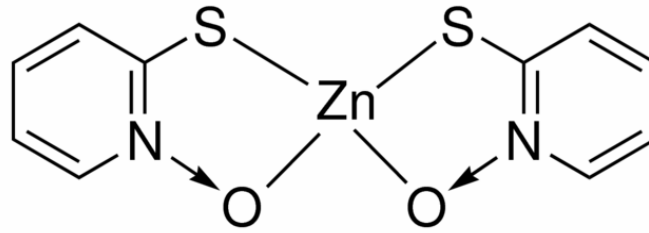
MT1 ve MT2 regülasyonu lizozomal ve lizozomal olmayan çeşitli hücresel yıkım sistemleriyle kontrol edilir. Metallotiyonin proteolizinin lizozomda daha fazla olduğu belirtilmektedir (67).

Ali et al.2002; Kimura et al.2000; Satoh et al.1988 tarafından yapılan bir çalışmada metallotiyonin ile çinko, bizmut ve bakır gibi ağır metallerin myokard hücrelerini doksorubisinin toksisitesinden koruduğu kanıtlanmıştır (46). Metallotiyoninin doksorubisinin, paraquat, platinum ve iyonizan radyasyona bağlı oksidatif stres hasarlarını hafiflettiği in vivo çalışmalarda gösterilmiştir. Fakat mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir.

Yi Shuai et al. Tarafından 2007 de yapılan bir çalışmada ise metallotiyoninin doğrudan doğruya reaktif oksijen türlerini ki bu toksik radikaller süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri olup bunları yok ettiğini göstermişlerdir. Serbest hücre sistemleri metallotiyoninin peroksinitritle doğrudan doğruya etkileşime girip onun lipid ve DNA'ya olan zararını azaltmaktadır. Dahası metallotiyonin Parkinson ve Diabetik kardiyomyopatide peroksinitrit formasyonlarını inhibe ederek koruyucu rol üstlenmektedir.(46)

2.3. ÇİNKO PİRİTIONUN ÖZELLİKLERİ

Çinko piriton bir çinko metal kompleksidir. Bu renksiz katı, mantar önleyici ve antibakteriyel ajan olarak kullanılmaktadır. Birçok ismi olan bu metal kompleksi mono anyonlar olan piriton ligantları, oksijen ve kükürt merkezler aracılığıyla Zn^{2+} ile şelatlıdır. Kristal halde iken çinko piriton, simetri merkezli (centrosymmetric) bir dimer olarak bulunmaktadır. Her bir çinkoya, iki kükürt ve üç oksijen bağlıdır. Fakat çözeltide dimerler, bir Zn-O bağının ayrılmasıyla çözülürler. Oda sıcaklığında ($25^{\circ}C$) katı halde bulunur (68). **Şekil 2.2'**de ZnPyr'nin molekül formülü gösterilmiştir.



Şekil 2.2. ZnPyr'nin molekül formülü (69).

Çinko piriton yüksek lipofilik yapıya sahiptir ve hücre membranından kolayca geçebilmektedir (70). Apoptozisi önleyici etkisi yapılan deneylerle kanıtlanmıştır. Bu etkisini $Erb\beta_2$ proteinleri ve PI3k/Akt aktivasyonunu azaltarak sağlamaktadır. Böylece de hücreleri reperfüzyon injurisinden korumaktadır. Çinko piriton NF-KB aktivitesini inhibe eder, endotel hücrelerinde adhezyon molekülü oluşumunu önler ve damarları ateroskleroza karşı korur (1). Çinko piriton intrasellüler çinko konsantrasyonu artırır. Süperoksit anyonlarının üretimini azaltır.

Tablo 2.3'de ZnPyr'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri gösterilmiştir.

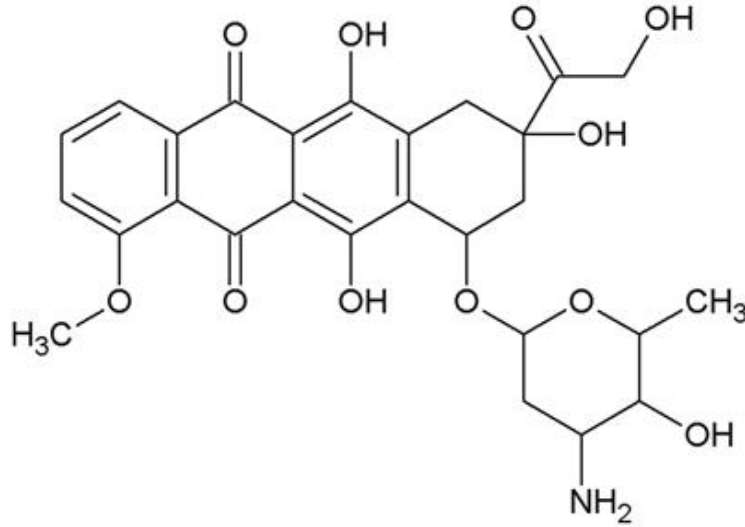
Tablo 2.3. ZnPyr'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri (69)

Molekül formülü	$C_{10}H_8N_2O_2S_2Zn$
CAS numarası	13463-41-7
Molar hacmi	317,70 g/mol
Erime noktası	240°C
Sudaki çözünürlüğü	8ppm (pH 7)

Özellikle iskemi reperfüzyon sırasında kaybedilmiş çinkoya ilave olarak verilen ve çinkonun bir formu olan 'zinc ionophore pyrithion' un reperfüzyon sırasında miyokardial hücre ölümlerini neredeyse %100 oranında, aritmileri ise iki kat azalttığı gösterilmiştir. İskemi reperfüzyon uygulanmış kalp dokularının flouresan görüntüleme yöntemi ile morfolojik analizi yapıldığında miyokardiyal hasar olduğu ve serbest çinko seviyesinin düşük olduğu tesbit edilmiştir. Fakat kalpler yeniden çinko piriton ile reperfüze edildiğinde hücreler normal kardiyak miyosit morfolojisi kazanmışlardır. Benzer şekilde diyetlerine çinko piriton eklendiğinde de aynı etki görülmüştür. Çinko piriton aritmi insidansını azaltmakta ve iskemi sonrası miyokard hücrelerini korumaktadır. (1)

2.4. DOKSORUBİSİN

Doksorubisin, *Streptomyces peucetius* kültürlerinden elde edilen, antibiyotik niteliğinde, antrasiklin grubu bir kemoterapötik ajandır (75). Doksorubisin, geniş spekturumlu bir ajan olmasından dolayı, gastrointestinal tümör, sarkomlar, lenfomalar, göğüs ve yumurtalık kanseri gibi katı tümörler ve lösemi gibi kan kanserlerinde halen kullanılan bir ilaçtır (76). Antrasiklinlerin kimyasal yapıları karmaşıktır, bir aglycone ve bir amino şeker grubundan oluşmuş quinon formundaki doksorubisin Şekil 2.3.'te gösterilmiştir (74).



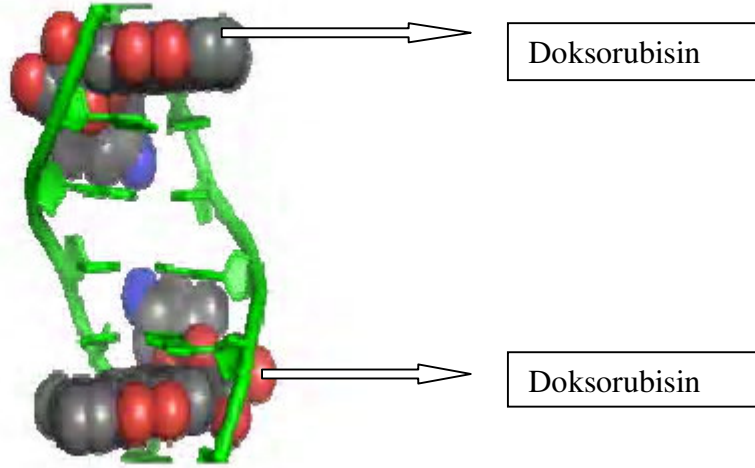
Şekil 2.3. Doksorubisinin Yapısı

2.4.1. Doksorubisin'in Etki Mekanizması

Antrasiklin bileşikleri DNA ile etkileşerek RNA sentezi dahil olmak üzere DNA'nın birçok fonksiyonunu bozar. Tek ve çift zincir kırılmaları oluşur. Bundan dolayı antrasiklinler mutajenik ve teratojenik etki gösterirler (77). Doksorubisin, kanser kemoterapisinde kullanılan ilk antrasiklin antibiyotiktir. Doksorubisinin sitotoksik ve sitostatik etki mekanizmaları arasında topoizomerez II inhibisyonu, doksorubisin-demir kompleksinin DNA 'ya bağlanması ve DNA baz çiftlerinin ilaçla etkileşmesi gibi radikale bağlı olmayan mekanizmalar ve serbest radikal üretimi ile DNA hasarı yer almaktadır (78, 79).

Antrasiklinlerin apoptotik hücre ölümünü indükledikleri gösterilmiştir (79). Doksorubisin, DNA çift zincirini, bu zincir içinde komşu guanozin-sitozin baz çiftleri arasına enine yerleşerek etkiler (80). Bu tür yerleşim antineoplastik ilaçların (alkilleyici olanlar hariç) DNA molekülünü etkilemesinin, çapraz-bağlanmayı andıran, fakat farklı olan bir şeklidir. Bu nitelikteki moleküller, DNA çift zinciri içindeki birbirine bitişik iki baz çiftinin arasına girerek onlara reversible şekilde bağlanırlar. Ancak reversible bağlanma, zamanla irreversible bağlanmaya dönüşebilir. Aynı DNA çift-zincirinde birçok noktada olan bu yerleşim ve bağlanma komşu baz çiftlerinin birbirinden uzaklaşmasına, zincirin uzamasına ve sarmallığın azalmasına yol açar. Sonuçta

DNA'nın replikasyonu (DNA sentezi) ve transkripsiyonu (mRNA sentezi) inhibe edilir (80).



Şekil 2.4. Doksorubisin- DNA Kompleksi

2.4.2. Yan Etkileri

Teratojenik, mutajenik ve karsinojeniktir (80). Doksorubisin verilen hastaların çoğunda en sık görülen yan etkiler kemik iliği aktivitesinde azalma, ağız mukoza iltihabı, sindirim bozukluğu ve saç dökülmesidir. Ağır lökosit ve trombosit kaybı olabileceğinden dozu sınırlandırılmıştır (81).

