ŞİGA TOKSİN UYGULANMIŞ RATLARDA ELEKTROKARDİYOGRAFİ (EKG) VE BAZI KALP ENZİMLERİ ÜZERİNE RUTİNİN ETKİLERİ

Kübra ÇAVUŞOĞLU
Veterinerlik Fizyolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

Yüksek Lisans Tezi – 2019

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ŞİGA TOKSİN UYGULANMIŞ RATLARDA ELEKTROKARDİYOGRAFİ (EKG) VE BAZI KALP ENZİMLERİ ÜZERİNE RUTİNİN ETKİLERİ

Kübra ÇAVUŞOĞLU

Veterinerlik Fizyolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

ERZURUM
2019

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK FİZYOLOJİSİ
ANABİLİMDALI

ŞİGA TOKSİN UYGULANMIŞ RATLARDA ELEKTROKARDİYOGRAFİ (EKG) VE BAZI KALP ENZİMLERİ ÜZERİNE RUTİNİN ETKİLERİ

Kübra ÇAVUŞOĞLU

Tez Savunma Tarihi	: 18.07.2019
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi	: Dr. Öğr. Üyesi Emin ŞENGÜL (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi	: Dr. Öğr. Üyesi Volkan GELEN (Kafkas Üniversitesi)

Onay
Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir

Prof. Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM – 2019

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... **III**

ÖZET ..... **IV**

ABSTRACT ..... **V**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **VI**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **VII**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **IX**

1. GİRİŞ **1**

2. GENEL BİLGİLER **4**

2.1. Şiga Toksinler 4

2.1.1. Şiga Toksinin Yapısı 4

2.1.2. Şiga Toksin Reseptörleri 5

2.1.3. Şiga Toksinin Toksisitesi 6

2.1.4. Şiga Toksin- İmmün Yanıt İlişkisi 6

2.1.5. Şiga Toksin-Oksidatif Stres İlişkisi 7

2.2. Hemolitik Üremik Sendrom 8

2.3. Rutin 9

2.4. Kalp ve Elektrokardiyografi (EKG) 10

2.5. Kalp Enzimleri 20

2.5.1. Kreatin Kinaz (CK) ve Kreatin Kinaz MB (CK-MB) 20

3. MATERYAL VE METOD **22**

3.1. Kullanılan Deney Hayvanları 22

3.2. Kullanılan Etken Madde ve Dozları 22

3.3. Deneylerde Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler 23

3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Yapılan Enjeksiyonlar 24

3.5. EKG çekimleri 26
3.6. Kan Örneklerinin Toplanması 27
3.7. Biyokimyasal Analizler: 27
3.8. İstatiksel Analiz 27
4. BULGULAR 28
5. TARTIŞMA 37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 46
KAYNAKLAR 49
EKLER 63
EK-1. ÖZGEÇMİŞ 63
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU 64
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU 65

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ 'ye en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ali ÇINAR hocama, çalışmalarım esnasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Emin ŞENGÜL, Sayın Doç. Dr. Serkan YILDIRIM ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Volkan GELEN'e saygı ve şükranlarımı sunarım. Yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü anlayışı ve desteği gösteren başta annem-babam olmak üzere ablam Dr. Öğr. Üyesi Esra ŞENTÜRK ve eşi Doç.Dr. Murat ŞENTÜRK 'e, arkadaşlarım Büşra UÇAR, Arş. Gör. Betül ÇİÇEK ve Arş. Gör. Sami AĞUŞ 'a teşekkür ederim.

Kübra ÇAVUŞOĞLU

ÖZET

Şiga Toksin Uygulanmış Ratlarda Elektrokardiyografi ve Bazı Kalp Enzimleri Üzerine Rutinin Etkileri

Amaç: Şiga toksin 2 (Stx2) uygulanan ratlarda Elektrokardiyografi (EKG) bulgularının, kreatin kinaz (CK) ve CK 'nın bir izoenzimi olan kreatin kinaz miyokard bandı (CK-MB) değerlerinin nasıl etkilendiğinin araştırılması ve rutin uygulanmış ratlarda, Stx2 uygulamasının EKG, CK ve CK-MB parametrelerindeki değişikliklerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod: Çalışma toplamda 200-250 gr ağırlığında 12 haftalık yetişkin Sprague-Dawley ırkı 40 adet erkek rat üzerinde yapıldı. Çalışmalar ratlarda Stx2 (100 ng/kg) ile oluşturulan Hemolitik Üremik Sendrom (HÜS) modeli üzerinde gerçekleştirildi. HÜS oluşturulan ratlar üzerinde rutin etken maddesinin protektif etkisini iki farklı doz (50 mg/kg, 100 mg/kg) kullanarak, EKG çekimleri, biyokimyasal kalp parametreleri kullanılarak değerlendirildi.

Bulgular: Yapmış olduğumuz çalışmada Stx2 toksikasyonuna maruz bırakılmış ratlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında akut dönem içerisinde EKG parametrelerine ilişkin belirgin bir patolojiye rastlanmadığı, rutin uygulanmış ve sonra Stx2 toksikasyonuna maruz bırakılmış gruplarda da EKG bulgularına yönelik anlamlı bir veri elde edilememiştir. Ancak bu süreç içerisinde CK ve CK-MB değerlerinin Stx2 toksikasyonuna maruz bırakılmış ratlarda belirgin artış gösterdiği ve rutin uygulanmış sonra Stx2 toksikasyonuna maruz bırakılmış gruplarda ise söz konusu enzim düzeylerinin kontrol grubu içerisindeki değerler düzeyinde kaldığı gözlemlenmiştir.

Sonuç: Stx2 toksikasyonu ve protektif özelliği olan rutin kullandığımız çalışmamızda EKG parametrelerine ilişkin belirgin bir patolojiye rastlanmamıştır. Ancak CK ve CK-MB değerlerinin Stx2 uygulanmış ratlarda artış gösterdiği, Stx2 + rutin ve rutin uygulanmış gruplarda ise enzim düzeylerinin kontrol grubu içerisindeki değerlerde kaldığı gözlemlenmiştir. Elde edilen verilere göre rutinin Stx2 toksikasyonun akut dönemde enzim düzeyinde oluşturduğu miyokart hasarının önlenmesinde koruyucu etkiye sahip olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: EKG, kreatin kinaz, rat, rutin, Stx2

ABSTRACT

Effects of Routine on Electrocardiography and Some Heart Enzymes in Shiga Toxin-Administered Rats

Aim: The aim of this study was to investigate the effects of electrocardiography (ECG) findings, CK-MB which is an isoenzyme of CK and CK in rats treated with shiga toxin (Stx2) and to compare the changes in ECG, CK and CK-MB parameters of Stx2 application in routine cured rats.

Materials and Methods: The study was carried out on 40 male rats of Sprague-Dawley, aged 12 weeks, weighing 200-250 g. The studies were carried out on the Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) model induced by Stx2 (100 ng / kg) in rats. The protective effect of routine active agent on HUS-induced rats was evaluated using two different doses (50 mg / kg, 100 mg / kg), ECG recordings and biochemical cardiac parameters.

Results: In our study, when compared with the control group, no significant pathology related to ECG parameters were observed in the acute period and routine cure was applied in the rats exposed to Stx2 toxicity and no significant data were obtained for the ECG findings in the groups exposed to Stx2 toxicity. However, it was observed that CK and CK-MB values increased significantly in the rats exposed to Stx2 toxicity during this process and it was observed that the levels of enzyme in the control group remained in the cured after routine cure and then the groups exposed to Stx2 toxicity.

Conclusion: In our routine study with Stx 2 toxicity and protective features, no significant pathology regarding ECG parameters was found. However, it was observed that CK and CK-MB values increased in rats treated with Stx2 toxicity, whereas enzyme levels in Stx + routine and routine groups remained within the control group. According to the obtained data, routine routine Stx2 toxicity is thought to have a protective effect in the prevention of myocardial damage caused by enzyme level in acute period.

Key words: Electrocardiography, creatine kinase, rat, routine, shiga toxin

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Abs	**:**	Absorbans
ATADEM	**:**	Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi
ATP	**:**	Adenozin Trifosfat
A-V	**:**	Atriyoventriküler Düğüm
CK-BB	**:**	CK Beyin bandı (beyinde bulunan)
CK-MB	**:**	CK Miyokard bandı (kalp kasında bulunan)
CK-MM	**:**	CK İskelet kası bandı (iskelet kasında bulunan)
CK	**:**	Kreatin Kinaz
DTNB	**:**	5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoik asit
DNA	**:**	Deoksiribonükleik Asit
EKG	**:**	Elektrokardiyografi
Gb	**:**	Globotriosil seramid
GSH	**:**	Gulutatyon
GSSG	**:**	Gulutatyon disülfat
H_2O_2	**:**	Hidrojen peroksit
HÜS	**:**	HÜS
Na	**:**	Sodyum
NADPH	**:**	Nikotin amid adenin dinükleotid fosfat
NO	**:**	Nitrik Oksit
LDH	**:**	Laktat Dehidrogenaz
RNA	**:**	Ribonükleik Asit
ROS	**:**	Reaktif oksijen türleri
STEC	**:**	Stx Üreten *Eshericia coli*
STX	**:**	Şiga Toksin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No **Sayfa No**

Şekil 2.1. Şiga Toksinin yapısı 5

Şekil 2.2. Rutinin kimyasal yapısı 9

Şekil 2.3. Kalbin anatomik yapısı 11

Şekil 2.4. Peysmeyker hücrelerinde oluşan aksiyon potansiyel eğrisi. 14

Şekil 2.5. Kalbin iletim sistemi 14

Şekil 2.6. Kalpte aksiyon potansiyeli oluşumu Faz 0 hızlı depolarizasyon, faz 1 erken hızlı repolarizasyon, faz 2 plato fazı, faz 3 son hızlı repolarizasyon, faz 4 dinlenti membran potansiyeli ve diyastolik depolarizasyon olarak isimlendirilir 16

Şekil 2.7. Normal EKG örneğinde bulunan dalga ve intervaller 19

Şekil 4.1. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. Ekstremite derivasyonlarından elde edilen P dalgasının süresi 29

Şekil 4.2. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II.ekstremite derivasyonlarından elde edilen P dalgasının amplitüdleri 30

Şekil 4.3. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen P-Q süreleri 30

Şekil 4.4. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II.ekstremite derivasyonlarından elde edilen QRS süreleri 31

Şekil 4.5. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen R amplitüdü 32

Şekil 4.6. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen Q-T süreleri 32

Şekil 4.7. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen T dalgası süreleri 33

Şekil 4.8. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen T amplitüdü 33

Şekil 4.9. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II.ekstremite derivasyonlarından elde edilen Kalp Atım Sayısı 34

Şekil 4.10. Deney gruplarındaki ratlarda CK enzimi 34

Şekil 4.11. Deney gruplarındaki ratlarda CK-MB enzim 35

Şekil 4.12. Kontrol Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu 35

Şekil 4.13. Stx Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu 36

Şekil 4.14. Stx+R50 Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu 36

Şekil 4.15. Stx+R100 Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu 36

Şekil 4.16. Rutin Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu 36

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 3.1. Deneysel gruplar ve gruplardaki deney hayvanı sayıları 24

Tablo 4.1 Kontrol ve deneme gruplarında ratların EKG ‘de elde edilen amplitüd ve süreleri 28

Tablo 4.2. Kontrol ve deneme gruplarında serum CK ve CK-MB düzeyleri 29

1. GİRİŞ

Stx ‘ler ve şiga benzeri toksinler, protein yapısında toksinler grubuna dahil toksinlerdir. Bu toksinler hücre yüzeyine bağlanan bir alt üniteleri ile hücre yüzeyine bağlanarak hücreye tutunurlar, toksinin diğer bir alt ünitesi ise enzim aktivitesi taşır. Toksinler hücre içine girince toksinin enzim aktivitesi taşıyan kısmı protein sentezini enzimatik olarak inhibe eder. Söz konusu Stx ‘in protein sentezini bloke etme mekanizmasının dışında farklı bir mekanizma ile hücrede apoptosise neden olabileceği de ifade edilmektedir. *Shigella dysenteriae, Escherichia coli*’nin bazı suşları ve diğer bazı bakteriler bu toksini salgılayabilirler ve bu toksinler de enfeksiyonlar esnasında ciddi komplikasyonlara neden olabilirler. Stx ‘ler hakkındaki bilgilerimizin artırılması ve bu toksinlerin organizma üzerinde yapmış oldukları etkilerin belirlenmeye çalışılması; hem bu toksinlerden kaynaklanan hastalıkların tedavisinde, hem toksinlerin hücre içi etki yolaklarının belirlenmesinde ve hem de bu toksinlerin toksisitesinden korunmanın ipuçlarını bizlere sağlayabilir.[1]

Stx ‘lerin en önemli etkilerinden biri de daha ziyade çocuklarda kendini gösteren HÜS olarak tanımlanan patolojiye neden olmalarıdır. HÜS; genelde kapillar ve arteriol sistemde endotel hasarına bağlı oluşan mikrotrombüslerin fibrin ağları içinden geçen eritrositlerin parçalanmasına bağlı olarak gelişen ve mikroanjiyopatik hemolitik anemi şeklinde tanımlanan hemolitik anemi, trombosit sayısında görülen azalma (trombostopeni) ve akut böbrek hasarı ile bilinen patolojik durumu ifade eder. HÜS özellikle çocukluk döneminde oluşan akut böbrek hasarının en çok görülen nedenidir. HÜS’ün klinik bulgularının nedeni trombotik mikroanjiyopatidir. Patolojik bulgular atardamarlarda ve kılcal damar duvarındaki kalınlaşma, endotel şişmesi ve kalınlaşmasıdır. Fibrin ve kan pulcuğunca zengin trombüsler damar lümeninde tıkanıklıklara neden olur.[2]

Stx ‘ler tarafından mikrovasküler sistemde meydana getirilen hasara bağlı gelişen patolojik durumlardan en fazla etkilenen organ sistemlerinin böbrekler ve intestinal sistem olduğu ifade edilmektedir. Ancak bu doku ve organ hasarlarıyla beraber meydana gelebilecek komplikasyonlar diğer organ sistemlerini de olumsuz etkileyebilir. Yapılan araştırmalarda *E.coli* ile gerçekleşen akut gastroenteritis vakalarında ölenlerin önemli bir bölümünün kardiyovasküler bir problem yaşadığı ifade edilmektedir. Yine yapılan bir araştırmada akut HÜS ‘lu çocuklarda yaşanan komplikasyonların sonucunda kalp yetmezliğine bağlı ölüm riskinin olduğu da belirtilmektedir. Yine başka bir çalışmada da atipik HÜS ‘lu çocukların kalp kroner kapillarlarında oluşan mikroanjiopatik hasarlar sonucu kardiyomiyopatiler sonucu % 3 -10 arasında ani ölümlerin geliştiği bildirilmektedir.[3]

Gelişen kardiyomiyopatlerin ve kalbin fonksiyon bozukluklarının belirlenmesinde değerlendirilen veriler arasında EKG, CK ve CK-MB aktiviteleri önemlidir. Kalbin elektrofizyolojik aktivitesinin vücut yüzeyine yerleştirilen elektrotlar aracılığı ile kâğıt üzerine kaydedilmesine EKG denilmektedir. EKG, kalp hastalıklarının tanısı ve izleminde önemli bilgiler elde etmemizi sağlamaktadır. Aynı zamanda EKG hemodinamik ve elektrolit bozuklukların tanı kısmında da fayda sağlar.[4] CK aktivitesi kalp dokusu, beyin ve çizgili kaslarda fazla iken böbrek ve diyafram gibi diğer dokularda çok az enzim aktivitesi içerirler. İntoksikasyonda, enflamatuar ve dejeneratif kas hastalıklarında, travmatik hastalarda ki buna şok da dahil olmak üzere CK aktivitesi gözlemlenebilir. Bu sebeple miyokardial hasar teşhisi klinik bulgulara ve CK artış derecesi ile ilişkilendirilebilmektedir. CK enziminin izoenzimlerinden biri olan CK-MB kalp kasında bulunur.[5]

Şifalı bitkiler, eski çağlardan beri geleneksel tıbbın ayrılmaz bir parçasıdır. Günümüzde destekleyici tıp ya da tamamlayıcı tıp diye ifade edilen ve tedavi amaçlı

geleneksel olarak kullanılan birtakım bitkilerin ya da bitki ekstraktlarının kullanılmasına yönelik ilgi oldukça artmış durumdadır. Bu tür organik bileşenlerin birtakım tedavi edici yönlerinin yanında yan etkilerinin olmayışı ya da çok az oluşu ve elde edilmelerinin ekonomik olarak daha ucuz olması bu tür şifalı bitkisel kaynaklara olan ilgiyi daha da artırmıştır. Çay yapraklarında, kantaron bitkisinde, narenciye, karabuğday tohumları, kiraz, erik ve kayısı gibi meyveler ve meyve kabukları rendelerinde (özellikle greyfrut, limon, portakal) ve sebzelerde bulunan ve biyolojik aktivitesi olan ve çeşitli patolojilerin önlemesinde işe yarayan bitkisel kaynaklı bileşiklerden bir tanesidir de rutindir. Rutin kimyasal olarak bioflavonoidler olarak sınıflandırılan bileşikler arasında yer alır. P1 vitamini olarak da bilinir. Suda çözünebilir bir maddedir. Rutinin çeşitli organ ve dokulardaki kılcal damarlarda, çeşitli nedenlerle oluşan hasarların onarımı ve önlenmesinde etkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir**.** Defektif kan damarlarından kaynaklanan tekrarlayan kanamaları durdurmaya yardımcı olduğu ifade edilmektedir.[6] Rutin'in antioksidan, sitoprotektif, vazoprotektif, antikarsinojenik, nöroprotektif ve kardiyoprotektif aktiviteler de dahil olmak üzere birçok biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri bilinmektedir.[7]

Yaptığımız çalışmada Stx2 uygulanan ratlarda EKG bulgularının, CK ve CK nın bir izoenzimi olan CK-MB değerlerinin nasıl etkilendiğinin araştırılması ve rutin kürü yapılmış ratlarda, Stx2 uygulamasının EKG, CK ve CK-MB parametrelerindeki değişikliklerinkarşılaştırılmasıamaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

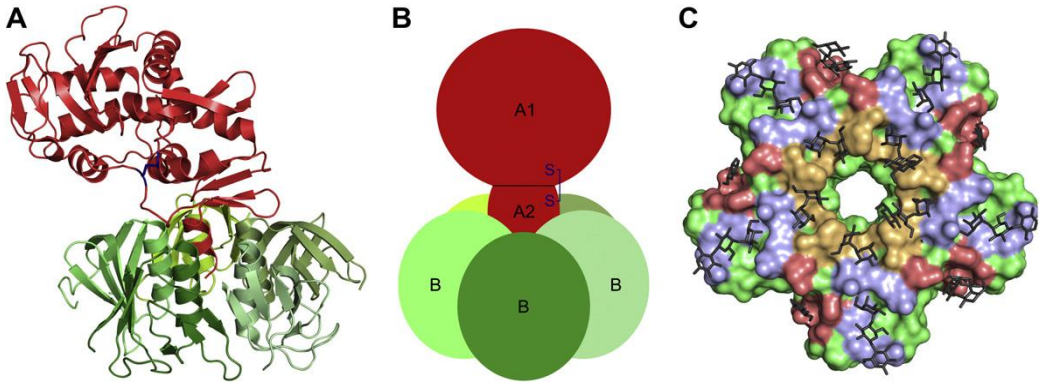
2.1. Şiga Toksinler

Stx, ilk olarak 1898'de Kiyoshi Shiga tarafından açıklanmış olup, dizanteri basili olan *S.dysenteriae* tarafından türemiştir. Stx, bilinen en güçlü bakteriyel toksinlerdendir. Stx 'in üretimi öncelikle *S.disenteriae* ve *E.coli* 'nin bazı serogruplarında tespit edilmiştir. Bu grupların yanında ara sıra *Shigella sonnei* gibi diğer Enterobacteriaceae (Strauch ve ark.[8]), *Enterobacter cloacae* (Paton ve Paton[9]) ve *Citrobacter freundii* (Schmidt ve ark.[10]), (Tschape ve ark.[11]) ile ilişkili olduğu da tespit edilmiştir. Stx in; Stx1 ve Stx2 olarak iki ana tipi bulunmaktadır. Stx, yapısal ve fonksiyonel olarak *S.disenteriae* tip1 tarafından üretildiği, Stx2 nin ise Stx1 e benzerlik gösterdiği ancak immünolojik olarak farklılıklara sahip olduğu bilinmektedir. Çalışmalar sırasında Stx in endotelyumları hedef aldığı ve hücrelerde öldürücü etkisi olduğu gözlemlenmiştir.[12] Stx üreten bakteri enfeksiyonları kanlı ishal, HÜS, trombositopeni, mikroanjiyopetik hemolitik anemi gibi patolojilere sebep olduğu bildirilmektedir.[13] Bunların yanı sıra komplike Stx (STEC) üreten bakteri enfeksiyonları, bilinç ve nöbet değişiklikleri de dahil olmak üzere nörolojik semptomlarla da ilişkili olduğu düşünülmektedir.[14]

