T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN

İSOPROTERENOL İLE DENEYSEL MİYOKART İNFARKTÜSÜ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA MELATONİNİN SERUM PARAOKSONAZ AKTİVİTESİNE ETKİSİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Eray ÖZGÜN

EDİRNE - 2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her konuda bilgi ve tecrübeleri ile yanımda olan değerli danışman hocam Biyokimya AD öğretim üyesi Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN'e, Biyokimya AD Başkanı Prof. Dr. Erol ÇAKIR'a, Biyokimya AD öğretim üyeleri Doç. Dr. Sevgi ESKİOCAK'a ve Doç. Dr. Hakan ERBAŞ'a, Patoloji AD öğretim üyesi Doç. Dr. Ufuk USTA'ya, M. Sc. Gülben SAYILAN ÖZGÜN'e, M. Sc. Ebru GÖNCÜ'ye ve tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **PARAOKSONAZ-1** 3
- **AKUT MİYOKART İNFARKTÜSÜ** 6
- **İSOPROTERENOL** 10
- **MELATONİN** 11

GEREÇ VE YÖNTEMLER 15

BULGULAR 23

TARTIŞMA 38

SONUÇLAR 45

ÖZET 48

SUMMARY 50

KAYNAKLAR 52

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

Apo : Apolipoprotein

EKG : Elektrokardiyografi

HDL : Yüksek dansiteli lipoprotein

ISO : İsoproterenol

LDL **:** Düşük dansiteli lipoprotein

MDA : Malondialdehit

OSİ : Oksidatif stres indeksi

PON : Paraoksonaz

TAS : Total antioksidan durum

TG : Trigliserit

TnI : Troponin I

TOS : Total oksidan durum

VLDL : Çok düşük dansiteli lipoprotein

GİRİŞ VE AMAÇ

Paraoksonaz-1 (PON1) enzimi, kalsiyum bağımlı bir esteraz olup, serumda yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)'e bağlı olarak taşınır (1). Organofosfatları hidroliz etmesi nedeniyle toksikolojik çalışmalarda kullanılan PON1'in HDL'yi, düşük dansiteli lipoproteini (LDL) ve makrofajları oksidasyondan koruyarak ateroskleroz gelişimini önlediği gösterilmiştir (2).

Miyokart infarktüsü, koroner kalp hastalıklarının komplikasyonu olarak ortaya çıkan, uzamış iskemiye bağlı olarak gelişen miyokart hasarı ve nekrozudur (3). Hem dünyada hem de ülkemizde en önemli sağlık sorunlarının başında gelmektedir (3,4). Çoğunlukla koroner arter trombozu ile oluşan miyokart infarktüsünün patogenezinde ateroskleroz önemli rol oynamaktadır (5). Miyokart infarktüsü tanısı hastanın kliniği ile birlikte elektrokardiyografi (EKG) ve biyokimyasal belirteçler ile konulmaktadır (6). Miyokart kontraksiyonunda görev alan Troponin I (TnI) ve Troponin T, miyokart hasarı sırasında kana geçmekte olup, kandaki ölçümleri miyokard hasarının oldukça duyarlı ve özgül biyokimyasal belirteçlerindendir (7).

Lipid metabolizması bozuklukları koroner kalp hastalıkları ve ateroskleroz etiyolojisinde önemli rol oynamaktadır (8,9). Artmış serum trigliserit (TG), kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri ile birlikte azalmış HDL kolesterol düzeyleri koroner arter hastalığı için risk oluşturur (10). İsoproterenol (ISO) ile oluşturulan miyokart infarktüsünde serumda total kolesterol, TG, LDL kolesterol düzeyleri artarken, HDL kolesterol düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (11-14).

Pro-oksidanlar ile antioksidanların arasındaki dengenin pro-oksidanlar lehine bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır. Artmış oksidatif stres lipid, protein ve DNA gibi moleküllerin yapısını değiştirerek hücre hasarına yol açar (15). Lipid peroksidasyonunun

göstergesi olan malondialdehit (MDA), poliansature yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu açığa çıkar (16). Total oksidan durum (TOS) (17), total antioksidan durum (TAS) (18) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) (19) oksidatif durumun değerlendirilmesinde kullanılan parametrelerdir.

Paraoksonaz aktivitesi düşüklüğü koroner kalp hastalığı için risk faktörü olup (20), miyokart infarktüsü geçiren bireylerde PON aktivitesi düşük bulunmuştur (21). PON aktivitesindeki bu düşüklüğün miyokart infarktüsü sırasında mı olduğu yoksa miyokart infarktüsü etiyolojisinde yer alan ateroskleroza mı bağlı olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Beta reseptör agonisti olan ISO'nun yüksek dozlarda uygulanması deneysel miyokart infarktüsü oluşturmak için kullanılmaktadır (22,23). ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü sonucu kalpte oluşan patofizyolojik değişiklikler, insanlarda miyokart infarktüsü sonrası oluşan değişikliklere benzerlik göstermekte olup (22,24), ayrıca dislipidemiye, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunda artışa yol açmaktadır (13,25).

Melatonin indolamin yapısında endojen bir hormon olup, güçlü bir antioksidandır (26). ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde melatoninin kalp üzerine koruyucu etkileri gösterilmiştir (27-29).

Bu çalışmanın amacı, aterosklerozdan bağımsız bir deneysel miyokart infarktüs modelinde, serum PON aktivitesini ve melatoninin bu aktivite üzerine etkisini araştırmaktır. Bu amaçla Wistar albino cinsi erkek sıçanlarda ISO ile deneysel miyokart infarktüsü oluşturularak, melatonin tedavisinin serum PON aktivitesi, TnI, TOS, TAS, OSİ, MDA, TG, total, HDL, VLDL ve LDL kolesterol düzeylerine, PON/HDL oranına ve ateroskleroz indeksine etkisi incelenmiştir.

GENEL BİLGİLER

PARAOKSONAZ-1

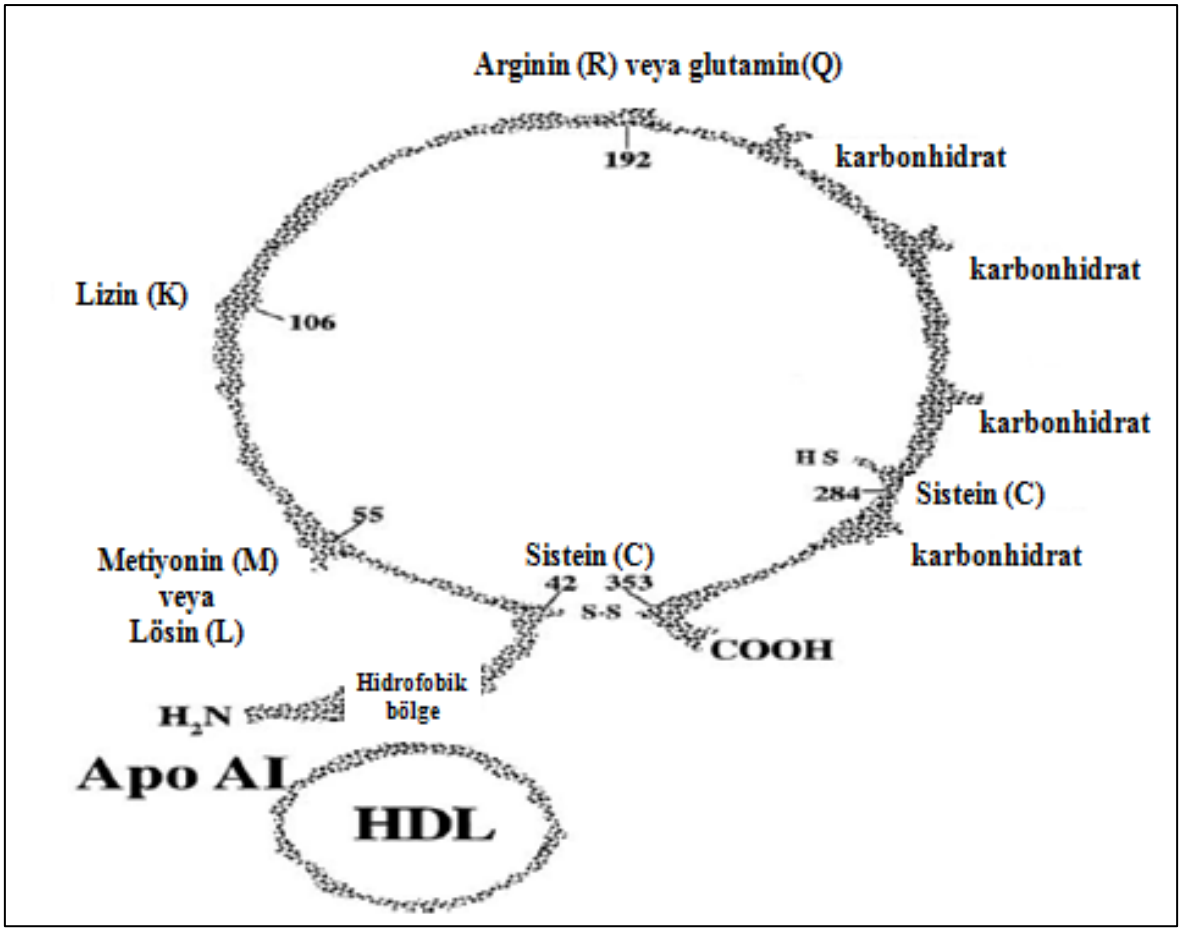
Hayvan dokularında organofosfat hidrolizi yapan bir enzimin varlığı ilk olarak 1946 yılında Abraham Mazur tarafından bildirilmiş ve organofosfatlardan biri olan paraoksonu hidroliz etme yeteneği nedeniyle enzime PON adı verilmiştir. 1953 yılında Aldridge, esterazları A ve B tipi olmak üzere ikiye ayırmış ve organofosfat hidrolizi yapabilen PON gibi enzimleri A tipi, organofosfatlar ile inhibe olan serin karboksilesterazlar ve kolinesterazlar gibi enzimleri B tipi esteraz olarak sınıflandırmıştır (30,31).

Paraoksonaz gen ailesi PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç enzimden oluşmaktadır. İnsanlarda bu enzimlerin genleri 7. kromozomun q21-q22 bantlarında, farelerde ise 6. kromozomda bulunmaktadır (30-32). Tüm türlerde üç PON geninde de aynı uzunlukta dokuz ekzon bulunmaktadır. İnsan, fare ve tavşanlarda PON1 proteinlerinin aminoasit kalıntısı %80 benzerlik göstermektedir. Aynı tür içinde PON1, PON2 ve PON3 proteinlerinin aminoasit kalıntısı arasında en az %60 benzerlik bulunmaktadır (31). Üç enzim de dolaşımdaki oksidatif dengenin korunmasında önemli rol oynamakta ve ateroskleroz gelişimini önlemektedir. PON1 üzerine yapılan çalışmalar diğer iki enzime göre daha fazla olup, son zamanlarda PON2 ve PON3'e olan ilgi de gittikçe artmıştır (1).

Paraoksonaz-1, esas olarak karaciğerde üretilmekle birlikte böbrek ve kolonda da mRNA'sı bulunmuştur (32). PON1 dolaşımda HDL'ye bağlı olarak taşınır (1,31). Farelerde PON1 enzimi immünohistokimyasal olarak; deri dış epiteli, yağ bezleri, dil epiteli, submandibuler bez, barsak ve mide yüzey epiteli, hepatositler, ekzokrin pankreas, böbrek proksimal tübülleri vb... gibi birçok dokuda bulunmuştur (33). Sentezi sadece belli dokularda

gerçekleşmesine rağmen PON1'in dokulardaki dağılımının geniş olması, dolaşımda HDL tarafından taşınan PON1'in HDL'den ayrılarak dokulara geçmesine bağlıdır (34).

Paraoksonaz-1, 43-45 kDa ağırlığında kalsiyum bağımlı bir esterazdır (1). Yapısında iki adet kalsiyum bağlayıcı bölge bulunmaktadır. Kalsiyumlardan biri yapısal stabilite, diğeri katalitik aktivite için gereklidir (35). PON1 enzimi 42, 284 ve 353. konumlarında üç adet sistein kalıntısı içerir. Bu sistein kalıntılarından 284. pozisyondaki serbesttir oysa diğer sisteinler arasında disülfid bağı vardır. PON1 enziminin N-terminal ucunda bulunan hidrofobik yapıya sahip sonlanma bölgesi HDL ile etkileşimi sağlamaktadır. PON1'in fosfolipidlere bağlanmasında apolipoprotein (apo) A1 de rol alır (Şekil 1) (36).



Şekil 1. Paraoksonaz-1 enziminin yapısı (36)

Apo AI: Apolipoprotein AI**; HDL:** Yüksek dansiteli lipoprotein.

Paraoksonaz-1 için ilk tanımlanan substratlar organofosfatlı insektisitlerdir. PON1 enziminin fenilasetatı hidroliz ederek arilesteraz aktivitesi gösterdiği önceden beri bilinmektedir (37). Daha sonraki yıllarda PON1 için yeni substratlar tanımlanmış ve PON1'in

laktonları hidroliz edebilme yeteneğine sahip olduğu da gösterilmiştir. Organofosfatlı bileşikler ve fenilasetatın yapay maddeler olup doğada bulunmamaları, laktonların ise hem doğal substratlar olmaları hem de yapısal olarak çoklu doymamış yağ asitlerinin okside metabolitlerine benzemeleri nedeniyle PON1 enziminin asıl aktivitesinin laktonaz aktivitesi olduğu öne sürülmüştür (38,39). Proteinlerin homosisteinilasyonu, protein inaktivasyonuna ve hücre hasarına neden olmaktadır. Aminoaçil-tRNA sentetazların ilave reaksiyonları ile oluşan homosistein tiyolaktonun da, PON1'in substratı olduğu, enzimin homosistein tiyolakton hidrolaz aktivitesi gösterdiği ve proteinleri homosisteinilasyondan koruduğu gösterilmiştir (40). PON1 aynı zamanda Pseudomonas aeruginosa virülansı için gerekli olan quorum-sensing komponentlerinden en önemlisi N-(3-oksododekanoil)-l-homoserin laktonu da hidroliz ederek bu patojene karşı savunmada görev almaktadır (41). PON1'in peroksidaz ve esteraz aktivitesi, oksidatif stres mediatörlerine karşı etkilerinden sorumlu olabilir (1).

İnsanlarda PON1 kodlayıcı bölgede sıklıkla çalışılmış iki adet polimorfizm bulunmaktadır. Bunlar 55. pozisyondaki lösin/ metiyonin ve 192. pozisyondaki glutamin/ arginin polimorfizmleridir. 192. pozisyondaki polimorfizm PON1 protein konsantrasyonunu etkilememekte, PON aktivitesi bu pozisyonda arginin varlığında artmaktadır. 55. pozisyonda lösin varlığı PON1 protein konsantrasyonunu ve PON aktivitesini arttırmaktadır. Promoter bölgede en önemlisi -108'de sistein/ treonin polimorfizmidir. Bu bölgede sistein bulunan bireylerde PON1 konsantrasyon ve aktivitesi artmıştır (1,31).

Paraoksonaz-1, organofosfataz aktivitesi aracılığıyla organofosfatlı bileşikleri detoksifiye etmesi nedeniyle önceleri toksikolojik araştırmalarda kullanılmıştır (42). Daha sonraki yıllarda, dolaşımda HDL'ye bağlı olarak taşınan PON1'in aterosklerozu engelleyici role sahip olduğu bulunmuştur. Aterosklerozu önleyici etkisi HDL, LDL ve makrofajları oksidasyondan korumasına bağlıdır (2). PON1, HDL'nin oksidasyonunu önler ve HDL'yi fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için korur (43). HDL, LDL'deki lipid peroksidasyonunu engeller. HDL'nin bu antioksidan etkisinden yapısında primer olarak taşıdığı PON1 enziminin sorumlu olduğu gösterilmiştir (44). PON1, makrofajların okside LDL alımını önler, kolesterol biyosentezini azaltır ve makrofajlardan HDL aracılıklı kolesterol taşınmasını arttırır (2). Oksidatif stresin arttığı durumlarda PON1'in inaktive olduğu da gösterilmiştir. Bunun, enzimin oksidatif stresi arttıran durumlarda tampon etkisi göstermesine bağlı olduğu düşünülmektedir (1). Ancak oksidatif stres artışı, PON1'in diğer aktivitelerini azaltırken ilginç bir şekilde peroksidaz aktivitesini değiştirmemektedir (45).

Paraoksonaz-1, antioksidan rolünün yanı sıra anti-inflamatuvar rol de oynamaktadır. Akut faz yanıtı sırasında HDL anti-inflamatuvar özelliğini kaybederek pro-inflamatuvar özellik kazanmaktadır. C-reaktif protein, serum amiloid A gibi proteinlerin arttığı akut faz yanıtı sırasında HDL'nin serum amiloid A içeriğindeki artış ile korele olarak PON1 ekspresyonu ve aktivitesi azalmaktadır (46,47). Tümör nekroz faktör alfa, interlökin 6, interlökin 1 beta gibi pro-inflamatuvar mediatörler PON1 ekspresyonunu ve aktivitesini azaltmaktadırlar (1).

İnflamatuvar barsak hastalıkları (48-50), gastroözafajiyel maligniteler (51), karaciğer hastalıkları (52), Behçet hastalığı (53) gibi birçok hastalıkta da PON1 aktivitelerinde azalma saptanmıştır.

AKUT MİYOKART İNFARKTÜSÜ

Miyokart infarktüsü klinikte birincil olarak koroner kalp hastalığının komplikasyonu olarak ortaya çıkan, ileri derecede uzamış iskemiye bağlı geri dönüşü olmayan miyokart hasarı ve nekrozudur. Miyokart infarktüsü, klinik, EKG, biyokimyasal ve patolojik özelliklerine göre birçok farklı yaklaşımla tanımlanabilir (3).

Dünya Sağlık Örgütü 2008 yılı verilerine göre tüm ölümlerin % 12.5'ini oluşturan iskemik kalp hastalıkları'na bağlı ölümler ilk sırada yer almaktadır (4). Türkiye'de Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması çalışması 2009 verilerine göre; ülkemizde yaklaşık 3.1 milyon koroner kalp hastasının bulunduğu ve bu sayının yılda %6.4 oranında arttığı, yılda 190 bin kişinin koroner kalp hastalığından öldüğü bildirilmektedir. Türkiye'de koroner kalp hastalığına bağlı yıllık mortalite erkeklerde %0.76, kadınlarda ise %0.38'dir (3).