Kardiyak yan etki olarak ise; Doksorubisinin neden olduğu üç çeşit kardiyotoksisite belirlenmiştir (82). Birincisi, tedavinin hemen sonrasında görülen akut ya da subakut hasar. İkinci olarak, kardiyomiyopatiyle sonuçlanan doksorubisinin neden olduğu kronik kardiyotoksisitedir. Son olarak, doksorubisin tedavisinin tamamlanmasından yıllar sonra oluşan doksorubisin kardiyotoksisitesinin neden olduğu, ventriküler bozukluklar ve aritmidir(83, 84).

Doksorubisin vezikan bir ilaçtır. Ekstravazasyonu doku nekrozuna neden olur (80). Doksorubisin idrarı geçici olarak kırmızıya boyar, bunun klinik bir önemi yoktur.

2.5. KEMOTERAPİK BİR AJAN OLAN DOKSORUBİSİN VE DOKSORUBİSİNE BAĞLI GELİŞEN KARDİYOTOKSİSİTE

Antitümör antibiyotiklerden olan doksorubisin (DOX) ve diğer antrasiklinler 1960' larda *Streptomyces peucetius* var. *Caesieus* kültürlerinden izole edilmiş olan bir grup glikozidik antibiyotiklerdir (74).

Antrasiklin antibiyotiklerin kullanımının artmasıyla, doksorubisin kemoterapisinin birkaç şiddetli komplikasyonu olarak bilinen akut ve kümülatif doz bağımlı kardiyotoksiste fark edilmiştir (85). Kemoterapötiklerin en önemli yan etkilerinden biri olan kardiyotoksiste ilk kez doksorubisin tedavisi alan çocuklarda kalp yetmezliği geliştiğinin fark edilmesiyle dikkat çekmiş, kullanımları arttıkça diğer antrasiklinlerin ve 5-fluorourasilin de kardiyotoksik etkilerinin olduğu belirlenmiştir (86).

Kardiyotoksiste genellikle terapötik moleküllerin kalp fonksiyonu üzerine olan olumsuz etkilerini geniş bir yelpazede tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Kanser tedavisi için kullanılan çeşitli kemoterapötikler kardiyovasküler komplikasyon riskiyle ilişkilidir. Kardiyak fonksiyon defektleri semptomatik veya asemptomatik olabilmektedir (87). Bu sorunun klasik örneği doksorubisin gibi antrasiklinler, hematolojik maligniteler ve solid tümörlerin tedavisinde kullanımıdır (88, 89).

Antikanser ilaçlara bağlı potansiyel kardiyovasküler toksiste, QT süresinin uzaması, aritmiler, myokard iskemisi, hipertansiyon, tromboembolitik komplikasyonlar (antionjiojerik ajanlar) (89) ve myokardiyal fonksiyon bozukluğunu içine alır (90). İkinci olarak bu değişiklikler geri dönüşümlü veya dönüşümsüz olabilir, tedavi esnasında yada sonrasında gelişebilir. Örneğin doksorubisin gibi antrasiklinlerin klinik kullanımı , genellikle doza bağımlı ve kümülatif olarak kardiyomyopati ve konjestif kalp yetmezliğinin gelişiminden dolayı sınırlandırılmıştır (91). Akut kardiyotoksiste görülmekle birlikte en sıkıntılı formu geç meydana gelen ve kalbin yapısal bozukluklarıyla karakterize olandır (92). Sol ventrikül duvar kalınlığında artma, myokard kütesinde ve sol ventrikül kompliyansında azalmaya neden olur (89, 93, 94).

Antrasiklinlerin indüklediği kardiyotoksiste akut, kronik, ilerleyici ve geç başlayan kronik ilerleyici olarak sınıflandırılmıştır (95). Akut kardiyotoksiste devamlı ya da kısa süreli ilaç infüzyonu sonrası oluşur ve nonspesifik EKG değişiklikleri ve aritmileri içerir ki bazı hastalarda perikardit, miyokardit gibi kalp hastalıkları eşliğinde olabilir (92). Bu komplikasyonlar tipik olarak geri dönüşümlüdür,

doza bağımlı değildir ve daha fazla antrasiklin kullanımını önlemez. Akut kardiyak ölüm ve ani ölümlerde rapor edilmiş tek sebeptir (92, 96). Klinik miyokarditle benzerdir. Ödem ve sol ventrikül (LV) duvarında kalınlaşmayla birlikte % 60 mortaliteye sahiptir. Akut kardiyotoksisite, hastaların % 1 'inde oluşurken, subakut formu hastaların % 1.4-2' sinde oluşur (92). Klinikte en belirgin etkisi; kronik kardiyak toksisite, konjestif kalp yetmezliği ve LV disfonksiyonudur (97, 98). Geç başlangıç kronik ilerleyici toksisite, genellikle ilk bir yıldan sonra terapi tamamlama ve nükslerden sonra görülür (98). Geç başlangıç kronik ilerleyici toksisite kanser tedavisinin ilk dozundan 10-20 yıla kadar belli olmamaktadır. Antrasiklinle ilgili tedavi edilmeyen kalp hastalıklarında LV disfonksiyonunun ilk 2 yıllık mortalitesi % 50' dir (98, 99). Geç kardiyak toksisitede en önemli risk faktörü kümülatif tedavidir (99).

Antrasiklinin her bir dozunun kalpte yapısal değişikliklere sebep olduğuna inanılır ki eninde sonunda kardiyak ölümlere sebep olur. Bu defektler mekanizma tarafından, belli eşik değerlere kadar kompanse edilir ama ventriküler remodeling sıklıkla çoklu formlarda kardiyak yaralanmaları tetikler (100).

2.5.1. Patafizyolojisi

Kardiyotoksisitenin literatürde dikkat çekici birçok yönü olmasına rağmen antrasiklinlerin kalp üzerindeki zararlı etkileri için öne sürülen teoriler yeterli değildir. Antrasiklinin indüklediği myokardiyal hasarların oluşmasında birinci sırayı serbest oksijen radikallerinin üretimi almıştır (95). Antrasiklin tedavisinin, özellikle hücre içi demir seviyesini artırarak, reaktif oksijen partikülleri (ROS) oluşumunda etkili olduğu pek çok çalışma ile desteklenmiştir. Son çalışmalar, antrasiklinlerin sadece ROS yapımını artırarak kardiyotoksisite oluşturmadığını göstermiştir (95, 101).

ROS 'un dışında antrasiklinlerin, kardiyomiyosit, apoptozisi ve nekrozisi tetiklediği, normal sarkomer yapısında bozukluk , yeterli kasılma için gereken enerji eldesindeki bozukluklar gibi etkileri olduğuna dair kuvvetli deliller vardır (95). Son yıllarda antrasiklinlerin, kalp yetmezliğini modüle eden, neuregulin/herregulin-Erb/HER2 ve hücre salvage kinaz yolları gibi kompensatör ve prosurvival mekanizmalar üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar yoğunlaşmıştır (102, 103).

2.5.2. Oksidatif Stres ve Demir Hipotezi

Antrasiklinlerin kimyasal yapısı karmaşıktır. Bu ilaçlar bir aglycone ve bir şekerden oluşan yapıdadır. Aglycone; bir tetrasiklin halkasıyla birlikte quinon ve hidroquinon yarımlarından oluşmaktadır. Kinon yarımları toksikolojik öneme sahiptir (95,104). Antrasiklinin, tetrasiklin halkasındaki bir elektronun azalması semiquinon serbest radikalinin oluşmasına sebep olur. Bu radikal anoksik ortama nispeten yerleşmiştir ama normoksik durumlar altında oksijene verilen eşleştirilmemiş elektron, süperoksit radikallerin şekillendirilmiş halidir. Uygun flavoproteinler, kompleks I katalizi azaltılmış semiquinon radikaller NADH yada NADPH 'dan elektron alan ve veren antrasiklinlerdir. Reaksiyonun bu dizisi redoks döngüsü olarak bilinir (95). Son derece zarar verici ve nispeten içinde bir miktar süperoksit radikallerin sayısız oluşumu için yeterli değildir. Antrasiklinin redoks döngüsü sitoplazma , mitokondri ve sarkoplazmik retikulumda olur. Antrasiklin aracılı serbest radikal zararlarının ilk hedefleri peroksidasyona meyilli, yağdan zengin çeşitli duvar membranlarıdır. Bu radikal zararın sonuçları , makromoleküler hedefli daha fazla saldırı için bir çok kararlı ve yüksek toksik etkili aldehit üretimidir. ROS oluşumu ile indüklenen antrasiklinlerin quinon kısmı, nitrik oksit, nitrik oksit sentaz, peroksinitrit ve süperoksit anyonunun oluşumuna yol açan oksidatif stresi indükler (95, 105).

ROS üretimi, kardiyotoksisite oluştururken birçok mekanizma içerir. Bu mekanizmalar kardiyak proteinlerin ekspresyonunda bozulma, hücrel ve mitokondriyal kalsiyum homeostazisinde bozulma, mitokondrideki DNA lenzyonlarının indüklenmesidir. ROS oluşumu, mitokondrideki enerji oluşumunu, ATP' nin elektrotansportunu bozar. Bunun yanında miyoflamentleri ve sitoskeleton proteinlerin yapısının bozulmasına neden olabilir (95, 105).