2.1.1. Şiga Toksinin Yapısı

E.coli tarafından oluşturulan Stx yapısal ve fonksiyonel olarak *S.disenteriae* Tip1 tarafından üretilen Stx 'e benzemektedir. Stx1 *Shigella* tarafından üretilen toksinle benzerlik gösterirken Stx2 *Shigella* tarafından üretilen toksinle yaklaşık %56 benzerliğe sahiptir. Ancak Stx1 ve Stx2 immünolojik olarak birbirinden farklıdır.[15] Stx, enzimatik olarak aktif bir tane A(32kDa) alt birimi ve buna non-kovalent bağla bağlanmış hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmadan sorumlu 5 tane B (her biri 7.7 kDa) (pentamer) alt birimden oluşmaktadır. Stx in A zinciri A1 (27.5 kDa) ve A2(4.5 kDa) fragmentlerinden

oluşur. B alt biriminin görevi toksinin ökaryotik hücre yüzeyindeki Gb3 reseptörlerine bağlamaktır[16,17](Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Şiga Toksinin yapısı [16-19]

(A) X-Ray krsitalografi yöntemiyle belirlenmiş yapısı [18] kırmızı renkli kısım A ünitesi, beş adet B alt ünitesi yeşil renkli ve mavi renkle gösterilmiş disülfit bağlarıyla bağlı A1 ve A2 alt üniteleri. (B) Stx2 'nin şematik yapısı. (C) Stx2 'nin B5 alt ünitelerinin pentamer yapısı potansiyel 15 adet reseptöre bağlanma alanları, Stx1 in Gb3 reseptörüne bağlantı kuracak MCO-PK (8-methoxycarbonyloctyl trisaccharide) analogları. MCO-PK Molekülünün şeker üniteleri siyah çizgilerle gösterilmiştir[19].

2.1.2. Şiga Toksin Reseptörleri

Stx reseptörlerinin dağılımı hücre çeşidine göre farklılık gösterebilir. Bir dokuda Stx reseptörlerinin miktarının fazla olması Stx 'in aktivitesini artırmaktadır. Stx reseptörleri özellikle intestinal ve renal epitelyum hücrelerinde yüksek konsantrasyonda bulunduklarından en fazla hasarı bu dokulara vermektedir.[17,20]

Globotriosil seramid (Gb3), globotetraosil seramide (Gb4) kırmızı kan hücre membranında bulunan glikolipid antijenini içeren bir kan grubu (P1) olarak bilinen membran glikolipidleri, Stx 'i tanıyan reseptörler olarak tespit edilmiştir.[21,22] Gb3, birçok memelideki Stx 'lerin tek fonksiyonel reseptörü olarak kabul edilmiştir. İnsanlarda, Gb3 'ün ekspresyonu bazı hücre tipleriyle sınırlıdır ve çoğunlukla böbrek epiteli ve endotellerinde, intestinal lamina propriyada, trombositlerde ve germinal

merkez B lenfositlerinin alt kümelerinde mikrovasküler endotel hücrelerinde gözlenir.[23] Gb3 ayrıca periferik sinir sistemindeki endotel ve dorsal kök ganglion hücrelerinde ve merkezi sinir sistemindeki endotel hücreleri ve nöronlarda da ifade edilir.[24,25]

2.1.3. Şiga Toksinin Toksisitesi

Stx1 ve Stx2 yapısal olarak birbirlerine benzemelerine rağmen toksik etkileri ve toksisiste oluşturma süreleri farklıdır. Ayrıca insan intestinal mikrovasküler endotelyal hücreleri için Stx2 'nin Stx1 'e göre daha toksik olduğu gözlemlenmiştir.[20] Bakteriler ilk olarak bağırsağa girdiğinde, Stx 'leri ve kolonizasyon faktörleri üretilir. Daha sonra Stx 'ler epitel hücre bariyerini geçip dolaşım sistemine girebilir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar sırasında, Stx2 ya da Stx üreten *E.coli* (STEC) suşlarının böbrekler ve Gb3 eksprese eden glomerüler endotel hücrelerinde hasara neden olmaları ile HÜS gibi ciddi hastalıklara neden olduğu tespit edilmiştir. Stx 'ler her ne kadar hastalıkla ilişkili olsa da toksik özellikleri ve hücre hedefleme yetenekleri tıbbi amaçlar için kulanılabilir. Stx veya Shiga benzeri toksinler doğal toksisiteden yararlanarak Stx bağlayıcı alt üniteyi hücreye başka maddeler getirmek için vektör olarak kullanır. Böylece bağışıklık kazandırma, tanı ve tedavi için kullanılabilir.[13,24,25]

2.1.4. Şiga Toksin- İmmün Yanıt İlişkisi

Stx' lerin insan hastalıklarındaki rolünün ve toksinlerin erken tanımlanmasının ortaya çıkışından bu yana, toksin yapısı, bağlanma, hücre içi taşınma ve hücreler üzerindeki etki hakkında fazlası ile bilgi toplanmıştır. Toplanan bilgiler doğrultusunda olası hastalık müdahale stratejileri ile kanser tedavisi ve immünoterapideki toksin araştırılması yapılmıştır.[23,26,27] Stx 'lerin toksisitesi, 60S ribozomal alt ünitesinin katalitik olarak etkisiz hale getirilmesi ile gerçekleştirilir.[28] Böylece hedef hücrelerde protein sentezini etkili bir şekilde inhibe eder.[29,30] Protein sentezini inhibe etmenin yanı sıra, çeşitli hücrelerde toksinin uzun vadeli bir etkisi apoptozisin uyarılmasıdır.[31]

Stx ‘lerin, Gb3 'ün karbonhidrat kısmını hedef hücrenin plazma zarlarının hücre dışına bağladığı tespit edilmiştir.[22,32,33] Bu eksojen Gb3 'ün plazma membranına dahil edilmesiyle dirençli hücrelerin Stx ‘e duyarlılaştırılması sağlanmıştır.[34] İnsanlarda, Gb3 'ün ekspresyonu bazı hücre tipleriyle sınırlıdır ve çoğunlukla böbrek epiteli ve endotellerinde, mikrovasküler endotel hücrelerinde gözlemlenmektedir.[23]

Stx, endotel hücrelerinde hasara neden olarak tümör nekroz faktör alfa (TNFA-α), interlökin 1β (IL-1β), interlökin 6 (IL-6) ve interlökin 8 (IL-8) gibi proinflamatuar sitokinlerin salınımına neden olabilir.[35,36] Salınan bu inflamatuar sitokinler böbrek epitelyum hücreleri ve vasküler endoteryal hücrelerinde bulunan Gb3 reseptörlerinin konsantrasyonunu artırarak Stx ’in etkisini artırır.[37,38] Bu sonuçlar doğrultusunda; HÜS patogenezi, Stx ‘in konakta dolaylı olarak oluşturduğu sitokin yanıtının önemli rol oynadığını göstermektedir.[39]

2.1.5. Şiga Toksin-Oksidatif Stres İlişkisi

Oksidatif stres endotel hasarına sebep olur ayrıca oksidatif stres ve serbest radikaller aerobik hücre metabolizmasını fizyolojik olarak etkiler. Bu fizyolojik etki endotel hücrelerinin antioksidan özelliği ile sayesinde ortadan kaldırılabilir.[40] Serbest radikal oluşumu antioksidan kapasitesini aşarsa lipitler, proteinler ve DNA okside olabilir. Serbest radikaller ve nötrofil tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) nötrofillerde nikotin amid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) enzim ailesinin aktivasyonuyla oluştuğu yapılan çalışmalar sonucu tespit edilmiştir. ROS ‘nin %50-70’i hücre içi ile sınırlandırılmıştır. Kalan kısmı ise hücre dışı boşluğa aktarılarak doku hücrelerinde oksidatif hasara sebep olur. Bu hasar sonucu membran geçirgenliği değişmesi ile hücre yapı ve fonksiyonu bozulur.[41]

Glutatyon (GSH) hem önemli bir hücre içi antioksidan olması hem de indirgenme maddesi olarak hareket ettiğinden hücrede ROS ‘u izole eder. GSH

peroksidaz enzimi vücuttaki biyokimyasal işleyişi hızlandırır. Bu nedenle hücrede yaşanan oksidatif stres GSH seviyesini azaltarak hücrenin antioksidan kapasitesini düşürür.[42,43]

HÜS hastalarında akut dönem boyunca, kırmızı kan hücrelerindeki lipidperoksidan seviyeleri yüksek seyreder.[44] Bu yükselme proteinlerde ileri seviye oksidasyon süreci belirtileri görülür ve sağlıklı olunan dönemdekinden daha yüksek bir okside edilmiş glutatyon (GSSG) konsantrasyonu oluşur.[45] Buna paralel olarak, HÜS hastaları eritrositlerinde SOD aktivitesinde kayda değer bir azalma görülür.[46]

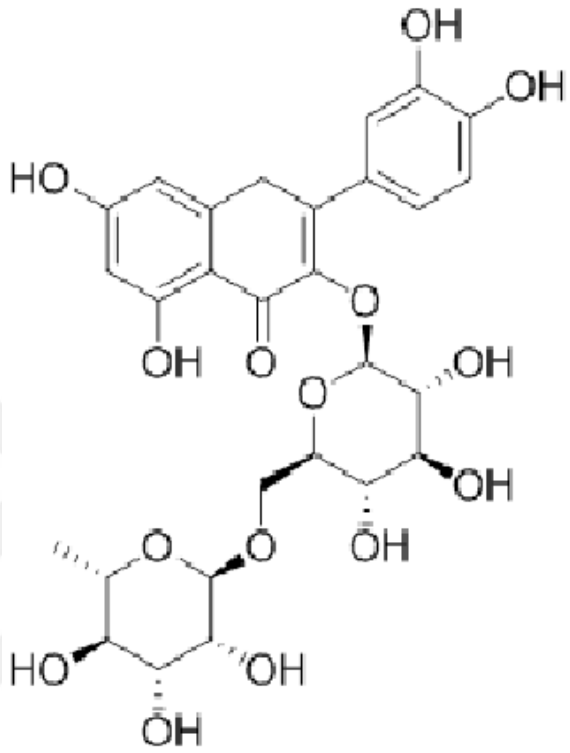
2.2. Hemolitik Üremik Sendrom

HÜS 'un çocuklardaki en sık nedeni Stx üreten *E. Coli* 'dir.[41] HÜS, Stx üreten Enterohemorajik *E. Coli* (O157:H7) (EHEC) ya da *S.dysenteria* ile gelişen akut gastroenterit sonrası ortaya çıkar. En sık etken EHEC'dir (%70).[40] Bulaşmış gıdanın alınmasından sonra bakteri bağırsağa gider. Bağırsakta *E. coli* tarafından Stx (Stx1 ve Stx2) salgılanır. Bu ekzotoksinler sindirim sistemi epitelinden emilir ve hedef organa ulaşır. Hedef organ epitelinde glikopeptid yüzey almacı olan Gb3 'e bağlanır, protein sentezini baskılar, endotel hasarına, hücre ölümüne, enflamatuar yanıtta artışa ve trombosit aktivasyonuna neden olur.[47,48]

HÜS, trombotik mikroanjiyopatiye (TMA) bağlı olarak mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek hasarı gibi klinik bulgular gösterilmektedir. HÜS'ün çocuklarda akut böbrek hasarına neden olduğu bildirilmiştir. HÜS 'un patolojik lezyonu olarak arteriol ve kapiller duvarlarındaki kalınlaşma, endotel şişmesi ve endotel hasarı gösterilmiştir. HÜS vakalarında fibrin ve trombosit açısından zengin trombüsler damar lümeninde tıkanıklıklara yol açarak böbrek başta olmak üzere çok sayıda doku ve organa zarar verir.[49]

2.3. Rutin

Flavonoidler bitkilerin yapısında bulunur. Meyve sularının ve sebzelerin yapısında bulunan Rutin, flavonoid bir bileşiktir. Rutinin moleküler yapısı Şekil 2.2 ‘de gösterilmiştir.



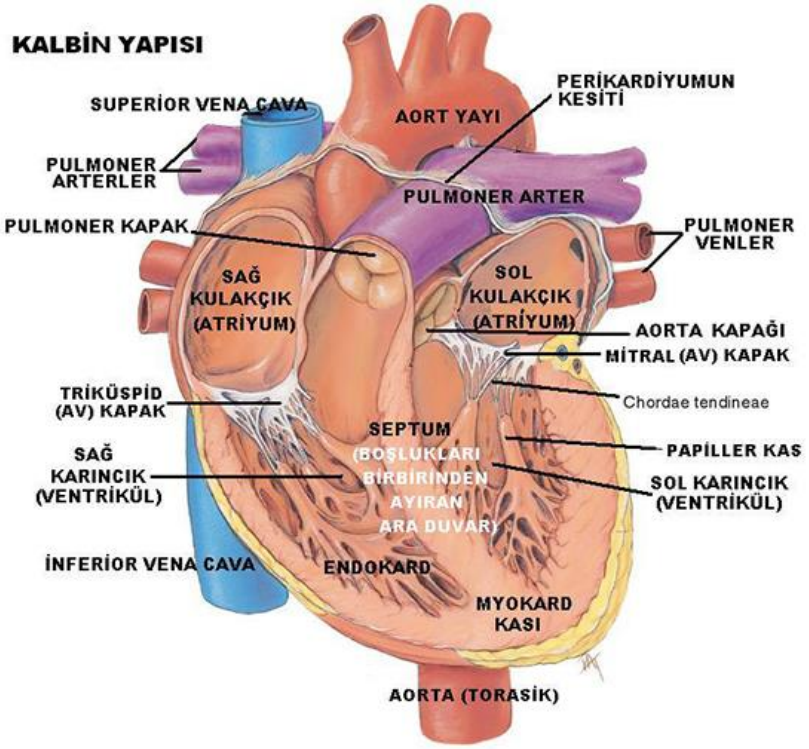
Şekil 2.2. Rutinin kimyasal yapısı

Rutinin antiinflamatuvar, antitümör, antimutajenik, bağışıklık sistemini düzenleyici ve kalp kasını koruyucu özellikleri vardır.[50,54] Ayrıca çoklu farmakolojik aktiviteleri olan fitokimyasaldır. Flavonoidlerin, antioksidan ve radikal temizleyici faaliyetlerden oluşan kapsamlı bir biyolojik etki çeşitliliği gösterdiği bilinmektedir. Reaktif oksijen türleri, kanser gibi çeşitli hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilmiştir. Rutin maddesi ile antikanser/antineoplastik etkiler için yoğun olarak çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda Rutinin lösemi hücrelerinde önemli düşüşe sebep olduğu gözlemlenmiştir. Alonso-Castro ve ark.[55] 2013 yılında yapmış oldukları çalışmalarda Rutinin kanser hücreleri üzerine etkileri incelenmiş olup çalışma sonucunda ratlarda

kilo artışı ve hayatta kalma süresi artışı gözlemlenmiştir. Chen ve ark.[56] yaptığı çalışmada ise Rutinin antineuroblastoma etkisini gösterilmiştir. Burada Rutinin bazı kanser hücrelerinin büyümesi ve kemotaktik kabiliyetinin önemli ölçüde inhibe edildiği gözlemlenmiştir. Rutin ile çeşitli bakteri suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite içinde yoğun olarak çalışılmıştır. Araruna ve ark.[57] 2012 yılında yapmış olduğu çalışmada *E.coli* bakterisinin büyümesi üzerinde derin bir inhibisyon sağladığı belirlenmiştir. Rutin, antioksidan bir madde olduğundan 2009 yılında Chan ve ark.[58] yapmış olduğu bir çalışmada kardiyo koruyucu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Annapurna ve ark.[59] 2009 yılında; Krishna ve ark.[60] 2005 yılında sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarda Rutinin kardiyovasküler koruma sağladığı belirlenmiştir.[61] Rutin, damar permeabilitesini ve dayanıklılığını artıran P vitaminidir. Kılcal damar geçirgenliği üzerine etkilidir. Hücrelere atar damar ile getirilen oksijen, besin dokularda kullanıldıktan sonra ortaya çıkan karbondioksit ve diğer atık maddeler toplardamarlar ile uzaklaştırılır. Bu alışveriş ancak kılcal damarlar aracılığı ile yapılabilir. Bu da bu damarların dayanıklılığı ve geçirgenliği ile mümkün olmaktadır. İşte P vitaminin etkisi de burada ortaya çıkar. En önemli etkisi kılcal damarların geçirgenliği ve yapısının korunması üzerine olan yararıdır. Kılcal damarların yırtılmasını ve kanamasını önler. Ayrıca bunların dayanıklılığı enfeksiyonlara karşı anlamlı bir koruyuculuk sağlar.[62]

2.4. Kalp ve Elektrokardiyografi (EKG)

Kalp, dolaşım sisteminin merkezinde bulunan kassel bir organ olup, kasılıp gevşemesi ile oluşturduğu basınç kuvveti sayesinde kanı bütün vücuda pompalama görevi üstlenmiştir (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Kalbin anatomik yapısı[63]

Çevresi perikart denilen bir zarla çevrilidir. Göğüs kafesi içerisinde iki akciğer arasında yer alır. Canlı türleri arasında değişmekle beraber kalbin dakika atım sayısı insanlarda ortalama 60 - 90 atım/dk 'dır. Kalbin karıncıklarının kasılması ile başlayan dolaşım sürecinde karıncıklarda oluşturulan kasılma gücü sayesine sağ karıncıkta bulunan kan a.pulmonalis ile akciğerlere, sol karıncıkta bulunan kan ise sol karıncığın kasılması sonucu bütün vücuda dağıtılmak üzere aorta pompalanır. Kasılıp – gevşeme özelliği bulunan kalp bu işlemi dakikada 60-90 kez yaparken, karıncıklarda başlayan dolaşım kulakçıklarda son bulur. Başlangıç ve bitim noktaları arasında oluşan basınç farkı ile kan damarlar içinde hareketini sağlar. [64]

Kalp, dıştan içe doğru epikardium, miyokardium ve endokardium olarak 3 tabakadan oluşur. Kalp kası olan miyokardium karıncıklarda, kulakçıklara oranla daha kalındır. Sol karıncık duvarı da sağ karıncık duvarına göre daha kalındır. Bu sebeple sol karıncık kası sağ karıncık kasına göre daha kuvvetlidir. Sağ karıncık kanı sadece

akciğerlere dağıtmakta görevli iken sol karıncık kanı tüm bedene dağıtmakta görevlidir. Fizyolojik fonksiyonlarının gereği olarak sol karıncık kası sağ karıncık kasına göre daha kuvvetlidir. [64,65]

Kalp kası histolojik yapı olarak çizgili kas tellerinden yapılmış olsa da düz kaslardaki gibi isteğimiz dışında çalışır. Kalp kası telleri yan kollarla birbirine bağlanması ile diğer kas tellerinden de farklılık göstermektedir. Ayrıca miyokard (kalp kası) iskelet kaslarından 3-4 kat daha incedir.[64-66] Sarkolem kalp kas tellerini saran zardır. Sarkolem; dış zar ve plazma zarı olmak üzere 2 tabakadan oluşur. Dış zar ince, plazma zarı ise dış zara göre daha kalındır. Bu tabakalar arasında boşluk bulunması bazı maddelerin ve gazların geçişini sağlar.