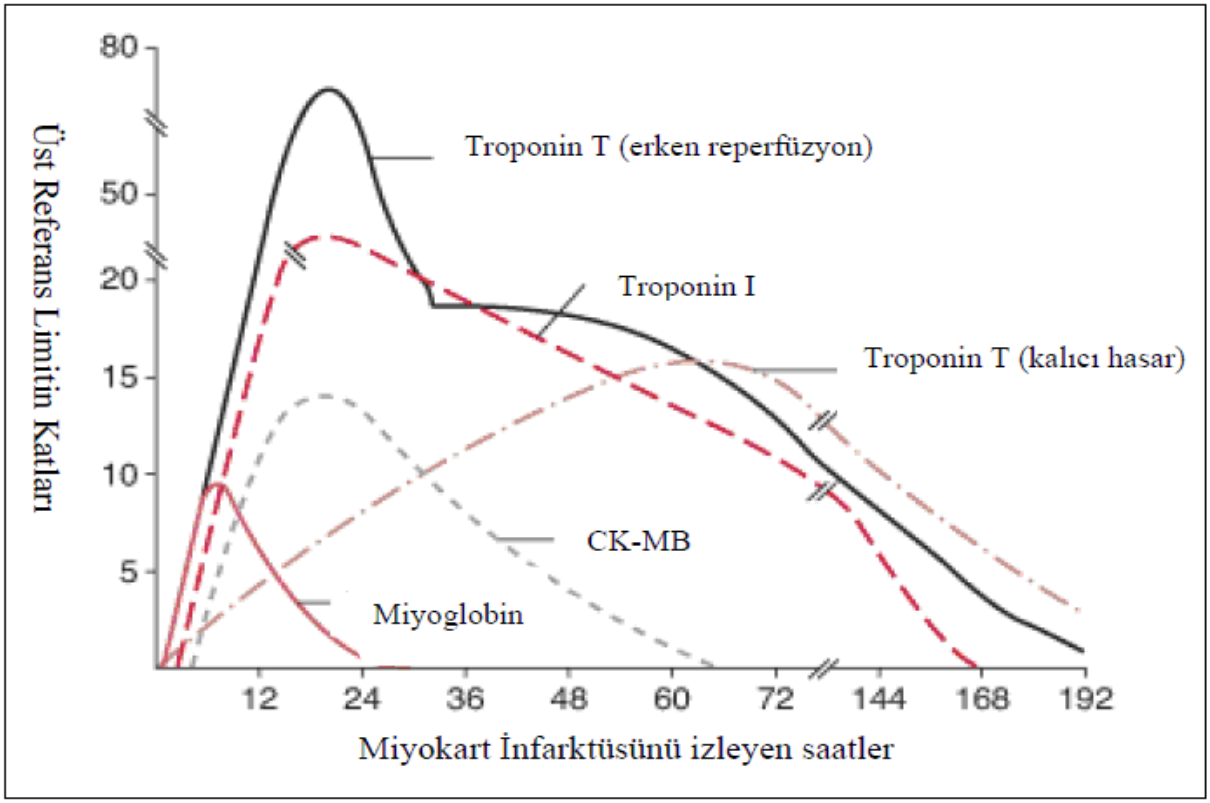
Akut miyokart infarktüsü çoğunlukla koroner arter trombozu ile oluşmakta, koroner arter trombozunun gelişmesinde ise ateroskleroz önemli rol oynamaktadır. Birçok vakada, altta yatan aterosklerotik plağın hasarlanması trombüs gelişmesine zemin hazırlar. Vazospazm ve trombosit agregasyonu koroner arter tıkanmasına yardımcı olabilir (5).

Miyokart nekrozu, koroner arter tıkanmasının 20-30 dakikası içinde başlar. Miyokardın subendokardiyal bölgesi ventrikülün en az perfüze olan bölgesi olduğundan, miyokart nekrozu tipik olarak subendokardiyal bölgeden başlar. Koroner arterlerin daha proksimal segmentlerinin tıkanması daha büyük infarktlar meydana getirmektedir. Kollateral damar gelişiminin olması infarktüs büyüklüğünü sınırlayabilir (5).

Akut miyokart infarktüsü tanısı için hastanın kliniği ile birlikte EKG, serum kardiyak belirteçleri ve kalp görüntüleme sistemleri kullanılır (6).

Elektrokardiyografi, genellikle uygulanan ilk test olup tanı için ana araçtır. İlk EKG akut miyokart infarktüsü geçiren hastaların %50'den fazlasında tanı koydurucudur. EKG'de izlenen akut miyokart infarktüsü değişiklikleri iskemi, hasar ve hücre ölümü düzeyinde olup, sırasıyla T-dalgası değişiklikleri, ST-segment değişiklikleri ve geniş Q dalgalarının görülmesi şeklinde yansır. EKG'nin tanısal duyarlılığı %50-75 arasında, özgüllüğü ise %100'e yakındır. Eğer EKG bulguları şüpheli ise tanı için serum belirteçlerine ihtiyaç duyulur (54).

En sık kullanılan kardiyak belirteçler kreatin kinaz izoenzimleri, laktat dehidrojenaz izoenzimleri, miyoglobin ve kardiyak troponinlerdir. Bu belirteçlerin hepsi miyokardiyal proteinler olmasına karşın, miyosit içindeki yerleşimleri, hasar sonrası salınımları ve serum klirensleri açısından farklılıklar gösterirler (Şekil 2) (54,55).



Şekil 2. Akut miyokart infarktüsünde kardiyak belirteçlerin salınma zamanları (55)

CK-MB: Kreatin kinaz MB.

Kardiyak Troponinler

Troponin I ve T ölçümü, miyokard hasarının oldukça duyarlı ve özgül göstergeleridir. Troponin kompleksi, miyokart kasılması için gerekli aktin ve miyozinin kalsiyuma bağlı

etkileşimini düzenler (7). Troponin kompleksi tropomiyozin bağlayıcı alt ünite (Troponin T), inhibitör alt ünite (TnI) ve kalsiyum bağlayıcı alt ünite (Troponin C) olmak üzere 3 proteinden oluşur. Troponin büyük oranda miyofibrillerde bulunur, az bir miktarı sitoplazmik yerleşim gösterir. Hasar sonucu troponin dolaşıma geçer. Troponin C'nin 2 önemli izoformu yavaş kasılan iskelet kası ile benzer olduğundan yararlı bir kardiyak belirteç değildir. TnI ve Troponin T ise kalp için spesifik olup miyokart hasarının belirlenmesinde kullanılmaktadır (54).

Akut Miyokart İnfarktüsü ve Lipidler

Lipitler organik çözücülerde çözünen ancak suda çözünmeyen bileşiklerdir. Kimyasal olarak lipitler, hidroliz edildiklerinde yağ asitleri açığa çıkaran veya yağ asitleri ile birleşerek esterler oluşturan kompleks alkoller olarak tanımlanırlar (10).

Trigliseritler, yağ asitlerinden oluşan en basit lipidler olup her biri gliserole ester bağlarıyla bağlanmış üç yağ asidinden oluşmaktadır (56). TG'lerin sindirimi duodenum ve proksimal ileumda olur, pankreatik ve barsak lipazlarının etkisiyle safra asitlerinin varlığında gliserol, monogliserit ve yağ asitlerine hidroliz olurlar. Emilimden sonra barsak epitel hücrelerinde tekrar sentezlenerek, kolesterol ve apo B48 ile birleşerek şilomikronları oluştururlar. Lenfatik dolaşıma katılan şilomikronlar torasik kanal boyunca ilerleyerek dolaşıma juguler venden katılırlar (10).

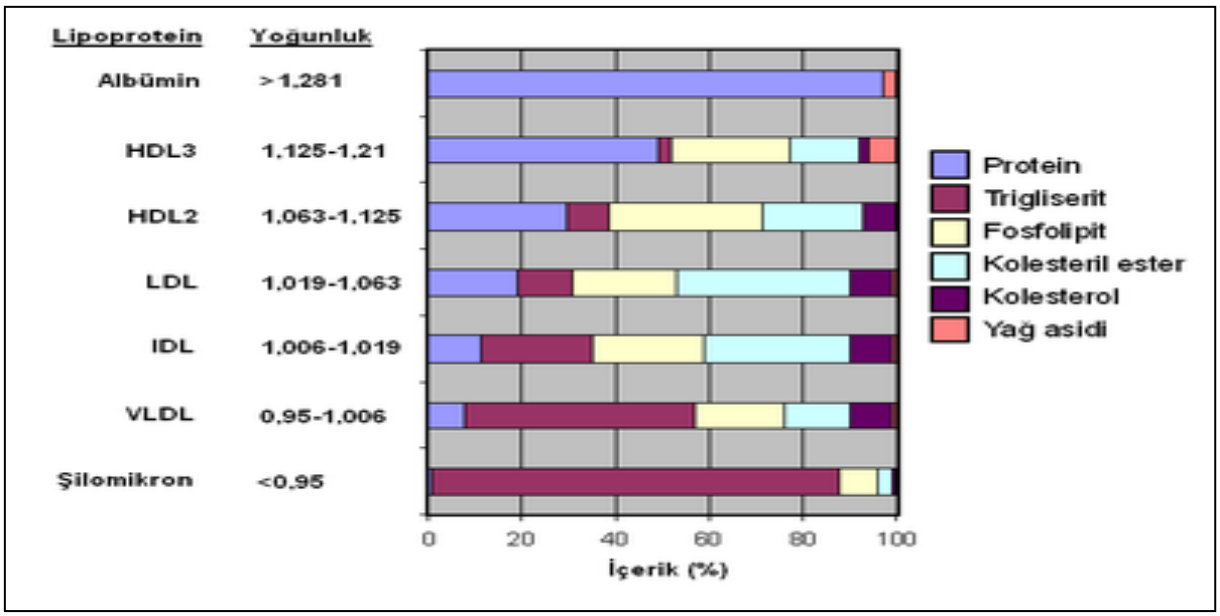
Kolesterol, 27 karbon atomunun steran iskeleti şeklinde düzenlenmiş olduğu steroid bir alkoldür. Kolesterol, hemen hemen tüm hayvan hücre ve vücut sıvılarında bulunur. Sindirim yolu ile barsak mukoza hücresine giren kolesterol, şilomikronların yapısına katılarak dolaşıma geçer (10).

Lipitler suda çözünmediklerinden apo adı verilen özgül taşıyıcı proteinler aracılığıyla kullanılacakları ya da depolanacakları dokulara taşınırlar. Apo'ların, fosfolipidler, kolesterol, kolesterol esterleri ve TG gibi lipidler ile birleşmesi sonucu oluşan makromoleküler komplekse ''lipoprotein'' denir. Lipoproteinler bir dokudan diğerine plazma yolu ile taşınırlar. Lipoproteinler yoğunluklarına göre ultrasantrifüjle şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) , ara dansiteli lipoprotein, LDL ve HDL olarak ayrılır (57).

Lipoprotein metabolizması, diyet kaynaklı lipidlerin taşındığı ekzojen yolak, karaciğer kaynaklı lipoproteinlerin diğer dokulara taşındığı endojen yolak, LDL'nin reseptör aracılıklı hücre içine alınması ve HDL aracılıklı ters kolesterol taşınması şeklinde dörde ayrılabilir (10).

Ana apolipoprotein olarak apo B-100 taşıyan, kolesterol ve kolesterol esterlerince çok zengin olan LDL'ler, apo B100'ü tanıyan özgül plazma zarı reseptörlerine sahip olan karaciğer dışı dokulara kolesterol taşırlar (57).

Karaciğer ve barsakta sentezlenen HDL, karaciğere kolesterol taşınmasında görev alır (57). HDL'nin yapısında apo A1, apo C1, apo C2 gibi apo'lar, lesitin kolesterol açil transferaz, PON1, lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 gibi enzimler, fosfolipid transfer proteini ve kolesterol ester transfer proteini gibi lipid transfer proteinleri, serum amiloid A gibi akut faz proteinleri ve kompleman 3 gibi kompleman proteinleri bulunmaktadır (Şekil 3) (58,59).



Şekil 3. Lipoproteinlerin yoğunluk ve bileşimleri (59)

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein**; LDL:** Düşük dansiteli lipoprotein**; IDL:** Ara dansiteli lipoprotein**; VLDL:** Çok düşük dansiteli lipoprotein.

Lipid metabolizması bozuklukları, koroner kalp hastalıkları ve ateroskleroz etiyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Artmış kolesterol düzeyleri ile miyokart infarktüsü arasında ilişki bulunmaktadır. Düşük HDL, yüksek LDL kolesterol ve TG düzeyleri koroner kalp hastalığı için risk oluşturur (9,10).

İsoproterenol ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde serum total kolesterol, TG, LDL kolesterol düzeylerinin arttığı, HDL kolesterol düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (11-14).

Akut Miyokart İnfarktüsü ve Oksidatif Stres

Canlıların yaşamsal ve biyokimyasal fonksiyonlarını devam ettirebilmesi için, pro-oksidanlar ve antioksidanlar arasında sürekli olarak kontrol edilmesi gereken bir denge vardır. Bu dengenin pro-oksidanlar lehine bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır ve oksidatif hasara yol açabilir (15). Poliansatüre yağ asidlerinin oksidasyonu sonucu oluşan MDA, lipit peroksidasyonunun en önemli göstergelerindendir (16).

Oksidatif stres ve antioksidan durumun değerlendirilmesi için birçok belirteç ve bunları ölçen farklı yöntemler bulunmaktadır. Ancak bu belirteçlerin ayrı ayrı ölçülmesi hem zaman alıcı hem de masraflıdır (15,60). Bu nedenle son yıllarda TOS (17) ve TAS (18) ölçülmekte ve TOS değeri, TAS değerine oranlanarak OSİ hesaplanmaktadır (19).

Hem miyokart infarktüsü geçiren bireylerde (61-63) hem de ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde (13,25,27) oksidatif stresin ve lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir.

Akut Miyokart İnfarktüsü ve Paraoksonaz-1

Akut miyokart infarktüsü, sıklıkla ateroskleroza bağlı olarak gelişmektedir (5). PON aktivitesinin azalması ile koroner kalp hastalıkları riski arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (20). Miyokart infarktüsü geçiren hastaların PON aktivitesinin düşük olduğu bildirilmiştir (21). PON aktivitesindeki bu düşüklük miyokart infarktüsünün etiyolojisinde yer alan ateroskleroza bağlı da olabileceğinden, miyokart infarktüsü sırasında PON aktivitesinin akut olarak nasıl değiştiği tam olarak bilinmemektedir.

İSOPROTERENOL

İsoproterenol (isopropilarterenol, isopropil noradrenalin, isoprenalin, isopropil norepinefrin, *d,l*-β-[3.4-dihidroksifenil]-α-isopropilaminetanol), α reseptörlerine karşı son derece düşük afinitesi olan, güçlü, seçici olmayan bir β reseptör agonistidir (22).

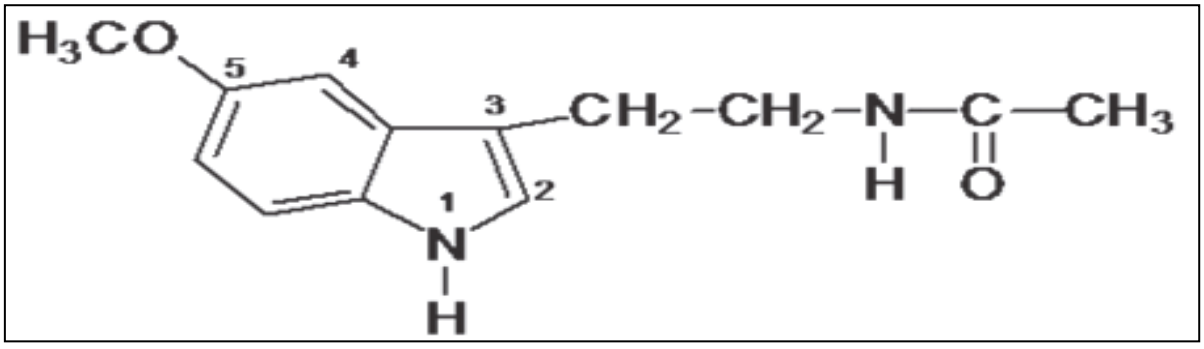
Beta-adrenerjik reseptörleri etkileyen en güçlü sempatomimetik ilaçtır. Belirgin vazodilatör ve bronkodilatör etkileri vardır. Vazodilatör etkisi, çizgili kasların ve splanknik bölgenin damar yataklarında özellikle belirgindir; buralarda kan akımını artırır. Böbrek kan akımını normal durumda azaltır; şoklu hastalarda ise arttırır (64). Diyastolik basıncı ve ortalama arteriyel basıncı düşürür. Periferik vasküler basıncın düştüğü hallerde pozitif inotrop ve kronotrop etkileri ile kalp debisini arttırır. ISO'nun kardiyak etkileri; çarpıntı, sinüs taşikardisi ya da ciddi aritmilerdir (22).

Bradikardi ya da kalp durması görülen hastalarda (özellikle suni bir kardiyak pacemaker takılmasını gerektirecek ya da ventriküler aritmi görülen hastalarda torsade de pointes) acil olarak nabzı düzeltmek için kullanılabilir. Astım ve şok gibi durumlarda, ISO yerini diğer sempatomimetik ilaçların kullanımına bırakmıştır. ISO parenteral ya da aerosol olarak verildiğinde hemen emilir. Primer olarak karaciğerde ve diğer dokularda katekol-O-metiltransferaz enzimi tarafından metabolize edilir (22).

İsoproterenolün yüksek dozda uygulanması ile hayvanlarda deneysel miyokart infarktüsü modeli oluşturulmaktadır (22,23). Yüksek dozda ISO ile oluşturulan miyokart nekrozu, membran geçirgenliğinin değişmesine yol açarak miyokart membran bütünlüğünün ve fonksiyonunun kaybına neden olur. ISO'nun kalpte oluşturduğu patofizyolojik değişiklikler, insanlarda miyokart infarktüsü sonrası oluşan değişikliklere benzerlik göstermektedir (22,24). Oluşan miyokart nekrozu ayrıca; kardiyak disfonksiyona, miyokardiyal lipidlerde ve lipid peroksidasyonunda artışa, kardiyak enzimlerde ve antioksidanlarda değişime yol açmaktadır (13,25).

MELATONİN

İlk kez 1958 yılında Lerner ve arkadaşları tarafından pineal bezde keşfedilen melatonin, indolamin yapısında bir hormondur. Memelilerde en fazla pineal bezden olmak üzere over, lens, kemik iliği ve gastrointestinal sistemden salgılanabilir (Şekil 4) (26).