2.5.3. Mitokondriyal Apoptozis ve Nekrozis Yolu

Antrasiklinlerin kardiyak yan etkileri iki mekanizma içerir. Bunlar birbirleri ile etkileşim halinde olan oksidatif stres ve apoptozisdir. Bu hücrel olayların pek çoğu ROS tarafından oluşturulur. ROS kardiyomiyosit ölümüne sebep olur (95, 105). Antrasiklinlerin indüklediği kardiyomiyopati için primer mekanizmanın ROS oluşumu olduğu gösterilmiştir. ROS'un yaptığı hasarlar, apoptotik ve nekrotik yolların aktivasyonunu takiben kalp hücrelerinin ölümü, antrasiklinlerin indüklediği kardiyotoksisite için bize etkin bir açıklama sağlar (105, 106). Antrasiklinlerin in vivo

olarak hayvanlara verilmesi, apoptotik hücre ölümlerinin geliştiğini göstermiştir. Hayvan kültür çalışmalarında da bu apoptotik ve nekrotik hücre ölümlerinin, antrasiklinler tarafından indüklendiği belirtilmiştir. Antrasiklinle muamele edilen hastaların endomiyokardiyal biyopsilerinde, apoptozis ve mitokondriyal hasar belirtileri gösterilmiştir (105, 107). Antrasiklin verilmesi esnasında kardiyomiyosit ölümleri apoptozisin biyokimyasal özelliklerini içerir ve aynı zamanda hücre nekrozunun morfolojik görüntülerini gösterir. Antrasiklinin indüklediği kalpteki apoptozis, mitokondriyal yolla oluşmaktadır. Bu mitokondride bulunan Bax, sitokrom c ve caspase-3 gibi maddeleri gerektirir (105, 106). Antrasiklin muamelesi mitokondrilerde oksidatif stresi artırır ve intrasellüler kalsiyum seviyesini bozar. Artmış intrasellüler kalsiyum, mitokondriyal kalsiyum seviyesini de artırır. İşte bu kalsiyum seviyesinin artması da muhtemelen mitochondrial permeability transition pore (mPTP)'nin geçirgenliğini artırır. Böylelikle membran potansiyeli değişir, dış membranın geçirgenliğini artırır, mitokondrilerde şişmeye neden olur, mitokondriler içindeki sitokrom c gibi apoptotik faktörlerin dışarıya geçişini artırır. Sitozoldeki sitokrom c, adaptör protein apoptozis proteaz aktivatör protein-1 (Apaf-1), dATP ve caspase-9 ile kompleks oluşturur (106).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, mitokondriyal permabilitedeki bir artışın, mPTP'nin açılmasına ve apoptotik hücre ölümünün başlatıcısı olduğu gösterilmiştir. Nekrozis, erişkin insan kalp hasarlarının pek çok formunda oluşur ve bunlardan biride antikanserojen ilaçların kardiyotoksik etkisidir. Yeni çalışmalar göstermiştir ki, mPTP apoptozisi başlatmaz, bu kompleks nekroziste önemli bir role sahiptir (108, 109). Cyc-D'si olmayan fareleri kullanan çalışmacılar, mPTP'un hücre nekrozisinde önemli rol oynadığını göstermiştir. Cyc-D'si olmayan fareler, kalsiyum artışı ile indüklenmede olduğu gibi, nekrotik uyarımlara direnç göstermiş, ama klasik apoptotik artırıcıları ile muamele edilince ölmüşlerdir (110, 111).

2.5.4. Alternatif Hücre Ölümleri

Son yıllarda hücre ölümünün onkozis ve otofaji olarak alternatif iki tipi daha belirlenmiştir. Hücre onkozisinin özelliği ki bu genellikle sitoplazmanın şişmesiyle ve sarkomerin plazma membranının erken parçalanmasıyla ilişkilidir (113). Son çalışmalar, antrasiklinlerin indüklediği hücre ölümlerinin, mPTP bağımlı mekanizmalarla çok iyi programlanabildiğini göstermiştir (114). Mitokondriyal

kalsiyum birikmesi nedeniyle artan ROS, mPTP' ları açarak, mitokondriyal şişmeye ve ATP eksikliğine neden olur. Tüm bunlarda nekrotik hücre ölümünü başlatır (106) . Otofaji ise, genelde sitoplazmik bileşenlerin, organellerin ya da uzun ömürlü proteinlerin, toplu yıkımını ve geri dönüşümünü sağlayarak, koruyucu bir görev üstlenir. Kalpteki otofaji önemlidir. Özellikle normal şartlar altında, düşük bazal seviyelerde, yaşlı organelleri temizleyerek, hücrenin canlı kalmasını sağlar. İskemi-reperfüzyon hasarı ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklara cevap olarak daha fazla çalışır. Otofajik hücrelerin miyokardiyal fonksiyon bozukluklarında önemli olduğu, doksorubisinin indüklediği miyokardiyal hasarda, otofajik hücrelerin ölümüyle açıklanır. Antrasiklinler, mitokondri üzerinde apoptozis, nekrozis ve özellikle ROS yapımının artması, hücrede aşırı kalsiyumun birikmesi, DNA lezyonlarını artırması yollarıyla hücre ölümüne neden olur(115).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Proje, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu ve Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığının 11/100 nolu kararı ile onaylanmıştır.

3.1. DENEY HAYVANLARI

Çalışma; etik kurul onayı alınarak Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinden (DEKAM) sağlanan ve vücut ağırlığı 320 ± 50 g olan 28 adet Spraque Dawley cinsi erkek sıçanlar ile gerçekleştirildi. Sıçanlar deney süresince sıcaklığı $24 \pm 1^\circ\text{C}$ arasında olan ortamda barındırıldı. Gece gündüz döngüsü otomatik aygıt ile 12 saat gece (6.00 – 20.00), 12 saat gündüz (20.00 – 6.00) olacak şekilde ayarlandı. Çalışma süresince hayvanlara pelet şeklinde standart sıçan yemi ve çeşme suyu verildi. Deney öncesi ve deney bitiminde sıçanların ağırlıkları tartıldı.

3.2. DENEY GRUPLARI

1) Kontrol Grubu (KONT, n=6): Yedi gün boyunca serum fizyolojik (SF) solüsyonunun [1 ml hayvan başına intragastrik (i.g.)] verildiği grup.

2) Doksorubisin Grubu (DOX, n=6): Birinci gün tek doz doksorubisin (10 mg/kg/hayvan başına 1ml intraperitoneal (i.p.) ve yedi gün boyunca 1ml i.g.SF verilen grup.

3) Çinko Pirition Grubu (ZnPyr, n=6):Yedi gün boyunca (10 mg/kg/hayvan başına 1ml i.g.) çinko verilen grup.

4) Doksorubisin + Çinko Pirition Grubu (DOX+Znpyr, n=6): Birinci gün tek doz doksorubisin (10 mg/kg/hayvan başına 1ml i.p.) ,yedi gün boyunca (10 mg/kg/hayvan başına 1ml i.g) çinko verilen grup.

3.3. ARTERİYAL KAN BASINCI ÖLÇÜMÜ

Arteriyal kan basıncı direkt yöntemle femoral arterden kaydedildi. Kayıt öncesi, bir hafta boyunca gavaj yapılan sıçanlara anestezi uygulandı. Ketamin (39, 35 mg/kg) ve xylazine (4.96 mg/kg) karışımı i.p. olarak verildi. Anestezi altındaki sıçanın sol kasık bölgesindeki femoral artere paralel olacak şekilde deride bir kesi yapıldı. Deri altı dokusu ve fasyalar künt disseksiyon ile ayrılarak Arteria femoralise ulaşıldı ve siyatik sinir korunarak damar izole edildi.



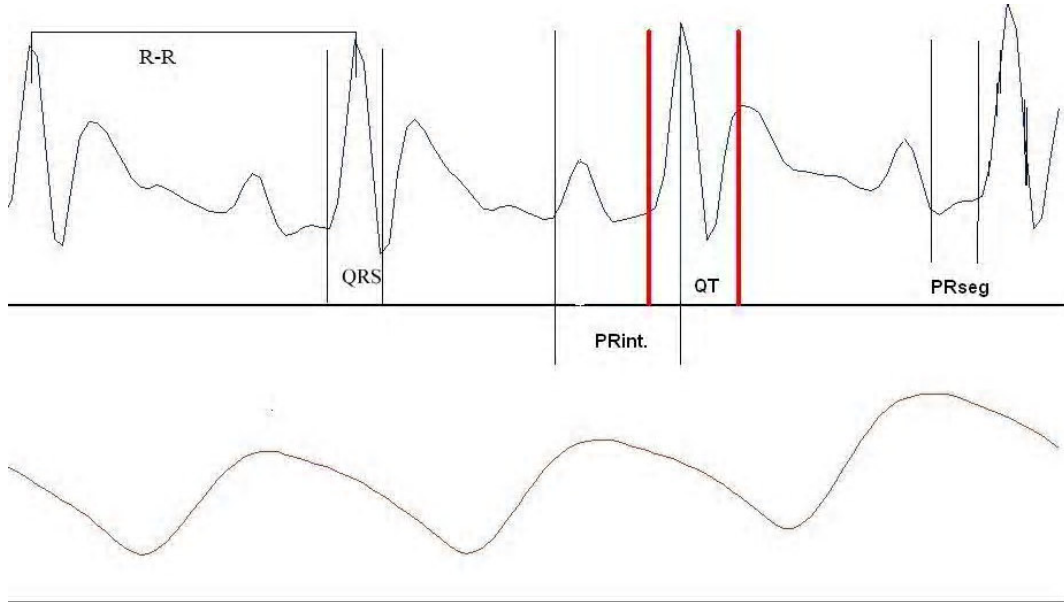
Resim 3.1. Femoral arter kateterizasyonu sonrası kan basıncı kaydı alınması

Kayıtların alınabilmesi için femoral artere 100 U/mL oranında heparin içeren serum fizyolojik ile dolu PE-50 tubing yerleştirildi. Basınç çevirici-yükseltici sistemi ve yükselticiye bağlı MP-30 sistemi (Biopac Systems, Inc., CA) ile 15 dk boyunca kan basınç değerleri kaydedildi. Hayvanlar uyanmadan önceki beş dakika boyunca alınan kayıtlar bilgisayarda işaretlendi. Sonrasında hayvanlardan biyokimyasal ölçümler için 1,5 ml kan örneği alındı. Alınan kan örneği 4000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edildi. Elde edilen plazmalar ependorf tüplerine alınarak -20°C de saklandı. Anestezi altındaki sıçanların, sağ sternotomi ile toraksı açıldı ve kalbe herhangi bir mekanik hasar vermeden kalp çıkarıldı. Çıkarılan kalp dokusu SF çözeltisi içersine alındı. SF içine alınan kalp yıkanarak ve üzerindeki diğer dokulardan izole edilerek tartıldı.

3.4. EKG KAYDI

EKG elektrotlarının pozitif ucu sol kola, negatif ucu sağ kola ve toprak elektrodu sağ ayağa bağlandı. Elektrokardiyografide hayvanların atriyum ve ventrikül fonksiyonlarını değerlendirmemizi sağlayan PR'nin, QT'nin, QRS'in süreleri, R-R intervali ve P-R segmenti değerlendirildi.