Düz kaslar; gap junction dediğimiz oluklu hücre bağlantısı ile birbirlerine bağlanırlar ve bunun yanı sıra sindirim, solunum ve üriner sistem gibi boşluklu organların duvarlarını oluştururlar. Düz kaslar istemsiz çalışırlar ve otonom sinirlerin kontrolünde etkinliklerini gösterirler. Düz kasların uzunlukları 0,2 mikrometreden 0,5 milimetreye kadar uzun olabilir.[42] Aktin ve miyozin flamentleri kontraktil flamentlerdir ve düz kaslarda sıralı halde değillerdir. Aktin ve miyozin flamentleri düz kaslar olmasına rağmen kalp kası ve iskelet kasında olduğu gibi organize olmamışlardır. Sarkoplazmik retikulum düz kaslarda az sayıda bulunur. Ca^{+2} iyonu düz kaslarda depolarizasyon oluşuncaya kadar sürekli hücre zarından dışarı pompalanır. Depolarizasyon oluştuğunda Ca^{+2} iyonları tekrar hücre içine girerek kasılmayı etkinleştirirken, bitiminde Ca^{+2} iyonları hücre dışına pompalanması ile kas hücresi gevşer. Düz kaslarda kasılma ve gevşeme iskelet kasına göre daha yavaş olur.[66,67]

Kalbin enerji kaynakları glikoz, pürivat, laktat, asetat, keton cisimcikleri, amino asitler, albümine bağlı esterleşmiş ve esterleşmemiş serbest yağ asitleridir. Kalbin kasılması iskelet kasına göre daha az ATP kullanır. Bu sebeple kan şekeri düzeyi

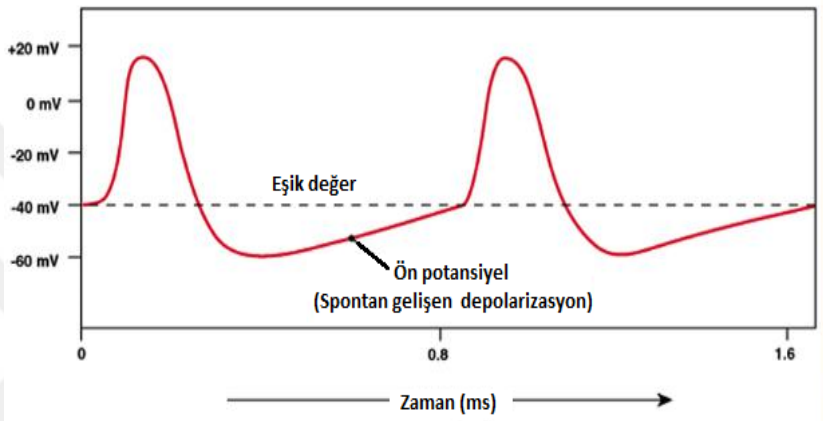
değişimlerine karşı duyarlı değildir. Gerekli ATP asetoasat, yağ asitleri ve laktad oksidasyonu ile elde edilir. Kan aracılığı ile laktik asitler gelir ve bu laktik asitlerin çoğunu kalp kullanabilir. Kalp tarafından enerji kaynağı olarak ağır egzersizlerde iskelet kaslarında oluşan ve kana geçen çok miktarda laktat kullanılır.[64-67]

Kalp metabolizması aerobik olduğu için, O_2 kullanımı olarak vücuttaki diğer dokulara göre daha önceliklidir. Kalp, ortamdaki O_2 eksikliğini giderme veya aneorobik ortamda kasılma bakımından zayıf kalır. Kalbin iş yükünün artması O_2 kullanımını da artırır.[64-66]

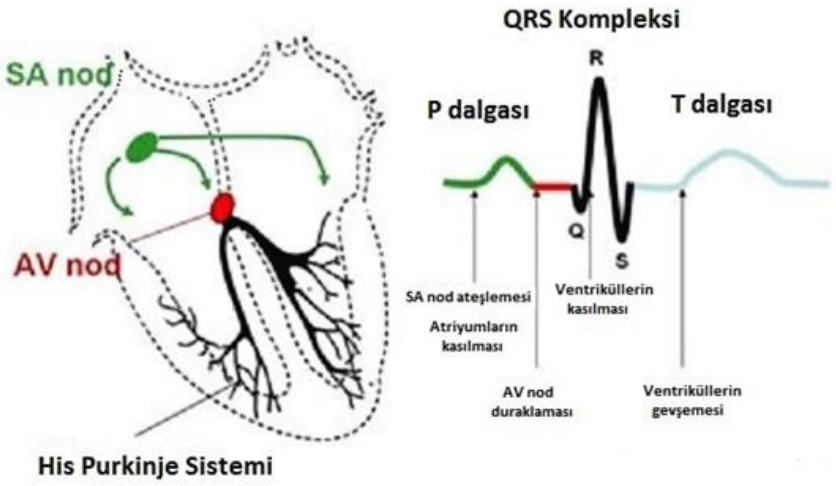
Kontraksiyon sırasında kalp, hem belirli bir elektrisel potansiyel üretir hem de mekanik işi yapar. Eksitasyon, kalp kasının kasılması için gerekli olan hücre zarının elektriksel anlamda uyarılmasıdır.[68]

Kalbin düzenli ve otomatik olarak çalışmasını sağlayan iki düğüm ve özel bir iletim sistemi vardır. Sinoatriyal düğüm (S-A) alt ve üst ana toplardamarların sağ kulakçığa bağlandıkları kısımda sağ kulakcığın arka duvararında, Atriyoventriküler düğüm (A-V) sağ kulakçığın alt kısımda ve kulakçıklarla karıncıklar arasındaki kısımlarda yer alırlar. Sinus koronaryusun bağlandığı yere yakın bir yerde his demeti yer alır ve buradan his demetinin sağ ve sol kolları ayrılır. Purkinje iplikçikleri vasıtasıyla endokardiyum altından tüm kalbe özel ileti sistemi yayılmış olur (Şekil 2.5.). S-A düğümümde özelleşmiş Peysmeyker hücreler olarakta ifade edile kendiliğinden impuls oluşturan hücrelerden çıkan uyarı sinyalleri yani depolarizasyon dalgaları bütün kalp kaslarına yayılır. Peysmeyker hücrelerin depolarizasyon dalgasının şekli Şekil 2.4. ‘de gösterilmiştir. Bu nedenle S-A düğümü için kalbin peysmeykeri (yürütücü dokusu) denir. Sağlıklı bireylerde kalp S-A düğümün etkisi altında çalışmaktadır. Ikinci bir kasılma için S-A düğümde tekrar depolarizasyon başlamasi ve kas hücrelerine yayılması gerekir. Ritmik şekilde impuls oluşturan hücreler değişken bir zar potansiyeline

sahiptirler. İstirahat potansiyeline ulaştıktan sonra ve impuls sona erdiğinde zar potansiyeli istirahat düzeyinde durmaz, yavaş yavaş zar potansiyeli değişerek uyarılma eşik değerine erişir ve zarı depolarize eder. Böylece istirahat potansiyelinde durmayıp kendiliğinden zarı depolarize edecek düzeye erişen potansiyele prepotansiyel ya da peysmeyker potansiyeli denir.[64-67] Peysmeyker hücrelerinde oluşan aksiyon potansiyel eğrisi Şekil 2.4. 'de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Peysmeyker hücrelerinde oluşan aksiyon potansiyel eğrisi.



Şekil 2.5. Kalbin iletim sistemi[69]

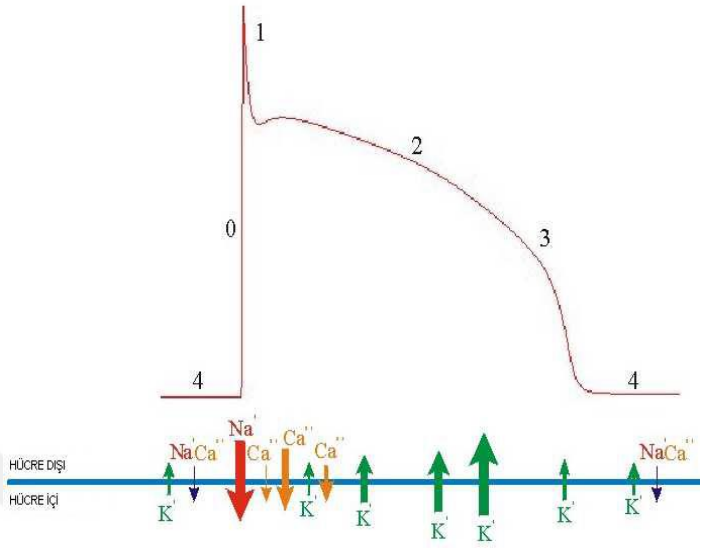
Sadece tek bir kalp kası hücresini bulunduğu ortamdan ayırıp canlılığını sürdürebileceği bir ortama alındığında yine aynı şekilde ritmik kasılmalara devam eder. Kalp kasının hücrelerinde kendiliğinden impuls üretme özelliği mevcuttur ve kalpte en hızlı impuls üreten kısım S-A düğümdür.[64,66,67]

Herhangi bir sebeple S-A düğümden impuls üretilemez ya da bloke edilir ise A-V düğüm veya kalbin diğer bölgelerinin bir kısmı ya da kalp kasının kendisi peysmeyker durumuna geçebilir. S-A düğümden başka bir kısımda oluşan bu peysmeyker durumuna ektopik peysmeyker adı verilir. S-A düğümde ortaya çıkan depolarizasyon dalgası, hızlı bir şekilde (saniyede 0,3 metre) her iki kulakçık kasına da yayılır. S-A düğüm ile A-V düğüm arasında ve S-A düğüm ile sol kulakçık arasında özel iletim yollarının varlığı tespit edilmiştir. [67-70]

A-V düğüm aracılığı ile kulakçıkların elektriksel aktivitesi karıncıklara geçer. A-V düğüm uyarılınca, impulsları his demeti ile sağ ve sol kollar aracılığıyla purkinje iplikçiklerine ve karıncık kaslarına iletilir. A-V düğümün impuls iletim hızı 0.1m/sn kadar yavaştır. His demeti saniyede 1.5-2.5 metre kadar impuls iletimi hızına sahiptir. Depolarizasyon dalgasının hızla karıncık kaslarının tamamına yayılması bu hızlı iletim sayesinde olur ve iki karıncığın aynı anda kasılmasını sağlar. His demeti sağ ve sol kollarının myokardium içine giren ince uzantılarına Purkinje sistemi denir. Purkinje sisteminin önemli işlevi, her iki karıncığın birden ve hızlı bir şekilde kasılmalarını sağlamaktır. [64, 71,72]

Kalp kasının aksiyon potansiyeli, miyokard hücresinin dinlenme sırasındaki belli elektrokimyasal içerikli etkinliğidir (Şekil 2.6.). Depolarizasyon ve repolarizasyon olmak üzere iki aşamadan oluşur. Depolarizasyon; sodyumun sarkoplazma içerisine hızlı bir şekilde girerken potasyumun hücre dışına çıkmasıdır. Repolarizasyon sırasında ise hücre içi ve dışındaki elektrolit dengesinin istirahat potansiyeli haline dönmesidir.

Kalp, depolarizasyon ve repolarizasyon sırasında ATP enerjisine ihtiyaç duymaz. Bu durum EKG için oldukça önemli yer kaplar.[67,73]



Şekil 2.6. Kalpte aksiyon potansiyeli oluşumu Faz 0 hızlı depolarizasyon, faz 1 erken hızlı repolarizasyon, faz 2 plato fazı, faz 3 son hızlı repolarizasyon, faz 4 dinlenti membran potansiyeli ve diyastolik depolarizasyon olarak isimlendirilir.[74]

Kalp kası hücresi istirahat halindeyken, hücre içi negatif iyonlarla hücre dışı ise pozitif iyonlarla yüklenir. Polarizasyon durumunda zar potansiyeli de dediğimiz iç ve dış yüzeylerin arasında yaklaşık olarak -90 mV elektriksel bir fark mevcuttur. Dinlenme halindeki polarize hücreler sodyum ve klor iyonlarını hücre dışında, protein anyonları ile potasyum iyonlarını içerde tutar.[66]

Şiddetli bir akım ile uyarılan hücrenin zarındaki sodyum iyonunu dışarda tutan etki kaybolur ve sodyum iyonu hızlı bir şekilde hücre içine girer, hücrenin iç kısmının negatifliği kaybolup pozitifleşmeye başlar (0 +/- 15 mv) yani miyokardın polar ve depolar kısımları arasında elektriksel bir akım oluşmasıyla depolarizasyon hali oluşur.[65,70]

Depolarizasyon oluşması sonucu, hücre zarı porları sodyuma karşı tekrardan geçilmeyen hale gelir. Böylece hücre zarı seçici geçirgenlik özelliğini geri kazanır.

Potasyum iyonları için geçirgenlik arttığından hücre içinde yüksek derişimde bulunan potasyum iyonları dışarıya çıkarak depolarizasyon noktasında -90 mV potansiyel farklılığı oluşturur. Bu olaya repolarizasyon denir. Bu döngü depolarizasyon-repolarizasyon döngüsü olarak isimlenidirilir. Repolarizasyonun gerçekleşmesi ile elektriksel potansiyel farklılık sağlanır. Ancak potasyum iyonun içeriye alınması gereklidir. Bu da, etkin Na^+- K^+ pompası aracılığı ile gerçekleşir. Bu durum sonunda ortaya çıkan potansiyel farklılıklara ve elde edilen her bir eğriye derivasyon denir ve bu potansiyeller vücut yüzeyine yayılırlar.[64,66,67] Bu potansiyellerin kaydedilmesine EKG denir.

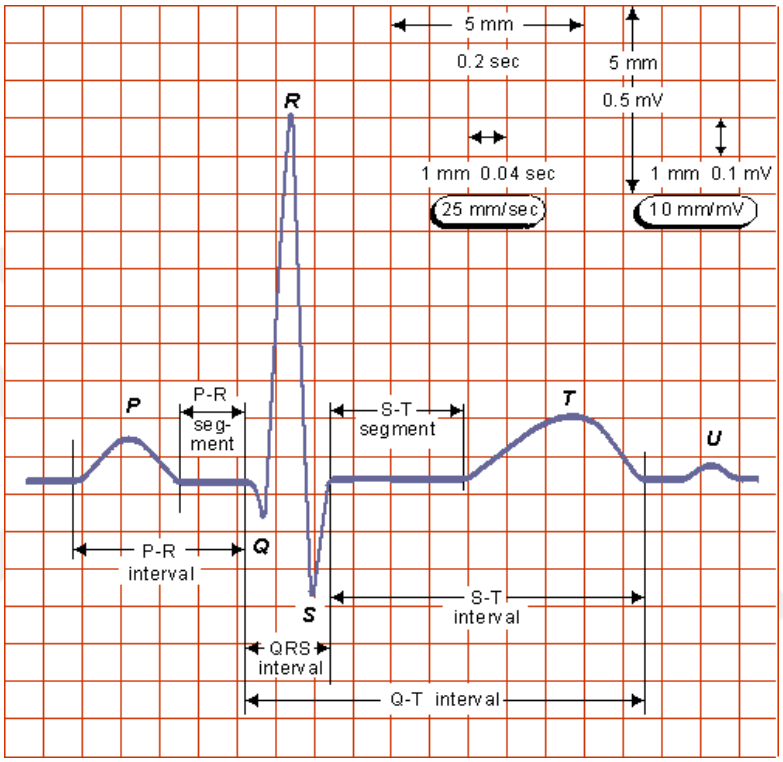
EKG değerlerini ölçen alete Elektrokardiyograf, yapılan ölçümlerin özel bir kağıda kaydedilmesine EKG ve elde edilen grafiksel anlamdaki çıktılara ise Elektrokardiyogram denir. EKG, kalp ve damar hastalıkları teşhisinde ve incelenmesinde kullanılan bir muayene yöntemidir. Aynı zamanda kalbin çalışması sırasında ortaya çıkan akımların kaydedilmesi ve yorumlanmasıdır.[70,72,73,75] EKG ile kalp ve damar hastalıklarının tespitinde, kalp ritm bozukluğu teşhisinde, bradikardide, taşikardide ve kardiyak sinkopun belirlenmesinde , endokart – miyokart bozukların saptanmasında, kalbin göğüs boşluğu içindeki konumunun saptanmasında ve diğer kalp hastalıklarının belirlenmesinde kullanılabilmektedir. Ayrıca EKG den, yeni üretilen ilaçların hayvanlar üzerinde denenmesi ile kalbe olan etkilerinin araştırılmasında da yararlanılmaktadır.[65,68]

1903 yılında Einthoven tarafından bulunan EKG cihazları telli galvanometreye dayanmaktadır. EKG, tüm vücuda yayılan aksiyon akımını vücudun çeşitli bölgelerine yerleştirilen elektrotlar yardımıyla kayıt yapılmasını, kalbin ritmik ve elektriksel aktivitesi hakkında bilgi edinmemizi sağlar.[64,77]

Belirlenmiş noktalara elektrotlar yerleştirilerek 1 milivoltluk akım verilirerek ve EKG 10 mm'lik bir defleksiyona karşılık verecek biçimde ayarlanır. Elektrokardiyagram 25 mm/sn hızında kaydedilmesiyle standart hale geldiğinden herhangi bir canlı türünden alınan kayıtların incelenmesinde kolaylık sağlar. Ratlarda olduğu gibi kalp atım sayısı yüksek olan canlılarda ise 50 mm/sn hızında kayıt yapılır. Elektrotlar prekordiyal ve ekstremite derivasyonları şeklinde vücuda bağlanır. Prekordiyal elektrotlar emici ve araştırıcı yapıda, ekstremite derivasyonları ise oval – dikdörtgen şeklinde olabildiği gibi bazen hayvanlarda kullanıma uygun şekilde timsah ağızlı olarak özelleşmektedir. Elektrot ile deri arasında ki direnci düşürüp iyi bir bağlantı kurabilmek için elektrot jeli kullanılır. Vücudun iki noktasının elektrota bağlı kablolarla EKG ye aktarılmasına derivasyon denir. Derivasyonlar ekstremite (kol ve bacaklar) ve göğüs (prekordiyal) derivasyonları olmak üzere iki grupta toplanılar. Veteriner EKGde yaygın olarak Bailey'in Hexaxial derivasyon sistemi kullanılır. Bu sisteme göre I, II, III bipolar, aVR, aVL, aVF artırılmış unipolar ekstremite derivasyonlarıdır.[64,70,76]

İleti vektörünün yönü, kaydeden elektroda doğru ise EKG'de pozitif, ters yönde ise negatif çizgi çizilir. Böylelikle normal bir EKG'de izoelektrik hat üzerinde sıralanan P, Q, R, S, T ve bazen de U dalgaları oluşur. T dalgasından 0,02 – 0,04 sn sonra gelen U dalgasının amplitüdü küçük olduğu için EKG de pek ayırt edilemez. Elektrokardiyogramın yorumlanmasında kullanılan temel ölçümler kalp ritmi, kalp hızı, QRS aksı, QRS süresi, PR aralığı, QT aralığı, P dalgasının genliği ve süresi, QRS genliği ve R/S oranı, ST segment ve T dalga anormalikleridir. P dalgası atriyumların depolarizasyonunu, QRS kompleksi ventriküllerin depolarizasyonunu ve T dalgası ventriküllerin repolarizasyonunu ifade eder. PR intervali sinoatriyal noddan çıkan uyarının ventriküle ulaşması için geçen süreyi, QT intervali ventriküllerin

depolarizasyon ve repolarizasyonu için geçen toplam süreyi gösterir.[77] Normal sinus ritminde her QRS kompleksinden önce bir P dalgası görülür ve P dalgasının aksı 0-90º arasındadır. Kalp hızı EKG kâğıdındaki dikey çizgiler kullanılarak hesaplanabilir. Genellikle çekim hızı 25mm/sn olup, 1mm=0,04 ve 5mm=0,2 saniyedir.[2] Şekil 2.7. 'de bir EKG oluşan dalgalar ve biçimleri gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Normal EKG örneğinde bulunan dalga ve intervaller. [78]

Veteriner Hekimlikte myokardial hasarlara endomiyokarditis, miyokarditis veya perimiyokarditis ile seyreden enfeksiyöz hastalıklarda rastlanır. Vücudun herhangi bir yerindeki supuratif odaktan köken alan *Listeria monocytogenes* ve *Actinobacillus equuli* gibi bakteriler miyokarditise neden olur.[76,79]

Pek çok araştırıcı ratlarda ve kobaylarda EKG üzerine çalışmalar yapmışlardır. Simonin ve Pierron kobaylarda florozisin etkisini araştırmışlardır.[80,82] Sambhi ve White [80] normal ve hipertensif ratlarda EKG kayıtlarını saptamıştır. Yılmaz[83] 1988 yılında yaptığı bir araştırmasında sağlıklı ratlarda EKG kayıtlarını yapmıştır. Pişkin ve Emre [81] yaptıkları bir çalışmalarında kobaylarda akut florozisin EKG üzerine etkilerini

incelemişlerdir. Bulduk ve Kılıçalp Kılınç[84] günlük Crataegus oxyacantha uygulamasının ratlarda EKG değerlerine etkisini araştırmışlardır. Çeşitli hayvanlarda EKG 'nin normal değerlerinin belirlenmesi ve farklı patolojik durumlarda EKG 'de oluşan değişikliklerin araştırılması, konuyla ilgili literatür bilgisinin artmasıyla beraber ilgili tedavi ve tanı süreçlerinde uygulayıcılara ip ucu vermeleri yada rehber olmaları açısında değerlidir.