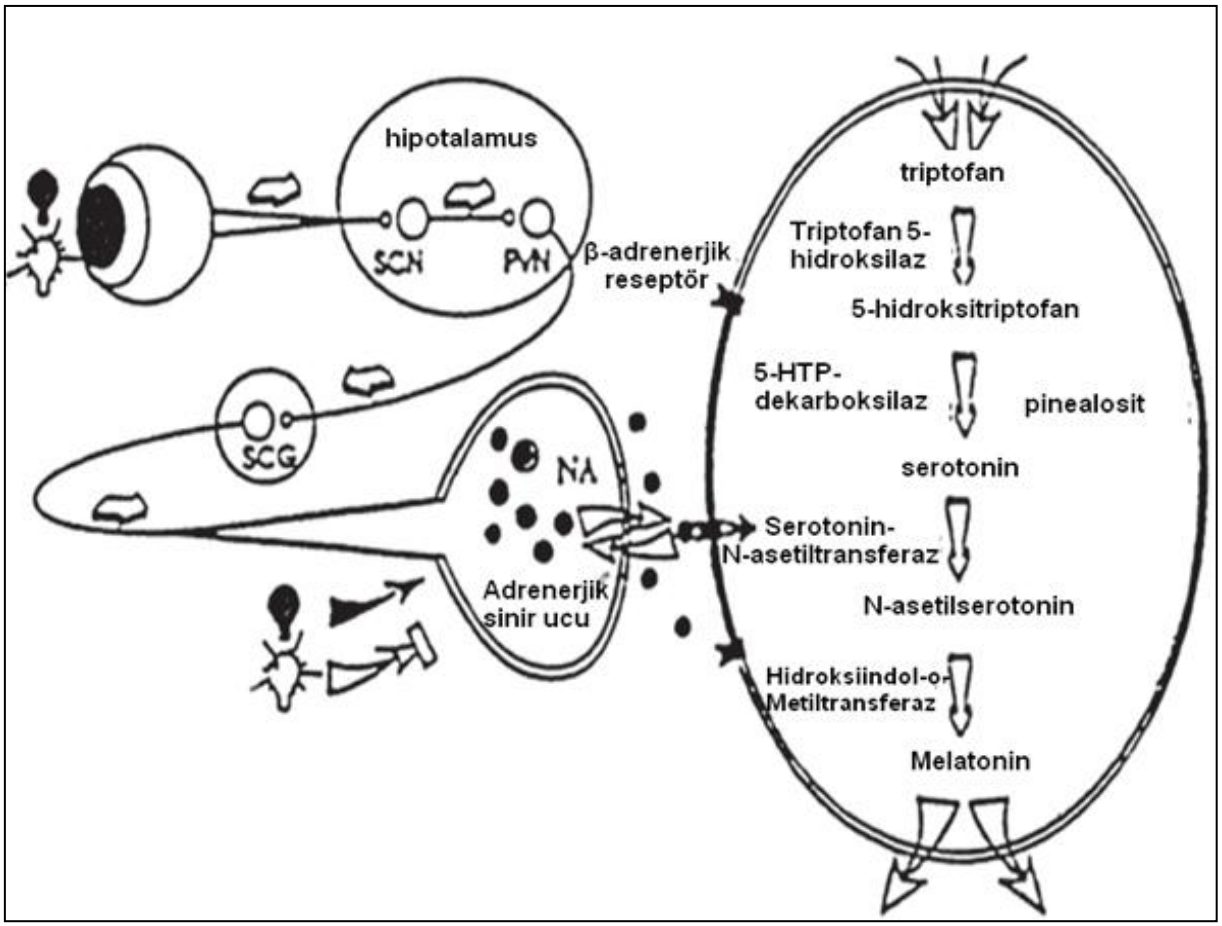
Şekil 4. Melatoninin kimyasal yapısı (26)

Melatonin hormonunun sentezi, pinealositlere alınan triptofandan, triptofan hidroksilaz enzimi ile serotonin sentezlenmesi, serotoninin arilalkilamin N-asetiltransferaz ile N-asetil-5-hidroksitriptamine ve ardından hidroksiindol-O-metiltransferaz ile melatonin oluşmasıyla gerçekleşir. Düzenleyici enzim arilalkilamin N-asetiltransferaz olup, karanlıkta noradrenerjik stimülasyonla uyarılır. Işık, suprakiyazmatik nükleus aracılığıyla, pineal

bezdeki melatonin sentezini inhibe eden sempatik uyaran süresinin ayarlanmasını sağlar ve yarılanma ömrü 3 dakika olan arilalkilamin N-asetiltransferaz enziminin hem miktarını hem de aktivitesini hızla azaltır (Şekil 5) (26,65,66).

Melatonin, hidrofobik bir molekül olup idrarla atılabilmesi için ilk önce sitokrom p450 1A2 enzimi aracılığıyla 6-hidroksimelatonine metabolize edilir. Atılım ürünleri 6-sülfatoksimelatonin ve 6-hidroksimelatonin glukuronidtir (66).

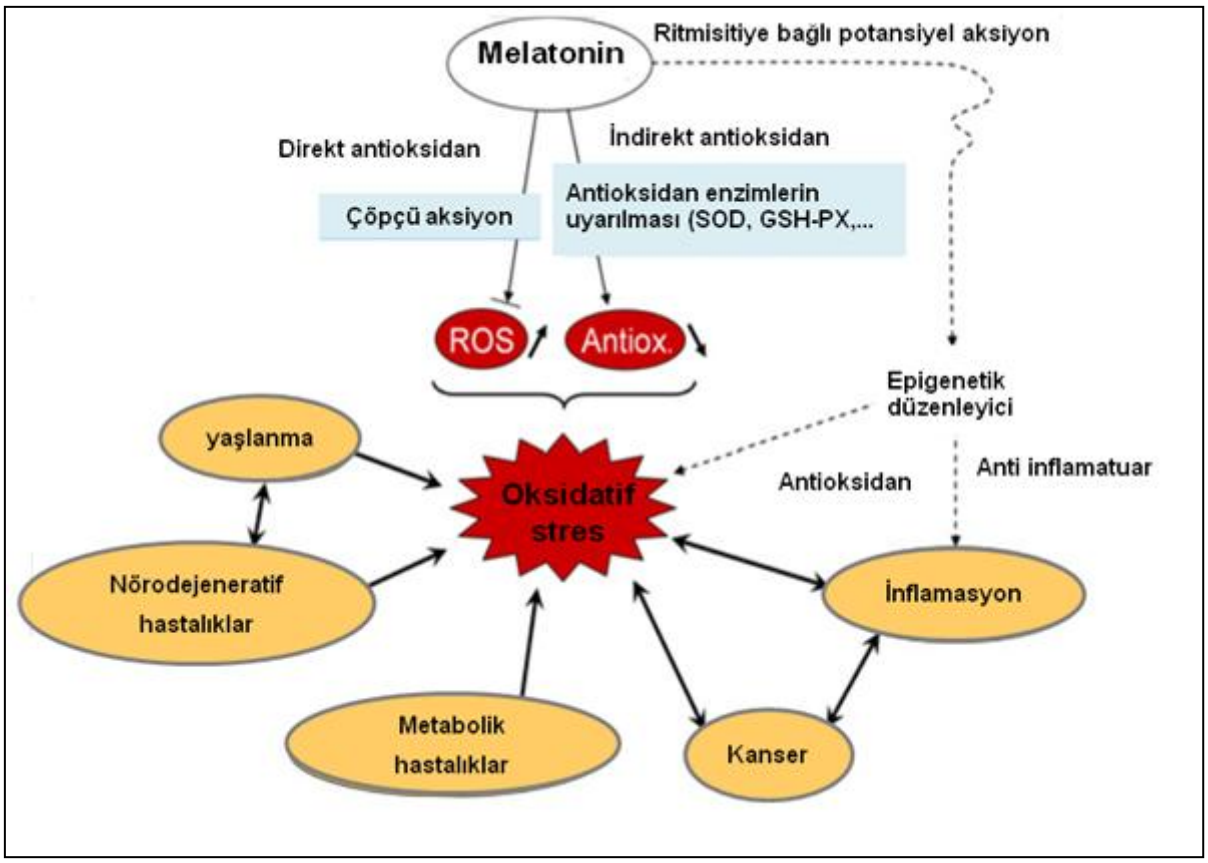
Melatoninin etki gösterdiği melatonin reseptörü 1 ve melatonin reseptörü 2 olmak üzere hücre membranında G-protein bağlı iki tip reseptörü vardır. Melatonin reseptörü 1, sinir uyarısını, arteriyal vazokonstriksiyonu, kanser hücrelerinin çoğalmasını, üreme ve metabolik fonksiyonları düzenler. Melatonin reseptörü 2'nin aktivasyonu, suprakiyazmik nükleusta sinir uyarısının sirkadyen ritmini değiştirir, retinada dopamin salınımını inhibe eder, arter yatağında vazokonstriksiyona ve lökosit yuvarlanmasının (*leukocyte rolling*) inhibisyonuna yol açar ve immün yanıtı arttırır (67).



Şekil 5. Melatonin sentezi ve düzenlenmesi (26)

SCN: Suprakiyazmatik nükleus**; PVN:** Periventriküler nükleus**; SCG:** Superior servikal ganglion**; NA:** Noradrenalin.

Melatonin, sirkadyen ritim ile ilgili bozukluklar olan jet lag ve insomnia tedavisinde sıkça kullanılmaktadır. Melatonin aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Amfipatik bir molekül olan melatonin, hücrede hem lipid hem de sulu ortamda etki gösterebilmektedir. Direkt olarak serbest radikal süpürücü etkisinin yanı sıra indirekt olarak katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini de stimüle eder (26,68,69) . Klinik çalışmalar, melatoninin, sepsis ve yenidoğan asfiksisi gibi akut, metabolik ve nörodejeneretif hastalıklar, kanser, inflamasyon ve yaşlanma gibi kronik hücre hasarının önlenmesinde etkili olabileceğini göstermiştir (Şekil 6) (68).



Şekil 6. Melatoninin oksidatif stres üzerine etkisi (68)

SOD: Süperoksit dismutaz**; GSH-PX:** Glutatyon peroksidaz**; ROS:** Reaktif oksijen türleri**; Antiox:** Antioksidan.

Artan kan basıncı, kalp hızı, kan viskositesi, trombosit kümeleşmesi, plazma kortizol düzeyi ve sempatik aktiviteye bağlı olarak ortaya çıkan akut miyokart infarktüsü, ani kardiyak ölüm ve geçici miyokart iskemisi gibi olaylar sıklıkla melatonin düzeylerinin düşük olduğu sabah saatlerinde meydana gelmektedir (65,70). Melatonin kardiyovasküler sistem üzerine etkilerini hem reseptörleri üzerinden hem de reseptörlerinden bağımsız olarak gösterebilir.

Reseptörleri yolu ile serebral arterlerde vazokonstriksiyona ve periferik arterlerde vazodilatasyona yol açarken, reseptörlerinden bağımsız olarak da kardiyovasküler hastalıklarda artan oksidatif stresi azaltmaktadır. Miyokart infarktüsü ve ani ölüm riski olan bireylerde melatonin düzeyleri düşük bulunmuştur. LDL kolesterol düzeyleri yüksek olanlarda ve hipertansif bireylerde melatonin düzeyleri düşük bulunmuştur (26).

Melatoninin, miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarının özellikle reperfüzyon periyodunda oluşan serbest radikalleri ve hücre içi kalsiyum yüklenmesini azaltarak etkili olduğu gösterilmiştir. Kardiyovasküler olaylardan sonra görülen aritmileri ve infarkt alanını azalttığı bildirilmiştir (70,71). Melatonin, okside LDL oluşumunu, total kolesterol, LDL ve VLDL kolesterol düzeylerini, lipid peroksidasyonunu, inflamatuvar sitokinleri azaltarak ateroskleroz oluşumunu önler (71).

Melatoninin kalp üzerine koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiş olmasına rağmen (27-29), literatürde isoproterenol ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde, serum PON aktivitesine etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmada Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden sağlanan toplam 44 adet sağlıklı yetişkin erkek Wistar albino rat kullanıldı. Standart diyet ile beslenen sıçanlar, %60 nem oranına sahip, 22±2°C oda ısısında ve 12 saat aydınlık⁄12 saat karanlık ritminde barındırıldı. Çalışmaya başlamadan hayvanların tartımları alındı. Serum PON aktivitesi, TAS, TOS, TnI ve MDA ölçümleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Kalp dokularının histopatolojik incelemesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Serum total kolesterol, TG ve HDL kolesterol ölçümleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuarından hizmet satın alınarak yapıldı. Çalışma Trakya Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 05.01.2011 tarihinde 01 sayılı oturumda TÜHDYEK -2011/06 protokol ile onaylandı (Ek 1).

DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI, KAN VE DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

İsoproterenol'ün deneysel akut miyokart infarktüsü modeli oluşturduğu farklı araştırıcılar tarafından gösterilmiştir (13,23-25). Çalışmada wistar albino ratlar, eşit sayıda ve rastgele seçilerek kontrol grubu, melatonin grubu, ISO grubu ve ISO+melatonin grubu üzere dört gruba ayrıldı.

Kontrol grubuna, yedi gün boyunca hergün saat 14:00'da intraperitoneal olarak 1 mL %4 etanol içeren %0,9 NaCl çözeltisi uygulandı. Altıncı ve yedinci günlerde de saat 15:00'de %0,9 NaCl çözeltisi (0.5 mL/gün) intraperitoneal yoldan uygulandı.

İsoproterenol grubuna, yedi gün boyunca hergün saat 14:00'da intraperitoneal olarak 1 mL %4 etanol içeren serum fizyolojik uygulandı. Altıncı ve yedinci günlerde de saat 15:00'de %0,9 NaCl çözeltisi içinde çözülmüş isoproterenol (150 mg/kg/gün) intraperitoneal yoldan uygulandı.

Melatonin grubuna, yedi gün boyunca hergün saat 14:00'da intraperitoneal olarak 1 mL %4 etanol içeren %0,9 NaCl çözeltisi içinde çözülmüş melatonin (10 mg/kg/gün) uygulandı. Altıncı ve yedinci günlerde de saat 15:00'da %0,9 NaCl çözeltisi (0.5 mL/gün) intraperitoneal yoldan uygulandı.

İsoproterenol+melatonin grubuna, yedi gün boyunca hergün saat 14:00'da intraperitoneal olarak 1 mL %4 etanol içeren %0,9 NaCl çözeltisi içinde çözülmüş melatonin (10 mg/kg/gün) uygulandı. Altıncı ve yedinci günlerde de saat 15:00'da %0,9 NaCl çözeltisi (0.5 mL/gün) içinde çözülmüş isoproterenol (150 mg/kg/gün) intraperitoneal yoldan uygulandı.

İsoproterenol grubundan bir, ISO+melatonin grubundan ise üç sıçan deney sırasında öldü. Her gruptan birer sıçan rastgele seçilerek, onbeşinci güne kadar yaşatıldı. Geri kalan sıçanlardan yedinci gün yapılan ikinci intraperitoneal enjeksiyondan 24 saat sonra anestezi altında kardiyak kan örneği alındı. Anestezik ilaç olarak rompun (Ksilazin) (5 mg/kg) ve ketalar (Ketamin) (50 mg/kg) kullanıldı. Biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Serumlar ayrılarak analiz gününe kadar -80^{o} C'de saklandı.

Akut miyokart infarktüsü sonrası kalp dokusunda beklenen değişiklikleri histopatolojik olarak incelemek üzere, onbeşinci güne kadar yaşatılan sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi. Histopatolojik olarak incelenecek kalp dokuları formol ile tespit edilip Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi.

ANALİZLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

İsoproterenol (Sigma)
Melatonin (Sigma)
Asetik asid (Merck)
n-Butanol (Sigma)
Piridin (Sigma)
Tiyobarbitürik asid (Sigma)
Paraokson (Sigma)
Metanol (Merck)

Tris (Sigma)

Hidroklorik asit (Merck)

Kalsiyum klorür (Merck)

ANALİZLERDE KULLANILAN CAM VE LABORATUAR MALZEMELERİ

Santrifüj (Rotofix-32,Hettich)

Otomatik pipetler (Eppendorf, Socorex, Microlit)

Hassas terazi (Sartorius)

Su banyosu (GFL 1083)

Vorteks (VELP)

Manyetik karıştırıcı (IKA)

Spektrofotometre (Shimadzu UV 1700A)

Mikroplate spektrofotometre (Biotek µquant)

Işık mikroskobu (Olympus BX51)

Distile su cihazı (Nüve NS245)

Kuvars spektrofotometre küvetleri (Hellma)

Deney tüpleri

Balon jojeler

Beherler

Erlen

Baget

Puar

Portüp

TROPONİN I ÖLÇÜMÜ

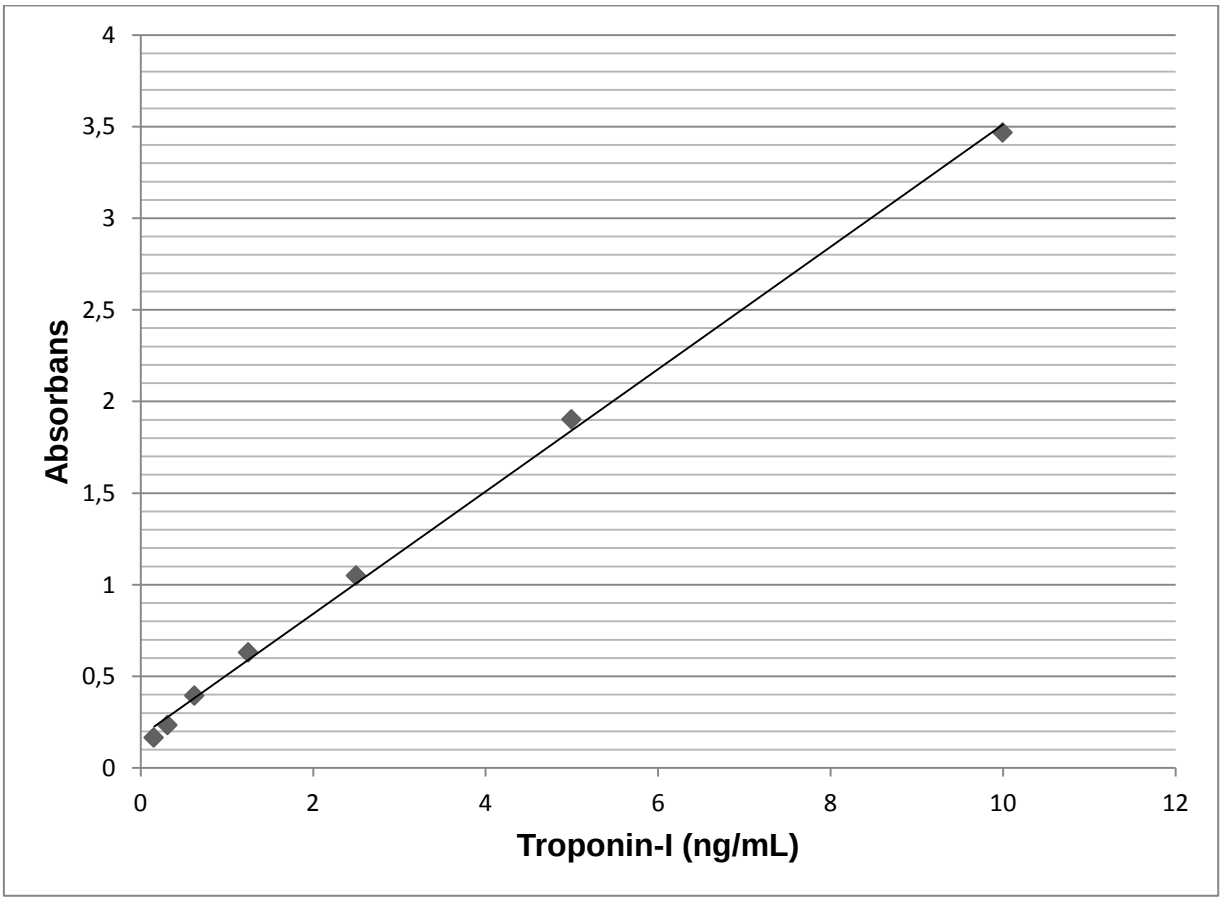
Troponin I ölçümleri, High Sensitivity Rat Cardiac TnI Elisa Kiti (Life Diagnostic, ABD) kullanılarak yapıldı. Sonuçlar, 0.156, 0.312, 0.625, 1.25, 2.5, 5 ve 10 ng/ml' lik konsantrasyonlarda TnI içeren standartlar kullanılarak çizilen standart grafiğinden ng/ml olarak hesaplandı (Şekil 7).

Troponin I standart grafiğinin denklemi:

$y= 0,1748 + 0.3336x$

Prensip

Mikroplate kuyucuklarına konan sıçan serumundaki TnI, kuyucuklarda anti TnI antikorlarına bağlanır. Oluşan antijen-antikor kompleksine, ikincil antikor olarak yaban turpu peroksidazı bağlanır ve substratı olan tetrametilbenzidin eklenmesi ile mavi renk oluşturulur. Oluşan mavi renk 1N hidroklorik asit eklendiğinde sarıya dönüşür ve 450 nm dalga boyunda mikroplate spektrofotometre ile okunur.



Şekil 7. Troponin I standart grafiği

PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Prensip

Paraoksonun hidrolizi ile oluşan p-nitrofenolün oluşturduğu renk değişiminin 412 nm dalga boyunda kinetik olarak ölçülmesi esasına dayanır.

Deney

Serum üzerine 1 mM paraokson ve 1 mM kalsiyum klorür içeren pH:8 Tris-hidroklorik asit tamponu eklenerek 25 °C'de ve 412 nm dalga boyunda dakikadaki absorbans değişimi kinetik olarak ölçüldü.