R-R intervali R dalgasının başlangıcından QRS kompleksinin başlangıcına kadar geçen süredir. QRS kompleksi Q dalgasının başlangıcından S dalgasının sonuna kadar geçen süredir. R dalgası QRS kompleksindeki ilk pozitif defleksiyondur. Ventriküllerin depolarizasyon sürecini kapsar. QT intervali Q dalgasının başından T dalgasının sonuna kadar geçen süredir. Ventriküllerin depolarizasyon ve repolarizasyon süreçlerini kapsar. PR segmenti P dalgasının bitiminden QRS kompleksinin başlangıcına kadar olan izoelektrik çizgidir. PR intervali P dalgasının başından QRS kompleksinin başına kadar olan mesafedir. Atriyumların depolarizasyon sürecini kapsar. Elektrokardiyografi kalpte oluşan ritim ve iletim bozuklukları, kalp kası hipertrofileri, kardiyomyopatiler, perikardit, miyokardit ve koroner arter hastalıklarını değerlendirmede kullanılır.



Resim 3.2. Sıçanların EKG ve Kan basıncı kaydı. QRS, PR, QT, PRseg, ve R-R parametrelerinin EKG dalgası üzerinde gösterilmesi.

3.5.EKOKARDİYOĞRAFI

Hayvanların ekokardiyografi çekimleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Kardiyoloji Ana Bilim Dalında gerçekleştirildi. İşlem öncesi hayvanlara i.p.anestezi uygulanarak sedasyon sağlandı. Net görüntü elde edebilmek için hayvanların göğüsleri traş edildi. Ölçüm "Vivid 7 Pro Dimension 08GE Health care" cihaz ile 10S prob kullanılarak yapıldı. 2 boyutlu M-mode ekokardiyografi kullanıldı. Parasternal uzun eksen görüntü bulunduktan sonra kayıtlar alındı.

M-mode ekokardiyografi; sol ventrikül diyastol ve sistol sonu çapı, interventriküler septum ve posterior duvar kalınlıkları, sol atriyum çapı, aort çapının ölçülmesinde, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun ve fraksiyonel kısalmanın belirlenmesinde kullanılır.

Ekokardiyografide hayvanların kalp hızı (HR), kardiyak output (CO), interventriküler septum diyastolik çapı (IVSD), sol ventrikül diyastol sonu çapı (LVIDd,) ejeksiyon fraksiyonu (EF,) fraksiyonel kısalma (FS) değerlerdirildi.



Resim.3.3. M-mode ekokardiyografi cihazı

3.6. BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN ÖLÇÜMÜ

Kreatin kinaz-MB (CK-MB), laktat dehidrogenaz (LDH), aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotrasferaz (ALT) Aktivite Tayinleri: Doksorubisinin oluşturduğu kalp hasarını belirlemede; CK-MB, LDH, AST ve ALT gibi enzim aktivite tayinleri, klinik biyokimya laboratuvarında, rutinde kullanılan alet ve kitler ile yapıldı (Beckman Coulter LX-2000, Beckman kids). CK-MB, LDH, AST ve ALT nin ölçüm değerlerinin birimi U/L'dir.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel hesaplamalar, Excell ve SPSS 16.0 programları kullanılarak yapıldı. İki grup arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde; normal dağılıma uygunluk saptanan koşullarda, tek yönlü ANOVA uygulandı ve ardından post hoc test olarak, Tukey testi kullanıldı. Bağımlı grupların ortalamalarını karşılaştırmak için önce Kruskal Wallis ANOVA ardından ikili karşılaştırma için bağımlı gruplarda t-testi kullanıldı. Değerler ort.±SD olarak gösterildi. P<0.05 anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmanın başında hayvanlar vücut ağırlıkları tartıldıktan sonra gruplara rastgele dağıtılmıştır. Gruplara dahil edilen hayvanların ağırlıkları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Bu hayvanların gruplara dağılımının homojen olduğunun göstergesidir.

Bir haftalık infüzyon işleminin bitiminden sonra kalp fonksiyonları ve enzim aktiviteleri ölçülmeden önce hayvan vücut ağırlıkları tekrar belirlenmiştir. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşmuştur. Ayrıca doksorubisin alan grup ile çinko pirition alan grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır. Deney öncesi, sonrası sıçanların vücut ağırlık ortalamaları **Tablo 4.1**'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Deney öncesi, sonrası sıçanların vücut ağırlık ortalamaları. Değerler ortalama $\pm$ SD olarak verildi (n=6)

Gruplar	İlk Ağırlık (gr)	Son Ağırlık (gr)
Kontrol	393 $\pm$ 7	389 $\pm$ 16
ZnPyr	357 $\pm$ 20	347 $\pm$ 20 ^a
Dox	331 $\pm$ 27	296 $\pm$ 19 ^{b,c}
Dox+ZnPyr	374 $\pm$ 15	320 $\pm$ 21 ^b

Kontrol: Serum fizyolojik verilen grup, ZnPyr: Çinko piriton verilen grup, Dox: Doksorubisin verilen grup, Dox+ZnPyr: Doksorubisin+Çinko piriton verilen grup.

a: p<0.05 Kontrol grubuna göre b: p<0.001 Kontrol grubuna göre c: p<0.001 Çinko piriton grubuna göre.

4.1. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜM VERİLERİ

Kardiyak hasarı belirlemede klinikte rutin olarak değerlendirilen CK-MB, LDH, AST ve ALT enzim düzeyleri yedi gün uygulanan çinko piritonun son infüzyonundan 24 saat sonra ölçülmüştür. Kontrol grubuna göre çinko piriton verilen grupta CK-MB, LDH, AST ve ALT enzim aktiviteleri yükselmiştir. Bu yükselmeler, CK-MB, AST ve ALT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı olup, LDH için anlamlı değildir.

Sıçanların plazma CK-MB, LDH, AST ve ALT Enzim aktiviteleri **Tablo 4.2'**de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Sıçanların plazma CK-MB, LDH, AST ve ALT Enzim aktiviteleri. Değerler ortalama $\pm$ SD olarak verildi (n=6)

Gruplar	CK-MB(U/L)	LDH (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)
Kontrol	62 $\pm$ 12	144 $\pm$ 34	78 $\pm$ 17	61 $\pm$ 05 ^f
ZnPyr	161 $\pm$ 33 ^a	173 $\pm$ 14	102 $\pm$ 36 ^e	66 $\pm$ 08 ^f
Dox	70 $\pm$ 09 ^b	189 $\pm$ 76	182 $\pm$ 50 ^{a,d}	68 $\pm$ 04 ^f
Dox+ZnPyr	140 $\pm$ 35 ^{a,c}	208 $\pm$ 54	124 $\pm$ 08 ^e	86 $\pm$ 05

CK-MB: Kreatinin kinaz-MB, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, LDH: Laktat dehidrogenaz

a: p<0.001 Kontrol grubuna göre, b: p<0.001 Çinko piriton grubuna göre, c: p<0.001 Doksorubisin grubuna göre, d: p<0.05 Çinko piriton grubuna göre, e: p<0.05 Doksorubisin grubuna göre, f: p<0.001 Doksorubisin+Çinko piriton grubuna göre.

4.2. GRUPLARIN EKG PARAMETRE DEĞERLERİ

Doksorubisinin kalp fonksiyonları üzerine olan etkisini göstermede kullanılan parametrelerden biri olan EKG değerlerine baktığımızda kontrol grubu ile çinko piriton, doksorubisin, doksorubisin+ çinko piriton alan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. Doksorubisin alan grubun PR ve R-R intervali değerleri diğer gruplara göre daha yüksek çıkmıştır. Yalnızca çinko piriton alan grubun PR intervali, QT intervali, R_R intervali ve QRS kompleksi süresi diğer gruplara göre daha düşük çıkmıştır. Yalnızca çinko piriton alan grubun Pr segmenti süresi ise diğer gruplara göre daha yüksek çıkmıştır.

Tablo 4.3. Sıçanların EKG parametre değerleri. Değerler ortalama $\pm$ SD olarak verildi (n=6)

Gruplar	PR (ms)	QT (ms)	Prseg (ms)	R_R (sn)	QRS (ms)
Kontrol	0,027 $\pm$ 0,001	0.046 $\pm$ 0.003	0.010 $\pm$ 0.008	0.188 $\pm$ 0.014	0.031 $\pm$ 0.001
ZnPyr	0.025 $\pm$ 0.001	0.041 $\pm$ 0.002 ^a	0.012 $\pm$ 0.003	0.153 $\pm$ 0.004	0.027 $\pm$ 0.01 ^a
Dox	0,030 $\pm$ 0.003 ^b	0,046 $\pm$ 0.003 ^b	0.005 $\pm$ 0.001	0.227 $\pm$ 0.057 ^b	0.031 $\pm$ 0.001 ^b
Dox+ZnPyr	0.026 $\pm$ 0.002	0.045 $\pm$ 0.001	0.010 $\pm$ 0.002	0.155 $\pm$ 0.007 ^c	0.028 $\pm$ 0.002

R-R intervali: R dalgasının başlangıcından QRS kompleksinin başlangıcına kadar geçen süredir. QRS kompleksi: Q dalgasının başlangıcından S dalgasının sonuna kadar geçen süredir. QT intervali: Q dalgasının başından T dalgasının sonuna kadar geçen süredir. PR segmenti : P dalgasının bitiminden QRS kompleksinin başlangıcına kadar olan izoelektrik çizgidir. PR intervali: P dalgasının başından QRS kompleksinin başına kadar olan mesafedir.

a: p<0.05 Kontrol grubuna göre, b: p<0.05 Çinko piriton grubuna göre, c: p<0.05 Doksorubisin grubuna göre.

4.3. GRUPLARIN EKO PARAMETRE DEĞERLERİ

Hayvanların EKO ölçümleri son doz ilaç infüzyonundan 24 saat sonra yapılmıştır. Çinko piriton, doksorubisin, doksorubisin+ çinko piriton alan grupların kalp atım hızı kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır. Fakat istatistiksel olarak gruplar arasında kalp atım hızı ve kardiyak output değerlerinde anlamlı bir farklılık oluşmazken interventriküler septum diyastolik çapı, sol ventrikül diyastol sonu çapı, ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalma değerlerinde anlamlı bir farklılık oluşmuştur.