2.5. Kalp Enzimleri

2.5.1. Kreatin Kinaz (CK) ve Kreatin Kinaz MB (CK-MB)

Kreatin fosfokinaz olarak da bilinen CK, iskelet kası, kalp kası ve beyinde bulunur. CK dimer yapıya sahip bir enzimdir ve izoenzimleri klinikte önemlidir. CK enziminin orjinine göre 3 izoenzimi vardır. Bunlar kalp (CK-MB), beyin (CK-BB) ve iskelet kası (CK-MM) kökenli izoenzimleridir.[85] Kreatin kinaz enzim aktiviteleri çizgili kas, beyin ve kalp dokusunda fazla olmasına rağmen diyafram ve böbrek gibi diğer dokularda daha az bulunurlar. İzoenzim kalıpları dokularda farklılık göstermektedir. İskelet kası CK-MM (% 98) ve düşük CK-MB seviyelerini (% 1) ifade eder. Buna karşılık miyokard (kalp kası), CK-MM'yi % 70 ve CK-MB'yi % 25-30 seviyesinde ifade eder. CK-BB ağırlıklı olarak vasküler ve uterus dokusu da dahil olmak üzere beyin ve düz kasta bulunur. Kas faaliyetleri CK-MB ve CK-MM aktivitesini arttırır. Ancak CK-MM de bu artış % 5 ten azdır.[86-88]

Miyokard infarktüsün ardından (4 ile 6 saat) serum total CK aktivitesi yükselmeye başlar. 18 ile 30 saat gibi belli bir süre sonrasında yüksek değere ulaşır. 3.gün hızlı bir şekilde normale döner. Total serum CK aktivitesi göğüs ağrısı başladıktan yaklaşık 10-20 saat sonra serum CK-MB aktivitesinin artması ile birlikte maksimum seviyeye gelir. Kalp yetmezliği ve taşikardi gibi kalp hastalıklarında Total serum CK ve CK-MB artışları olur. Kalp hasarı miyositlerin hücre zarlarında ağır

değişimlere sebep olabilir. Ayrıca intrasellüler CK'nın ekstrasellüler boşluğa difüze olmasına sebep olabilir. Kalp ameliyatlarından sonraki kardiyak travma total CK ve CK-MB' nin yükselmesine sebep olur.[72,75-77,79-82] Bununla birlikte Comba ve ark.[89] tarafından CK-MB izoenzimlerinin böbrek yetersizliğinde aktivitelerinin arttığı bildirilmektedir. Comba ve ark.[89] ratlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyon testlerine, elektrolitlere ve hematolojik parametreler üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında CK ve CK-MB düzeylerine de bakmışlardır. Comba ve ark.[89] 2016 yılında yaptıkları bu çalışmalarında sağlıklı ratlardaki CK düzeylerini 165.16±50.78 U/L; CK-MB düzeylerini ise 265.00±76.02 U/L, ACTH verilerek stres oluşturulan ratlarda ki CK düzeylerini 256.00±61.22 U/L; CK-MB düzeylerini de 411.50±81.20 U/L olarak saptamışlardır.

İskelet kası hasarları ile kardiak hasarların hayvanlardaki komplikasyonları insanlara oranla daha çok benzerdir. Kronik böbrek yetmezliğine bağlı bozukluklar ile iskelet kaslarının yenilenmesi sırasında myocardial infarktüs olmadığı halde kandaki CK-MB seviyesinde artış gözlenmektedir. Böbrek bozukluğu olan hastalarda aynı zamanda myocardial infarktüsün varlığı biyokimyasal teşhis sırasında problem olmaktadır.

Hayvanlarda kalp hasarının tespiti için CK, CK- MB ve LDH 'ın kullanıldığı fakat orta veya hafif kas yaralanmaları, temas, bir arada barındırma gibi durumlarında bu enzimlerin salınımını arttırabildiği bundan dolayı bu testlerin güvenilirliğinin azalabileceği ifade edilmektedir.[90,91]

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Bu çalışmanın tüm deneysel içerikli uygulamaları ve deneysel aşamalar Atatürk Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Bu çalışma, aynı zamanda Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 19.04.2016 tarih ve 2 sayılı oturumunda belirtilen Etik Kurul Raporunun 36 nolu kararı ile onaylandı (Ek 2).

Çalışmada, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma merkezinden temin edilen, 8 haftalık, 200-250 gr ağırlığında Sprague-Dawley tipi erişkin 40 adet erkek rat kullanıldı. Tüm hayvanlar, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık deney hayvanları ünitesi ortamında, %55-60 nem oranı ve 22 °C oda sıcaklığında bakım ve standart pelet yem ile beslenmeye tabi tutuldu. Deneyler süresince etik kurallara özen gösterilmiştir.

3.2. Kullanılan Etken Madde ve Dozları

Yapılan araştırmada kullanılan etken maddeler ve bu maddelerin nereden temin edildikleri, dozlarının nasıl hazırlandıkları aşağıda sunulmuştur.

Stx2: Stx2 List Biological Laboratories firmasından temin edildi. Ürün hazırlanana kadar -80 ℃ muhafaza edildi. Ürünün hazırlanması üretici firmanın belirttiği şekilde; 10µg'lik toz halindeki Stx2, 100 µl'lik (0.005 M Tris, 0.01 M NaCl, %0.01 Trehalose pH 7,5) proteinli çözelti içeresinde hazırlandı. Stx2 'i kullanabileceğimiz konsantrasyona indirmek amacıyla yukarda belirttiğimiz çözelti kullanılarak 1 ml 20 ng Stx2 olacak şekilde seyreltildi.

Rutin: Rutin Sigma Chemical Company firmasından temin edildi. Ürünü kullanım amacımıza uygun olarak 50 mg/kg ve 100 mg/kg konsantrasyon hazırlandı. Çözeltimiz distile suyun içerisinde rutin çözülerek hazırlandı. Bu çözeltinin tam

homojenizasyonunu sağlamak amacıyla 2 dakika 35 ℃ 'de ısıl işlem uygulanmıştır. Enjeksiyon işlemini pratik hale getirebilmek için 50 mg/kg 'lık konsantrasyonda rutin hazırlarken 1 ml çözeltide 10 mikrogram rutin olacak şekilde, 100 mg/kg 'lık konsantrasyonda ise 1 ml çözeltide 20 mikrogram rutin olacak şekilde ayarlama yapıldı.

Ketamin hidroklorit ve ksilazin: Ürünler Sigma Corp.'tan temin edildi. Ratları anestezi altına almak için 75 mg/kg ketamin HCl ve15mg/kg ksilazin çözeltisi kullanıldı.

3.3. Deneylerde Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Buzdolabı poşeti: Dokuların buzdolabında saklanması için kullanıldı.

Buzdolabı: Kimyasal maddelerin muhafaza edilmesi ve doplapta saklanılması gerekli malzemeleri için kullanıldı.

Derin dondurucu: Kimyasal maddelerin ve ratlardan alının doku ve kan örneklerinin muhafazası için kullanıldı.

Enjektörler: Kan alımı ve enjeksiyon işlemlerinde kullanıldı.

Eppendorf tüpleri: Kan örneklerinden alınan plazmanın muhafazası için kullanıldı.

Erlen: Kimyasal maddelerin hazırlanması için kullanıldı.

Etüv: Cam malzemelerin kurutulması ve steril edilmesi için kullanıldı.

Gavaj: Ratlara intragastrik enjeksiyon yapmak için kullanıldı.

Hassas terazi: Kimyasal maddeleri tartmak için kullanıldı.

Isıtıcılı manyetik karıştırıcı: Rutinin dozlarının çözelti şeklinde hazırlanması için kullanıldı.

Kan tüpleri: Ratlardan kan örneklerinin alınması, santrifüj edilmesi, saklanması için kullanıldı.

Makas: Diseksiyon için kullanıldı.

Manyetik karıştırıcı: Çözeltilerin hazırlanmasında kullanıldı.

Otoanalizör: Ratlardan alınan kan örneklerinin çalışılması için kullanıldı.

Otomatik pipetler: Deneylerde kullanılan kimyasal maddelerin hassas bir şekilde hazırlanması için kullanıldı.

Pens: Diseksiyon için kullanıldı.

pH metre: Kimyasal maddelerin hazırlanmasında kullanıldı.

Saf su cihazı: Çözeltilerin hazırlanması için gerekli olan saf suyun temininde kullanıldı.

Santrifuj: Ratlardan alınan doku ve kan örneklerinin serum ve süpernatant örneklerinin ayrılması için kullanıldı.

Soğutmalı Santrifüj: Ratlardan alınan doku örneklerinin uygun sıcaklıkta serum ve süpernatant örneklerinin ayrılması için kullanıldı.

Vorteks: Kimyasal maddelerin karıştırılması için kullanıldı.

3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Yapılan Enjeksiyonlar

Çalışmamızda toplamda 5 deney grubu oluşturuldu. Her grupta 8 hayvan kullanıldı. Deney hayvanlarımızda HÜS oluşturmak ve rutinin etkisini araştırmak için şu işlemler gerçekleştirildi;

Tablo 3.1. Deneysel gruplar ve gruplardaki deney hayvanı sayıları

Gruplar sayısı	**Grup isimleri**	**Hayvan sayısı**
Grup 1	Sağlıklı (Kontrol)	8
Grup 2	*STX* (100 ng/kg)	8
Grup 3	STX+R50 (100 ng/kg + 50 mg/kg)	8
Grup 4	STX+R100 (100 ng/kg+ 100 mg/kg)	8
Grup 5	R100 (100 mg/kg)	8

1. Grup (Kontrol) : Bu grup kontrol gurubu olarak düzenlendi. Bu gruba herhangi bir etken madde uygulanmadı. Fakat stres kaynaklı hataları önleyebilmek amacıyla 6 gün boyunca gavaj iğnesi yardımıyla intragastrik 1ml serum fizyolojik çözeltisi ve 6. günün sonunda intraperitonal olarak tek doz 1ml serum fizyolojik çözeltisi enjekte edildi. Gruptaki ratların tamamı 8. günün sonunda ötenazi edildi.

2.Grup (Stx) : Bu grup Stx2 deney gurubu olarak düzenlendi. Deneyimizde daha hassas çalışabilmek amacıyla bu grubun tüm üyeleri deneye başlamadan önce ve enjeksiyon öncesinde tartıldı ve enjeksiyonlarımız ratların ağırlığına göre yapıldı. Bu gruba rutin uygulaması yapılmadı. Fakat stres kaynaklı hataları önlemek amacıyla 6 gün boyunca gavaj iğnesi yardımıyla intragastrik 1ml serum fizyolojik çözeltisi enjekte edildi. 6. günün sonunda bu grubun tüm üyelerine ağırlığına göre intraperitonal olarak tek doz 100 ng/kg (1 ml) olacak şekilde Stx2 enjekte edildi. Gruptaki ratların tamamı 8. günün sonunda ötenazi edildi.

3.Grup (Stx+R50): Bu grup 50 mg/kg rutin uygulanan tedavi grubu olarak düzenlendi. Deneyimizde daha hassas çalışabilmek amacıyla bu grubun tüm üyeleri deneye başlamadan önce ve enjeksiyon öncesinde tartıldı ve enjeksiyonlarımız ratların ağırlığına göre yapıldı. Bu gruba 6 gün boyunca günlük tek doz ratların ağırlığına göre 50 mg/kg rutin gavaj yardımıyla intragastrik olarak enjekte edildi. 6. günün sonunda bu grubun tüm üyelerine ağırlığına göre intraperitonal olarak tek doz 100 ng/kg Stx2 enjekte edildi. Gruptaki ratların tamamı 8. günün sonunda ötenazi edildi.

4.Grup (Stx+R100): Bu grup100 mg/kg rutin uygulanan tedavi grubu olarak düzenlendi. Deneyimizde daha hassas çalışabilmek amacıyla bu grubun tüm üyeleri deneye başlamadan önce ve enjeksiyon öncesinde tartıldı ve enjeksiyonlarımız ratların ağırlığına göre yapıldı. Bu gruba 6 gün boyunca tek doz, ratların ağırlığına göre 100 mg/kg rutin gavaj yardımıyla intragastrik olarak enjekte edildi. 6. günün sonunda bu

grubun tüm üyelerine ağırlığına göre intraperitonal olarak tek doz 100 ng/kg Stx2 enjekte edildi. Gruptaki ratların tamamı 8. günün sonunda ötenazi edildi.

5.Grup (R100): Bu grup 100 mg/kg rutin uygulanan deney grubu olarak düzenlendi. Deneyimizde daha hassas çalışabilmek amacıyla bu grubun tüm üyeleri deneye başlamadan önce ve enjeksiyon öncesinde tartıldı ve enjeksiyonlarımız ratların ağırlığına göre yapıldı. Bu gruba 6 gün boyunca tek doz, ratların ağırlığına göre 100 mg/kg rutin gavaj yardımıyla intragastrik olarak (1 ml) enjekte edildi. Bu gruba Stx2 uygulaması yapılmadı. Fakat stres kaynaklı hataları önleyebilmek amacıyla 6. günün sonunda intraperitonal olarak tek doz 1ml serum fizyolojik çözeltisi enjekte edildi. Gruptaki ratların tamamı 8. günün sonunda ötenazi edildi.

3.5. EKG çekimleri

EKG çekimleri ratlar anestezi altında iken sırt üstü yatırılarak çekildi. Ratların ön ve arka bacaklarının (dirsek ve diz ekleminin üst kısmı) kılları neşter yardımı ile alındıktan sonra alkol ile temizlendi. Temizlenen alanlara elektrotlar EKG çekimine uygun şekilde yerleştirildi. Akım geçişini kolaylaştırmak amacıyla elektrotların yerleştirileceği bölgelere elektrot jeli sürüldü. Daha sonra timsah ağızlı elektrotlar ön bacaklarda dirsek ekleminin üzerine, arka bacaklarda diz ekleminin üzerine yerleştirildi.[72,83,92-94] EKG, bipolar ekstremite derivasyonları (I, II ve III) ile artırılmış ünipolar ekstremite derivasyonları (aVR, aVL ve aVF) şeklinde altı derivasyon olarak kaydedildi. EKG cihazı 1 mV=10 mm ve yazdırma hızı 50 mm/sn olacak şekilde ayarlandı. EKG parametreleri için kayıt işlemlerinde Cardiyofax 6851 (Nihon 98 Kohden, Tokyo, Jopon) marka elektrokardiyograf kullanıldı.

Ratlardan elde edilen EKG traselerinin her birinde II. derivasyonda P ve T dalgaları ile QRS kompleksinin süre ve amplitüdleri, PR ve QT aralıklarının süreleri

saptandı. Ayrıca kalbin ortalama elektriksel ekseni ve dakikadaki kalp atım sayıları tespit edildi. [81,83,84,95]

3.6. Kan Örneklerinin Toplanması

S.dawley cinsi rat modeli üzerinde yapılmış olan bu çalışmada deneylere başlamadan 24 saat önce ratlar aç bırakıldı. Sadece su içmelerine müsaade edildi. Ketamine hydrocloride (75mg/kg) ve xylazine (15mg/kg) ile sedasyon sağlandı. Hayvanlar servikal dislokasyonla sakrifiye edilip, orta hattan abdomen açıldı.

Kan dokusu intrakardiyak olarak alındı ve jelli biyokimya tüplerine dolduruldu. Kan örnekleri serumlarına ayırmak için santrifüjde 3000 x g ’de 10 dk santrifüj edildi. Ayrılan serumlar eppendorf tüplerine alınarak kalp enzim parametreleri çalışılana kadar derin dondurucuda -80 ℃ ’de saklandı.

3.7. Biyokimyasal Analizler:

Atatürk Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı’nda, otoanalizör (Beckman Coulter AU5800) kullanılarak serumda; CK ve CK-MB analizleri yapıldı.