Oluşan p-nitrofenol miktarının hesaplanması için molar ekstinksiyon katsayısı olarak 17000 $M^{-1}cm^{-1}$ kullanıldı. Enzim ünitesi, 1 dakikada 1 μmol p-nitrofenol oluşturan enzim miktarı olarak kabul edildi. PON aktivitesi U/L olarak verildi (72).

MALONDİALDEHİD TAYİNİ

Prensip

Poliansatüre yağ asidlerinin peroksidasyonunun son ürünü MDA'nın sıcak ortamda tiyobarbitürik asid ile oluşturduğu bileşiğin pembe-kırmızı renginin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (73).

Deney

200 μl serum üzerine %20'lik asetik asid ve %0,8'lik tiyobarbitürik asit eklendi. Tüpler 60 dakika su banyosunda bekletildikten sonra soğutularak üzerlerine n-butanol/piridin karışımı eklendi. Tüpler 1700xg'de 10 dakika santrifüj edildi. Butanol/piridin fazı, butanol/piridin körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Tüm örneklerde çalışma ikişer kez tekrarlandı. Malondialdehidin 532 nm'deki molar absorptivitesi kullanılarak serumdaki MDA değerleri hesaplandı, sonuçlar nmol/mL olarak ifade edildi.

TOTAL OKSİDAN DURUM ÖLÇÜMÜ

Total oksidan durum, TOS kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanılarak 530 nm dalga boyunda spektofotometrik olarak ölçüldü.

Prensip

Yöntemin prensibi, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır. Sonuçlar litrede mikromolar hidrojen peroksit (H_2O_2) ekivalan (μmol H_2O_2 Eq/L) olarak verilmiştir (17).

TOTAL ANTİOKSİDAN DURUM ÖLÇÜMÜ

Total antioksidan durum, TAS kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanılarak 660 nm dalga boyunda spektofotometrik olarak ölçüldü.

Prensip

Yöntemin prensibi, örnekteki antioksidanların, koyu mavi-yeşil renkli 2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (ABTS) radikalini, renksiz formuna indirgemesine dayanır. Sonuçlar litrede milimolar Trolox ekivalan (mmol Trolox Eq/L) olarak verilmiştir (18).

OKSİDATİF STRES İNDEKSİNİN HESAPLANMASI

Total antioksidan durumun birimi μmol Trolox ekivalan/L'ye çevrildi ve aşağıdaki formül kullanılarak oksidatif stres indeksi hesaplandı (19).

$$\text{Oksidatif stres indeksi} = \frac{\text{TOS (}\mu\text{mol } H_2O_2 \text{ ekivalan/L) x100}}{\text{TAS (}\mu\text{mol Trolox ekivalan/L)}}$$

TRİGLİSERİT ÖLÇÜMÜ

Serum trigliserit düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Siemens Advia 1800 markalı otoanalizörle (Siemens, Tokyo, Japonya) orjinal kitleri (Siemens, Camberley, UK) kullanılarak ölçüldü.

Prensip

Serum trigliseridi lipazın etkisi ile gliserol ve serbest yağ asidine dönüşür. Oluşan gliserol, gliserol kinaz etkisi ile gliserol-3-fosfat'a dönüşür ve bunu takiben oluşan gliserol-3-fosfat, gliserol-3-fosfat oksidaz varlığında hidrojen perokside çevrilir. Oluşan hidrojen peroksit, 4-klorofenol ve 4-aminofenazon varlığında peroksidazın katalizlediği bir reaksiyonla renkli bir komplex oluşturur. Kompleksin absorbansı 505/694 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür.

TOTAL KOLESTEROL ÖLÇÜMÜ

Serum total kolesterol düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Siemens Advia 1800 markalı otoanalizörle (Siemens, Tokyo, Japonya) orijinal kitleri (Siemens, Camberley, UK) kullanılarak ölçüldü.

Prensip

Serum total kolesterol ölçümünde, ester kolesterollerinin sırasıyla kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz tarafından katalizlenen ardışık reaksiyonları sonucu hidrojen peroksit oluşur. Oluşan hidrojen peroksit, 4-aminoantitiprin ve fenol varlığında peroksidazın katalizlediği bir reaksiyonla renkli bir komplex oluşturur. Kompleksin absorbansı 505/694 nm dalga boyunda spektrofotemetrik olarak ölçülür.

YÜKSEK DANSİTELİ LİPOPROTEİN KOLESTEROL ÖLÇÜMÜ

Serum HDL kolesterol düzeyleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Siemens Advia 1800 markalı otoanalizörle (Siemens, Tokyo, Japonya) orjinal kitleri (Siemens, Camberley, UK) kullanılarak ölçüldü.

Prensip

Serum HDL kolesterolü ölçümünde, ester kolesterollerinin sırasıyla kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz tarafından katalizlenen ardışık reaksiyonları sonucu hidrojen peroksid oluşur. Oluşan hidrojen peroksit, 4-aminoantiprin ve N-(2-hidroksi-3-sülfopropil)-3,5-dimetoksianilin varlığında peroksidazın katalizlediği bir reaksiyonla renkli bir komplex oluşturur. Kompleksin absorbansı 596 nm dalga boyunda spektrofotemetrik olarak ölçülür.

DÜŞÜK DANSİTELİ LİPOPROTEİN VE ÇOK DÜŞÜK DANSİTELİ LİPOPROTEİN KOLESTEROLÜN HESAPLANMASI

Düşük dansiteli lipoprotein ve VLDL kolesterol düzeyleri Friedewald formülü kullanılarak hesaplandı (74).

Düşük dansiteli lipoprotein kolesterol: Total kolesterol -(HDL kolesterol+trigliserit/5)

Çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterol: Trigliserit/5

ATEROSKLEROZ İNDEKSİNİN HESAPLANMASI

Ateroskleroz indeksi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (75).

Ateroskleroz indeksi: (Total kolesterol- HDL kolesterol) / HDL kolesterol

PATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Sıçanlardan alınan kalpler tamponlu formaldehit içinde yaklaşık 24 saat tespit edildikten sonra, tüm kalp duvarları görülebilecek şekilde horizontal sirküler örnekler alındı.

Gece boyu alkol takibine alınan örnekler parafine gömülmesinin ardından alınan 5 mikron kalınlığındaki kesitler rutin hematoksilen-eozin boyası ve Masson's trichrome boyası ile boyanarak ışık mikroskobunda değerlendirildi.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel değerlendirme için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Dairesi'nde bulunan Minitab Release 13 (Lisans no: WCP 1331.00197) paket programı kullanılarak yapıldı. Her grupta verilerin parametrik varsayımları yerine getirip getirmediğini inceleyebilmek için normal dağılıma uygunluk ve varyans homojenliği testleri yapıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi. Sonuçların değerlendirilmesinde parametrik olan verilerin gruplar arası karşılaştırması yapılırken One-way ANOVA testi kullanıldı. Nonparametrik veriler için Kruskal-Wallis testi yapıldı. Nonparemetrik verilerde gruplar arası fark $p<0.05$ olarak bulunduğunda Mann-Whitney U testi yapıldı. Korelasyon analizleri Spearman rho korelayon testi ile yapıldı. Veriler, gruplar arası farklılıklar yönünden değerlendirildi. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde kabul edildi.

BULGULAR

Grupların ilk ağırlıkları, serum TnI düzeyleri, PON aktiviteleri ve PON/HDL değerleri Tablo 1'de, serum TOS, TAS, OSİ ve MDA düzeyleri Tablo 2'de, serum TG, total kolesterol, VLDL kolesterol, HDL kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri ve ateroskleroz indeksi Tablo 3'de görülmektedir.

Tablo 1. Grupların ilk ağırlıkları, serum troponin I düzeyleri, paraoksonaz aktiviteleri ve paraoksonaz/yüksek dansiteli lipoprotein oranları

GRUP	Ağırlık (g)	TnI (ng/mL)	PON (U/L)	PON/HDL
KONTROL				
1	276	0.60	15.50	1.03
2	298	0.50	13.74	0.96
3	287	0.54	15.22	0.99
4	299	0.50	18.57	1.43
5	284	0.27	15.22	1.28
6	232	0.54	12.72	1.04
7	277	0.73	19.30	1.40
8	273	0.50	15.06	1.51
9	280	0.50	11.99	0.86
10	293	0.32	14.91	1.04
MELATONİN				
1	257	0.53	15.64	1.11
2	290	0.75	14.47	1.14
3	269	0.23	16.23	1.33
4	289	0.81	9.65	0.76
5	283	0.59	18.13	1.46
6	280	0.59	16.96	1.34
7	272	0.76	22.37	1.75
8	261	0.38	15.94	1.37
9	291	0.66	16.67	1.26
10	285	0.59	20.61	1.64
ISO				
1	287	4.12	5.26	0.28
2	287	3.48	4.82	0.26
3	275	3.49	5.43	0.33
4	281	7.08	5.99	0.38
5	273	10.64	4.09	0.23
6	263	3.95	5.99	0.33
7	276	3.92	5.85	0.30
8	296	4.74	5.12	0.28
9	269	9.62	6.29	0.32
ISO+MELATONİN				
1	285	5.91	35.67	1.84
2	289	5.95	14.39	0.92
3	270	2.21	9.36	0.55
4	290	2.16	14.39	0.88
5	272	4.91	10.82	0.48
6	270	3.51	7.02	0.41
7	273	5.64	9.06	0.43

PON: Paraoksonaz**; TnI:** Troponin I**; HDL:** Yüksek dansiteli lipoprotein**; ISO:** İsoproterenol.

Tablo 2. Grupların serum total oksidan durum, total antioksidan durum, oksidatif stres indeksi ve malondialdehit düzeyleri

GRUP	TOS (μmol H_2O_2 Eq/L)	TAS (mmol Trolox Eq/L)	OSİ	MDA (nmol/mL)
KONTROL				
1	10.36	1.27	0.82	3.17
2	9.98	1.41	0.71	3.27
3	11.16	1.30	0.86	3.89
4	8.67	1.25	0.69	3.61
5	8.84	1.32	0.67	2.79
6	10.44	1.36	0.77	3.94
7	7.87	1.39	0.57	3.46
8	4.20	1.25	0.34	3.03
9	6.82	1.40	0.49	3.89
10	8.70	1.60	0.54	3.85
MELATONİN				
1	8.69	1.26	0.69	3.51
2	12.97	1.22	1.06	2.74
3	9.80	1.33	0.74	3.08
4	6.65	1.22	0.55	3.03
5	6.32	1.36	0.47	3.15
6	9.39	1.36	0.69	3.56
7	5.56	1.16	0.48	2.93
8	9.89	1.47	0.67	3.27
9	8.46	1.13	0.75	2.98
10	9.14	1.12	0.82	3.22
ISO				
1	12.48	1.01	1.23	4.90
2	14.11	1.15	1.23	6.11
3	10.85	1.11	0.98	4.66
4	13.18	1.15	1.15	5.29
5	13.02	1.11	1.17	6.59
6	11.90	1.01	1.18	4.95
7	12.24	0.98	1.25	5.48
8	10.76	1.14	0.94	5.19
9	18.66	1.02	1.83	6.63
ISO+MELATONİN				
1	8.72	1.12	0.78	3.41
2	10.23	1.06	0.96	4.47
3	8.72	1.13	0.77	4.52
4	6.91	1.04	0.67	3.32
5	10.40	1.11	0.94	3.51
6	7.54	0.97	0.78	2.84
7	8.51	1.12	0.76	4.28

TOS: Total oksidan durum**; TAS:** Total antioksidan durum**; OSİ:** Oksidatif stres indeksi**; MDA:** Malondialdehit**; ISO:** İsoproterenol.

Tablo 3. Grupların serum trigliserit, total, çok düşük dansiteli lipoprotein, yüksek dansiteli lipoprotein ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterol düzeyleri ve ateroskleroz indeksi

GRUP	TG (mg/dL)	KOLESTEROL				Ateroskleroz indeksi
		Total (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	
KONTROL						
1	87	39	17.4	15.0	6.9	1.62
2	76	41	15.2	14.3	11.5	1.87
3	108	45	21.6	15.4	8.0	1.92
4	101	40	20.2	13.0	6.8	2.08
5	87	39	17.4	11.9	9.7	2.28
6	72	39	14.4	12.2	12.4	2.20
7	46	36	9.2	13.8	13.0	1.61
8	63	36	12.6	10.0	13.4	2.60
9	86	41	17.2	13.9	9.9	1.95
10	81	37	16.2	14.3	6.5	1.59
MELATONİN						
1	97	47	19.4	14.1	13.5	2.33
2	57	32	11.4	12.7	7.9	1.52
3	86	38	17.2	12.2	8.6	2.11
4	77	45	15.4	12.7	16.9	2.54
5	92	39	18.4	12.4	8.2	2.15
6	77	41	15.4	12.7	12.9	2.23
7	77	38	15.4	12.8	9.8	1.97
8	92	41	18.4	11.6	11.0	2.53
9	72	41	14.4	13.2	13.4	2.11
10	43	41	8.6	12.6	19.8	2.25
ISO						
1	38	75	7.6	18.7	48.7	3.01
2	47	68	9.4	18.6	40.0	2.66
3	38	66	7.6	16.7	41.7	2.95
4	38	62	7.6	15.8	38.6	2.92
5	47	80	9.4	17.8	52.8	3.49
6	39	80	7.8	18.1	54.1	3.42
7	45	83	9.0	19.5	54.5	3.26
8	50	75	10.0	18.1	46.8	3.13
9	49	85	9.8	19.7	55.5	3.31
ISO+MELATONİN						
1	43	77	8.7	19.4	48.9	2.97
2	44	60	8.8	15.7	35.5	2.82
3	46	60	9.2	17.1	33.7	2.51
4	43	59	8.6	16.3	34.1	2.62
5	45	72	9.0	22.5	40.5	2.20
6	40	57	8.0	17	32.0	2.35
7	42	73	8.4	21.3	43.3	2.43

TG: Trigliserit**; VLDL:** Çok düşük dansiteli lipoprotein**; HDL:** Yüksek dansiteli lipoprotein**; LDL:** Düşük dansiteli lipoprotein**; ISO:** İsoproterenol.

Sıçan gruplarının ortalama ağırlıkları ve serum TnI düzeyleri Tablo 4'de görülmektedir.

Sıçanların ortalama ağırlıkları kontrol grubunda 279.90±19.14 g, melatonin grubunda 277.70±12.28 g, ISO grubunda 278.56±10.22 g ve ISO+melatonin grubunda 278.43±9.14 g olarak bulundu. Grupların arasında ağırlık bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Sıçanların serum TnI ortalaması kontrol grubunda 0.50±0.13 ng/mL, melatonin grubunda 0.59±0.18 ng/mL, ISO grubunda 5.67±2.76 ng/mL ve ISO+melatonin grubunda 4.33±1.69 ng/mL olarak bulundu.

Kontrol grubunun serum TnI düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının TnI düzeylerine göre anlamlı olarak düşüktü (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.001$). Melatonin grubunun TnI düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının TnI düzeylerine göre anlamlı olarak düşüktü (sırasıyla, $p=0.000$ ve $p=0.001$). Kontrol grubunun TnI düzeyi ile melatonin grubunun TnI düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. ISO grubu ile ISO+melatonin grubu arasında TnI düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Tablo 4. Sıçan gruplarının ilk ağırlıkları ve serum troponin I düzeyleri

GRUP	n	Ağırlık (g) (ort±SD)	TnI (ng/mL) (ort±SD)
Kontrol	10	279.90±19.14	0.50±0.13 $^{a**\ b*}$
Melatonin	10	277.70±12.28	0.59±0.18 $^{a**\ b*}$
ISO	9	278.56±10.22	5.67±2.76
ISO+Melatonin	7	278.43±9.14	4.33±1.69
p		>0.05	0.000

TnI: Troponin I**; ISO:** İsoproterenol.
İstatiksel değerlendirme Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri ile yapıldı.
a: ISO grubu ile karşılaştırıldı.
b: ISO+melatonin grubu ile karşılaştırıldı.
*: p=0.001 **: p=0.000.

Sıçan gruplarının serum PON aktivitesi, PON/HDL değerleri ve MDA düzeyleri Tablo 5'te görülmektedir.

Sıçanların PON aktivitesi kontrol grubunda 15.22±2.28 U/L, melatonin grubunda 16.67±3.43 U/L, ISO grubunda 5.43±0.69 U/L ve ISO+melatonin grubunda 14.39±9.78 U/L olarak bulundu.

Kontrol grubunun, melatonin grubunun ve ISO+melatonin grubunun PON aktivitesi, ISO grubunun PON aktivitesine göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0.000, p=0.000 ve p=0.001). Melatonin grubunun PON aktivitesi, ISO+melatonin grubuna göre anlamlı olarak yüksekti (p<0.05). Kontrol grubunun PON aktivitesi ile melatonin grubunun ve ISO+melatonin grubunun PON aktiviteleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Tablo 5. Sıçan gruplarının serum paraoksonaz aktiviteleri, paraoksonaz/yüksek dansiteli lipoprotein oranları ve malondialdehit düzeyleri

GRUP	n	PON (U/L) (ort±SD)	PON/HDL (ort±SD)	MDA (nmol/mL) (ort±SD)
Kontrol	10	15.22±2.28 ^{a***}	1.15±0.23 $^{a***\ b*}$	3.49±0.41 ^{a***}
Melatonin	10	16.67±3.43 $^{a***\ b*}$	1.32±0.28 $^{a***\ b*}$	3.15±0.25 ^{a***}
ISO	9	5.43±0.69	0.30±0.04	5.53±0.74
ISO+Melatonin	7	14.39±9.78 ^{a**}	0.79±0.51 ^{a**}	3.76±0.66 ^{a**}
p		0.000	0.000	0.000

PON: Paraoksonaz**; HDL:** Yüksek dansiteli lipoprotein**; MDA:** Malondialdehit**; ISO:** İsoproterenol.
PON aktiviteleri ve PON/HDL değerleri, Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri ile değerlendirildi.
MDA düzeyleri, One Way Anova testi ile değerlendirildi.
a: ISO grubu ile karşılaştırıldı.
b: ISO+melatonin grubu ile karşılaştırıldı.
*: p<0.05 **: p=0.001 ***: p=0.000.

Sıçanların PON/HDL değerleri kontrol grubunda 1.15±0.23, melatonin grubunda 1.32±0.28, ISO grubunda 0.30±0.04 ve ISO+melatonin grubunda 0.79±0.51 olarak bulundu.

Kontrol grubunun PON/HDL değeri, ISO grubunun ve ISO+melatonin grubunun PON/HDL değerlerine göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0.000 ve p<0.05). Melatonin grubunun PON/HDL değeri, ISO grubunun ve ISO+melatonin grubunun PON/HDL değerlerine göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0.000 ve p<0.05). ISO+melatonin grubunun PON/HDL değeri, ISO grubunun PON/HDL değerine göre anlamlı olarak yüksekti (p=0.001). Kontrol ve melatonin grupları arasında PON/HDL değerleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sıçanların MDA düzeyleri kontrol grubunda 3.49±0.41 nmol/mL, melatonin grubunda 3.15±0.25 nmol/mL, ISO grubunda 5.53±0.74 nmol/mL ve ISO+melatonin grubunda 3.76±0.66 nmol/mL olarak bulundu.

İsoproterenol grubunun MDA düzeyi, kontrol grubunun, melatonin grubunun ve ISO+melatonin grubunun MDA düzeylerine göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0.000, p=0.000 ve p=0.001). Kontrol grubunun MDA düzeyi ile melatonin grubunun ve ISO+melatonin grubunun MDA düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. Melatonin ve ISO+melatonin grupları arasında MDA düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sıçan gruplarının serum TOS, TAS ve OSİ düzeyleri Tablo 6'da görülmektedir.