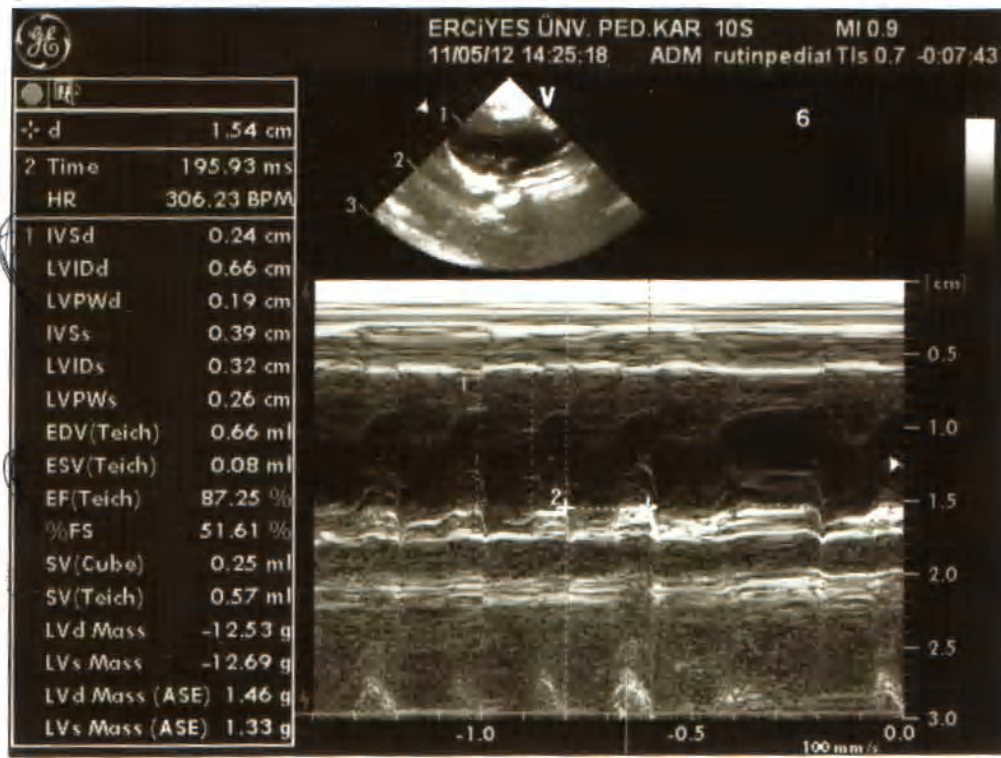
Tablo 4.4 Sıçanların EKO parametre değerleri. Değerler ortalama $\pm$ SD olarak verildi (n=6)

Gruplar	HR (BPM)	CO(min)	IVSd(mm)	LVIDd (mm)	% EF	% FS
Kontrol	386 $\pm$ 22	0.026 $\pm$ 0.015	0.236 $\pm$ 0.015	0.608 $\pm$ 0.113	89 $\pm$ 3	48 $\pm$ 8
ZnPyr	260 $\pm$ 22	0.025 $\pm$ 0.013	1.696 $\pm$ 0.192 ^a	4.758 $\pm$ 0.845 ^a	80 $\pm$ 5 ^b	44 $\pm$ 4
Dox	311 $\pm$ 62	0.025 $\pm$ 0.008	1.633 $\pm$ 0.197 ^a	4.338 $\pm$ 0.806 ^a	87 $\pm$ 4	51 $\pm$ 5
Dox+ZnPyr	281 $\pm$ 66	0.013 $\pm$ 0.008	1.611 $\pm$ 0.384 ^a	4.165 $\pm$ 0.538 ^a	77 $\pm$ 4 ^{a,c}	40 $\pm$ 3 ^c

CO: Kardiyak output. HR: Kalp hızı. IVSD: İnterventriküler septum diyastolik çapı

LVIDd: Sol ventrikül diyastol sonu çapı. EF: Ejeksiyon fraksiyonu, FS: Fraksiyonel kısalma

a: $p<0.001$ Kontrol grubuna göre, b: $p<0.05$ Kontrol grubuna göre, c: $p<0.05$ Doksorubisin grubuna göre.

**Şekil 4.1.** Eko değerleri

4.4. GRUPLARIN KAN BASINCI DEĞERLERİ

Doksorubisin ve çinko piritionun birlikte verildiği grubun ortalama, sistolik ve diyastolik kan basınçları diğer gruplara göre azalmıştır. İstatistiksel olarak ise sistolik ve ortalama kan basınçları arasında anlamlı bir farklılık oluşmazken diyastolik kan basınçları arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur.

Sıçanların kan basıncı değerleri **Tablo 4,5'**de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Sıçanların kan basıncı değerleri. Değerler ortalama $\pm$ SD olarak verildi (n=6)

Gruplar	OKB(mmHg)	SKB (mmHg)	DKB (mmHg)
Kontrol	111 $\pm$ 13	113 $\pm$ 13	108 $\pm$ 13
ZnPyr	104 $\pm$ 8	114 $\pm$ 9	94 $\pm$ 6
Dox	95 $\pm$ 28	114 $\pm$ 34	84 $\pm$ 24
Dox+ZnPyr	84 $\pm$ 14	93 $\pm$ 14	76 $\pm$ 14 ^a

OKB: Ortalama kan basıncı SKB: Sistolik kan basıncı DKB: Diyastolik kan basıncı

a: $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre.

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Doksorubisin (DOX) tümörlerin tedavisinde kullanılan antrasiklin grubu kemoterapötik bir ajandır. Klinikte kullanımında ciddi kardiyotoksik etkilere sahiptir. Bunlar arasında geçici aritmi, spesifik elektrokardiyografik anormallikler, perikardit ve sol ventrikül fonksiyonlarının baskılanması sayılabilir (71).

Doksorubisin RNA polimeraz ve sitokrom c oksidaz enzimlerini inhibe eder. Süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri üretir. DNA'ya bağlanarak alkalizasyona neden olur. Hücre membranı üzerine etkisi vardır ve apoptozu tetikler. Kardiyak miyositlerde bulunan ATP'de transkripsiyonel değişiklikler oluşturmakta, sarkoplazmik retikulumda Ca-ATP az 'ı kodlayan mRNA'yı değişikliğe uğratmakta ve kardiyak kontraktiliteyi azaltmaktadır. Doksorubisin, hücrelerde ROS birikimine ve metalloproteinlerden çinkonun ayrılmasına neden olmaktadır. Böylece de çinko seviyesini düşürerek oksidatif strese yol açmaktadır (28). Serbest radikallerin oluşumu ve endojen myokardiyal antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması, doksorubisinin kalp yetmezliği patogenezinde önemli rol oynadığını destekler. Serbest radikaller son derece kararsız moleküllerdir. Bu kararsız moleküller hızlı bir şekilde zincir reaksiyonları ile daha fazla serbest radikal oluşturmak üzere diğer bileşiklerle reaksiyona girer. Serbest radikaller, oksidatif stresten sorumludur. Doksorubisine bağlı

olarak oluşan oksijen radikalleri eğer yok edilmezse mitokondri ve plazma membranı gibi hücrel organellerde farklı oksidatif hasarlar ortaya çıkabilir.

Yapılan çalışmalarda Doksorubisinin, kalsinorin aktivitesini artırdığı görülmektedir. Kalsinorin ise kardiyak hipertrofi gelişiminde önemli role sahiptir ve hücre ölümü üzerinde etkisi vardır.

Çinko; organizmanın tüm yaşamı boyunca büyüme ve reproduksiyon için gerekli bir iz elementidir. Eksikliği beyin, akciğerler, kalp, böbrekler ve iskelet kaslarını etkiler. 300'ün üzerinde enzimin aktivasyonunda çinkonun rolü olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. İntrasellüler çinko çoğunlukla metalloproteine bağlıdır. Çinko pek çok enzim için kofaktör aktivasyon rolüne sahiptir. Çinko oksidatif stresin azaltılmasında, apoptoz ve iltihabın engellenmesinde etkilidir. Serbest radikallere bağlı hasarı önler ve apoptotik düzenleyicileri inhibe eder. Çinko piriton intrasellüler çinko konsantrasyonu artırır. Süperoksit anyonlarının üretimini azaltır.

Çinkonun apoptozu önlediği in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir.(72)

İzole sıçan hücrelerinde yapılan bir çalışmada artan radikallerin porları açtığı fakat çinkonun bunu engellediği gösterilmiştir. Çinko Akt(2), ERK2 Kinase (24), mTOR(27) ve GSK3 β (19) gibi intrasellüler sinyal elementlerinin aktivasyonunu düzenler. Bu sinyal molekülleri arasında GSK3 β 'nın kadiyomiyositlerdeki 'mitochondrial permeability transition pore (mPTP)' ların açılmasını kolaylaştırıcı rol oynadığı gösterilmiştir. Pek çok kalbi koruyucu uygulamaların amacı GSK3 β 'nin inaktivasyonu ile mPTP açılımının engellenmesini sağlamak ve kalbi korumaktır. İskemi sırasında mPTP kapalı kalır fakat reperfüzyon başlangıcında açılır. Bu nedenle kalp reperfüzyon sırasında daha fazla hasar görür.1,5 kDa'dan daha küçük moleküllere geçirgen olan mPTP yüksek riskli durumlarda mitakondrial iç membranın geçirgenliğini artırır. Kardiyak hücrelerin çinko ile tedavi edilmesinin, reperfüzyon injürisine karşı koruyucu etkisinin olduğu Karagulova ve arkadaşlarının yapmış olduğu araştırmada ortaya konulmuştur (60). Çinkonun bir çeşidi olan çinko piriton son yıllarda kardiyak myositler üzerine olan etkinliği açısından kullanılan bir çinko çeşididir. Çinko piriton bir çinko metal kompleksidir. Bu renksiz katı, mantar önleyici ve antibakteriyel olarak kullanılmaktadır. Çinko piriton yüksek lipofilik yapıya sahiptir ve hücre membranından kolayca geçebilmektedir. Çinko piriton, intrasellüler çinko konsantrasyonunu artırır, süperoksit anyonlarının üretimini azaltır. Bunun sonucunda da

başlıca glutatyan gibi protein dışı tiollerin hücresel miktarını azaltır. Apoptozu önleyici etkisi yapılan deneylerle kanıtlanmıştır. Bu etkisini Erbβ₂ proteinleri ve Akt aktivasyonunu azaltarak sağlamaktadır. Böylece de hücreleri reperfüzyon injurisinden korumaktadır. Çinko piriton NF-KB aktivitesini inhibe eder, endotel hücrelerinde adhezyon molekülü oluşumunu önler ve damarları ateroskleroza karşı korur (1).

Bu çalışmada, sıçanlarda doksorubisin tarafından oluşturulan miyosit hasarında çinko piritonun koruyucu rolünü araştırmayı amaçladık.