3.8. İstatiksel Analiz

Çalışmamız sonucunda elde edilen bulgular istatistiksel olarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar X±SD şeklinde verildi. Elde edilen kantitatif değerler SPSS 20.00 istatistik veri programında ikiden fazla bağımsız grupların istatistiksel olarak analiz edildi. Daha sonra one-way ANOVA sonrası Tukey testi uygulanarak değerlendirildi. $p<0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

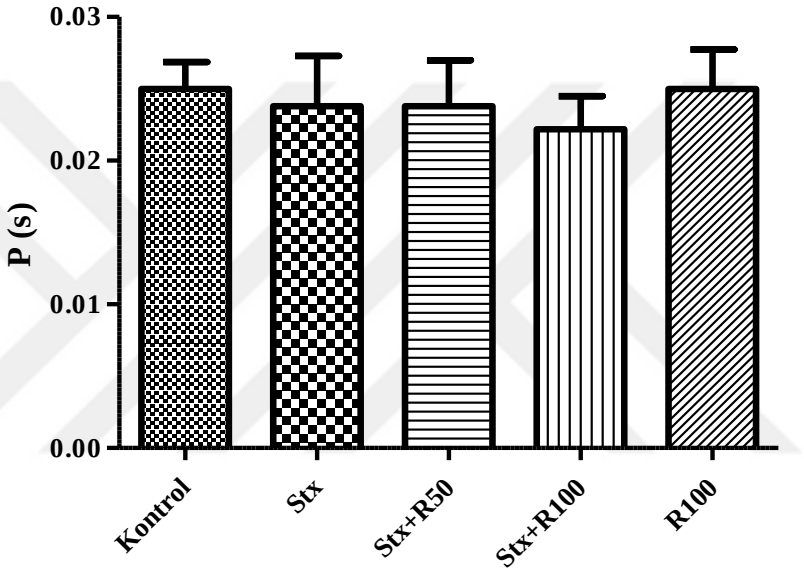
Bu araştırmada Şiga toksin uygulanmış ratlarda elektrokardiyografi (EKG) ve bazı kalp enzimleri üzerine rutinin etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. CK ve CK-MB düzeyleri ile EKG arasındaki bağlantılar değerlendirildi. Elde ettiğimiz EKG ile CK ve CK-MB değerleri sırasıyla Tablo 4.1. ve Tablo 4.2. 'de sunulmuştur. Ayrıca bütün gruplardan elde edilen EKG parametreleri Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3., Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6., Şekil 4.7., Şekil 4.8., Şekil 4.9., Şekil 4.10. ve Şekil 4.11. 'de istatistiksel verileri ile birlikte grafik olarak sunulmuştur. Araştırmalarımızda elde ettiğimiz EKG örnekleri bütün gruplarda ekstremite derivasyonlarından DII orijinal çıktı örnekleri Şekil 4.12., Şekil 4.13., Şekil 4.14., Şekil 4.15., ve Şekil 4.16 'da verilmiştir.

Tablo 4.1 Kontrol ve deneme gruplarında ratların EKG 'de elde edilen amplitüd ve süreleri (n=5).

	Gruplar				
	1.Grup (n=5)	**2.Grup (n=5)**	**3.Grup (n=5)**	**4.Grup (n=5)**	**5.Grup (n=5)**
EKG Parametreleri	**Kontrol** $\bar{X}\pm SD$	**STX** $\bar{X}\pm SD$	**STX+Rutin50** $\bar{X}\pm SD$	**STX+Rutin100** $\bar{X}\pm SD$	**Rutin100** $\bar{X}\pm SD$
P (s)	0.025± 0.001[a]	0.023± 0.003[a]	0.023± 0.003[a]	0.022± 0.002[a]	0.025±0.002[a]
P (mV)	0.11± 0.01[a]	0.15± 0.02[b]	0.13± 0.02[ab]	0.13± 0.02[ab]	0.12± 0.02[ab]
P-Q (s)	0.04± 0,003 [a]	0.03± 0,005 [a]	0.03± 0,001 [a]	0.03± 0,003 [a]	0.04± 0,002 [a]
QRS (s)	0.037± 0,004 [a]	0.044± 0,004 [a]	0.039± 0,002 [a]	0.035± 0,004 [a]	0.037± 0,002 [a]
R(mV)	0.1± 0,02 [a]	0.22± 0,08 [b]	0.27± 0,06 [b]	0.37± 0,01 [c]	0.1± 0,03 [a]
QT (s)	0.071± 0,005 [a]	0.081± 0,004 [a]	0.079± 0,001 [a]	0.074± 0,009 [a]	0.070± 0,004 [a]
T (s)	0.034± 0,004 [a]	0.037± 0,005 [a]	0.045± 0,007 [a]	0.043± 0,009 [a]	0.035± 0,006 [a]
T (mV)	0.1± 0,03 [a]	0.3± 0,05 [b]	0.2± 0,03 [c]	0.2± 0,05 [c]	0.2± 0,04 [c]
Kalp atım sayısı (dakika)	448.6±18.4 [a]	415±19.2 [a]	438.9±23.6 [a]	440.9±37 [a]	438.5±25.7 [a]
Kalbin Elektriksel Ekseni (derece)	89.6±23.9 [a]	101.8±24 [b]	62±16.2 [a]	86.6±9.7 [a]	65.8±8.7 [a]

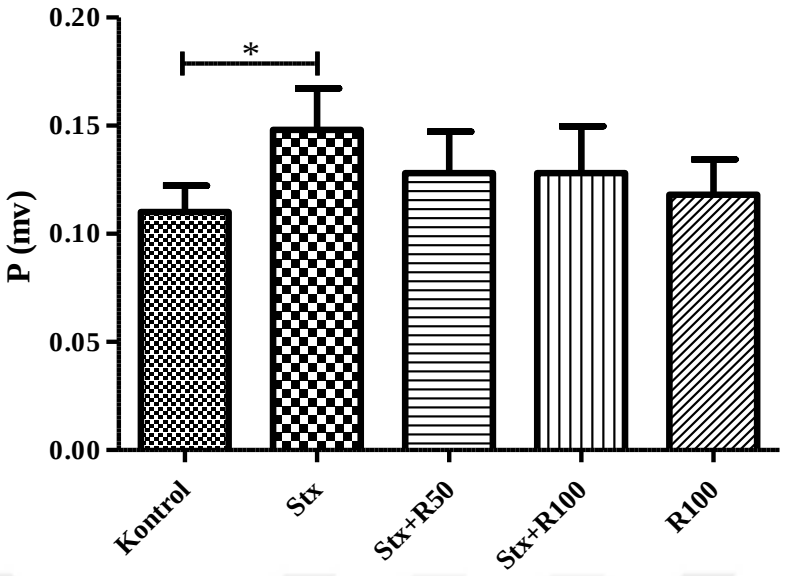
Tablo 4.2. Kontrol ve deneme gruplarında serum CK ve CK-MB düzeyleri ($\bar{X}$±SD).

	Deney Grupları	CK (U/L) $\bar{X}$±*SD*	CK-MB (U/L) $\bar{X}$±*SD*
1.Grup	**Kontrol**	1043.4±106.7	956.6±125.3
2.Grup	**STX**	1295.8±86	1566.6±175.1
3.Grup	**STX+R50**	1077.4±114.5	1128±160.9
4.Grup	**STX+R100**	1064.4±54.2	1043.2±212
5.Grup	**R100**	1048.4±122.3	958,2±184.9



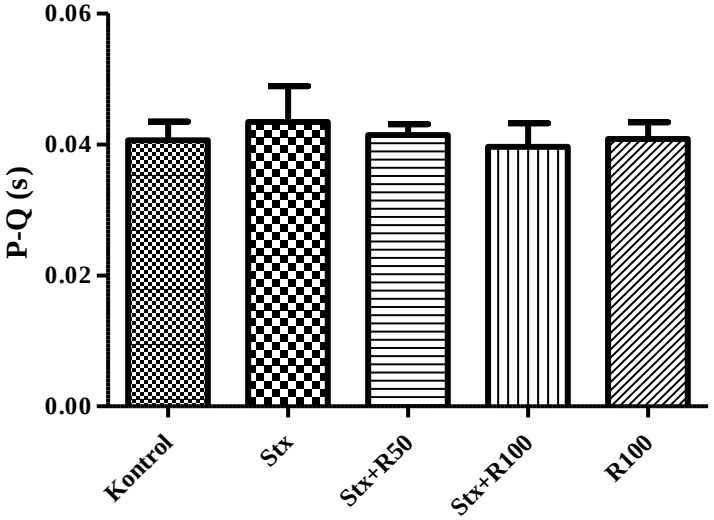
Şekil 4.1. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. Ekstremite derivasyonlarından elde edilen P dalgasının süresi

Deney gruplarında elde edilen EKG traselerinde, P dalgasının sürelerinde (s) kontrol grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel düzeyde bir anlam belirlenememiştir.(n=5 p>0.05)



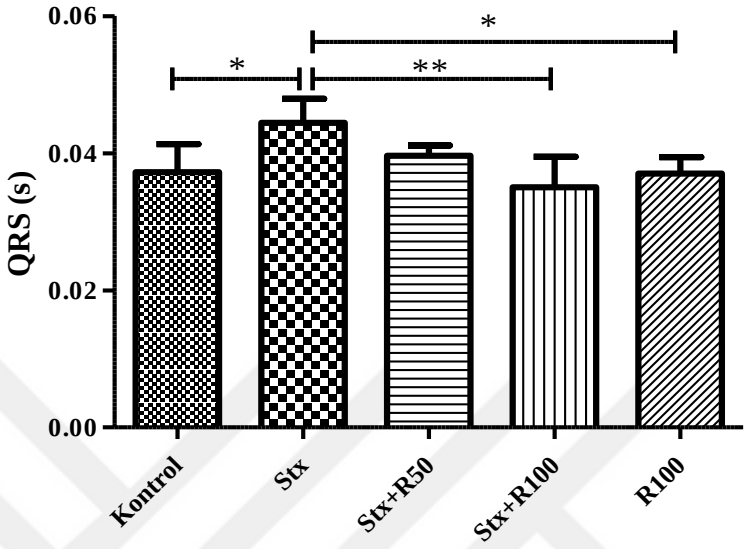
Şekil 4.2. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen P dalgasının amplitüdleri.(n=5 *p<0,05)

Deney gruplarında elde edilen EKG traselerinde belirlenen, P dalgasının amplitüdü (mV) kontrol grubu ile Stx grupları arasında elde edilen verilerde istatiksel olarak anlam belirlenmiştir (*p<0.05). Kontrol grubu, Stx+R50, Stx+ R100, R100 grupları arasında ise istatistiksel olarak herhangi bir anlam belirlenememiştir.(n=5 p>0,05)



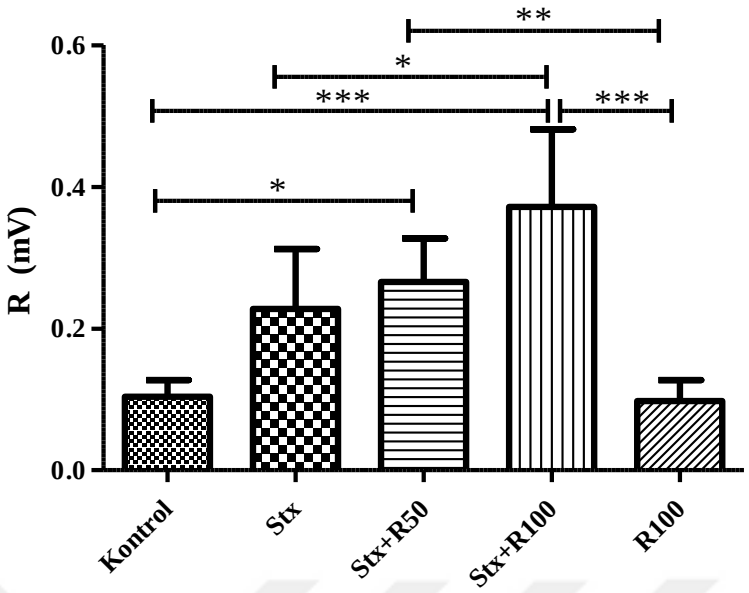
Şekil 4.3. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen P-Q süreleri (n=5 p >0.05)

Deney gruplarında elde edilen EKG traselerinde belirlenen, P –Q sürelerinin (s) kontrol grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel düzeyde bir anlam belirlenememiştir.(n=5 p >0.05)



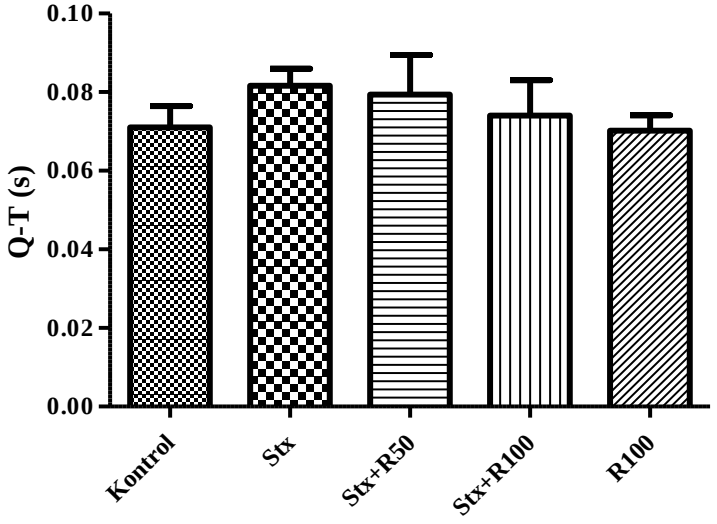
Şekil 4.4. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen QRS süreleri (n=5 *p<0.05 , **p<0.01)

Deney gruplarında elde edilen EKG traselerinde belirlenen, QRS sürelerinin (s) kontrol grubu ile Stx grupları arasında, Stx grubu ile Stx+R100 grubu arasında, Stx grubu ile R100 grubu arasında elde edilen verilerde istatiksel olarak anlam belirlenmiştir.(n=5 *p<0.05 , **p<0.01)



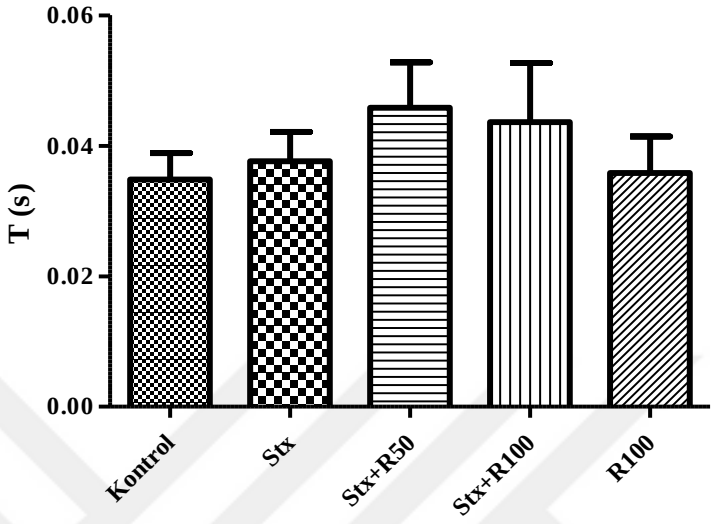
Şekil 4.5. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen R amplitüdü .(n=5 *p<0.05 , **p<0.01)

Deney gruplarında elde edilen EKG traselerinde belirlenen, R amlitüdü (mV) kontrol grubu ile Stx+R50 grubu, Stx ile Stx+R100 grupları arasında, kontrol grubu ile Stx+R100 grubu ve Stx+R100 ile R100 grubu arasında, Stx+R50 ile R100 grubu arasında elde edilen verilerde istatiksel olarak anlam belirlenmiştir.(n=5 *p<0.05 , **p<0.01)



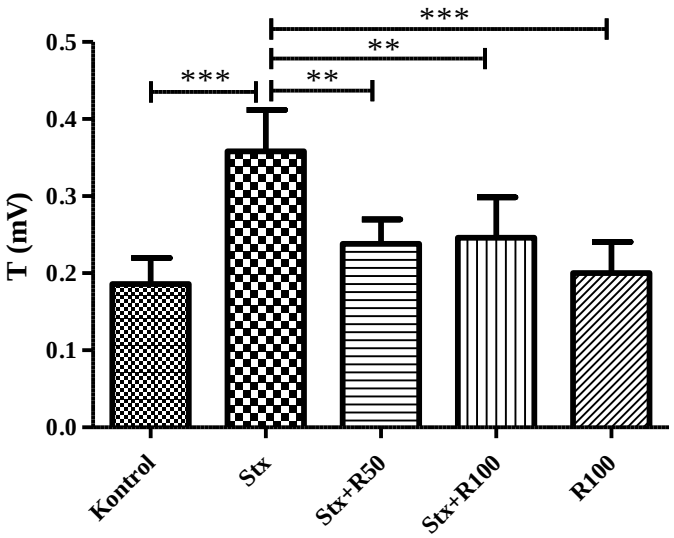
Şekil 4.6. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen Q-T süreleri (n=5 p >0.05)

Deney gruplarında elde edilen EKG traselerinde belirlenen, Q-T sürelerinin (s) kontrol grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel düzeyde bir anlam belirlenememiştir.(n=5 p >0.05)



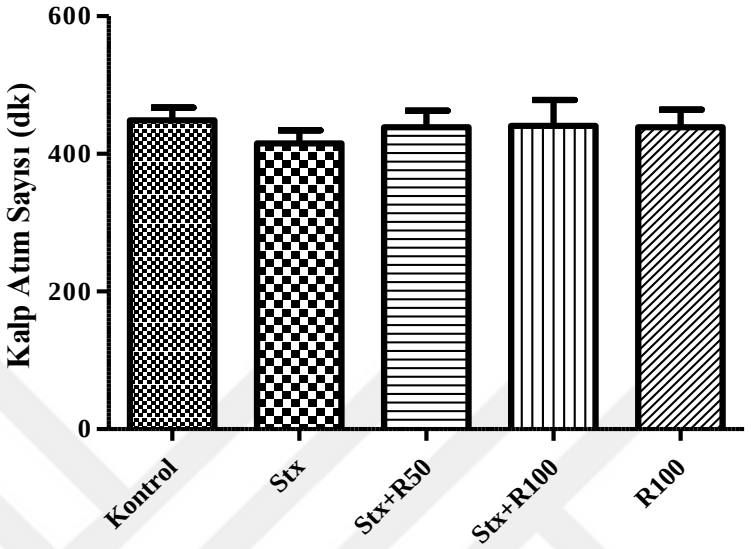
Şekil 4.7. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen T dalgası süreleri (n=5 p >0.05)

Deney gruplarında elde edilen EKG traselerinde, T dalgasının sürelerinde (s) kontrol grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel düzeyde bir anlam belirlenememiştir.(n=5 p >0.05)



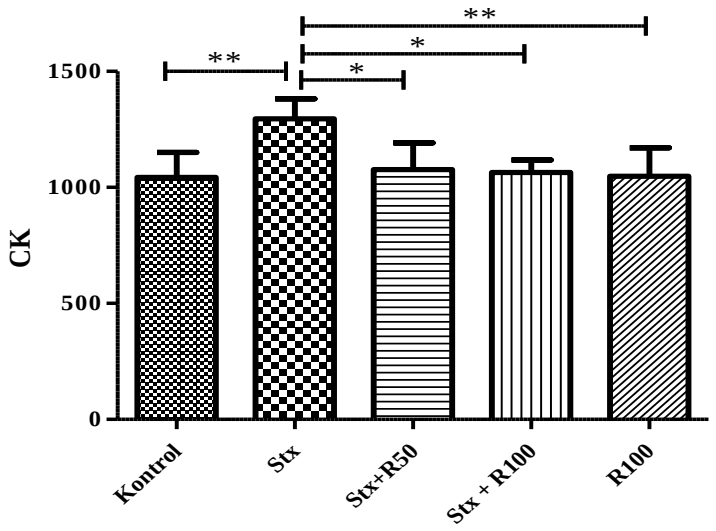
Şekil 4.8. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II. ekstremite derivasyonlarından elde edilen T amplitüdü (n=5 *p<0.05 **p<0.01)

Deney gruplarında elde edilen EKG traselerinde belirlenen, T dalgasının amplitüdleri(mv) kontrol grubu ile diğer gruplar arasında çıkan istatistikler sonuçlar grafik üzerinde gösterilmiştir. (n=5 *p<0.05 **p<0.01)