Sıçanların TOS düzeyleri kontrol grubunda 8.70±2.05 μmol/H_2O_2 Eq/L, melatonin grubunda 8.69±2.14 μmol/H_2O_2 Eq/L, ISO grubunda 13.02±2.37 μmol/H_2O_2 Eq/L ve ISO+melatonin grubunda 8.72±1.28 μmol/H_2O_2 Eq/L olarak bulundu.

İsoproterenol grubunun TOS düzeyi, kontrol grubunun, melatonin grubunun ve ISO+melatonin grubunun TOS düzeylerine göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0.000, p=0.001 ve p=0.001). Kontrol grubunun TOS düzeyi ile melatonin grubunun ve ISO+melatonin grubunun TOS düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. Melatonin ve ISO+melatonin grupları arasında TOS düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sıçanların TAS düzeyleri kontrol grubunda 1.36±0.11 mmol/Trolox Eq/L, melatonin grubunda 1.26±0.11 mmol/Trolox Eq/L, ISO grubunda 1.08±0.07 mmol/Trolox Eq/L ve ISO+melatonin grubunda 1.08±0.06 mmol/Trolox Eq/L olarak bulundu.

Kontrol grubunun TAS düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının TAS düzeylerine göre göre anlamlı olarak yüksekti (her ikisi için p=0.000). Melatonin grubunun TAS düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının TAS düzeylerine göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0.001 ve p<0.01). Kontrol grubunun TAS düzeyi ile melatonin grubunun TAS düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. ISO ve ISO+melatonin grupları arasında TAS düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sıçanların OSİ düzeyleri kontrol grubunda 0.65±0.16, melatonin grubunda 0.69±0.17, ISO grubunda 1.22±0.25 ve ISO+melatonin grubunda 0.81±0.10 olarak bulundu.

İsoproterenol grubunun OSİ düzeyi, kontrol grubunun, melatonin grubunun ve ISO+melatonin grubunun OSİ düzeylerine göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0.000, p=0.000 ve p=0.001). Kontrol grubunun OSİ düzeyi ile melatonin grubunun ve

ISO+melatonin grubunun OSİ düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. Melatonin ve ISO+melatonin grupları arasında OSİ düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Tablo 6. Sıçan gruplarının serum total oksidan durum, total antioksidan durum ve oksidatif stres indeksi düzeyleri

GRUP	n	TOS (μmol H_2O_2 Eq/L) (ort±SD)	TAS (mmol Trolox Eq/L) (ort±SD)	OSİ (ort±SD)
Kontrol	10	8.70±2.05 ^{a***}	1.36±0.11 $^{a***\ b***}$	0.65±0.16 ^{a***}
Melatonin	10	8.69±2.14 ^{a**}	1.26±0.11 $^{a**\ b*}$	0.69±0.17 ^{a***}
ISO	9	13.02±2.37	1.08±0.07	1.22±0.25
ISO+Melatonin	7	8.72±1.28 ^{a**}	1.08±0.06	0.81±0.10 ^{a**}
p		0.001	0.000	0.000

TOS: Total oksidan durum**; TAS:** Total antioksidan durum**; OSİ:** Oksidatif stres indeksi**; ISO:** İsoproterenol.
TOS ve OSİ düzeyleri, Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri ile değerlendirildi.
TAS düzeyleri, One Way Anova testi ile değerlendirildi.
a: ISO grubu ile karşılaştırıldı.
b: ISO+melatonin grubu ile karşılaştırıldı.
*: p<0.01 **: p=0.001 ***: p=0.000.

Sıçan gruplarının serum TG, total kolesterol ve VLDL kolesterol düzeyleri Tablo 7'de görülmektedir.

Sıçanların TG düzeyleri kontrol grubunda 80.70±17.89 mg/dL, melatonin grubunda 77.00±16.71 mg/dL, ISO grubunda 43.44±5.13 mg/dL ve ISO+melatonin grubunda 43.29±1.98 mg/dL olarak bulundu.

Kontrol grubunun TG düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının TG düzeylerine göre anlamlı olarak yüksekti (her ikisi için p=0.001). Melatonin grubunun TG düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının TG düzeylerine göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0.001 ve p<0.01). Kontrol grubunun TG düzeyi ile melatonin grubunun TG düzeyi arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. ISO ve ISO+melatonin grupları arasında TG düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sıçanların total kolesterol düzeyleri kontrol grubunda 39.30±2.71 mg/dL, melatonin grubunda 40.30±4.08 mg/dL, ISO grubunda 74.89±8.01 mg/dL ve ISO+melatonin grubunda 65.43±8.22 mg/dL olarak bulundu.

Kontrol grubunun total kolesterol düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının total kolesterol düzeylerine göre anlamlı olarak düşüktü (sırasıyla, p=0.000 ve p=0.001). Melatonin grubunun total kolesterol düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının total kolesterol düzeylerine göre anlamlı olarak düşüktü (her ikisi için p=0.000). Kontrol grubunun total kolesterol düzeyi ile melatonin grubunun total kolesterol düzeyi arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. ISO ve ISO+melatonin grupları arasında total kolesterol düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Tablo 7. Sıçan gruplarının serum trigliserit, total kolesterol ve çok düşük dansiteli lipoprotein kolesterol düzeyleri

GRUP	n	TG (mg/dL) (ort±SD)	Total kolesterol (mg/dL) (ort±SD)	VLDL kolesterol (mg/dL) (ort±SD)
Kontrol	10	80.70±17.89 $^{a**\ b**}$	39.30±2.71 $^{a***\ b**}$	16.14±3.58 $^{a**\ b**}$
Melatonin	10	77.00±16.71 $^{a**\ b*}$	40.30±4.08 $^{a***\ b***}$	15.40±3.34 $^{a**\ b*}$
ISO	9	43.44±5.13	74.89±8.01	8.69±1.03
ISO+Melatonin	7	43.29±1.98	65.43±8.22	8.67±0.39
p		0.000	0.000	0.000

TG: Trigliserit**; VLDL:** Çok düşük dansiteli lipoprotein**; ISO:** İsoproterenol.
TG ve VLDL kolesterol düzeyleri Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri ile değerlendirildi.
Total kolesterol düzeyleri, One Way Anova testi ile değerlendirildi.
a: ISO grubu ile karşılaştırıldı.
b: ISO+melatonin grubu ile karşılaştırıldı.
*: p<0.01 **: p=0.001 ***: p=0.000.

Sıçanların VLDL kolesterol düzeyleri kontrol grubunda 16.14±3.58 mg/dL, melatonin grubunda 15.40±3.34 mg/dL, ISO grubunda 8.69±1.03 mg/dL ve ISO+melatonin grubunda 8.67±0.39 mg/dL olarak bulundu.

Kontrol grubunun VLDL kolesterol düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının VLDL kolesterol düzeylerine göre anlamlı olarak yüksekti (her ikisi için p=0.001). Melatonin grubunun VLDL kolesterol düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının VLDL kolesterol düzeylerine göre anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla p=0.001 ve p<0.01). Kontrol grubunun VLDL kolesterol düzeyi ile melatonin grubunun VLDL kolesterol düzeyi arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. ISO ve ISO+melatonin grupları arasında VLDL kolesterol düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sıçan gruplarının serum HDL kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri ve ateroskleroz indeksi Tablo 8'de görülmektedir.

Sıçanların HDL kolesterol düzeyleri kontrol grubunda 13.38±1.63 mg/dL, melatonin grubunda 12.70±0.65 mg/dL, ISO grubunda 18.11±1.25 mg/dL ve ISO+melatonin grubunda 18.47±2.63 mg/dL olarak bulundu.

Kontrol grubunun HDL kolesterol düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının HDL kolesterol düzeylerine göre anlamlı olarak düşüktü (sırasıyla, $p=0.000$ ve $p<0.01$). Melatonin grubunun HDL kolesterol düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının HDL kolesterol düzeylerine göre anlamlı olarak düşüktü (sırasıyla $p=0.000$ ve $p<0.01$). Kontrol grubunun HDL kolesterol düzeyi ile melatonin grubunun HDL kolesterol düzeyi arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. ISO ve ISO+melatonin grupları arasında HDL kolesterol düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sıçanların LDL kolesterol düzeyleri kontrol grubunda 9.81±2.68 mg/dL, melatonin grubunda 12.20±3.92 mg/dL, ISO grubunda 48.07±6.64 mg/dL ve ISO+melatonin grubunda 38.29±6.18 mg/dL olarak bulundu.

Kontrol grubunun LDL kolesterol düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının LDL kolesterol düzeylerine göre anlamlı olarak düşüktü (her ikisi için $p=0.000$). Melatonin grubunun LDL kolesterol düzeyi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının LDL kolesterol düzeylerine göre anlamlı olarak düşüktü (her ikisi için $p=0.000$). Kontrol grubunun LDL kolesterol düzeyi ile melatonin grubunun LDL kolesterol düzeyi arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. ISO ve ISO+melatonin grupları arasında LDL kolesterol düzeyleri bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Sıçanların ateroskleroz indeksi kontrol grubunda 1.97±0.33, melatonin grubunda 2.17±0.29, ISO grubunda 3.13±0.27 ve ISO+melatonin grubunda 2.56±0.27 olarak bulundu.

Kontrol grubunun ateroskleroz indeksi, ISO ve ISO+melatonin gruplarının ateroskleroz indeksine göre anlamlı olarak düşüktü (sırasıyla, $p=0.000$ ve $p<0.01$). Melatonin ve ISO+melatonin gruplarının ateroskleroz indeksleri, ISO grubunun ateroskleroz indeksine göre anlamlı olarak düşüktü (sırasıyla, $p=0.000$ ve $p<0.01$). Kontrol grubunun ateroskleroz indeksi ile melatonin grubunun ateroskleroz indeksi arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu. Melatonin ve ISO+melatonin grupları arasında ateroskleroz indeksi bakımından istatiksel olarak anlamlı fark yoktu.

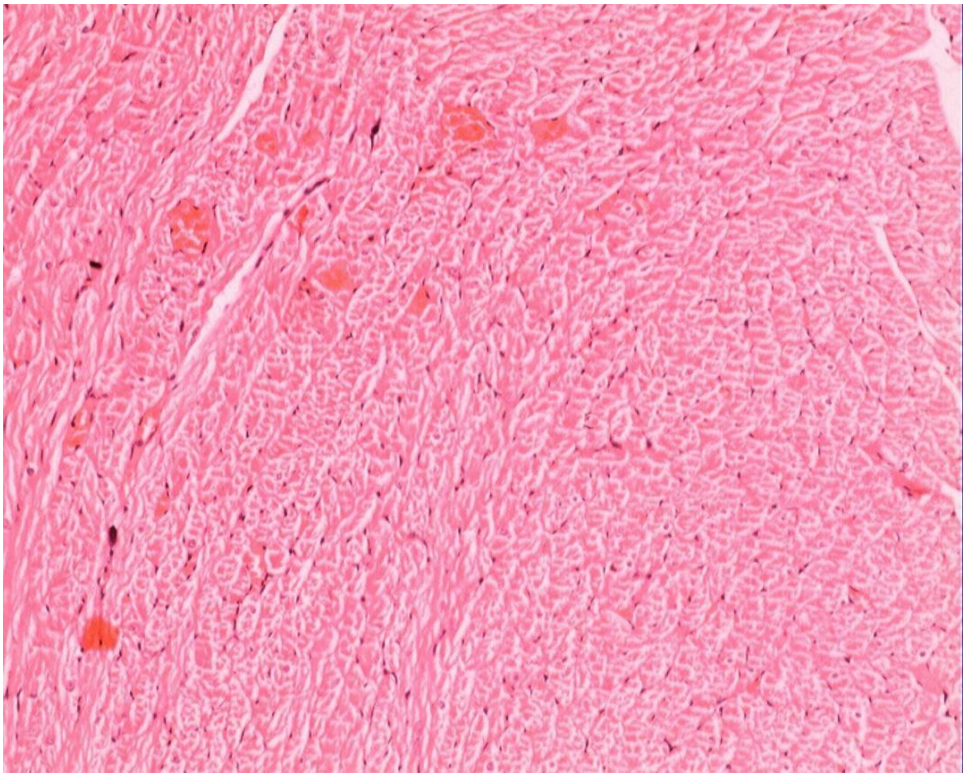
Paraoksonaz aktivitesi ile diğer parametreler arasında yapılan korelasyon analizleri sonucu, sadece ISO+melatonin grubunda PON ile ateroskleroz indeksi arasında pozitif bir korelasyon saptandı (p=0.041, r=0.775).

Tablo 8. Sıçan gruplarının serum yüksek dansiteli lipoprotein ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterol düzeyleri ve ateroskleroz indeksi

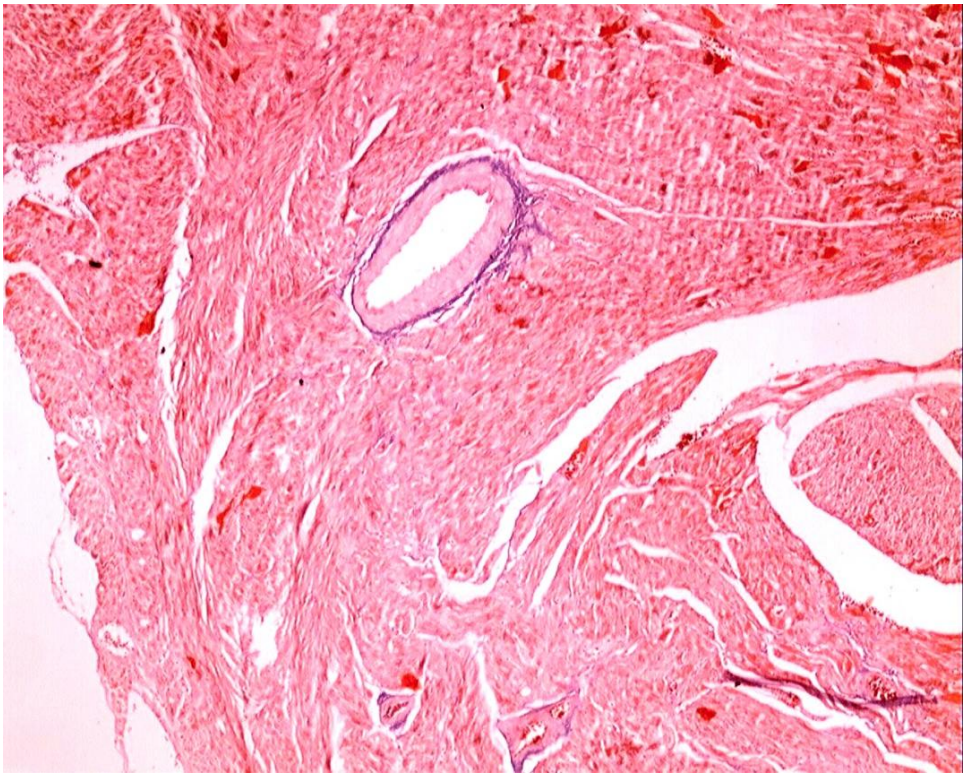
GRUP	n	HDL kolesterol (mg/dL) (ort±SD)	LDL kolesterol (mg/dL) (ort±SD)	Ateroskleroz indeksi (ort±SD)
Kontrol	10	13.38±1.63 $^{a**\ b*}$	9.81±2.68 $^{a**\ b**}$	1.97±0.33 $^{a**\ b*}$
Melatonin	10	12.70±0.65 $^{a**\ b*}$	12.20±3.92 $^{a**\ b**}$	2.17±0.29 ^{a**}
ISO	9	18.11±1.25	48.07±6.64	3.13±0.27
ISO+ Melatonin	7	18.47±2.63	38.29±6.18	2.56±0.27 ^{a*}
p		0.000	0.000	0.000

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein**, LDL:** Düşük dansiteli lipoprotein**; ISO:** İsoproterenol.
İstatiksel değerlendirme One Way Anova testi ile yapıldı.
a: ISO grubu ile karşılaştırıldı.
b: ISO+melatonin grubu ile karşılaştırıldı.
*: p<0.01 **: p=0.000.

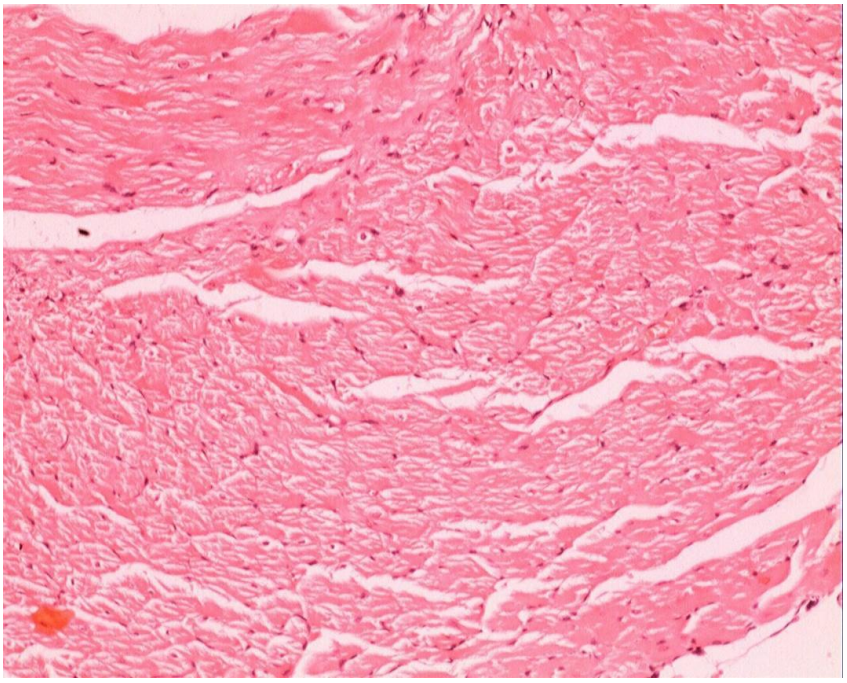
Onbeşinci güne kadar yaşatılan sıçanların kalp dokuları mikroskobik olarak incelendiğinde; kontrol grubu (Şekil 8,9) ve melatonin grubunda (Şekil 10,11) miyokartta herhangi bir fibrotik değişiklik saptanmadı. Oysa ISO grubunda (Şekil 12,13) sol ventrikül serbest duvarında ve interventriküler septumda, özellikle subendokardiyal alanda kaba bağ dokusu liflerinden oluşan ve arada sağlam miyokart alanı bırakmayan dağınık fibrozis alanlarının olduğu ve bu alanlardan başlayan ince fibrotik bantların çevre miyokart lifleri arasında dağıldığı görüldü. ISO+Melatonin grubunda ise (Şekil 14,15) kontrol ve melatonin grubuna benzer bulgular olmakla birlikte özellikle sol ventrikül serbest duvarında minimal fibrotik odaklar görüldü ve bu alanlarda ince fibrotik bantların miyokart lifleri arasında dağıldığı izlendi.