Deney planında 4 grup oluşturuldu. Kontrol grubu (serum fizyolojik verilen grup) Doksorubisin grubu (DOX 10mg/kg hayvan başına 1ml intraperitoneal), Çinko Piriton grubu (Znpyr 10 mg/kg hayvan başına 1ml intragastrik) ve Doksorubisin ile Çinko Piritonun birlikte verildiği grup (DOX+Znpyr Birinci gün tek doz doksorubisin 10 mg/kg/hayvan başına 1ml i.p. ,yedi gün boyunca 10mg/kg/hayvan başına 1ml i.g çinko Piriton verilen grup).

Yedi gün ilaç uygulanan hayvanların, son ilaç uygulamasını takiben kardiyak hasarı belirlemek için EKO, EKG kayıtları alındı ve biyokimyasal ölçümleri yapıldı. Yedi gün boyunca ilaç uygulaması yaptığımız, doksorubisin verilen sıçanlarda üçüncü günden itibaren diyare, burun kanaması, hematüri, fiziksel aktivitede bozulma ve ağırlık kaybı gibi belirtiler gözlemlendi. Doksorubisin ve çinko piritonun birlikte verildiği grupta hematüri, diyare ve kilo kaybı görüldü. Kontrol grubu ve çinko piriton alan grupta ise herhangi bir belirti gözlemlenmedi.

Kasi ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada neonatal sıçan miyositleri 8 saat iskeminin ardından 16 saat reperfüze edilmiş ve reperfüzyon öncesi hücrelere çinko piriton uygulanmıştır. Sonuç olarak ise çinko piritonun Erbβ₂ proteinleri ve Akt aktivasyonunu baskıladığı, apoptozu azalttığı ve hücreleri reperfüzyon injürisinden koruduğu ortaya konulmuştur. Çinko piriton kullanmalarının sebebini ise yüksek lipofilik yapıya sahip olması ve hücre membranından kolaylıkla geçebilmesi şeklinde açıklamışlardır (71). Bu nedenle bizde çalışmamızda çinko piritonu tercih ettik. Çinko piritonun antiapoptotik etkisi ise Zalowski ve arkadaşları tarafından lenfatik lösemi hücrelerinde yapılan in vitro deneyle kanıtlanmıştır (71). Yine sıçanlarda yapılan deneylerde çinko piritonun miyokardial hücreleri reperfüzyon sırasında neredeyse %100 oranında koruduğu ve aritmiyi de iki kat azalttığı gösterilmiştir (1). Nekrotik hücre ölümlerinde LDH ve Troponin I gibi hücre içi enzimler serbest kalırlar, kalp

fonksiyonlarına özgü bir enzim olan CK-MB yükselir, bu nedenle bu enzimler kalp hasarını belirlemede kullanılır. Yine ilaçların karaciğere olan toksik etkisi nedeni ile AST ve ALT enzim aktiviteleri değişir. Kimura ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada doksorubisinin karaciğere ve kalbe olan toksik etkilerini incelemişlerdir (117). Hayvanların deney sonunda serum LDH enzim seviyesini ölçmüşlerdir. Doksorubisin alan grubun LDH seviyesinin yükseldiğini görmüşlerdir. Biz de çalışmamızda CK-MB, LDH, AST ve ALT enzim aktivitelerini ölçtük. Shuai Yi. ve arkadaşlarının yapmış olduğu benzer bir çalışmada ise kardiyak Troponin T seviyesi ölçülmüştür. Kardiyak Troponin T seviyesi yalnızca doksorubisin alan grupta en yüksek, doksorubisin ve çinko piriton alan grupta daha düşük, sadece çinko piriton alan grupta ise Troponin T seviyesi kontrol grubu ile aynı çıkmıştır.

Bizim çalışmamızda ise kontrol grubuna göre diğer grupların CK-MB, LDH, AST ve ALT enzim aktivite seviyeleri yükselmiştir. Çinko piriton alan grubun CK-MB enzim seviyesi diğer gruplara göre daha yüksek iken doksorubisin ve çinko piritonun birlikte verildiği grupta serum LDH enzim aktivite seviyesi diğer gruplara göre daha yüksek çıkmıştır. Bir doz doksorubisin ve yedi gün boyunca çinko piriton uygulanan grupta ise CK-MB, LDH, AST ve ALT enzim aktiviteleri değerleri kontrol grubuna göre yüksek çıkmıştır. Bu sonuç bize çinko piritonun, kardiyak hücrelerde doksorubisinin yapmış olduğu apoptotik etkileri azaltmada tek başına yeterli olmadığını göstermektedir. Çinko piriton doksorubisinin kardiyotoksik etkisini daha da artırmıştır.

Bizim çalışmamıza benzer sonuç; Kevyn E. ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ortaya konulmuştur. Çalışmada çinko klorür kullanılmış ve doksorubisinin meydana getirdiği hücresel hipertrofi üzerine çinkonun tek başına yeterince etkili olamadığı ortaya konulmuştur. O nedenle biz çalışmamızda çinko klorür yerine lipofilik yapıya sahip olması ve hücre membranından kolay geçebiliyor olması sebebi ile çinko piritonu tercih ettik. Fakat çinko piritonun doksorubisinin kalpte meydana getirdiği toksik etki üzerinde etkisinin yeterli olmadığı sonucuna vardık.

Antikanser ilaçlara bağlı potansiyel kardiyovasküler toksisite, QT süresinin uzaması, aritmiler, myokard iskemisi, hipertansiyon, tromboembolitik komplikasyonlar (antionjiojerik ajanlar) ve myokardiyal fonksiyon bozukluğunu içine alır (89). Doksorubisinin oluşturduğu kardiyotoksisite yalnızca kalbin mekanik fonksiyonunu

değil aynı zamanda ventriküler depolarizasyon ve repolarizasyonunda etkilemiştir. Doksorubisin alan grubun, iki R dalgası arasındaki sürenin ve PR intervali süresinin arttığı görülmektedir. Yalnızca çinko piriton alan grup ile doksorubisin ve çinko piritonu birlikte alan grupta ise R-R intervali süresi kontrol grubuna göre azalmıştır. Sadece çinko piriton alan grubun ise PR segmenti süresi uzamış fakat QRS kompleksinin süresi kısalmıştır. EKG sonuçlarını istatistiksel olarak değerlendirdiğimizde gruplar arasında anlamlı farkların olduğunu görüyoruz.

Doksorubisin alan grubun çinko piriton grubuna göre, çinko piriton alan grubun kontrol grubuna göre, doksorubisin ve çinko piritonun birlikte verildiği grubun doksorubisin grubuna göre anlamlı farkları vardır. Fakat doksorubisin ve çinkonun etkileri EKG parametrelerine tam olarak yansımamış görünmektedir.

Kalp hızı, kardiyak output, sol ventrikül diyastol sonu çapı, ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalma hakkında bilgi edinmemizi sağlayan ekokardiyografi hayvanlara uygulanan maddelerinin kalp üzerinde meydana getirdiği toksik etkileri değerlendirmemizde bizlere yardımcı olabilecek bir parametredir.

Grupların EKO parametre değerlerine baktığımızda kontrol grubuna göre diğer grupların kalp hızı, kardiyak output, ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalma değerlerinin düşük çıktığını görüyoruz. Fakat istatistiksel olarak gruplar arasında kalp hızı ve kardiyak output değerlerinde anlamlı bir farklılık oluşmazken interventriküler septum diyastolik çapı, sol ventrikül diyastol sonu çapı, ejeksiyon fraksiyonu ve fraksiyonel kısalma değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşmuştur. Bu farklılık kontrol grubuna göre doksorubisin verilen grupta az, çinko piriton alan grup ile, çinko piriton ve doksorubisinin birlikte verildiği grupta ise fazladır. Eko sonuçları da bize çinko piritonun kalp kasında tek başına ya da doksorubisinin toksik etkisini artırıcı yönde etki ettiğinin göstergesidir.

Grupların ortalama, sistolik ve diyastolik kan basınçlarını değerlendirdiğimizde doksorubisin ve çinko piriton alan grubun ortalama, sistolik ve diyastolik kan basınçlarının kontrol grubu, çinko piriton grubu ve doksorubisin verilen gruba göre oldukça düşük çıkmıştır. Yalnızca çinko piriton alan grubun ise ortalama, sistolik ve diyastolik kan basınçları kontrol grubuna çok yakın çıkmıştır. İstatistiksel olarak değerlendirdiğimizde ise yalnızca diyastolik kan basınçları arasında anlamlı bir farklılık

oluşmuştur. Doksorubisin ve çinko piritionun birlikte verildiği grubun diyastolik kan basıncı kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır.

Bizim alışmamızda; Doksorubisinin kalpte önemli hasar oluşturduğu ama çinko piritionunda yalnız başına kalpte hasara neden olduğu, doksorubisin ile birlikte bu hasarı daha da artırdığı gösterilmiştir.

İskemi reperfüzyon hasarında kalbi önemli derecede koruduğu belirtilen çinko pirition doksorubisinin oluşturduğu hasarı engellemediği gibi tek başına verildiğinde bile kalpte doksorubisine benzer hasar oluşturmuştur.

Sonuç olarak; çinko piritionun doksorubisinin kalpte yaptığı hasarı azaltıcı etkisi bulunmamaktadır.

6. KAYNAKLAR

1. Little JP, Bhattacharya R, Moreyra EA, Korichneva İL. Zinc and Cardiovasküler Disease. Nutrition 2010; 11: 1050-1057
2. Tuncay E, Bilginoğlu A, Sozmen N, at al. İntracellular free zinc during cardiac excitation conraction cycle: calcium and redox dependencies. Cardiovascular Research 2011; 89: 634-64
3. Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. Free Radic Biology 1990; 8: 281-91
4. Chandra RK, Mcbean LD. Zinc and Immunity. Nutrition 1994; 10: 79-80.
5. Powell SR. The antioxidant properties of zinc. Journal of Nutrition 2000; 130:1447-1454.
6. Rostan EF, Debuys HV, Madey DL, Pinnell SR. Evidence supporting zinc as an important antioxidant for Skin. International Journal of Dermatology 2002; 41: 606-611.
7. Belgemen T, Akar N. Çinkonun yaşamsal fonksiyonları ve çinko metabolizması ile ilişkili genler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2004; 57: 161-166.
8. Neyzi O, Ertuğrul T, Saner G. Mikroelementler (Çinko) (3.Baskı), Cilt 1, Pediatri, Nobel Tıp Kitabevleri 2002; 174-175.