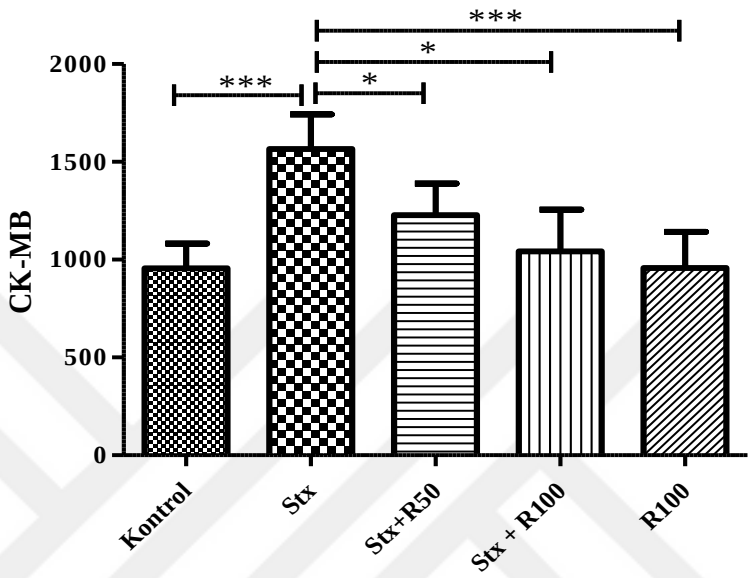
Şekil 4.9. Deney gruplarındaki ratlarda EKG II.ekstremite derivasyonlarından elde edilen Kalp Atım Sayısı (n=5 p >0.05)

Deney gruplarında elde edilen EKG traselerinde belirlenen, Kalp Atım Sayısında(dk) kontrol grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel düzeyde bir anlam belirlenememiştir.(n=5 p >0.05)



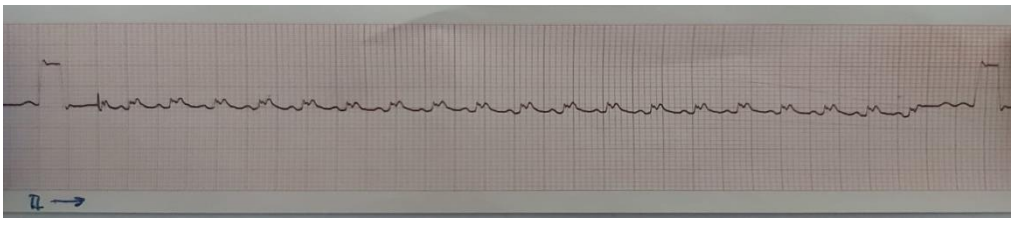
Şekil 4.10. Deney gruplarındaki ratlarda CK enzimi (n=5 p <0.05)

Deney gruplarından elde edilen kan serumlarında, CK enzim aktivitesinde kontrol grubu, Stx+R50, Stx+R100 ve Rutin grupları arasında istatistiksel düzeyde bir anlam belirlenememiştir. Stx grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel bir anlam belirlenmiştir. (n=5 p <0.05)

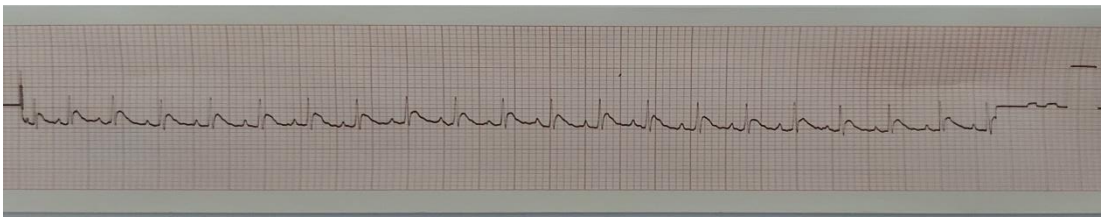


Şekil 4.11. Deney gruplarındaki ratlarda CK-MB enzim (n=5 p <0.01)

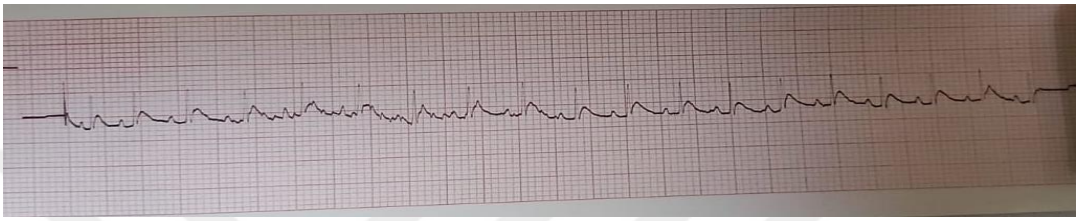
Deney gruplarından elde edilen kan serumlarında, CK-MB enzim aktivitesinde kontrol grubu, Stx+R50, Stx+R100 ve Rutin grupları arasında istatistiksel düzeyde bir anlam belirlenememiştir. Stx grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel bir anlam belirlenmiştir. (n=5 p <0.01)



Şekil 4.12. Kontrol Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu (1 mV=10 mm, 50mm/sn)



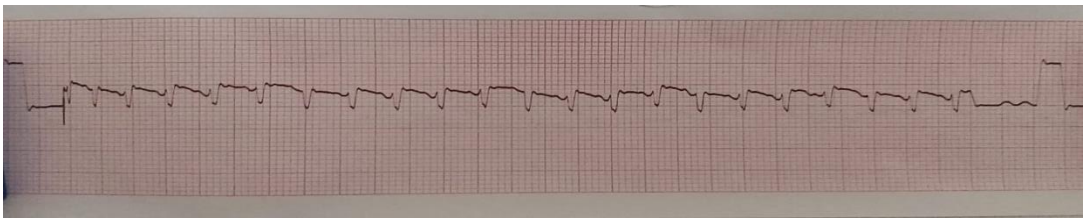
Şekil 4.13. Stx Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu (1 mV=10 mm, 50mm/sn)



Şekil 4.14. Stx+R50 Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu (1 mV=10 mm, 50mm/sn)



Şekil 4.15. Stx+R100 Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu (1 mV=10 mm, 50mm/sn)



Şekil 4.16. Rutin Grubu ratlarda EKG DII derivasyonu (1 mV=10 mm, 50mm/sn)

5. TARTIŞMA

Stx2ler ve şiga benzeri toksinler protein yapısındaki toksin grubuna dahil olan toksinlerdendir. *S.dysenteriae* ve *E.coli*'nin bazı suşları ve diğer bazı bakteriler bu toksini salgılayabilirler. Stx2 üreten *E.coli* (STEC) HÜS olarak tanımlanan patolojiye neden olmaktadır. Bu patolojik durum daha çok çocuklarda kendini göstermektedir. HÜS 'ün en ağır vakaları Stx2 'ye bağlı olarak gelişen vakalardır.[96] STEC enfeksiyonlarında Stx2 'e bağlı olarak, organizmada oksidatif hasar ve inflamasyonlar oluşturduğu belirtilmiştir.[41,97] Stx2 'ler tarafından mikrovasküler sistemde meydana gelen hasarda en fazla etkilenen organ sistemlerinin böbrekler ve intestinal sistem olduğu ifade edilmektedir. Böbrekler ve intestinal sistem hasarlarıyla beraber meydana gelebilecek komplikasyonlar diğer organ sistemlerini de olumsuz etkileyebilir. Yapılan çeşitli araştırmalar sonucu *E.coli* ile gerçekleşen akut gastroenteritis vakalarında, akut ve atipik HÜS 'lu çocuklarda ölenlerin önemli bir bölümünün kardiyovasküler problem yaşadığı belirtilmektedir.

HÜS 'un fizyolojik ve patolojik etkilerini araştırmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Rat modeli üzerinde yapılan bu çalışmalarda semptomik bulgular yüksek olduğundan Stx2 kullanılmıştır.

Gomez ve ark.[41] tarafından HÜS modeli üzerinde yapılan bir çalışma olan; Stx2 İn Vivo Olarak İndüklenen Oksidatif Stresin HÜS 'un Patojenitesine Etkisi fareler üzerinde Stx2 'nin 100 ng/kg dozunu kullanılmıştır. Fare Stx2 zehirlenme modelinde, ROS üretimini ve lipit peroksidasyonunu azalttığı ve Stx2 'nin farelerde kısmen böbrek yetmezliği oluşturduğu tespit edilmiştir.

Sauter ve ark.[84] tarafından yapılan bir çalışmada ise Endotoksinsiz Stx2 ile Oluşturulan HÜS 'lu Fare Modelinde Anti-Stx Antikoruyla Ölümcül Etkilerden Korunma fareler üzerinde Stx2 'nin tek doz 250 ng/kg ve üçer gün ara verilerek üç doz

50 ng/kg olarak iki ayrı HÜS modeli üzerinde çalışılmıştır. İntraperitoneal olarak uygulanan Stx2 önce tek bir doz olarak uygulandığında toksisitesi belirlenmiştir. Doz tepkisi deneyleri, ilk olarak % 50 ölümcül dozun (3 ng Stx2 / 20 g bwt), ikinci olarak ölümcül olan Stx2 dozu (tek doz 5 ng Stx2 / 20 g bwt) verilmesi, 24 saat sonra tespit edilen ve 3 gün boyunca devam eden kilo kaybıyla sonuçlanmıştır. O sırada, hayvanlar bwt 'lerinin en az %20 'sini kaybetmiş, titreme ve ataksi sergilemişlerdir. Etik nedenlerden dolayı, bu fareler Stx2 enjeksiyonunu takip eden üçüncü günde ötenazi edilmiştir.

Biz çalışmamızda fareye göre daha dayanıklı olan rat modeli üzerinde çalıştık. Deneylerde hayvanların ölümlerine yol açmamak amacıyla ölümcül dozun altında olan 100ng/kg dozunu tercih ettik. Bu durum Stx2 'nin hayvanların ölümüne fırsat vermeden daha iyi sonuçlar elde etmemize imkan tanıdı. Stx nin oluşturabileceği kardiyotoksik yan etkilerin üzerine antitoksik ajan olan rutin kullanılmıştır. Çalışmamızın amacı ratlarda oluşturulan toksisite üzerinde rutinin koruyucu etkisi gösterilmek istenmiştir. Ancak yaptığımız çalışmada değerlendirilen EKG parametreleri toksikasyona bağlı belirgin değerler ortaya koymamıştır (Tablo 4.1.). Bu nedenle rutinin 50 ve 100 mg/kg dozlarının kür olarak uygulandığı gruplarda oluşturulan Stx2 toksikasyonunun, EKG parametrelerinde de belirgin anormal bir veri görülememiştir.

Rutin, flavonoid bir bileşiktir. Flavonoidler bitkilerin, meyve sularının ve sebzelerin yapısında bulunur. Rutinin antiinflamatuvar, antitümör, antimutajenik, bağışıklık sistemini düzenleyici ve kalp kasını koruyucu özellikleri vardır. [50,54]

Annapurna ve ark.[57] tarafından 2009 yılında; Krishna ve ark.[60] tarafından 2005 yılında sıçanlar üzerinde çeşitli çalışmalar yapmışlardır. Çalışmalarda normal ve diyabetik sıçanlarda iskemi-reperfüzyon kaynaklı miyokard enfarktüsünde kersetin ve rutin'in kardiyoprotektif etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, iskemi-reperfüzyona tabi

tutulan normal sıçanlara kıyasla, in-vivo iskemi-reperfüzyona tabi tutulan diyabetik kalplerde daha büyük enfarktüs boyutu, lipid peroksidasyonu artışı, enzimlerin kısmi tükenmesi ve kalp hızında şiddetli düşüş göstermiştir.

Chan ve ark.[58] tarafından 2009 yılında yapılmış olan bir çalışmada flavonoid olan rutinin oral warfarinin antikoagülan aktivitesi ve enantiyomerlerinin protein bağlanması ve farmakokinetiği üzerindeki etkileri farelerde incelenmiştir. Yapılan bu çalışma sonucu ise Rutinin antioksidan özelliği ile kardiyo koruyucu etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Kalbin patolojisinde EKG bulguları önemli bir yere sahiptir. Kardiyavasküler sistemde kalbin aktivitesi, mevcut fizyolojik ya da patolojik durumun tebiti ve takibi konularında EKG bulguları kıymetli referans değerlerdir. Bir elektrokardiyogram P dalgası, QRS komleksi, T ve U dalgasından oluşur. T dalgasından 0,02 – 0,04 sn sonra gelen U dalgasının amplitüdü küçük olduğu için EKG de pek ayırt edilemez. QRS kompleksi üç ayrı dalga olan Q, R ve S dalgalarından oluşur.

P dalgası, atriyal kasılma olmadan önce atriyumun depolarize olması sırasında oluşan elektrik potansiyelleri etkisiyle görülür. Atriyumların depolarizasyonunu yansıtır. İnsanlarda P dalgasının uzunluğu ve şeklinin analizi klinik olarak önemli bilgiler getirse de, sıçanlarda P dalgasının şekil ve uzunluk değişikliklerini sonuçlandırmak için yeterli deneysel veri yoktur.[99] Bununla birlikte, Milliez ve ark.[100] 2005 yılında yapmış oldukları çalışmada Wistar sıçanlarında P dalgasının uzamasının, miyokard enfarktüsünden sonra supraventriküler aritmilere karşı artan duyarlılıkla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmalarda P dalgasının süresinin kontrol grubunda (1.grup) 0.025 saniye olduğu, diğer gruplarda elde edilen P dalgalarının sürelerinin ise Stx2 grubunda (2.grup) 0.023, Stx+R50 0.023 (3.grup), Stx+R100 (4.grup) 0.022 ve

Rutin100 (5.grup) 0.025 saniye olduğu belirlendi. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda P dalgasının süresi ile ilgili olarak önemli bir farklılık ortaya konulmadı.

Pişkin ve Emre[81] 1994 yılında kobaylarda yapmış oldukları çalışmada beden ağırlığına 250 mg/kg dozda sodyum florür derialtı uygulanarak akut flor zehirlenmesi oluşturulmuş ve bunu izleyen 8-12. saatler arasında elektrkardiyogramları çekilmiştir. Akut flor zehirlenmesi sonucunda, P dalgasının amplitüdünün (mV) 0.132 mV'den 0.86 'ya düştüğünü gözlemlemişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmalarda P dalgasının amplitüdünün (mV) ortalama değerlerinin kontrol grubu, Stx, Stx+R50, Stx+R100 ve R100 gruplarında 0.1 mV olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda P dalgasının amplitüdü ile ilgili olarak bir farklılık ortaya konulmadı.

Q dalgası her zaman bulunmadığı için PQ aralığı olarak da adlandırılan PR aralığı, depolarizasyonun atriyumdan ventriküllere ilerlemesini gösterir. [101,102] PR aralığı, P dalgasının başlangıcından QRS veya RS kompleksinin başlangıcına kadar geçen süre ölçülerek belirlenir. PR aralığının uzunluğunun analizi, atriyoventriküler blokların tanısında çok önemlidir. *S.dawley* türü sıçanlarda PR aralığı 38 ile 70 ms arasında değişmektedir.

Anestezi türüne göre yapılmış olan çalışmalarda PQ süresi ve uzunluğunun önemli ölçüde değişiklikler gösterdiği belirlenmiştir.[99] Sugiyama ve ark.[103] 2005 yılında yapmış olduğu çalışmada PR aralığının pentobarbital anestezide 38-44 ms, Normann ve ark.[104] 1961 yılında hafif eter anestezisinde 48-70 ms olduğu, Lin ve ark.[105] 1997 yılında yapmış olduğu çalışmada üretan anestezisinde 48-56 ms, Regan ve ark.[106] 2005, Regan ve ark.[107] 2007 yıllarında yapılmış çalışmalarda ketamin ile birlikte ksilazin anestezisi 56-66 ms, Hamdy ve Brocks[108] 2009 yılında yapmış oldukları çalışmada izofluran anestezisinde 52-60 ms belirlemişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmalarda PQ aralığının süresi kontrol grubu ve R100 grubunda 0.04 saniye olduğu diğer gruplarda elde edilen PQ aralığının süresi Stx 0.03, Stx+R50 0.03 ve Stx+R100 0.03 saniye olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda PQ aralığının süresi ile ilgili olarak önemli bir farklılık ortaya konulmadı.

QRS kompleksi, Q ve S dalgaları arasında bulunur. QRS kompleksinin süresi, depolarizasyonun ventriküller boyunca yayılma zamanını gösterir. Supraventriküler aritmilerde QRS daralması görülebilirken, geniş QRS kompleksleri ventriküler ritimlerin yanı sıra sağ ve sol dal bloğu, kalp yetmezliği ve miyokard iskemisinde görülebilen intraventriküler iletim bozukluklarını göstermektedir.

Sıçanlarda genellikle Q dalgası tespit edilemediğinden, RS veya Rs kompleksleri değerlendirilir.[99] Kelishomi ve ark.[109] 2008 yılında yapmış olduğu çalışmada hafif eter anestezisi altında *S.dawley* türü sıçanlarda RS komplekslerinin süresi 11.3-16.1 msn, Regan ve ark.[106] 2005 yılında yapmış olduğu çalışmada ketamin ve ksilazin ile anestezi edilen ratlarda 12-15.7 ms, Sugiyama ve ark.[103] 2005 yılında yapmış olduğu çalışmada pentobarbital anestezi uygulanmış ratlarda 20-22 ms, Badole ve ark.[110] 2014 yılında yapmış olduğu çalışmada üretan anestezi altındaki sıçanlarda 18.5-21 ms olarak belirlenmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmalarda QRS sürelerinin (s) kontrol grubu ve R100 grubunda 0.037 saniye olduğu diğer gruplarda elde edilen QRS kompleksinin süresi Stx grubunda 0.044, Stx+R50 grubunda 0.039 ve Stx+R100 grubunda ise 0.035 saniye olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda QRS kompleksinin süresi ile ilgili olarak kontrol grubu ile Stx grupları arasında, Stx grubu ile Stx+R100 grubu arasında, Stx grubu ile R100 grubu arasında elde edilen verilerde istatiksel olarak anlam belirlenmiştir.

Sıçanlar çeşitli ilaçlarla, örneğin doksorubisin Kelishomi ve ark.[109], disopiramit Król ve ark.[111] ve azitromisin Atlı ve ark.[112] ile tedavi edildikten sonra geniş QRS kompleksleri bulundu.

QRS komplekslerinin uzunluğunun analizi, kalbin elektriksel aktivitesi hakkında önemli veriler sağlar.[99]

QT aralığı, Q dalgasından T dalgasının sonuna kadar geçen süreyi tanımlar. Sıçanlarda, bu parametre genellikle Rs kompleksinin başlangıcından T dalgasının sonuna kadar ölçülür. QT aralığı ventriküler kardiyomiyositlerde depolarizasyon ve repolarizasyon süresini gösterir. Bu parametrenin patolojik süresi, içsel bir kalp hastalığı veya eksojen bileşiklerin toksik etkileri nedeniyle, kalbin elektriksel aktivitesindeki bozuklukları gösterir.[99]

Pişkin ve Emre[81] 1994 yılında kobaylarda yapmış oldukları çalışmada beden ağırlığına 250 mg/kg dozda sodyum florürü derialtı uygulayarak akut flor zehirlenmesi oluşturmuş ve 8-12. saatler arasında elektrokardiyogramları çekmişlerdir. Akut flor zehirlenmesi sonucunda, QT aralığının süresinin 0.146 sn'den 0.182 sn'ye uzadığı ve dakika kalp atım sayısının ortalama 255'den 220'ye düştüğü belirlemiştir.

Bizim yaptığımız çalışmalarda Q-T sürelerinin (s) kontrol grubunda 0.071 saniye, Stx grubunda 0.081 saniye, Stx+R50 grubunda 0.079 saniye, Stx+R100 grubunda 0.074 saniye ve R100 grubunda ise 0.070 saniye olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda QT dalgasının süresi ile ilgili olarak önemli bir farklılık ortaya konulmadı.