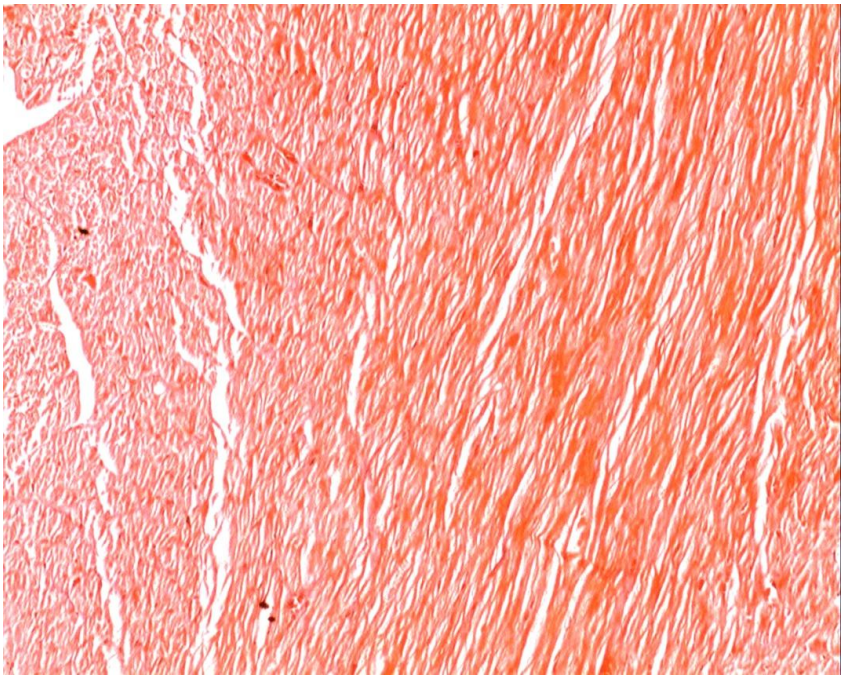
Şekil 8. Kontrol grubunun kalp dokusunda düzenli yapı (hematoksilen-eozin, X100)



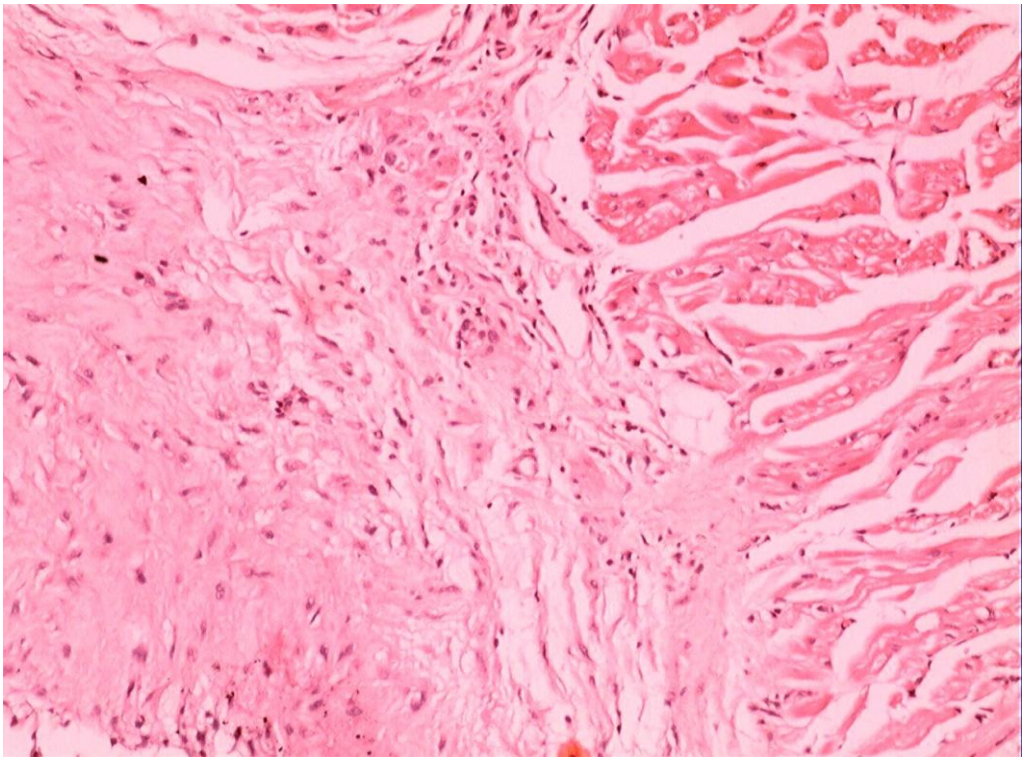
Şekil 9. Kontrol grubunun kalp dokusunda düzenli yapı (Masson's Trichrome, X100)



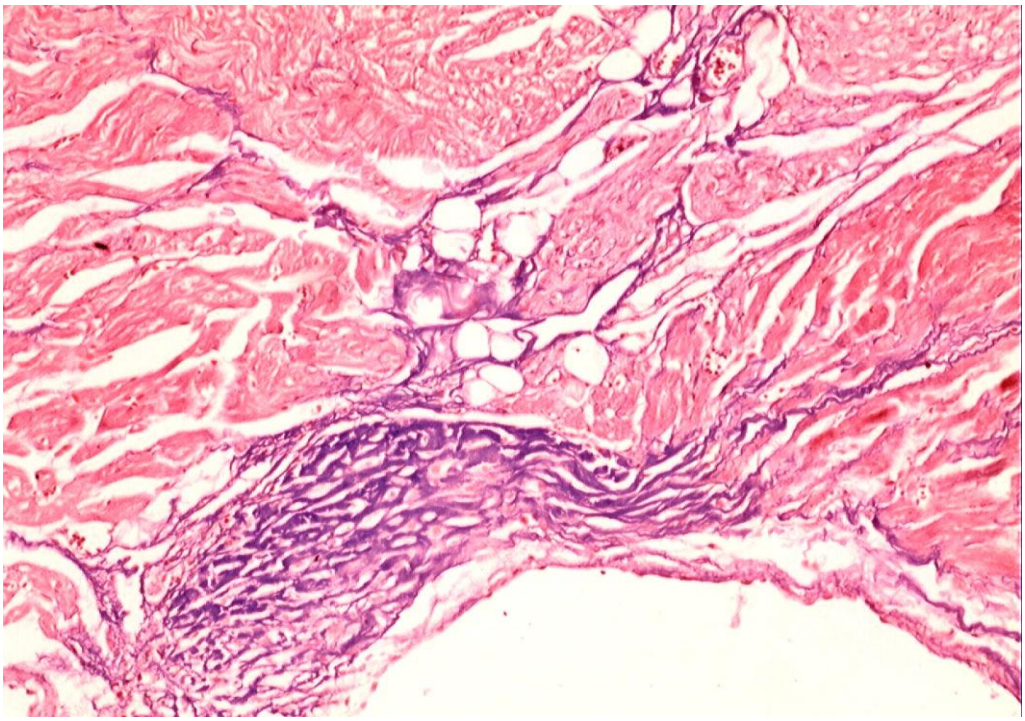
Şekil 10. Melatonin grubunun kalp dokusunda düzenli yapı (hematoksilen-eozin, X100)



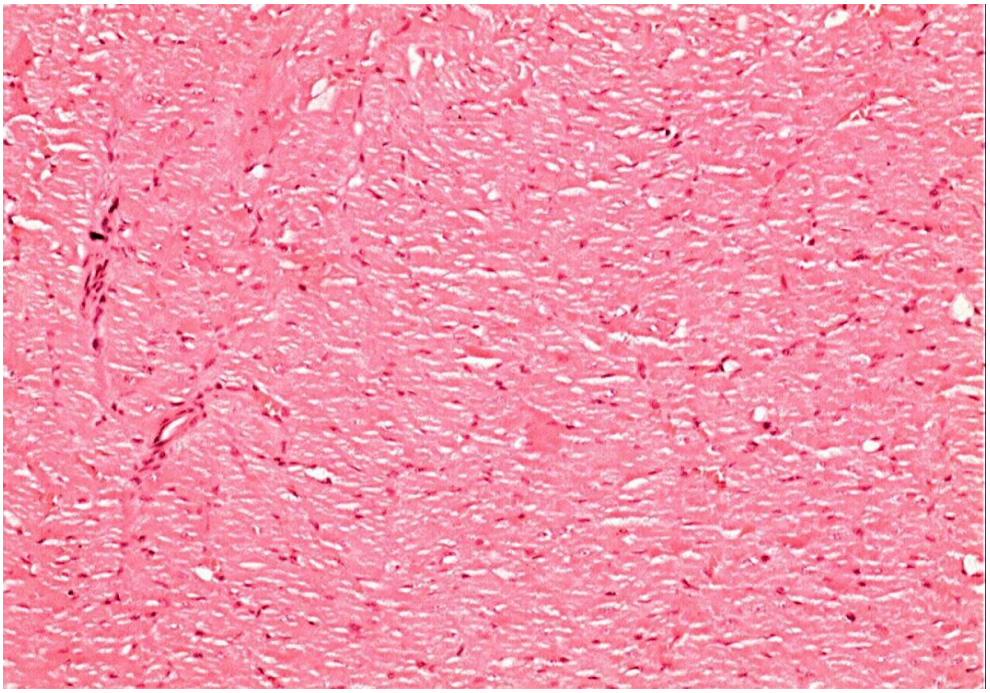
Şekil 11. Melatonin grubunun kalp dokusunda düzenli yapı (Masson's Trichrome, X100)



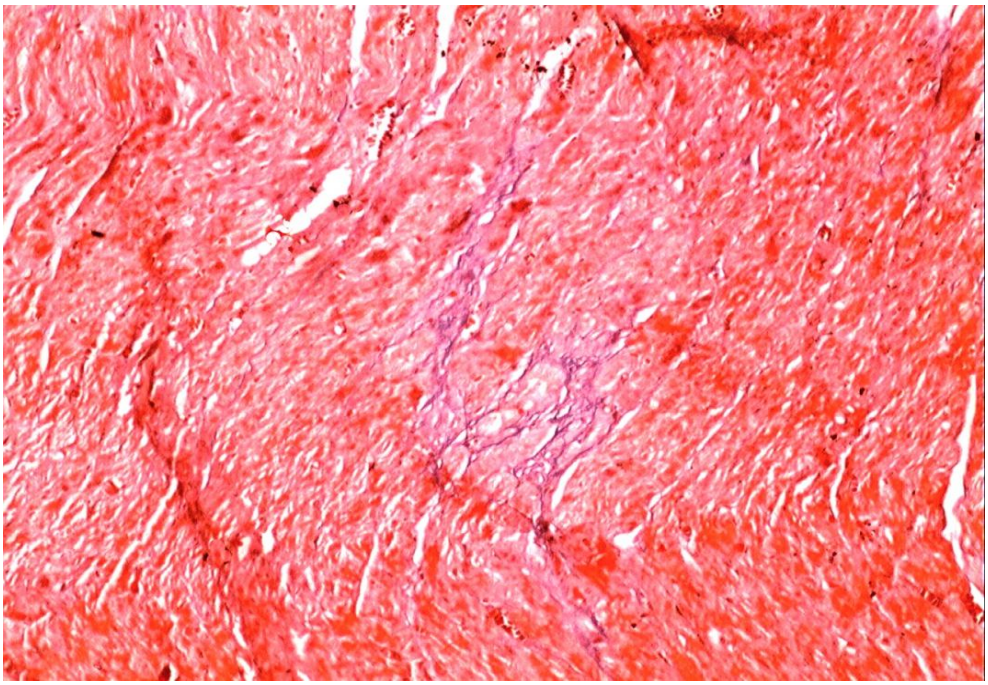
Şekil 12. İsoproterenol grubunun kalp dokusunda yoğun fibrozis alanları ve bu alanlardan başlayarak çevre miyokart lifleri arasına dağılan ince fibrotik bantlar (hematoksilen-eozin, X100)



Şekil 13. İsoproterenol grubunun kalp dokusunda yoğun fibrozis alanları ve bu alanlardan başlayarak çevre miyokart lifleri arasına dağılan ince fibrotik bantlar (Masson's Trichrome, X100)



Şekil 14. İsoproterenol+melatonin grubunun kalp dokusunda minimal fibrotik odaklar ve miyokart lifleri arasında dağılan ince fibrotik bantlar (hematoksilen-eozin, X100)



Şekil 15. İsoproterenol+melatonin grubunun kalp dokusunda minimal fibrotik odaklar ve miyokart lifleri arasında dağılan ince fibrotik bantlar (Masson's Trichrome, X100)

TARTIŞMA

Miyokart infarktüsü, koroner kalp hastalığına bağlı olarak ortaya çıkan, uzamış iskemi sonucunda gelişen miyokart nekrozu ve hasarıdır (3). Hem dünyada, hem de ülkemizde en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir (3,4). Miyokart infarktüsü, sıklıkla ateroskleroza bağlı oluşan koroner arter trombozu sonucu oluşmaktadır (5).

İsoproterenol, seçici olmayan, en güçlü β reseptör agonistidir (22). Yüksek dozlarda ISO uygulanması ile hayvanlarda deneysel miyokart infarktüsü modeli oluşturulmaktadır (22,23). ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde kalpte oluşan patofizyolojik değişiklikler, miyokart infarktüsü geçiren hastalarda oluşan değişikliklere benzerlik göstermektedir (22,24). Yüksek doz ISO koroner hipotansiyona yol açar ve hipoksi sonucu kardiyak hasar gelişir (76-80). ISO'nun kardiyak hasar oluşturma mekanizmalarının; cAMP düzeylerini, hücre içi kalsiyum düzeylerini ve yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin tüketilmesini arttırması olduğu öne sürülmüştür (80-82). Bununla birlikte ISO'nun oksidatif stresi arttırarak miyokart hasarına sebep olduğu da gösterilmiştir (83,84).

Antioksidanlar ile pro-oksidanlar arasındaki dengenin pro-oksidanlar lehine bozulması ile ortaya çıkan oksidatif stres; protein, lipid ve DNA gibi moleküllerin kimyasal modifikasyonlarına yol açarak hücre hasarı oluşturmaktadır (15). Melatonin, indolamin yapısında bir hormon olup başlıca pineal bezde triptofandan sentez edilir (26). Melatonin vücutta; sinir uyarısını, arteriyal vazokonstriksiyonu, kanser hücrelerinin çoğalmasını, üreme ve metabolik fonksiyonları düzenler (67). Melatonin hormonu aynı zamanda amfipatik özellikte güçlü bir antioksidandır. Antioksidan etkisini, hem direkt olarak serbest radikal süpürücü olarak hem de indirekt olarak antioksidan enzimleri uyararak gösterir (26,68,69).

Artmış oksidatif stres sonucu, LDL oksidatif modifikasyona uğrayarak okside LDL haline gelir. Makrofajların okside LDL'yi fagosite etmesi ile oluşan köpük hücreleri endotelyal disfonksiyona yol açarak ateroskleroz patogenezinde önemli rol oynar. Okside LDL miktarının artması koroner arter hastalığı için risk faktörüdür (85).

Paraoksonaz-1; kanda HDL'nin yapısında bulunan, HDL, LDL ve makrofajları oksidasyondan koruyarak ateroskleroz gelişimini önleyen bir antioksidan enzimdir (2). Oksidatif stresin ve inflamatuvar yanıtın arttığı durumlarda PON aktivitesi azalmaktadır. Aterosklerotik bireylerde serum PON aktivitesinin düşük olduğu bildirilmiştir (1). Diğer yandan, miyokart infarktüsü geçiren bireylerin de serum PON aktivitesinin düşük olduğu gösterilmiştir (21,61,62). Miyokart infarktüsünün sıklıkla ateroskleroza bağlı koroner arter trombozu sonucu geliştiği bilindiğinden (5), miyokart infarktüsü geçiren bireylerin infarktüs öncesi serum paraoksonaz aktivitelerinin sağlıklı bireyler gibi olması beklenemez. Bu nedenle, aterosklerozun bertaraf edildiği bir deneysel miyokart infarktüs modelinde serum PON aktivitesi ölçümü, miyokart infarktüsü geçiren bireylerde infarktüs sonrası serumda gözlenen PON aktivitesi düşüklüğünün, ateroskleroza bağlı zaten varolan bir düşüklük mü yoksa infarktüs sırasında gelişen metabolik olaylara bağlı gerçek bir azalma mı olduğunu ortaya koymak açısından önem arzetmektedir.

Çalışmamızda Wistar albino cinsi erkek sıçanlarda ISO ile deneysel miyokart infarktüsü oluşturularak melatonin tedavisinin serum PON aktivitesi, TnI, TOS, TAS, OSİ, MDA, TG, total, HDL, VLDL ve LDL kolesterol düzeylerine, PON/HDL oranına ve ateroskleroz indeksine etkisi incelenmiştir.

Elektrokardiyografi, miyokart infarktüsü tanısında ilk ve ana araç olmakla birlikte biyokimyasal belirteçler özellikle EKG ile tanı koyulamayan durumlarda sıklıkla kullanılmaktadır (54). Kardiyak troponinler (TnI ve Troponin T), miyokart hasarını saptamak için kullanılan oldukça duyarlı ve özgül biyokimyasal belirteçlerdir (7).

Literatürde ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde, serum TnI düzeylerinin arttığı bildirilmiş (86,87) ve serum TnI ölçümlerinin laboratuvar hayvanlarında kardiyak hasarın saptanmasında iyi bir belirteç olduğu gösterilmiştir (88). Çalışmamızda ISO verilişi, kontrol grubuna ve tek başına melatonin uygulanan gruba göre serum TnI düzeylerinde anlamlı bir artışa yol açtı. ISO ile birlikte melatonin verilişi, serum TnI düzeylerinde bir azalma meydana getirmesine rağmen, istatiksel bir fark saptanmadı. Oysa, Açıkel ve ark. (29), ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde melatonin tedavisinin serum TnI düzeylerini azalttığını bildirmişlerdir.

Diğer yandan, sıçanların kalp dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde, kontrol grubunda ve tek başına melatonin verilen grupta herhangi bir değişiklik saptanmazken, ISO grubunda sol ventrikül serbest duvarında ve interventriküler septumda, özellikle subendokardiyal alanda miyokart infarktüsü ile uyumlu olarak kaba bağ dokusu liflerinden oluşan ve arada sağlam miyokart alanı bırakmayan dağınık fibrozis alanlarının olduğu ve bu alanlardan başlayan ince fibrotik bantların çevre miyokart lifleri arasında dağıldığı görüldü. ISO ile birlikte melatonin verilen grupta ise, sadece ISO verilen gruptaki yoğun fibrotik alanlar yerine sol ventrikül serbest duvarında, minimal fibrotik odakların bulunduğu ve bu alanlarda ince fibrotik bantların miyokart lifleri arasında dağıldığı izlendi.

Histopatolojik bulgular melatonin tedavisinin ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde kardiyoprotektif bir etkiye sahip olduğunu kanıtlamaktadır. Melatoninin kardiyoprotektif bir etkiye sahip olduğu histopatolojik olarak gösterilmesine rağmen, serum TnI düzeyleri üzerindeki azaltıcı etkisinin istatistiksel olarak saptanamamasında melatonin dozunun ya da tedavi süresinin yetersiz kalması sorumlu olabilir.

İsoproterenol ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde serum total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyinin arttığı, HDL kolesterol düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (11-14).

Literatürle uyumlu olarak biz de ISO verilen gruplarda serum total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerini diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulduk. ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde kolesterol sentezinin anahtar enzimi olan 3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA redüktaz (HMG-KoA redüktaz) aktivitesinde artış olduğu ve bu artışın, kolesterol sentezinde artışa neden olabileceği bildirilmiştir (13).

Çalışmamızda ISO ile birlikte melatonin verilmesi sadece ISO verilen gruba göre serum total ve LDL kolesterol düzeylerini azaltmasına rağmen, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Oysa, Patel ve ark. (28), ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde melatonin tedavisinin serum total kolesterol düzeyini azalttığını bildirmişlerdir.