9. Sezer RG, Febril Konvülziyonlu Çocuklarda Serum Çinko Düzeyleri, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul, 2005.
10. Tanimoto A, Hamada T, Hiqashi K, Sasaguri Y. Distribution of cadmium and metallothionein in CdCl₂-exposed rat kidney: Relationship with apoptosis and regeneration. *Pathology International* 1999; 49: 125
11. Ammerman CB, Baker DH, Lewis AJ. Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids, Minerals and Vitamins. Academic Press, 1995; 367-375
12. Wellinghausen N, Kirchner H, Rink L. The immunobiology of zinc, *Trends in Immunology* 1997; 18: 519-521
13. Prasad AS. Zinc: An overview, *Nutrition* 1995; 1: 93-99.
14. Walsh CT, Sandstead HH, Prasad AS, Newberne PM, Fraker PJ. Zinc: Health Effects and Research Priorities for the 1990s, *Environmental Health Perspectives Supplements* 1994; 102: 5-46
15. İspir M, Emek K. Cerrahi travmanın serum çinko düzeyine etkisi. *Türk Tıp ve Eczacılık Dergisi* 1998; 12: 251
16. Kayakırılmaz K, Oral SN. Okul öncesi çocuklarda diyet, saç ve serum çinko düzeyleri. *Doğa Türk Sağlık Bilimleri Dergisi* 1989; 13: 33-225
17. Vallee BL, Falchuk KH. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiological Reviews*. 1993; 73: 79-118
18. Aggett PJ. Zinc. *Annales Nestle* 1994; 52: 91
19. Hempe JM, Cousins RJ. Cystine-rich intestinal protein binds zinc during transmembrane zinc transport. *Proc Natl Acad Sci*. 1991; 88: 9671-1974
20. O'Dell BL. Cystin-rich intestinal protein (crip): a new intestinal zinc transport protein. *Nutr Rev* 1992; 50: 232-234
21. Miller LV, Hambidge KM, Naake VL, Hong Z, et al. Size of the zinc pool that exchange rapidly with plasma zinc in humans: Alternative techniques for measuring and relation to dietary intake. *J. Nutrition* 1994; 124: 268-344
22. Miller LV, Krebs NF, Hambidge KM. Human zinc metabolism: Advances in the modelling of stable isotope data. *Adv Exp Med Biol* 1998; 445: 253-322

23. Hambidge KM, Krebs NF, Miller L. Evaluation of zinc metabolism with Use of stable-isotope techniques: Implications for the assesment of zinc status. *Am J.Clin Nutrition* 1998; 68: 410-413
24. Tomat L, Arranz C, Costa M. Zinc resriction during different periods of life, Influence in renal and cardiovascular diseases. *Nutrition* 2010; 27: 392-398
25. Bhagavan NV. *Medical Biochemistry*. Boston: Jones and Bartlett Publishers 1992; 880-882
26. Whitney EN, Hamilton EMN, Rolfes SR. *Understanding Nutrition*. Fifth Edition. New York: West Publishing Company 1990; 326-356
27. Uyanık F. Hayvanlarda çinko metaboliması. *Erciyes Üniv. Sağlık Bilim. Dergisi* 1998; 7: 58-66
28. Merten K, Jiang Y, Kang J, Zinc inibits Doxorubicin-Activated Calcineurin Signal Transduction Pathays in H9c2 Embriyonic Rat Cardiac Cells 2007; 232: 682-689
29. Roth HP, Kirchgenger M. Zur Biochemie Des Zincs. In: Holtmeimer HJ, Krusejarres JD. Editors. *Zinc: biochemie, physiologie, pathophysiologie und Klinik Des Zinstoffwechseis Des menschen*. Stuttgart (DE): Wissensschaftliche Verlagsgesellschaft. 1991; 67-77
30. Berg JM, Shi Y. The galvanization of Biology: A Growing Appreciation for the roles of zinc. *Science* 1996; 271: 1081-1086
31. Fraker PJ, Telford WG. A reappraisal of the role of zinc in life and death decision of cell. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1997; 215: 229-36
32. Ploysagnam A, Falciglia GA, Brehm Bj, Effect of marginal zinc deficiency on human growth and development. *J Trop Pediatr* 1997; 43: 192
33. Beck FW, Kaplan J, Fine N, Prasad AS. Decreased expression of CD-73 in the CD-8+ subset is associated with zinc deficiency in human patients. *J Lab Clin Med*. 1997; 130: 147-203
34. Falschuk KH. The molecular basis for the role of zinc in developmental biology. *Mol Cell Biochem* 1998; 188: 41-49
35. Sanstead HH. Understanding Zinc: Recent observations and interpretations. *JLab Clin Med*. 1994; 124: 322-329
36. Prasad AS. Zinc and enzymes. In Prasad AS. (Ed.). *Biochemistry of zinc*. NewYork: Plenum 1993; 17-53

37. Bhutta ZA, Bhutta ZA, Black RE, Brown KH, et al. Prevention of diarrhea and pneumonia by zinc supplementation in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr* 1999; 135: 689-796
38. Dursun N, Aydoğan S, Deneysel Çinko Eksikliğinin Karbonik Anhidraz Aktivitesi Üzerine Etkisi. *Doğa-tr. J.of Medical Sciences* 1990; 14: 365-373
39. Afonne OJ, Orisakwe OE, Ekanem IA. Zinc Protects Chromium- Induced Testicular Injury in Mice, *Indian Journal of Pharmacology*. 2002; 34: 26-31
40. Arcasoy A. Çinko ve Çinko Eksikliği, 2.Baskı, Ankara Talasemi Derneği Yayınları 2002; 1-23
41. Bashandy SA, Alhazza IM, Mubarak M. Role of Zinc in the Protection Against Cadmium Induced Hepatotoxicity. *International Journal of Pharmacology* 2006; 2: 79-88
42. Bartra N, Nehru B, Bansal MP. The Effect of Zinc Supplementation on The Effects of Lead on the Rat Testis. *Reproductive Toxicology* 1998;5:535-540
43. Boran C, Özkan UK. The effect of zinc therapy on damaged testis in pre-pubertal rats. *Pediatr Surgery Int* 2004; 20:444-448
44. Düzgüner V. Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulan Tavşanlarda Çinkonun Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, MKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji (VET) Anabilim Dalı, Hatay 2005
45. Bergh ARJ. The Acute Vascular Effects of Cadmium in the Testis Do Not Require The Presence of Leydig Cells. *Toxicology* 1990; 63: 183-186
46. Petering DH, Loftsgaarden J, Schneider J, Fowler B. Metabolism of Cadmium, Zinc and Copper in the Rat Kidney: The Role of Metallothionein and Other Binding Sites, *Environmental Health Perspectives* 1984; 54: 73-81
47. Shuai Y, Guo JB, Peng S, et al. Metallothionein protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy through inhibition of superoxide generation and related nitrosative impairment. *ScienceDirect. Toxicology Letters* 2007; 170: 66-74
48. Vallee BL, Auld RS. Zinc methallochemistry in biochemistry. *EXS* 1995;73: 259-77
49. Sato M, Kondoh M. Recent Studies on metallothionein: protection against toxicity of heavy metals and oxygen free radicals. *Thoku Journal Experimental Medicine* 2002; 196: 9-22
50. Goyer RA. Toxic and essential methal interactions. *Annu Rev Nutrition* 1997; 17: 37-50

51. Elgohari WG, Sidhu S, Krezoski SO, Petering DH, Byrnes RW. Protection of DNA HL-60 cells from damage generated by hydroxyl radicals produced by reaction of hydrogen peroxide with cell iron by zinc metallothionein. *Chem Biol Interact* 1998; 115: 85-107
52. Vasak M. Advances in metallothionein structure and functions. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2005; 19: 13-17
53. Klassen CD, Liu J, Choudhuri S. Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 1999; 39: 267-294
54. Davis SR, Cousins RJ. Metallothionein expression in animals: Aphysiological perspective on function. *The Journal of Nutrition* 2000; 13: 1085-1088
55. Tapiero H, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2003; 57: 399-41
56. Nordberg M. Metallothioneins: historical review and state of knowledge. *Talanta* 1998; 46: 243-254
57. Rigby KE, Stillman MJ. Structural studies of metal-free metallothionein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004; 325: 1271-1278
58. Andrews GK. Cellular zinc sensors: MTF-1 regulation of gene expression. *BioMetals* 2001; 14: 223-237
59. Beyersmann D. Homeostasis and cellular functions of zinc. *Werkstofftech* 2002; 33: 764-769
60. Karagulova G, Yue Y, Moreyra A, et al. Protective Role Of Intracellular Zinc In Myocardial Ischemia Reperfusion Is Associated With Preservation Of Protein Kinase C Isoforms. *The journal of pharmacology and experimental, therapeutics* 2007; 321: 517-525
61. Black MM. Zinc deficiency and child development. *American Journal of Clinical Nutrition* 1998; 68: 464-469
62. Hidalgo J, Aschner M, Zatta P, Vasak M. Roles of the metallothionein family of proteins in the central nervous system. *Brain Research Bulletin* 2001; 5: 133-145
63. Klaassen CD, Choudhuri S, McKim JM, Lehman-McKeeman LD, Kershaw WC. In vitro and in vivo studies on the degradation of metallothionein. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 141-146

64. Wong KL, Klaassen CD. Isolation and characterization of metallothionein which is highly concentrated in newborn rat liver. *The Journal of Biological Chemistry* 1979; 254: 12399-12403
65. Tsujikawa K, Imai T, Kakutani M, et al. Localization of metallothionein in nuclei of growing primary cultured adult rat hepatocytes. *Federation of European Biochemical Societies* 1991; 283: 239-242
66. Woo ES, Monks A, Watkins SC, Wang AS, Lazo JS. Diversity of metallothionein content and subcellular localization in the National Cancer Institute tumor panel. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997; 41: 61-68
67. Kang YJ. The antioxidant functions of metallothionein in the heart. *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine* 1999; 222: 263-273
68. Klassen RB, Crenshaw K, Kozyraki R, et al. Megalin mediates renal uptake of heavy metal metallothionein complexes. *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 2004; 287: 393-403
69. Thomas KV. Determination of the antifouling agent zinc pyrithione in water samples by copper chelate formation and highperformance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1999; 833:105–109
70. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/ALDRICH/H6377?lang=en®ion=TR>, (25.05.2012).
71. Viswanath K, Bodiga S, Balogun V. et al. Cardioprotective effect of zinc requires ErbB2 and akt during hypoxia/reoxygenation. *Biometals: an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine* 2011; 24: 171-80
72. Allen A, The cardiotoxicity of chemotherapeutic drugs. *Semin. Oncol* 1992; 19: 529–42
73. Xi J, Tian W, Zhang L, et al. Morphine prevents the mitochondrial permeability transition pore opening through NO/cGMP/PKG/Zn²⁺/GSK-3 β signal pathway in cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 298: 601-607
74. Chanoit G, Lee S, Xi J, et al. Exogenous zinc protects cardiac cells from reperfusion injury by targeting mitochondrial permeability transition pore through inactivation of glycogen synthase kinase-3 β . *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295: 1227-1233
75. Liu X. Protection of Pifithrin- α and Melatonin Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity, Doctor's Degree Thesis, East Tennessee State University Biomedical Science, United States 2003

76. Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Lesniewski-Kmak K. Anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical course, risk factors, pathogenesis, detection and prevention-review of the literature. *Med Sci Monit* 2000; 6: 411-431
77. Hortobagyi GN. Anthracyclines in the treatment of cancer: an overview. *Drugs* 1997; 4: 1-7
78. Chabner BA, Ryan DP, Paz-Ares L, Garcia-Carbonero R, Calabresi P. Chemotherapy of Neoplastic Diseases. In: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (edt): Hardman JG, Limbird LE, Goodman LS, Gilman A, 10th ed, McGraw-Hill, USA 2001; 1426-1428
79. Gewirtz DA. Critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochem Pharmacol*, 1999; 57: 727-741
80. Li T, Danelisen I, Bello-Klein A, Singal PK. Effects of probucol on changes of antioxidant enzymes in adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. *Cardiovasc Res* 2000; 46: 523-530
81. Türker A, Kayaalp O., Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar. İçinde: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (edt): Kayaalp O, 10. Baskı, Hacettepe-Tas, Ankara 2002; 380-415
82. Li T. Early Changes in Myocardial Antioxidant Enzymes Due to Adriamycin and Modulation by Probucol. Doctor's Degree Thesis, University of Manitoba, Department of Physiology Faculty of Medicine, Canada 2000
83. Shan K. Lincoff AM, Young JB. Anthracycline-induced cardiotoxicity. *Ann.Intern.Med* 1996; 125: 47-58
84. Steinherz LJ, Steinherz PG, Tan CT, Heller G, Murphy ML. Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. *J Am Med Assoc* 1991; 266:1672-1679
85. Lipshultz SE, Colan SD, Gelber RD, et al. Late cardiac effects of doxorubicin therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med* 1991; 324: 808-823
86. Doroshow JH. Doxorubicin-induced cardiac toxicity. *N Engl J Med* 1991; 324: 843-848
87. Keefe DL. Anthracycline-induced cardiomyopathy. *Semin Oncol* 2001; 28: 2-7
88. Eschenhagen T, Force T, Ewer MS, et al. Cardiovascular side effects of cancer therapies: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, *European Journal of Heart Failure* 2011;13: 1-10

89. Ewer MS. Cardiotoxicity of anticancer treatments : what the cardiologist needs to know, *Nature reviews Cardiology* 2010; 7: 564-575
90. Van Dalen EC, Caron HN, Dickinson HO, Kremer LC. Cardioprotective interventions for cancer patients receiving anthracyclines. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 1: 3917
91. Gressett SM, Shah SR. Intricacies of bevacizumab-induced toxicities and their management. *Annals of Pharmacotherapy* 2009; 43: 490-501
92. Meinardi MT, Van Der Graaf WTA, Van Veldhuisen DJ, Gietema JA, De Vries EGE, Sleijfer DT. Detection of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Cancer Treatment Reviews* 1999; 25: 237-247
93. Buzdar AU, Marcus C, Smith TL, Blumenschein GR. Early and delayed clinical cardiotoxicity of doxorubicin. *Cancer* 1985; 55: 2761-2765
94. Yeh ET, Bickford CL. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management. *Journal of the American College of Cardiology* 2009; 53: 2231-2247
95. Aggarwal S. Targeted cancer therapies. *Nature Reviews Drug Discovery* 2010; 9: 427-428
96. Simunek T, Sterba M, Popelova O, Adamcova M, Hrdina R, Gersi V. Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. *Pharmacological Reports* 2009; 61: 154-171
97. Bernaba BN, Chan JB, Lai CK, Fishbein MC. Pathology of late-onset anthracycline cardiomyopathy. *Cardiovascular Pathology, Elsevier* 2010; 19: 308-311
98. Aleman BM, Van Den Belt-Dusebout AW, De Bruin ML, et al. Late cardiotoxicity after treatment for Hodgkin lymphoma. *Blood* 2007; 109: 1878-1886
99. Ganz PA, Hussey MA, Moinpour CM, et al. Late cardiac effects of adjuvant chemotherapy in breast cancer survivors treated on Southwest Oncology Group protocol S8897. *Journal of Clinical Oncology* 2008; 26: 1223-1230
100. Ganz PA, Land RS, Antonio C, et al. Cancer survivorship research: the challenge of recruiting adult long term cancer survivors from a cooperative clinical trials group. *Journal of cancer survivorship* 2009; 3: 137-147
101. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer* 2003; 97: 2869-2879

102. Raschi E, Vasina V, Ursino MG, et al. Anticancer drugs and cardiotoxicity: insights and perspectives in the era of targeted therapy. *Pharmacology and Therapeutics* 2010; 125: 196-218
103. Rayson D, Richel D, Chia S, et al. Anthracycline-trastuzumab regimens for HER2/neu-overexpressing breast cancer: current experience and future strategies. *Annals of Oncology* 2008; 19: 1530-1539
104. Horie T, Ono K, Nishi H, et al. Acute doxorubicin cardiotoxicity is associated with miR-146a-induced inhibition of the neuregulin-ErbB pathway. *Cardiovascular Research* 2010; 87: 656-664
105. Keizer HG, Pinedo HM, Schuurhuis GJ, Joenje H. Doxorubicin (adriamycin): a critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity. *Pharmacology and Therapeutics* 1990; 47: 219-231
106. Sawyer DB, Peng X, Chen B, Pentassuglia L, Lim CC. Mechanisms of anthracycline cardiac injury: can we identify strategies for cardioprotection? *Progress in Cardiovascular Diseases* 2010; 53: 105-113
107. Zhang YG, Shi J, Li JY, Wei L. Cardiomyocyte death in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 2009; 57: 435-445
108. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews* 2004; 56:185-229
109. Halestrap AP. What is the mitochondrial permeability transition pore? *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2009; 46: 821-831
110. Baines CP. The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury. *Basic Research in Cardiology* 2009; 104: 181-188
111. Nakagawa T, Shimizu S, Watanabe T et al. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature* 2005; 434: 652-658
112. Schinzel AC, Takeuchi O, Huang Z, et al., Cyclophilin D is a component of mitochondrial permeability transition and mediates neuronal cell death after focal cerebral ischemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005; 102: 12005-12010

113. Nakayama H, Chen X, Baines CP, et al. Ca^{+2} and mitochondrial-dependent cardiomyocyte necrosis as a primary mediator of heart failure. *The Journal of Clinical Investigation* 2007; 2431-2444
114. Arbustini E, Brega A, Narula J. Ultrastructural definition of apoptosis in heart failure *Heart Failure Reviews* 2008: 121-135
115. Ecuyer TL, Allebban Z, Thomas R, Vander Heide RS. Glutathione S-transferase overexpression protects against anthracycline-induced H9C2 cell death. *American Journal of Physiology* 2004; 286: 2057-2064
116. Lu L, Wu W, Yan J, et al. Adriamycin-induced autophagic cardiomyocyte death plays a pathogenic role in a rat model of heart failure. *International Journal of Cardiology* 2009; 134: 82-90
117. Kimura T, Fujita I, Nario I, et al. Meallothionein acts as a cytoprotectant against doxorubicin Toxicity. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2000; 292: 299-302

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KAYSERİ-TÜRKİYE**

ETİK KURULUN ADI : Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı
ETİK KURULUN ADRESİ : Erciyes Üniversitesi

Tarih: 10.08.2011

Toplantı Sayısı: 07

Karar No: 11/100

Etik kurul toplantısı

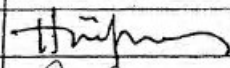
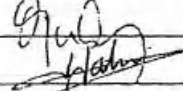
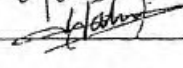
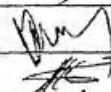
10.08.2011

tarihinde Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yere

Etik Kurul

Prof.Dr. Harun ÜLGER

Başkanlığı'nda gerçekleştirilmiştir.

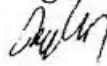
Üye Adı/Soyadı	Akademik Ünvanı	Fakültesi	İmza
Harun Ülger	Prof. Dr	Tıp Fakültesi	
Özlem Canöz	Prof. Dr	Tıp Fakültesi	
Hatice Özbilge	Prof. Dr.	Eczacılık Fakültesi	
Coşkun Tez	Doç. Dr.	Fen Fakültesi	
Servet Kesim	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fakültesi	
M. Betül Aycan	Yrd. Doç. Dr.	Eczacılık Fakültesi(Farmakoloji)	
Abdullah İnci	Prof.Dr.	Veteriner Fakültesi	
Füsun Ferdaş Erdoğan	Doç.Dr	Tıp Fakültesi	
Ahmet Öztürk	Öğrt.Gör.Dr		
Serap Altuntaş Eroğlu	Avukat		
Asiye Gökdelen			

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Prof..Dr.Nurcan DURSUN tarafından yapılan "Kalp Myositlerinde / Reperfüzyon Hasarını Azaltmada Çinkonun Rolü " adlı araştırması incelenerek çalışmasının yapılmasının uygun olacağına ve rektörlük makamına sunulmasına oy birliğiyle karar verildi.

ASLININ AYNIDIR

Ocaklı Sekreteri

Bingül Karaman



Tarih : 10.08.2011

Etik Kurul Başkanı İmzası

Etik Kurul Başkanı : Prof.Dr. Harun ÜLGER



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Songül BİLTEKİN

Uyruğu: T.C

Dogum Tarihi ve Yeri: 03 Ocak 1978, Şarkışla

Medeni Durumu: Evli

Tel: 0 5374416570

email: songulbiltekin38@mynet.com

Yazısma Adresi: Turgutreis mah. Payaslı sokak merve apt.9/16 Kocasinan / Kayseri

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Erciyes Üniversitesi	2003
Lise	Kırşehir Sağlık Meslek Lisesi	1997

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2000-2004	Bünyan Devlet Hastanesi	Hemşire
2004-2011	Bor Devlet Hastanesi	"
2011-2012	Kayseri Eğitim Araştırma Hastanesi	"

Yabancı Dil

İngilizce