T dalgası ventriküllerin repolarizasyonunu yansıtır. T dalgası genellikle pozitif bir sapmaya sahiptir. T dalgasının negatif bir sapması miyokard enfarktüsü ve pulmoner emboli sonucu ortaya çıkabilir.[99]

Akita ve ark.[113] 1998 yılında yapmış olduğu çalışmada sıçanlarda hipokalemi, T dalgasının geriliminde uzama ve azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmalarda T süresinin (s) kontrol grubunda 0.034 saniye, Stx grubunda 0.037 saniye, Stx+R50 grubunda 0.045 saniye, Stx+R100 grubunda 0.043 saniye ve R100 grubunda ise 0.035 saniye olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda T dalgasının süresi ile ilgili olarak önemli bir farklılık ortaya konulmadı.

Elektrokardiyogramda R-R dalgalarının aralığı dakikada kalp atım sayısını belirtmektedir. Yapılan çalışmalardan bazıları EKG çekimlerini anestezi altında yapmışlardır. Anestezinin sinir sistemi, boşaltım sistemi, solunum sistemi, kalp ve dolaşım sistemi üzerine etkilerinin olduğu bilinmektedir.[90,114-116] Bulduk ve Kılıçalp[84] yaptıkları çalışmada kalp atım sayısının gruplar ve cinsiyetler arasında farklı olduğunu belirlemişlerdir. Bu farklılık; erkek ratların kalp atım sayısının 410.679 ± 67.314 atım/dk, dişi ratların kalp atım sayısının ise 356.441 ± 62.302 atım/dk olduğunu tespit etmişlerdir. Bulduk ve Kılıçalp[84] *Crataegus oxyacantha* ekstraktı (25 mg/kg ve 50 mg/kg) verilen gruplardaki ratlarda kalp atım sayısının yükseldiğini belirtmektedir. Ayrıca Bulduk ve Kılıçalp[84] *Crataegus oxyacantha* ekstraktının R-R aralıklarının kısalmasına ve bu kısalma ile birlikte kalp atım sayısında bir artış olduğunu belirtmektedir. Aynı zamanda kullanılan ekstraktın dozunda yapılan değişikliklere bağlı olarak aritmiler oluşabileceğini belirtmektedirler. 25 mg/kg ve 50 mg/kg *Crataegus oxyacantha* ekstraktı verilen gruplarda kalp atım sayısı istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yükselirken, 100 mg/kg verilen grupta oluşan artışın anlamlı olmaması doz miktarının önemli olduğunu vurgulamaktadır. 100 mg/kg *Crataegus oxyacantha* verilen gruptaki R-R aralığı literatürle benzerlik gösterdiği belirtilmektedir.[66,117,118] Nasa ve ark.[119] yapmış olduğu çalışmada ise yüksek konsantrasyonlu alıç ekstraktının iskemi

tedavisinde kardiyoprotektif etkiye sahip olduğu fakat düşük konsantrasyonda alıç ekstraktının kalbi güçlendirmede çok fazla etkili olmadığı belirlenmiştir. Bu sebeple bitkisel kökenli ajanların kullanımında kardiyoprotektif etki için tüketilen miktar ve sürenin önemli olduğu düşünülmektedir.

Bizim yaptığımız çalışmalarda Kontrol grubunda dakika kalp atım sayısı 448, Stx grubunda 415, Stx+R50 grubunda 438, Stx+R100 grubunda 440 ve R100 grubundaki kalp atım sayısı 438 olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda Kalp Atım Sayısında (dk) kontrol grubu ile diğer deney grupları arasında bir anlam belirlenememiştir.

Çalışmalarımızdan elde ettiğimiz değerlerde Bulduk ve Kılıçalp[84] 'in yapmış olduğu çalışmada belirttiği 410 değerleri ile uyumluluk göstermektedir.

Kalbin aktivitesi sırasında oluşan elektromotor gücün belirtisi olan kalbin elektriksel ekseni gruplarda ortalama olarak sırasıyla 89,6±23,9, 101,8±24, 62±16,2, 86,6±9,7 ve 65,8±8,7'dir. Kalbin ortalama elektriksel eksenini, Yılmaz[27] 0- 175 derece değişim sınırlarında ortalama 28 derece olarak açıklarken, Cieslar ve ark.[120] ise ortalama 33 derece olarak bildirmişlerdir. Hem kontrol hem de deney grubundaki ratlardan elde edilen sonuçlar yukarıdaki araştırmacıları destekler niteliktedir.

Yapılmış olan çalışmalarda P dalgasının süresi, QRS kompleksinin elektriksel ekseni, R, S ve T dalgalarının amplitüdleri ile P ve T dalgalarının ve QRS kompleksinin şekillerinde bir farklılık gözlemlememişlerdir.

Rat EKG, deneysel kardiyolojide önemli bir araştırma aracıdır. Ancak EKG parametrelerin yorumlanması problemlidir. EKG 'nin yorumlanması sıçanlarda her zaman deneysel ortamların, sıçanların zorlanması ve özellikle anestezi etkisi dikkate alınmalıdır. İnsan çalışmalarının aksine, sıçanlarda EKG parametrelerindeki değişikliklerden önemli ölçüde ayırt etme kriterleri belirlenmemiştir. Bunların sebebi ise

nispeten çalışmalar sırasında kullanılan sıçan suşları ve anestezikler arasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır.

Kalp enzimlerinden biri olan CK, kalp ve bütün iskelet kası hasarlarında yükselirken, diğer bir kalp enzimi olan CK-MB özellikle kalp kası hasarlarında yükselmektedir. Total CK 'nın CK-MB 'ye oranı %2.5 ila 3'den fazla olursa kalp hasarı oluşma ihtimali artmaktadır. Comba ve ark.[89] tarafından yapılmış olan çalışmalarda CK-MB izoenzimlerinin böbrek yetersizliği durumunda akvitelerinin arttığı bildirilmektedir. Comba ve ark.[89] ratlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyonlarına, elektrolit dengeye ve kan değerleri üzerine etkilerini araştırmış olup, bu çalışma sırasında CK ve CK-MB düzeylerine de bakmışlardır. Çalışmalarında sağlıklı ratlarda ki CK düzeylerini 165.16±50.78 U/L; CK-MB düzeylerini ise 265.00±76.02 U/L, ACTH verilerek stres oluşturulan ratlarda ki CK düzeylerini 256.00±61.22 U/L; CK-MB düzeylerini de 411.50±81.20 U/L olarak belirlemişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmalarda CK düzeylerinin kontrol grubunda 1043,4±106,7, Stx grubunda 1295,8±86, Stx+R50 grubunda 1077,4±114,5, Stx+R100 grubunda 1064,4±54,2 ve R100 grubunda 1048,4±122,3 olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda CK enzim aktivitesinde kontrol grubu, Stx+R50, Stx+R100 ve Rutin grupları arasında istatistiksel düzeyde bir anlam belirlenememiştir. Stx grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel bir anlam belirlenmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmalarda CK-MB düzeylerinin kontrol grubunda 956,6±125,3, Stx grubunda 1566,6±175,1, Stx+R50 grubunda 1128±160,9, Stx+R100 grubunda 1043,2±212 ve Rutin100 grubunda 958,2±184,9 olarak belirlendi. Yapılan istatistiksel hesaplamalarda CK-MB enzim aktivitesinde kontrol grubu, Stx+R50, Stx+R100 ve Rutin grupları arasında istatistiksel düzeyde bir anlam belirlenememiştir. Stx grubu ile diğer deney grupları arasında istatistiksel bir anlam belirlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada Stx2 ‘nin EKG ve bazı kalp enzimleri üzerine etkilerini ve rutinin, Stx2 ‘nin neden olabileceği olası olumsuz etkileri önlemede etkilerinin olup olmadığının araştırılması gerçekleştirilmiştir. Yukarıda bildirildiği gibi Rutinin biyolojik etkinlikleri hakkında daha önce yapılmış çalışmalarda ifade edilen antiinflamatuvar, antitümör, antimutajenik, bağışıklık sistemini düzenleyici ve kalp kasını koruyucu özelliklerinden söz edilmektedir. Ayrıca Stx2 toksikasyonlarında gastrointestinal sistem, üriner sistemde ve kardiyovasküler sistem üzerinde özellikle damar endotellerinde yapmış olduğu hasarlardan daha önce yapılan çalışmalarda bahsedilmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada Stx2 ‘nin 6.günde tek dozluk akut etkisinin sonuçları elde edilmiştir. Yapılan çalışmada kontrol grubu ve deney gruplarında yapılan deneysel protokollerde Stx2 uygulaması yapılan tüm gruplarda 6. Günde tek doz toksin uygulaması yapılmıştır. 8. Günde ise hayvanlardan veriler toplanmaya başlanmıştır. İki gün içerisinde Stx2 ‘e akut maruziyete bırakılmış deney gruplarının bulgulardan da görüldüğü üzere EKG değerlerini etkileyecek düzeyde belirgin bir kardiyomyopati gelişmemiştir. Ancak CK ve CK- MB düzeylerinde Stx2 uygulanan 2.grupta kontrol grubuna (1.grup) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artışların olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca rutin kürü uygulanarak Stx ‘e maruz bırakılmış 3.grup (Stx + R50) ve 4.gruplarda (Stx + R100) söz konusu enzimlerin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ve verilerin kontrol grubu verilerine benzer olduğu müşahade edilmiştir. Yine 3.grup ile 4.grupların yalnız Stx2 uygulanan 2.grup ile karşılaştırmalarında 2.grupta elde edilen CK ve CK-MB düzeyleri ile 3.grup ile 4.gruplardan elde edilen CK ve CK- MB düzeyleri arasında istatistiksel olarak bir anlamlı olduğu belirlenmiştir. Yalnız 100mg/kg dozuna rutin uygulanan 5.gruptan CK ve CK- MB düzeyleri ile ilgili elde ettiğimiz veriler de kontrol,

3.grup ve 4.gruplardan elde ettiğimiz verilere paralel değerler belirlenmiş ve aralarında istatistiksel öneme sahip fark bulunamamıştır. 5.gruptan elde edilen sonuçlar ile 2.gruptan elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında CK ve CK- MB düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olduğu 2.grupta elde edilen CK ve CK- MB değerlerinin 5.gruptan elde edilen CK ve CK- MB değerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Bu durumda araştırma metodolojimizdeki protokole göre Stx2 toksikasyonuna maruz bırakılmış ratlarda kontrol grubu ile karşılaştırldığında akut dönem içerisinde EKG parametrelerine ilişkin belirgin bir patolojiye rastlanmadığı, rutin kürü uygulanmış ve sonra Stx2 toksikasyonuna maruz bırakılmış gruplarda da EKG bulgularına yönelik anlamlı bir veri elde edilememiştir. Ancak bu süreç içeriside CK ve CK- MB değerlerinin Stx2 toksikasyonuna maruz bırakılmış ratlarda belirgin artış gösterdiği ve rutin kürü uygulanmış ve sonra Stx2 toksikasyonuna maruz bırakılmış gruplarda ise söz konusu enzim düzeylerinin kontrol grubu içerisindeki değerler düzeyinde kaldığı gözlemlenmiştir. Elde edilen verilere göre rutinin Stx2 toksikasyonun akut dönemde enzim düzeyinde oluşturduğu miyokart hasarının önlenmesinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu kanaati oluşmuştur.

Yaptığımız bu çalışma neticesinde;

- Stx2 nin kronik toksikasyonu sürecinde kardiyavasküler sistem üzerinde ne tür etkiler doğurabileceği hususunda yeni araştırmaların yapılması gerektiği,
- Stx2 nin kronik toksikasyonu sürecinde kardiyavasküler sistem üzerinde oluşturacağı etkiler üzerine rutinin etkilerinin nasıl olacağı,
- Akut ve kronik Stx2 toksikasyonlarının gastointestinal sistem, üriner sistem gibi farklı sistemler üzerinde de daha çok çalışılması ve bu konuda rutin gibi biyolojik etkinlikleri bulunan farklı bitki bileşenlerinin koruyucu

etkinliklerinin araştırılması, tamamlayıcı tıp ya da alternatif tıp olarak ifade edilen alanlarda sözkonusu olabilecek bitki ve bileşenlerinin değerlendirilmesine imkan tanıyacaktır.

Yaptığımız çalışma, bu konuda yapılacak olan çalışmaların ülkemizde tamamlayıcı tıp, alternatif tıp ve ilaç sektöründe dikkate değer sonuçların elde edilebileceğini ve sonuçların bu alanlarda değerlendirilebileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Sağlam D, Şeker E. Gıda Kaynaklı Bakteriyel Patojenler. *Kocatepe Vet J*, 2016 9: 105-113.
2. Rosove MH. Thrombotic microangiopathies. *Semin Arthritis Rheum*, 2014, 43: 797-805.
3. Davis ID, Avner ED. Hemolityc uremic syndrome. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, et al. Nelson Textbook of Pediatrics, 18. edn. Saunders, An Imprint of Elsevier, 2007, 2181-3.
4. Park MK. Pediatric Cardiology for practitioners. 5th ed. Mosby, 2007, 40-66.
5. Ercan B, Tamer L, Atik U. Kreatin Kinaz izoenzimleri ve klinik önemleri. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2003, 3:236-245
6. https://www.beslenmedestegi.com/dogal-urun/rutin-ve-dolasim-sistemi 31 Nisan 2019
7. Ganeshpurkar A, Saluja AK, The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharm J*, 2017, 25: 149-164.
8. Strauch E, Schaudinn C, Beutin L, First-time isolation and characterization of a bacteriophage encoding the Shiga Toxin 2c variant, which is globally spread in strains of Escherichia coli O157. *Infect Immun*, 2004, 72: 7030-7039.
9. Paton A.W, Paton J.C. Enterobacter cloacae producing a Shiga-like toxin II-related cytotoxin associated with a case of hemolytic-uremic syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*, 1996, p. 463–465
10. Schmidt H, Montag M, Bockemuhl J, Heesemann J, and Karch H. Shiga-like toxin II related cytotoxins in Citrobacter freundii strains from human and beef samples. *Infection and Immunity*, 1993, 61, 534-543.

11. Tschape H, Prager R, Streckel W, Fruth A, Tietze E, Böhme G. Verotoxinogenic Citrobacter freundii associated with severe gastroenteritis and cases of haemolytic uraemic syndrome in a nursery school: green butter as the infection source. *Epidemiol Infect*, 1995, 114:441-50.

12. Sansonetti P.J. Pathogenesis of Shigellosis. Springer Science & Business Media, 2012. *Verlag*

13. Melton Celsa A, Mohawk K, Teel L, O'Brien A. Pathogenesis of Shiga-toxin producing Escherichia coli. Curr. Top. *Microbiol. Immunol*, 2012, 357, 67-103.

14. Nathanson S, Kwon T, Elmaleh M, Charbit M, Launay EA, Harambat J, Brun M, Ranchin B, Bandin F, Cloarec S, Bourdat-Michel G, Piètrement C, Champion G, Ulinski T, Deschênes G. Acute neurological involvement in diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010, 5:1218-28.

15. Jacewicz MS, Acheson DW, Binion DG, West GA, Lincicome LL, Fiocchi C, Keusch GT. Responses of human intestinal microvascular endothelial cells to Shiga toxins 1 and 2 and pathogenesis of hemorrhagic colitis. *Infect Immun*, 1999, 67: 1439-1444.

16. Neri P, Tokoro S, Sugiyama T, Umeda K, Shimizu T, Tsuji T, Kodama Y, Mori H. Recombinant Shiga toxin B subunit can induce neutralizing immunoglobulin Y antibody. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35: 917-923.

17. Weinstein DL, Jackson MP, Perera LP, Holmes RK, O'Brien AD. In vivo formation of hybrid toxins comprising Shiga toxin and the Shiga-like toxins and role of the B subunit in localization and cytotoxic activity. *Infect Immun*, 1989, 57: 3743-3750.

18. Fraser, M.E, Fujinaga, M, Cherney M.M, Melton Celsa A.R, Twiddy E.M, O'Brien A.D, James M.N.G. Structure of Shiga toxin type 2 (Stx2) from Escherichia coli O157:H7. *J. Biol. Chem*, 2004, 279, 27511–27517.

19. Ling H, Boodhoo A, Hazes B, Cummings M.D, Armstrong G.D, Brunton J.L, Read R.J. Structure of the Shiga-like toxin I Bpentamer complexed with an analogueof its receptor Gb3. *Biyokimya*, 1998, 37, 7, 1777-1788

20. Obrig TG. Escherichia coli Shiga Toxin Mechanisms of Action in Renal Disease. *Toxins,* 2010, 2: 2769-2794.

21. Bitzan M, Richardson S, Huang C, Boyd B, Petric M, Karmali MA. Evidence that verotoxins (Shiga-like toxins) from Escherichia coli bind to P blood group antigens of human erythrocytes in vitro. *Infect Immun*, 1994, 62: 3337-3347.

22. Jacewicz M, Clausen H, Nudelman E, Donohue-Rolfe A, Keusch GT. Pathogenesis of shigella diarrhea. XI. Isolation of a shigella toxin-binding glycolipid from rabbit jejunum and HeLa cells and its identification as globotriaosylceramide. *J Exp Med*, 1986, 163: 1391-1404.

23. Engedal N, Skotland T, Torgersen ML, Sandvig K. Shiga toxin and its use in targeted cancer therapy and imaging. *Microb Biotechnol*. 2011;4:32-46.

24. Boerlin P, McEwen SA, Boerlin-Petzold F, Wilson JB, Johnson RP, Gyles CL. Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing Escherichia coli and disease in humans. *J Clin Microbiol*, 1999, 37: 497-503.