Diğer yandan, literatürden farklı olarak sadece ISO ya da ISO ile birlikte melatonin verilen gruplarda serum HDL kolesterol düzeylerinin yükseldiğini saptadık. ISO verilen gruplarda serum HDL kolesterol düzeylerinde bulduğumuz bu yükseklik çalışmanın standardizasyonu için tüm sıçan gruplarına melatoninin çözücüsü olan %4'lük etanol verilmesinden kaynaklanmış olabilir. Etanolün HDL düzeylerini artırıcı bir etkiye sahip olduğu ve bu etkinin, etanolün HDL'ye Apo A1 ve A2'nin transfer hızını arttırmasına ve HDL'nin katabolizma hızını azaltmasına bağlı olduğu gösterilmiştir (89). Etanolün bu etkisi

için ISO, kolesterol sentezinin anahtar enzimi olan 3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA redüktaz aktivitesini arttırarak substrat sağlamış olabilir. Çalışmamızda özellikle ISO uygulanan gruplarda serum HDL kolesterol düzeylerinde saptanan artıştan, etanol ve ISO'nun bu etkileri sorumlu olabilir. ISO ile birlikte melatonin uyguladığımız grupta ISO grubuna göre HDL kolesterol düzeyleri bakımından farklılık yoktu.

Diğer çalışmalardan farklı olarak çalışmamızda HDL dışı kolesterolün HDL kolesterole oranı olan ateroskleroz indeksini hesapladık (75). Sadece ISO verilen grubun ateroskleroz indeksinde belirgin bir artış olduğunu, melatonin tedavisinin ise ateroskleroz indeksini anlamlı olarak azalttığını bulduk.

Çalışmamızda melatoninin, serum HDL ve LDL kolesterol düzeylerini belirgin olarak değiştirmemesine rağmen ateroskleroz indeksini azaltması lipit metabolizması üzerine faydalı bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Yapılan korelasyon analizleri sonucu sadece ISO+melatonin grubunda serum PON aktivitesi ile ateroskleroz indeksi arasında saptanan pozitif korelasyon da melatoninin ateroskleroza karşı mücadele ettiğini gösteren önemli bir bulgudur.

İsoproterenol ile oluşturulan miyokart infarktüsünde serum TG ve VLDL kolesterol düzeylerinin arttığı (11-14), melatonin verilişinin ise TG düzeylerini değiştirmediği gösterilmiştir (28). ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde TG hidrolizinden sorumlu lipoprotein lipazın aktivitesinin azaldığı ve bu azalmanın TG hidrolizinin yavaşlamasına ve dolaşımdaki TG miktarının artmasına neden olabileceği bildirilmiştir (90).

Oysa çalışmamızda ISO verilen gruplarda serum TG ve VLDL kolesterol düzeyleri kontrol ve melatonin gruplarına göre düşük bulundu. ISO verilen gruplarda serum TG ve VLDL kolesterol düzeylerinde gözlenen bu azalmanın tüm sıçan gruplarına uygulanan melatonin çözücüsü etanolden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Etanolün lipoprotein lipaz aktivitesini ve buna bağlı olarak TG hidrolizini arttırdığı, dolayısıyla serum TG düzeylerini düşürdüğü bilinmektedir (91,92). ISO verilen gruplarda, serum TG ve VLDL kolesterol düzeylerinde gözlenen bu azalma, etanol uygulaması ile birlikte ortaya çıkan lipoprotein lipaz aktivasyonunun, ISO'nun lipoprotein lipazı inhibe edici etkisinden daha baskın olduğunu düşündürmektedir. Kontrol ve tek başına melatonin verilen gruplarda da etanolün lipoprotein lipazı aktive edici etkisinin görüleceği açıktır. Ancak TG hidrolizi ile açığa çıkan serbest yağ asitlerinin son ürün inhibisyonu ile lipoprotein lipazı baskıladığı gösterilmiştir (93). Bundan dolayı kontrol ve tek başına melatonin verilen gruplarda TG

hidrolizinin kontrol altında tutulacağı ortadadır. Diğer yandan ISO verilen gruplarda ise ISO etkisiyle aktivitesi artan 3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA redüktaz nedeniyle, son ürün olan serbest yağ asitlerinin kolesterol sentezine yönelmesi ve bu nedenle son ürün inhibisyonunun azalması beklenir. Lipoprotein lipaz üzerindeki baskının kalkmasının TG hidrolizinin artışına ve trigliserit düzeylerinin azalmasına neden olabileceğini düşünmekteyiz.

İsoproterenol ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde serumda oksidatif stresin arttığı (13,25,27), farklı oksidatif stres belirteçleri ile gösterilmesine rağmen, literatürde serum oksidan ve antioksidan durumun total olarak ölçülerek oksidatif stresin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda kontrol ve melatonin grupları ile karşılaştırıldığında ISO grubunun serum TOS ve OSİ düzeyleri yüksek, TAS düzeyi ise düşüktü. Bu bulgular, ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde, oksidatif streste bir artış olduğunu ve bu artıştan, oksidan düzeylerindeki artışın ve antioksidan düzeylerindeki azalmanın birlikte sorumlu olduğunu göstermektedir.

İsoproterenol ile oluşturulan miyokart infarktüsü modelinde melatonin tedavisinin serumda oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (27). Çalışmamızda ISO+melatonin grubunun serum TOS ve OSİ düzeyleri ISO grubundan daha düşük bulunmuştur. Diğer yandan, iki grup arasında serum TAS düzeyleri bakımından anlamlı bir fark yoktu. Bu bulgu, melatoninin antioksidan etkisinin özellikle oksidan düzeylerini azaltmasından kaynaklandığını göstermektedir.

Artmış oksidatif stres sonucu lipid peroksidasyonu artar. MDA, lipid peroksidasyonun son ürünü ve göstergesidir (16). ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde lipid peroksidasyonunda artış olduğu literatürde gösterilmiştir (13,25). Çalışmamızda, ISO grubunun serum MDA düzeyleri kontrol ve melatonin gruplarına göre anlamlı olarak yüksekti. Bulgumuz literatürle uyumlu olup, ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde serumda lipid peroksidasyonunun arttığını göstermektedir.

Literatürde, ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde melatonin tedavisinin serum MDA düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (27). Çalışmamızda ISO+melatonin grubunun serum MDA düzeyleri ISO grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Bu bulgular ışığında, ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde melatoninin serumda lipid peroksidasyonunu azalttığını söyleyebiliriz.

Literatürde ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünün serum PON aktivitesi üzerine etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda ISO grubunun serum PON aktivitesi, kontrol ve melatonin gruplarına göre anlamlı olarak düşüktü. Bu bulgu,

miyokart infarktüsü geçiren bireylerde gözlenen serum PON aktivitesindeki azalmada patogenezde yer alan aterosklerozun yanısıra akut miyokart infarktüsü sırasında gelişen bazı metabolik olayların da rolü olabileceğini göstermektedir.

ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde serum PON aktivitesinde gözlenen bu azalmada oksidatif stres artışı rol oynayabilir zira aterosklerozda gözlenen PON aktivitesindeki azalmadan, PON'un, artmış oksidatif stres ve inflamatuvar yanıta karşı tampon görevi görmesinin sorumlu olabileceği bildirilmiştir (1).

Farklı deneysel modellerde melatonin tedavisinin serum PON aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (94,95). ISO+melatonin grubunun serum PON aktivitesi, ISO grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Bu bulgular, ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde melatonin tedavisinin serum PON aktivitesini arttırdığını göstermektedir. PON aktivitesindeki bu artışın melatoninin antioksidan etkisine bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Melatonin tedavisinin sağlıklılarda serum PON aktivitesini değiştirmemesine rağmen, ISO ile oluşturulan miyokart infarktüsünde serum PON aktivitesindeki azalmayı önlemesi melatoninin antioksidan etkisinin özellikle oksidanları azaltıcı yönde olduğu düşüncesini kuvvetlendirmektedir. Bir başka deyişle melatonin, sağlıklılarda oksidan-antioksidan dengesine müdahale etmemekte oysa ISO tarafından başlatılan oksidatif stresi azaltarak oksidatif stresle mücadele eden bir enzim olan PON'un aktivitesinin azalmasını önlemektedir. Antioksidan bir molekül olan melatoninin deneysel miyokart infarktüsünde serum PON aktivitesindeki azalmayı önlediği bulgusu bu azalmanın oksidatif stres artışına bağlı olabileceği görüşünü de desteklemektedir.

Paraoksonaz-1 enzimi dolaşımda HDL'ye bağlı olarak taşınmaktadır (1). Çalışmamızda birim HDL kolesterol başına düşen PON aktivitesini gösterebilmek için ayrıca PON/HDL düzeyleri (96,97) hesaplandı. ISO grubunun serum PON/HDL düzeyleri, kontrol ve melatonin gruplarına göre anlamlı olarak düşüktü. Bu bulgu, ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde serum birim HDL kolesterol başına düşen PON aktivitesinin azaldığını göstermektedir. Çalışmamızda, ISO verilen grupta serum HDL kolesterol düzeylerinde bir artış saptanmasına rağmen PON aktivitesinin azaldığı bulgusu serum PON aktivitesi ile HDL kolesterol düzeyleri arasında ilişki olmadığını bildiren Kabaroğlu ve ark. (62) çalışmasını desteklemektedir.

İsoproterenol+melatonin grubunun serum PON/HDL düzeyini, ISO grubundan daha yüksek bulduk. Bu bulgular ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsü modelinde

melatonin tedavisinin, serum PON aktivitesini arttırmasının yanında serumda birim HDL kolesterol başına düşen PON aktivitesini de arttırdığını göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmamız, ISO ile oluşturulan, aterosklerozdan bağımsız bir akut miyokart infarktüsü modelinde serum PON aktivitesinde belirgin bir azalma olduğunu, melatonin tedavisinin ise bu azalmayı önlediğini gösterdi.

SONUÇLAR

Bu çalışmanın amacı, aterosklerozdan bağımsız bir deneysel miyokart infarktüs modelinde, serum PON aktivitesini ve melatoninin bu aktivite üzerine etkisini incelemektir. Bu amaçla Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kontrol, melatonin, ISO ve ISO+melatonin olmak üzere 4 gruba ayrılarak serum paraoksonaz aktivitesi, troponin I, total oksidan durum, total antioksidan durum, malondialdehit, trigliserit, total ve HDL kolesterol ölçülmüş, PON/HDL, oksidatif stres indeksi, VLDL ve LDL kolesterol ve ateroskleroz indeksi formüllerden hesaplanmıştır. Çalışmamızda;

1. Kontrol ve melatonin gruplarının miyokardında herhangi bir fibrotik değişiklik bulunmadığı, ISO+melatonin grubunun özellikle sol ventrikül serbest duvarında minimal fibrotik odaklar bulunduğu ve bu alanlarda ince fibrotik bantların miyokard lifleri arasında dağıldığı, ISO grubunun sol ventrikül serbest duvarında ve interventriküler septumda, özellikle subendokardiyal alanda kaba bağ dokusu liflerinden oluşan ve arada sağlam miyokart alanı bırakmayan dağınık fibrozis alanlarının bulunduğu ve bu alanlardan başlayan ince fibrotik bantların çevre miyokart lifleri arasında dağıldığı,
2. ISO ve ISO+melatonin gruplarının TnI düzeylerinin, kontrol ve melatonin gruplarının TnI düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu; Melatonin grubu ile kontrol grubu arasında TnI düzeyleri bakımından fark olmadığı; ISO grubunun TnI düzeyi ile ISO+melatonin grubunun TnI düzeyi arasında fark olmadığı;

3. ISO grubunun PON düzeyinin, kontrol, melatonin ve ISO+melatonin gruplarının PON düzeyinden anlamlı olarak daha düşük olduğu; melatonin ve ISO+melatonin gruplarının PON düzeyleri ile kontrol grubunun PON düzeyi arasında fark olmadığı; ISO+melatonin grubunun PON düzeyinin, melatonin grubunun PON düzeyinden anlamlı olarak daha düşük olduğu;
4. ISO grubunun PON/HDL düzeyinin, kontrol, melatonin ve ISO+melatonin gruplarının PON/HDL düzeylerinden anlamlı olarak daha düşük olduğu; ISO+melatonin grubunun PON/HDL düzeyinin, kontrol ve melatonin gruplarının PON/HDL düzeylerinden anlamlı olarak daha düşük olduğu; Melatonin grubu ile kontrol grubu arasında PON/HDL düzeyleri bakımından fark olmadığı;
5. ISO grubunun TOS düzeyinin, kontrol, melatonin ve ISO+melatonin gruplarının TOS düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu; melatonin ve ISO+melatonin gruplarının TOS düzeyleri ile kontrol grubunun TOS düzeyi arasında fark olmadığı; ISO+melatonin grubunun TOS düzeyi ile melatonin grubunun TOS düzeyi arasında fark olmadığı;
6. ISO ve ISO+melatonin gruplarının TAS düzeylerinin, kontrol ve melatonin gruplarının TAS düzeylerinden anlamlı olarak daha düşük olduğu; Melatonin grubu ile kontrol grubu arasında TAS düzeyleri bakımından fark olmadığı; ISO grubunun TAS düzeyi ile ISO+melatonin grubunun TAS düzeyi arasında fark olmadığı;
7. ISO grubunun OSİ düzeyinin, kontrol, melatonin ve ISO+melatonin gruplarının OSİ düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu; melatonin ve ISO+melatonin gruplarının OSİ düzeyleri ile kontrol grubunun OSİ düzeyi arasında fark olmadığı; ISO+melatonin grubunun OSİ düzeyi ile melatonin grubunun OSİ düzeyi arasında fark olmadığı;
8. ISO grubunun MDA düzeyinin, kontrol, melatonin ve ISO+melatonin gruplarının MDA düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu; melatonin ve ISO+melatonin gruplarının MDA düzeyleri ile kontrol grubunun MDA düzeyi arasında fark olmadığı; ISO+melatonin grubunun MDA düzeyi ile melatonin grubunun MDA düzeyi arasında fark olmadığı;
9. ISO ve ISO+melatonin gruplarının TG düzeylerinin, kontrol ve melatonin gruplarının TG düzeylerinden anlamlı olarak daha düşük olduğu; melatonin grubu

ile kontrol grubu arasında TG düzeyleri bakımından fark olmadığı; ISO grubunun TG düzeyi ile ISO+melatonin grubunun TG düzeyi arasında fark olmadığı;

10. ISO ve ISO+melatonin gruplarının total kolesterol düzeylerinin, kontrol ve melatonin gruplarının total kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu; melatonin grubu ile kontrol grubu arasında total kolesterol düzeyleri bakımından fark olmadığı; ISO grubunun total kolesterol düzeyi ile ISO+melatonin grubunun total kolesterol düzeyi arasında fark olmadığı;
11. ISO ve ISO+melatonin gruplarının VLDL kolesterol düzeylerinin, kontrol ve melatonin gruplarının VLDL kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak daha düşük olduğu; Melatonin grubu ile kontrol grubu arasında VLDL kolesterol düzeyleri bakımından fark olmadığı; ISO grubunun VLDL kolesterol düzeyi ile ISO+melatonin grubunun VLDL kolesterol düzeyi arasında fark olmadığı;
12. ISO ve ISO+melatonin gruplarının HDL kolesterol düzeylerinin, kontrol ve melatonin gruplarının HDL kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu; melatonin grubu ile kontrol grubu arasında HDL kolesterol düzeyleri bakımından fark olmadığı; ISO grubunun HDL kolesterol düzeyi ile ISO+melatonin grubunun HDL kolesterol düzeyi arasında fark olmadığı;
13. ISO ve ISO+melatonin gruplarının LDL kolesterol düzeylerinin, kontrol ve melatonin gruplarının LDL kolesterol düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu; melatonin grubu ile kontrol grubu arasında LDL kolesterol düzeyleri bakımından fark olmadığı; ISO grubunun LDL kolesterol düzeyi ile ISO+melatonin grubunun LDL kolesterol düzeyi arasında fark olmadığı;
14. ISO grubunun ateroskleroz indeksinin, kontrol, melatonin ve ISO+melatonin gruplarının ateroskleroz indekslerinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu; ISO+melatonin grubunun ateroskleroz indeksinin, kontrol grubunun ateroskleroz indeksinden yüksek olduğu; melatonin grubu ile kontrol ve ISO+melatonin grupları arasında ateroskleroz indeksleri bakımından fark olmadığı;
15. ISO+melatonin grubunda PON düzeyleri ile ateroskleroz indeksi arasında pozitif bir korelasyon olduğu görüldü.

Çalışmamız, ISO ile oluşturulan aterosklerozdan bağımsız bir deneysel miyokart infarktüsü modelinde PON aktivitesinin azaldığını, yedi gün boyunca 10 mg/kg dozunda uygulanan melatonin tedavisinin ise PON aktivitesini arttırırken oksidatif stresi azalttığını gösterdi.

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, aterosklerozdan bağımsız bir deneysel miyokart infarktüs modelinde, serum paraoksonaz aktivitesini ve melatoninin bu aktivite üzerine etkisini incelemektir.

Wistar albino erkek sıçanlar, kontrol, melatonin, isoproterenol ve isoproterenol+melatonin olmak üzere gruplara ayrıldı. Melatonin (10 mg/kg/gün), %4 etanol içinde çözülerek, melatonin ve isoproterenol+melatonin gruplarına yedi gün boyunca intraperitoneal olarak verildi. Miyokart infarktüsü oluşturmak için, isoproterenol ve isoproterenol+melatonin gruplarına altıncı ve yedinci günlerde isoproterenol (150 mg/kg/gün) intraperitoneal olarak verildi. Kalbin patolojik olarak incelenmesi için her gruptan birer sıçan rastgele seçildi ve onbeşinci güne kadar yaşatıldı. Diğer sıçanlardan, son isoproterenol enjeksiyondan 24 saat sonra intrakardiyak kan alındı. Serumda paraoksonaz aktivitesi, troponin I, total oksidan durum, total antioksidan durum, malondialdehit, trigliserit, total ve yüksek dansiteli lipoprotein kolesterol ölçüldü. Paraoksonaz/yüksek dansiteli lipoprotein oranı, oksidatif stres indeksi, çok düşük dansiteli lipoprotein ve düşük dansiteli lipoprotein kolesterol ve ateroskleroz indeksi formüllerden hesaplandı.

İsoproterenol grubunun paraoksonaz aktivitesi, paraoksonaz/yüksek dansiteli lipoprotein oranı ve total antioksidan durum düzeyi kontrol grubundan düşük, malondialdehit, total oksidan durum ve oksidatif stres indeksi ise yüksekti (tümü için p=0.000). İsoproterenol+melatonin grubunun paraoksonaz aktivitesi ve paraoksonaz/yüksek dansiteli lipoprotein oranı isoproterenol grubundan yüksek, malondialdehit, total oksidan durum ve oksidatif stres indeksi ise düşüktü (tümü için p=0.001).

Sonuç olarak, çalışmamız deneysel miyokart infarktüsü sonrası serum paraoksonaz aktivitesinin azaldığını, melatonin verilişinin ise bu azalmayı önlediğini gösterdi.

Anahtar kelimeler: İsoproterenol, miyokart infarktüsü, melatonin, paraoksonaz, oksidatif stres.

THE EFFECTS OF MELATONIN ON PARAOXONASE ACTIVITY IN ISOPROTERENOL-INDUCED MYOCARDIAL INFARCTED RATS

SUMMARY

The aim of this study is to investigate serum paraoxonase activity and the effect of melatonin on this activity in isoproterenol-induced myocardial infarction model which is independent from atherosclerosis.

Wistar albino male rats were divided randomly into following groups: control, melatonin, isoproterenol and isoproterenol+melatonin. Melatonin (10 mg/kg/day) solved in %4 ethanol was given intraperitoneally to melatonin and isoproterenol+melatonin groups for seven days. On the sixth and seventh days, isoproterenol (150 mg/kg/day) was given intraperitoneally to isoproterenol and isoproterenol+melatonin groups to induce myocardial infarction. One rat from each groups was randomly selected and lived to the fifteenth day for the pathologic examination of heart. Intracardiac blood was taken from other rats 24 hours after the last isoproterenol injection.

Paraoxonase activity, troponin I, total oxidant status, total antioxidant status, malondialdehyde, triglyceride, total and high density lipoprotein cholesterol were measured in serum. Paraoxonase/high density lipoprotein ratio, oxidative stress index, very low density lipoprotein and low density lipoprotein cholesterol and atherogenic index were calculated from the formulas.

Isoproterenol group’s paraoxonase activity, paraoxonase/high density lipoprotein ratio and total antioxidant status level were lower and malondialdehyde, total oxidant status and oxidative stress index were higher than control group (p=0.000 for all). Isoproterenol+melatonin group’s paraoxonase activity and paraoxonase/high density lipoprotein ratio were higher and malondialdehyde, total oxidant status and oxidative stress index were lower than isoproterenol group (p=0.001 for all).

As a result, our study indicated that serum paraoxonase activity decreases after miyocardial infarction and melatonin administration prevents this decrease.

Key words: Isoproterenol, myocardial infarction, melatonin, paraoxonase, oxidative stress

KAYNAKLAR

1. Précourt LP, Amre D, Denis MC, Lavoie JC, Delvin E, Seidman E et al. The three-gene paraoxonase family: physiologic roles, actions and regulation. Atherosclerosis 2011;214(1):20-36.
2. Rosenblat M, Sapır O, Aviram M. Glucose inactivates paraoxonase 1 (PON1) and displaces it from high density lipoprotein (HDL) to a free PON1 form. In: Mackness B, Mackness M, Aviram M, Paragh G (Eds.). The Paraoxonases: Their Role in Disease Development and Xenobiotic Metabolism. Dordrect: Springer; 2008. p.35-49.
3. Yılmaz E, Eser E, Şekuri C, Kultursay H. Miyokart Enfarktüsü Boyutsal Değerlendirme Ölçeği (MIDAS) Türkçe sürümünün psikometrik özellikleri. Anadolu Kardiyol Derg 2011;11:386-401.
4. World Heath Organization. The top causes of death. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html. Erişim tarihi: 03.06.2012
5. Kumar V,Cotran RS, Robbins SL (Çeviri: U. Çevikbaş). Robbins temel patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2003. s.365-71.
6. Antman EM, Braunwauld E. Akut miyokard infarktüsü (Çeviri: A. Birand). Sağlıker Y (Editör). Harrison İç Hastalıkları Prensipleri. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri;2004. s.1386-99.
7. Çelebi ÖÖ, Diker E, Aydogdu S. Kardiyak troponinlerin klinik önemi. Turk Kardiyol Dern Ars 2008;36(4):269-77.
8. McPherson RA, Pincus MR. Clinical Enzymology. In: Pincus MR, Tierno PM Jr., Fenelus M, Bowne WB, Bluth MH (Eds.). Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 22nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011 p.273-95.
9. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. Circulation 2004;110(2):227-39.
10. Rıfai N, Bachorik PS, Albers JJ. Lipoproteinler ve apolipoproteinler (Çeviri: G. Hergenç). Aslan D (Editör). Tietz Klinik Biyokimyada Temel İlkeler. Ankara: Palme

Yayıncılık;2005.s.462-93.

11. Stanely Mainzen Prince P, Karthick M. Preventive effect of rutin on lipids, lipoproteins, and ATPases in normal and isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. J Biochem Mol Toxicol 2007;21(1):1-6.
12. Rajadurai M, Prince PS. Comparative effects of Aegle marmelos extract and alpha-tocopherol on serum lipids, lipid peroxides and cardiac enzyme levels in rats with isoproterenol-induced myocardial infarction. Singapore Med J 2005;46(2):78-81.
13. Rajadurai M, Stanely Mainzen Prince P. Preventive effect of naringin on lipids, lipoproteins and lipid metabolic enzymes in isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats. J Biochem Mol Toxicol 2006;20(4):191-7.
14. Peer PA, Trivedi PC, Nigade PB, Ghaisas MM, Deshpande AD. Cardioprotective effect of Azadirachta indica A. Juss. on isoprenaline induced myocardial infarction in rats. Int J Cardiol 2008;126(1):123-6.
15. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicol Pathol 2002;30(6):620-50.
16. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2005;15(4):316-28.
17. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem 2005;38(12):1103-11.
18. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin Biochem 2004;37(4):277-85.
19. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. Swiss Med Wkly 2003;133(41-42):563-6.
20. Wang M, Lang X, Cui S, Zou L, Cao J, Wang S et al. Quantitative Assessment of the Influence of Paraoxonase 1 Activity and Coronary Heart Disease Risk. DNA Cell Biol 2012;31(6):975-82.
21. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19(2):330-5.
22. Brunton LL. Sinaps ve nöroeffektör aralıklarda etki eden ilaçlar (Çeviri: E. Sağlam). Süzer Ö (Editör) Tedavinin Farmakolojik Temeli -Goodman & Gilman. İstanbul: Nobel Tip Kitabevi; 2009. s. 237-97.
23. Ou L, Li W, Liu Y, Zhang Y, Jie S, Kong D et al. Animal models of cardiac disease and stem cell therapy. Open Cardiovasc Med J 2010;4:231-9.
24. Rona G. Catecholamine cardiotoxicity. J Mol Cell Cardiol 1985;17(4):291-306.
25. Karthikeyan K, Bai BR, Devaraj SN. Efficacy of grape seed proanthocyanidins on serum and heart tissue lipids in rats subjected to isoproterenol-induced myocardial injury. Vascul Pharmacol 2007;47(5-6):295-301.
26. Şener G. Karanlığın hormonu melatonin. Marmara Pharm J 2010;14:112-20.

27. Mukherjee D, Roy SG, Bandyopadhyay A, Chattopadhyay A, Basu A, Mitra E et al. Melatonin protects against isoproterenol-induced myocardial injury in the rat: antioxidative mechanisms. J Pineal Res 2010;48(3):251-62.

28. Patel V, Upaganlawar A, Zalawadia R, Balaraman R. Cardioprotective effect of melatonin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats: A biochemical, electrocardiographic and histoarchitectural evalution. Eur J Pharmacol 2010;644(1-3):160-8.

29. Acikel M, Buyukokuroglu ME, Aksoy H, Erdogan F, Erol MK. Protective effects of melatonin against myocardial injury induced by isoproterenol in rats. J Pineal Res 2003;35(2):75-9.

30. Yeung DT, Lenz DE, Cerasoli DM. Human paraoxonase I: a potential bioscavenger of organophosphorus nerve agents. In: Mackness B, Mackness M, Aviram M, Paragh G (Eds.). The Paraoxonases: Their Role in Disease Development and Xenobiotic Metabolism. Dordrect: Springer; 2008. p.151-70.

31. Draganov DI, La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 2004;369(1):78-88.

32. Mackness B, Beltran-Debon R, Aragones G, Joven J, Camps J, Mackness M. Human tissue distribution of paraoxonases 1 and 2 mRNA. IUBMB Life 2010;62(6):480-2.

33. Marsillach J, Mackness B, Mackness M, Riu F, Beltrán R, Joven J et al. Immunohistochemical analysis of paraoxonases-1, 2, and 3 expression in normal mouse tissues. Free Radic Biol Med 2008;45(2):146-57.

34. Deakin SP, Bioletto S, Bochaton-Piallat ML, James RW. HDL-associated paraoxonase-1 can redistribute to cell membranes and influence sensitivity to oxidative stress. Free Radic Biol Med 2011;50(1):102-9.

35. Kuo CL, La Du BN. Calcium binding by human and rabbit serum paraoxonases. Structural stability and enzymatic activity. Drug Metab Dispos 1998;26(7):653-60.

36. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC et al. On the physiological role(s) of the paraoxonases. Chem Biol Interact 1999;119-120:379-88.

37. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. Am J Hum Genet 1983;35(6):1126-38.

38. Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, La Du BN. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. J Biol Chem 2000;275(43):33435-42.

39. Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN. Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. J Lipid Res 2005;46(6):1239-47.

40. Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. J Biol Chem 2000;275(6):3957–62.

41. Teiber JF, Horke S, Haines DC, Chowdhary PK, Xiao J, Kramer GL et al. Dominant role of paraoxonases in inactivation of the Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing signal N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone. Infect Immun 2008;76(6):2512-9.

42. Costa LG, Richter RJ, Li WF, Cole T, Guizzetti M, Furlong CE. Paraoxonase (PON1) as a biomarker of susceptibility for organophosphate toxicity. Biomarkers 2003;8(1):1-12.

43. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. J Clin Invest 1998;101(8):1581-90.

44. Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase-1 and cardiovascular disease. In: Mackness B, Mackness M, Aviram M, Paragh G (Eds.). The Paraoxonases: Their Role in Disease Development and Xenobiotic Metabolism. Dordrect: Springer; 2008. p.51-60.

45. Karabina SA, Lehner AN, Frank E, Parthasarathy S, Santanam N. Oxidative inactivation of paraoxonase--implications in diabetes mellitus and atherosclerosis. Biochim Biophys Acta 2005;1725(2):213-21.

46. Van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, Stafforini DM, Mclntyre TM, Prescott SM et al. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. J Clin Invest 1995;96(6):2758–67.

47. Han CY, Chiba T, Campbell JS, Fausto N, Chaisson M, Orasanu G et al. Reciprocal and coordinate regulation of serum amyloid A versus apolipoprotein A-I and paraoxonase-1 by inflammation in murine hepatocytes. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2006;26(8):1806–13.

48. Baskol G, Baskol M, Yurci A, Ozbakir O, Yucesoy M. Serum paraoxonase 1 activity and malondialdehyde levels in patients with ulcerative colitis. Cell Biochem Funct 2006;24(3):283-6.

49. Boehm D, Krzystek-Korpacka M, Neubauer K, Matusiewicz M, Berdowska I, Zielinski B et al. Paraoxonase-1 status in Crohn's disease and ulcerative colitis. Inflamm Bowel Dis 2009;15(1):93-9.

50. Rothem L, Hartman C, Dahan A, Lachter J, Eliakim R, Shamir R. Paraoxonases are associated with intestinal inflammatory diseases and intracellularly localized to the endoplasmic reticulum. Free Radic Biol Med 2007;43(5):730-9.

51. Krzystek-Korpacka M, Boehm D, Matusiewicz M, Diakowska D, Grabowski K, Gamian A. Paraoxonase 1 (PON1) status in gastroesophageal malignancies and associated paraneoplastic syndromes-connection with inflammation. Clin Biochem 2008;41(10-11):804-11.

52. Kedage V, Muttigi MS, Shetty MS, Suvarna R, Rao SS, Joshi C et al. Serum paraoxonase 1 activity status in patients with liver disorders. Saudi J Gastroenterol 2010;16(2):79-83.

53. Isik A, Koca SS, Ustundag B, Selek S. Decreased total antioxidant response and increased oxidative stress in Behcet's disease. Tohoku J Exp Med 2007;212(2):133-41.

54. Apple FS. Kardiyak fonksiyon (Çeviri: G. Haklar). Aslan D (Editör). Tietz Klinik Biyokimyada Temel İlkeler. Ankara: Palme Yayıncılık;2005. s.682-97.

55. The Merck Manuel. Acute Coronary Syndromes (Unstable Angina; Acute MI). http://www.merck.com/mmpe/sec07/ch073/ch073c.html#sec07-ch073-ch073c-619. Erişim tarihi: 08.08.2012

56. Nelson DL, Cox MM. Lipitler (Çeviri: Ö. Çetinkaya). Kılıç N (Editör). Lehninger Biyokimyanın İlkeleri. Ankara: Palme yayıncılık;2005. s.363-88.

57. Nelson DL, Cox MM. Lipit Biyosentezi (Çeviri: A. Atalay). Kılıç N (Editör). Lehninger Biyokimyanın İlkeleri. Ankara: Palme yayıncılık;2005. s.770-817.

58. Cho KH. Biomedicinal implications of high-density lipoprotein: its composition, structure, functions, and clinical applications. BMB Rep 2009;42(7):393-400.

59. Wikipedia. Lipoproteinler. http://tr.wikipedia.org/wiki/Lipoproteinler. Erişim tarihi: 08.08.2012

60. Tarpey MM, Wink DA, Grisham MB. Methods for detection of reactive metabolites of oxygen and nitrogen: in vitro and in vivo considerations. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2004;286(3):431-44.

61. Serdar Z, Serdar A, Altin A, Eryilmaz U, Albayrak S. The relation between oxidant and antioxidant parameters and severity of acute coronary syndromes. Acta Cardiol 2007;62(4):373-80.

62. Kabaroglu C, Mutaf I, Boydak B, Ozmen D, Habif S, Erdener D et al. Association between serum paraoxonase activity and oxidative stress in acute coronary syndromes. Acta Cardiol 2004;59(6):606-11.

63. Bagatini MD, Martins CC, Battisti V, Gasparetto D, da Rosa CS, Spanevello RM et al. Oxidative stress versus antioxidant defenses in patients with acute myocardial infarction. Heart Vessels 2011;26(1):55-63.

64. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ankara: Pelikan yayıncılık, 2009:974-84.

65. Altun A, Vardar A, Altun B.U. Melatonin ve. Kardiyovasküler Sistem. Anadolu Kardiyol Derg 2001;1:283-8.

66. Salway JG (çeviri: U. Görmüş, H.A. Ergen, Ü. Zeybek). Metabolizma atlası bir bakışta metabolizma. İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi; 2012:92-3.

67. Dubocovich ML, Markowska M. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. Endocrine 2005;27(2):101-10.

68. Bonnefont-Rousselot D, Collin F. Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. Toxicology 2010;278(1):55-67.

69. Korkmaz A, Reiter RJ, Topal T, Manchester LC, Oter S, Tan DX. Melatonin: an established antioxidant worthy of use in clinical trials. Mol Med 2009;15(1-2):43–50.

70. Şahna E, Deniz E, Aksulu EH. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve melatonin. Anadolu Kardiyol Derg 2006;6:163-8.

71. Tengattini S, Reiter RJ, Tan DX, Terron MP, Rodella LF, Rezzani R. Cardiovascular diseases: protective effects of melatonin. J Pineal Res 2008;44(1):16-25.

72. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. Drug Metab Dispos 1991;19(1):100-6.

73. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979; 95(2):351-8.

74. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972;18(6):499-502.

75. Rosenfeld L. Lipoprotein analysis. Early methods in the diagnosis of atherosclerosis. Arch Pathol Lab Med 1989;113(10):1101-10.

76. Rona G, Chappel CI, Balazs T, Gaudry R. An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat. AMA Arch Pathol 1959;67(4):443-55.

77. Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Cho K, Weber KT, Clark WA. Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. Circ Res 1989;65(3):657-70.

78. Misra MK, Sarwat M, Bhakuni P, Tuteja R, Tuteja N. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes. Med Sci Monit 2009;15(10):209-19.

79. Davies MJ. The pathology of myocardial ischaemia. J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol) 1977;11:45-52.

80. Bloom S, Davis DL. Calcium as mediator of isoproterenol-induced myocardial necrosis. Am J Pathol 1972;69(3):459-70.

81. Bhagat B, Sullivan JM, Fischer VW, Nadel EM, Dhalla NS. cAMP activity and isoproterenol-induced myocardial injury in rats. Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab 1976;12:465-70.

82. Ostádal B, Krause EG, Beyerdörfer I, Pelouch V, Wollenberger A. Effect of intra-amnial administration of a cardiotoxic dose of isoproterenol on cyclic AMP levels in the chick embryo heart. J Mol Cell Cardiol 1979;11(11):1183-7.

83. Singal PK, Beamish RE, Dhalla NS. Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. Adv Exp Med Biol 1983;161:391-401.

84. Sasikumar CS, Devi CS. Effect of abana an ayurvedic formulation, on lipid peroxidation in experimental myocardial infarction in rats. Indian J Exp Biol 2000;38(8):827-30.

85. Sugamura K, Keaney JF Jr. Reactive oxygen species in cardiovascular disease. Free Radic Biol Med 2011;51(5):978-92.

86. Punithavathi VR, Stanely Mainzen Prince P. The cardioprotective effects of a combination of quercetin and α-tocopherol on isoproterenol-induced myocardial infarcted rats. J Biochem Mol Toxicol 2011;25(1):28-40.

87. Hasić S, Jadrić R, Kiseljaković E, Valjevac A, Mornjaković Z, Winterhalter-Jadrić M. Time-dependent responses of rat troponin I and cardiac injury following isoproterenol administration. Med Glas Ljek komore Zenicko-doboj kantona 2011;8(1):140-5.

88. O'Brien PJ, Smith DE, Knechtel TJ, Marchak MA, Pruimboom-Brees I, Brees DJ et al. Cardiac troponin I is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. Lab Anim 2006;40(2):153-71.

89. De Oliveira E Silva ER, Foster D, McGee Harper M, Seidman CE, Smith JD, Breslow JL et al. Alcohol consumption raises HDL cholesterol levels by increasing the transport rate of apolipoproteins A-I and A-II. Circulation 2000;102(19):2347-52.

90. Ballart X, Siches M, Peinado-Onsurbe J, López-Tejero D, Llobera M, Ramírez I et al. Isoproterenol increases active lipoprotein lipase in adipocyte medium and in rat plasma. Biochimie 2003;85(10):971-82.

91. Mudráková E, Kovár J. Ethanol consumption affects lipoprotein lipase gene expression in C57BL/6 mice. Physiol Res 2007;56(4):497-501.

92. Hannuksela ML, Rämet ME, Nissinen AE, Liisanantti MK, Savolainen MJ. Effects of ethanol on lipids and atherosclerosis. Pathophysiology 2004;10(2):93-103.

93. Bengtsson G, Olivecrona T. Lipoprotein lipase. Mechanism of product inhibition. Eur J Biochem 1980;106(2):557-62.

94. Kiliç A, Selek S, Erel O, Aksoy N. Protective effects of melatonin on oxidative-antioxidative balance and cataract formation in rats. Ann Ophthalmol (Skokie) 2008;40(1):22-7.

95. Topsakal C, Kilic N, Ozveren F, Akdemir I, Kaplan M, Tiftikci M et al. Effects of prostaglandin E1, melatonin, and oxytetracycline on lipid peroxidation, antioxidant defense system, paraoxonase (PON1) activities, and homocysteine levels in an animal model of spinal cord injury. Spine (Phila Pa 1976) 2003;28(15):1643-52.

96. Kassai A, Illyés L, Mirdamadi HZ, Seres I, Kalmár T, Audikovszky M et al. The effect of atorvastatin therapy on lecithin:cholesterol acyltransferase, cholesteryl ester transfer protein and the antioxidant paraoxonase. Clin Biochem 2007;40(1-2):1-5.

97. Harangi M, Remenyik E E, Seres I, Varga Z, Katona E, Paragh G. Determination of DNA damage induced by oxidative stress in hyperlipidemic patients. Mutat Res 2002;513(1-2):17-25.

EKLER

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 01 **Karar Tarihi: 05.01.2011**

KARAR NO: **2011.01.06**

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN yaptığı Dr. Eray Özgün'ün Tıpta uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2011/06 protokol nolu "Isoproterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulan sıçanlarda melatoninin serum paraoksonaz aktivitesine etkisi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvani/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	