25. Kleanthous H, Smith HR, Scotland SM, Gross RJ, Rowe B, Taylor CM, Milford DV. Haemolytic uraemic syndromes in the British Isles, 1985-8: association with verocytotoxin producing Escherichia coli. Part 2: Microbiological aspects. *Arch Dis Child*, 1990, 65: 722-727

26. Johannes L, Römer W. Shiga toxins-From cell biology to biomedical applications. *Nat. Rev. Microbiol,* 2010, 8:105-116

27. Torgersen M.L, Engedal N, Bergan J, Sandvig K. The intracellular journey of Shiga toxins. *J Open Toxinol,* 2010, 3:3-12

28. Reisbig R, Olsnes S, Eiklid K. The cytotoxic activity of Shigella toxin. Evidence for catalytic inactivation of the 60 S ribosomal subunit. *J. Biol. Chemistry*, 1981, 256:8739-8744

29. Thompson M.R, Steinberg M.S, Genmski P, Formal S.B, Doctor B.P. Inhibition of in vitro proteinl synthesis by Shigella dysenteriae 1 toxin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* ,1976, 71:783-788

30. Brown J.E, Ussery M.A, Leppla S.H, Rothman S.W. Inhibition of protein synthesis by Shiga toxin. Activation of the toxin and inhibition of peptide elongation. *FEBS Lett.* ,1980, 117:84-88

31. Tesh V.L. 2010. Induction of apoptosis by Shiga toxins. *Future Microbiol,* 2010, 5:431-53

32. Lindberg A.A, Brown J.E, Stromberg N, Westling Ryd M, Schultz J.E, Karlsson K.A. Identification of the carbohydrate receptor for Shiga toxin produced by Shigella dysenteriae type 1. *J. Biol. Chem.* ,1987, 262, 1779-1785

33. Lingwood C.A, Law H, Richardson S, Petric M, Brunton J.L, De Grandis S, Karmali M. Glycolipid binding of purified and recombinant Escherichia coli produced verotoxin in vitro. *J. Biol. Chem.,* 1987, 262, 8834-8839

34. Waddell T, Cohen A, Lingwood C.A. Induction of verotoxin sensitivity in receptor-deficient cell lines using the receptor glycolipid globotriosylceramide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* , 1990, 87, 7898-7901

35. Ayar Y, Ersoy A, Yıldız A, Köseoğlu-Taymur D, Karayel ST, Gömleksiz MR, Güllülü M. Erişkin Hastada Atipik HÜS: Olgu Sunumu. *Uludağ Medical Journal*, 2014, 40: 173-176

36. Ramegowda B, Tesh VL. Differentiation-associated toxin receptor modulation, cytokine production, and sensitivity to Shiga-like toxins in human monocytes and monocytic cell lines. *Infect Immun*, 1996, 64: 1173-1180

37. Eisenhauer PB, Chaturvedi P, Fine RE, Ritchie AJ, Pober JS, Cleary TG, Newburg DS. Tumor necrosis factor alpha increases human cerebral endothelial cell Gb3 and sensitivity to Shiga toxin. *Infect Immun*, 2001, 69: 1889-1894

38. van de Kar NC, Monnens LA, Karmali MA, van Hinsbergh VW. Tumor necrosis factor and interleukin-1 induce expression of the verocytotoxin receptor globotriaosylceramide on human endothelial cells: implications for the pathogenesis of the hemolytic uremic syndrome. *Blood*, 1992, 80: 2755-2764

39. Thorpe CM, Hurley BP, Lincicome LL, Jacewicz MS, Keusch GT, Acheson DW. Shiga toxins stimulate secretion of interleukin-8 from intestinal epithelial cells. *Infect Immun*, 1999, 67: 5985-5993

40. Freedman JE. Oxidative stress and platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28: s11-16

41. Gomez SA, Abrey-Recalde MJ, Panek CA, Ferrarotti NF, Repetto MG, Mejias MP, Fernandez GC, Vanzulli S, Isturiz MA, Palermo MS. The oxidative stress induced in vivo by Shiga toxin-2 contributes to the pathogenicity of haemolytic uraemic syndrome. *Clin Exp Immunol*, 2013, 173: 463-472

42. Perricone C, De Carolis C, Perricone R. Glutathione: a key player in autoimmunity. *Autoimmun Rev*, 2009, 8: 697-701

43. Deneke SM, Fanburg BL. Regulation of cellular glutathione. *Am J Physiol*, 1989, 257: L163-173

44. Ferraris V, Acquier A, Ferraris JR, Vallejo G, Paz C, Mendez CF. Oxidative stress status during the acute phase of haemolytic uraemic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26: 858-864

45. Li Volti S, Di Giacomo C, Garozzo R, Campisi A, Mollica F, Vanella A. Impaired antioxidant defense mechanisms in two children with hemolytic-uremic syndrome. *Ren Fail*, 1993, 15: 523-528

46. Dubey NK, Yadav P, Dutta AK, Kumar V, Ray GN, Batra S. Free oxygen radicals in acute renal failure. *Indian Pediatr*, 2000, 37: 153-158

47. Noris M, Mescia F, Remuzzi G. STEC-HUS, atypical HUS and TTP are all diseases of complement activation. *Nat Rev Nephrol*, 2012, 8: 622-33

48. Trachtman H, Austin C, Lewinski M, Stahl RA. Renal and neurological involvement in typical Shiga toxin-associated HUS. *Nat Rev Nephrol*, 2012, 8 :658-69

49. Rosove MH. Thrombotic microangiopathies. *Semin Arthritis Rheum*, 2014, 43: 797-805

50. Hollman PC, Katan MB. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed Pharmacother*, 1997, 51, 305-310

51. Aleksandrov PN, Speranskaia TV, Bobkov Iu G, Zagorevskii VA, Zykov DA. Effect of rutin and esculamine on models of aseptic inflammation. *Farmakol Toksikol*, 1986, 49, 84-86

52. Deschner EE, Ruperto J, Wong G, Newmark HL. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. *Carcinogenesis*, 1991, 12, 1193-1196

53. Bear WL, Teel RW. Effects of citrus flavonoids on the mutagenicity of heterocyclic amines and on cytochrome P450 1A2 activity. *Anticancer Res*, 2000, 20, 3609-3614

54. Chen S, Gong J, Liu F, Mohammed U. Naturally occurring polyphenolic antioxidants modulate IgE-mediated mast cell activation. *Immunology*, 2000, 100, 471-480

55. Alonso Castro AJ, Domínguez F, García Carrancá A. Rutin, SW480 tümörü taşıyan çıplak farelere antitümör etkileri uygular. *Arch. Med. Res*., 2013; 44 : 346-351.

56. Chen H, Miao Q, Geng M, Liu J, Hu Y, Tian L, Pan J, Yang Y. G2 / M hücre döngüsü durmasının tetiklenmesi yoluyla rutinin insan nöroblastom hücre hatları üzerindeki tümör karşıtı etkisi ve apoptozun teşvik edilmesi. *Sci. Dünya J.*, 2013, 20

57. Araruna MK, Brito SA, Morais-Braga MF, Santos KK, Souza TM, Leite TR, Costa JG, Coutinho HD Pilokarpin ve rutinin antibiyotik ve antibiyotik değiştirme aktivitesinin değerlendirilmesi. *Hint J. Med. Res.* 2012; 135: 252 - 254.

58. Chan E, Hegde A, Chen X. Rutinlerin warfarin antikoagülasyonu ve sıçanlarda warfarin enantiyomerlerinin farmakokinetiği üzerine etkisi. *J. Pharm. Pharmacol*, 2009, 61 : 451-458.

59. Annapurna A, Reddy CS, Akondi RB, Rao SR. Hem normal hem de streptozotosin ile indüklenen tip I diyabetik sıçanlarda deneysel miyokard enfarktüsünde iki biyoflavonoidin kardiyoprotektif etkisi. *J. Pharm. Pharmacol*, 2009, 61:1365-1374.

60. Krishna KM, Annapurna A, Gopal GS, Chalam CR, Madan K, Kumar VK, Prakash GJ. Streptozotosin ile indüklenen diyabetik sıçanlarda kardiyak

fonksiyonun rutin ve kuersetiniyle kısmi ters. *Can. J. Physiol. Pharmacol*, 2005, 83:343-355.

61. Bergan J, Lingelem A.B.D, Simma R, Skotland T, Sandvig K, Centre for Cancer Biomedicine, Faculty of Medicine, University of Oslo, Norway Department of Biochemistry, Institute for Cancer Research, The Norwegian Radium Hospital, Oslo University Hospital, Norway Department of Molecular Biosciences, University of Oslo, Norway
62. Vitaminler - P Vitamini (Rutin) https://www.msxlabs.org/forum/saglikli-yasam Erişim Tarihi :04.05.2019
63. http://kalp.nedir.org/ Erişim tarihi: 06.06.2019
64. Yılmaz B. Ankara, Hacettepe Tas Kitapcılık Ltd. Sti, *Fizyoloji*, 1984
65. Guyton A, Hall JE. 9th Ed. Philadelphia, W.B.Saunders Company. *Textbook of Medical Physiology*, 1996
66. Noyan A. Ankara, Meteksan Ltd. Şti. *Fizyoloji Ders Kitabı*, 1988
67. Başoğlu A. Konya, Çağrı Basım Yayın, *Veteriner Kardiyoloji*, 1992
68. Sonel A. Ankara, Türk Tarih Kurumu Basımevi, *Kardiyoloji* 3.baski, 1987
69. https://www.bilektenanjiyo.com/kalbin-elektrik-sistemi/ Kardiyolog Dr. Ufuk Ali TÜRK Erişim Tarihi:31.05.2019
70. Cinar A, Kılıçalp D, Atasoy N. Electrocardiography of a Turkish Van Cat with Hypertrophy and Ventricular Arrythmias. *Australian Veterinary Practitionary*, 2003, 33:37
71. Kılıçalp D, Çınar A. The Investigation of the Effects of Age, Sex and Season on Electrocardiograms (ECG values) and Heart Radiographs of Healty Van Cats. *Tr. J. Vet. Anim. Sci*, 2003, 27: 101-107

72. Braunwald E, lsselbacher KJ, Petersdorf PG, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Graw MC. Harrison's Principles of Internal Medicine. 2nd Edition. *Hill Book Company, New York*, 1987

73. Edwards NJ. Bolton's Handbook of Canine and Feline Electrocardiography. 2nd Edition. *W.B. Saunders Company; Philadelphia*, 1987

74. Bezerianos A. Modeling the electrical activity of cardiac cell, 1999. Erişim adresi: http://heart.med.upatras.gr/html/seminar.htm Erişim Tarihi:04.07.2019

75. Asharful AM, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD. Effect of citrus flavonids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *American Society for Nutrition. Ad. Nutr*, 2014, 5: 404-417

76. Chung EK. Pocket Guide to EKG Diagnosis. *Blackwell Science Inc, U.S.A*, 1996

77. Park MK. Pediatric Cardiology for practitioners. *5th ed. Mosby*, 2007, 40-66

78. https://www.jonbarron.org/article/secrets-heart Erişim tarihi:01.06.2019

79. Christenson RH, Apple FS, Morgan DL, Alonsozona GL, Mascotti K, Olson M, McCormack RT, Wians FH, Keffer CH, Duh SN. Cardiac troponin measurement with the access immunoassay system: analytical and clinical performance characteristics. *Clin Chem*, 1998, 44: 52-60

80. Sambhi MP, White FN. The Electrocardiogram of the Normal and Hypertensive Rat. *Am Heart Monogr S*, 1960, 8: 129–134

81. Piskin İ, Emre B. Kobaylarda akut flor zehirlenmesinin elektrokardiyogram üzerine etkileri. *A.Ü. Vet. Fak. Derg,* 1994, 41:413 – 437

82. Simonin P, Pierron A. Accessory falctor in fluorosis by ingestion of calcium fluoride in guinea pig. *Compt. Rend. Soc.Biol*, 1937, 124: 669-675

83. Yılmaz B. Kobaylarda elektrokardiyogram. *A.Ü. Yet. Fakt. Derg*, 1988, 35:309-316

84. Bulduk B, Kılıçalp Kılınç D. Günlük Crataegus oxyacatha (Alıç) Uygulamasının Ratlarda EKG Değerlerine Etkisi. *YYU Veteriner Fakultesi Dergisi*, 2013, 24:77 – 81

85. Kayhan R. Farklı Kuvvet Antrenmanlarının Kreatin Kinaz Enzim Aktivitesi Ve Kan Parametrelerine Etkisi / The Effect Of Different Weight Training On Blood Parameters And Serum Creatine Kinase. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi, Balıkesir: Balıkesir Üniversitesi, 2014

86. Sönmez N, Ağaoğlu ZT. Van Kedilerinde Kardiak Troponin Seviyelerinin Araştırılması. *YYU Veteriner Fakultesi Dergisi*, 2010, 21, 21 – 25

87. Gürger M. Acil Serviste Akut Iskemik Stroklu Hastaların Tanısında Kreatin Kinaz, Kreatin Kinaz-Mb, Troponin I, D-Dimer Değerlerinin Kullanılması / Using Creatine Kinase, Creatine Kinase-Mb, Troponin I, D-Dimer Values In Diagnosing Patients With Ischemic Stroke In Emergency Service. Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2007

88. Sato Y, Kataoka K, Matsumori A. Measuring serum aminoterminal type III procollagen peptide, 78 domain of type IV collagen, and cardiac troponin T in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy and secondary cardiomyopathy. *Heart*, 1997,78: 505-508

89. Comba B, Çınar DA, Comba A, Gencer YG. Sıçanlarda ACTH uygulamasının böbrek fonksiyon testleri elektrolitler ve hematolojik parametreler üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Derg*, 2016, 63: 229-233

90. O'Brien PJ, Smith DE, Knechtel TJ. Cardiac troponin I is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab Anim*, 2006, 40:153–171

91. Connolly DJ, Cannata J, Boswood A, Archer J, Groves EA, Neiger R. Cardiac troponin I in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J Feline Med Surg*, 2003, 5: 209-216

92. Bronsky D, Dubin A, Kushner DS, Waldtein SS. Calcium and the electrocardiogram. III. The relationship of the intervals of the electrocardiogram to the level of serum calcium. *Am. 1. Cardiol*, 1961, 7: 840-843

93. Yolken R, Konecny P, McCarthy P. Acute fluoride poisoning. *Pediatries*, 1976, 58 : 90-93

94. Kılıçalp D, Değer Y, and Çınar A. Effects of Green Tea on Electrocardiography of Guinea Pigs Exposed to Electromagnetic Field Emitted by Mobile Phones. Kafkas UniVet. Fak. Derg, 2009,15:823-828

95. Bolton, G.R, W.B. Saunders Co. Handbook of Canine Electrocardiography. *Philadelphia*, 1975

96. Amaral MM, Girard MC, Alvarez RS, Paton AW, Paton JC, Repetto HA, Sacerdoti F, Ibarra CA. Ouabain Protects Human Renal Cells against the Cytotoxic Effects of Shiga Toxin Type 2 and Subtilase Cytotoxin. *Toxins (Basel)*, 2017, 9

97. Berin MC, Darfeuille Michaud A, Egan LJ, Miyamoto Y, Kagnoff MF. Role of EHEC O157:H7 virulence factors in the activation of intestinal epithelial cell NF-kappaB and MAP kinase pathways and the upregulated expression of interleukin 8. *Cell Microbiol*, 2002, 4: 635-648

98. Sauter KA, Melton-Celsa AR, Larkin K, Troxell ML, O'Brien AD, Magun BE. Mouse model of hemolytic-uremic syndrome caused by endotoxin-free Shiga toxin 2 (Stx2) and protection from lethal outcome by anti-Stx2 antibody. *Infect Immun*, 2008, 76: 4469-4478

99. Konopelski P, Ufnal M, Electrocardiography in Rats: a Comparison to Human. *Physiol. Res. 2016,* 65: 717-725

100. Milliez P, Deangelis N, Rucker-Martin C, Leehardt A, Viacut E, Robidel E, Beaufils P, Delcayre C, Hatem SN, Spironolactone reduces fibrosis of dilated atria during heart failure in rats with myocardial infarction. *Eur Heart J,* 2005, 26: 2193-2199

101. Beinfield WH., Lehr D., PR interval of the rat electrocardiogram. *Am J Physiol*, 1968, 214: 205-211

102. Hoffman BF, Cranefield PF, Stuckey JH, Bagdonas AA, Piera J, Electrical activity during the PR interval. *Circ Res,* 1960, 8: 1200-1211

103. Sugiyama A, Takahara A, Honsho S, Nakamura Y, Hashimoto K. A simple in vivo atrial fibrillation model of rat induced by transesophageal atrial burst pacing. J Pharmacol Sci, 2005, 98: 315-318

104. Normann SJ, Priest RE, Benditt EP, Electrocardiogram in the normal rat and its alteration with experimental coronary occlusion. *Circ Res*, 1961, 9: 282-287

105. Lin MT, Liu HH, Yang YL. Involvement of interleukin-1 receptor mechanisms in development of arterial hypotension in rat heatstroke. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1997, 273: H2072-H2077

106. Regan CP, Cresswell HK, Zhang R, Lynch JJ. Novel method to assess cardiac electrophysiology in the rat: characterization of standard ion channel blockers. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, 46: 68-75

107. Regan CP, Stump GL, Wallace AA, Anderson KD, Mcintyre CJ, Liverton NJ, Lynch JR JJ. In vivo cardiac electrophysiologic and antiarrhythmic effects of an isoquinoline IKur blocker, ISQ-1, in rat, dog, and nonhuman primate. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, 49: 236-245

108. Hamdy DA, Brocks DR. Experimental hyperlipidemia causes an increase in the electrocardiographic changes associated with amiodarone. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2009, 53: 1-8

109. Kelishomi RB, Ejtemaeemehr S, Tavangar SM, Rahimian R, Mobarakeh JI, Dehpour AR. Morphine is protective against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rat. *Toxicology*, 2008, 243: 96-104

110. Badole SL, Jangam GB, Chaudhari SM, Ghule AE, Zanwar AA. L-glutamine supplementation prevents the development of experimental diabetic cardiomyopathy in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *PloS One* , 2014, 9: e92697

111. Krol M, Ufnal M, Szulczyk B, Podsadni P, Drapala A, Turlo J, Dawidowski M. Characterization of Disopyramide derivative ADD424042 as a non-cardiotoxic neuronal sodium channel blocker with broadspectrum anticonvulsant activity in rodent seizure models. *Eur J Pharm Sci*, 2016, 81: 42-51

112. Atli O, Ilgin S, Altundaş H, Burukoğlu D. Evaluation of azithromycin induced cardiotoxicity in rats. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8: 3681-3690

113. Akita M, Kuwahara M, Tsubone H, Sugano S. ECG changes during furosemide-induced hypokalemia in the rat. *J Electrocardiol*, 1998, 31: 45-49

114. Edwards NJ. Bolton's Handbook of Canine and Feline Electrocardiography. 2nd Edition. *W.B. Saunders Company; Philadelphia*, 1987

115. Bureh GE, Winsor T. A Primer of Electrocardiography. *4th ed*, *Lea & Febiger, Philadelphia*, 1960

116. Tiliey LP. Electrocardioıraphy: A guide lo diagnosis and therapy. *Can. vet. J,* 1984, 25: 97-104

117. Larsen PD, Galletly DC. Cardioventilatory coupling in the anaesthetised rabbit, rat and guinea pig. *Eur J Physicol,* 1996, 437, 910–916

118. Sabharval R, Coote JH, Johns EJ, Egginton S. Effect of hypotermia on bororeflex control of heart rate and renal sympathetic nevre activity in anaesthetized rats. *J Physiol*, 2004, 557, 247–259

119. Nasa Y, Hashizume H, Hoque AN, Abiko Y. Protective effect of *Crataegus* extract on the cardiac mechanical dysfunction in isolated perfused working rat heart. *Arznei-Forschung*, 1993, 43, 945-949

120. Cieslar G, Sieron A, Rzepka E, Zmudzsinski J, Franek A. Nonnal electrocardiogram in guinea pig. *Acta physiol*, 1986, 37:139- 149

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Kübra Çavuşoğlu
Doğum tarihi:	24 Ağustos 1990
Doğum Yeri:	Aziziye/Erzurum
Medeni Hali:	Bekâr
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Tel:	0507 839 09 04
Faks:	-
E-mail:	kubracavusoglu@hotmail.com
Eğitim	
Lise:	Nene Hatun Kız Lisesi(YDA)
Lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi
Yüksek lisans:	Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya A.B.D
Doktora:	-
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	-
Almanca:	-
Rusça:	-
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek LisansTezi olarak *Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ* danışmanlığında sunulan "Şiga Toksin Uygulanmış Ratlarda Elektrokardiyografi (EKG) ve Bazı Kalp Enzimleri Üzerine Rutinin Etkileri" başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	5	**15**
Genel Bilgiler	*10*	**30**
Materyal ve Metod	14	**35**
Bulgular	8	**10**
Tartışma	7	**15**

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 09. / 07../ 2019

Öğrenci Adı-Soyadı
İmza
Kübra GAVUZOĞLU

Danışman Adı-Soyadı
İmza
Prof.Dr.Fikret Çelebi

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve …… sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve …… sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1700254072 19.09.2017
Konu : HADYEK Kararı.

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 19.09.2017 tarihli ve 36643897-000-E.1700252382 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 19.09.2017 tarih ve 9 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 122 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 19.09.2017

Toplantı Sayısı : 9

KARAR N0 122: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Veteriner Hekimliği Temel Bilimleri Bölümü, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ'nin yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuarlarında yürütülecek olan **"Şiga Toksin Uygulanmış Ratlarda Elektrokardiyografi (EKG) ve Bazı Kalp Enzimleri Üzerine Rutinin Etkileri"** başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 19.09.2017 tarih ve 36643897-000-E.1700252382 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; **(Yönetmeliğin 8.maddesinin 8/h bendi gereğince, Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ, görüşmeye katılmadı ve oy kullanmadı).** karar verildi.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi
Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr
Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
www.atauni.edu.tr adresinden doğrulama yapabilirsiniz. Doğrulama Kodu=955893E