

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ADLI TIP ANABİLİM DALI

**AKUT MİYOKARD İSKEMİSİNİN  
POSTMORTEM TANISINDA H-FABP'NİN  
DEĞERİ**

**DR. MURAT KÖKER**

**UZMANLIK TEZİ**

**İZMİR- 2008**

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ADLI TIP ANABİLİM DALI

**AKUT MİYOKARD İSKEMİSİNİN  
POSTMORTEM TANISINDA H-FABP'NİN  
DEĞERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. MURAT KÖKER**

**Danışman Öğretim Üyesi  
PROF. DR. SERPİL SALAÇIN**

Bu araştırma DEÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından  
2007.KB.SAG.042 sayı ile desteklenmiştir.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no.</u>
Tablo Listesi	II- III
Resim Listesi	IV- V
Şekil Listesi	VI
Kısaltmalar	VII
Teşekkür	VIII
Özet	1-2
Summary	3-4
Giriş- Amaç	5-7
Genel Bulgular	8-33
Gereç Yöntem	34-53
Bulgular	54-85
Tartışma	86-92
Sonuç	93-95
Kaynaklar	96-103
Ekler	
Ek 1- Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu'nun 21.09.2007 tarih ve 87 sayılı kararı.	105

## TABLO LİSTESİ

	<b><u>Sayfa no.</u></b>
<b>Tablo 1:</b> Tüm deneklerin hemodinamik parametrelerinin elde edilme zamanları.	55
<b>Tablo 2:</b> Tüm deneklerin hemodinamik parametreleri.	56
<b>Tablo 3:</b> Tüm grupların hemodinamik parametreleri, biyokimya ve immunohistokimya bulguları.	57
<b>Tablo 4:</b> Grupların sistolik kan basıncı ortalamalarının karşılaştırılması.	58
<b>Tablo 5:</b> Deneklerin sistolik kan basıncı ortalamalarının ikili karşılaştırmaları.	59
<b>Tablo 6:</b> Grupların diastolik kan basıncı ortalamalarının karşılaştırılması.	60
<b>Tablo 7:</b> Deneklerin diastolik kan basıncı ortalamalarının ikili karşılaştırmaları.	60
<b>Tablo 8:</b> Kontrol grubunun serum H-FABP değerleri.	61
<b>Tablo 9:</b> Sham grubunun serum H-FABP değerleri.	62
<b>Tablo 10:</b> Birinci grubun serum H-FABP değerleri.	63
<b>Tablo 11:</b> İkinci grubun serum H-FABP değerleri.	63
<b>Tablo 12:</b> Üçüncü grubun serum H-FABP değerleri.	64
<b>Tablo 13:</b> Dördüncü grubun serum H-FABP değerleri.	64
<b>Tablo 14:</b> Grupların Serum H-FABP Değerlerinin Karşılaştırılması.	65
<b>Tablo 15:</b> Serum H-FABP Değerleri yönünden İkili Grup Karşılaştırmaları.	66
<b>Tablo 16:</b> Birinci grupta (LAD beş dakika bağlı kalan grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.	67
<b>Tablo 17:</b> İkinci grupta (LAD 15 dakika bağlı kalan grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.	68
<b>Tablo 18:</b> Üçüncü grupta (LAD 30 dakika bağlı kalan grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.	68
<b>Tablo 19:</b> Dördüncü grupta (LAD 45 dakika bağlı kalan grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.	69
<b>Tablo 20:</b> Sham grubunun (LAD bağlanmayıp sadece çalışma alanından atravmatik iğneli suture materyeli geçirilen grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.	70
<b>Tablo 21:</b> İncelenen gruplar ile H&E boyalı preparatlarda gözlenen değişiklikler arasındaki ilişki.	70

<b>Tablo 22:</b> İncelenen gruplar ile H&E boyalı preparatlarda gözlenen bulgular arasındaki ilişki.	71
<b>Tablo 23:</b> Birinci grupta (LAD beş dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.	72
<b>Tablo 24:</b> İkinci grupta (LAD 15 dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.	72
<b>Tablo 25:</b> Üçüncü grupta (LAD 30 dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.	73
<b>Tablo 26:</b> Dördüncü grupta (LAD 45 dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.	74
<b>Tablo 27:</b> Sham grubunun (LAD bağlanmayıp sadece çalışma alanından atravmatik iğneli sütur materyeli geçirilen grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.	75
<b>Tablo 28:</b> İncelenen gruplar ile gözlenen H-FABP kayıp derecesi arasındaki ilişki.	75
<b>Tablo 29:</b> İncelenen gruplar ile kesitlerde H-FABP kaybı gözlenen anatomik bölge arasındaki ilişki.	76
<b>Tablo 30:</b> Denek Grupları ile H-FABP kaybının gözlendiği alanlar arasındaki ilişki.	76
<b>Tablo 31:</b> Deneklerin immunohistokimya ve H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları arasındaki ilişki.	77
<b>Tablo 32:</b> Deneklerin immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları ile serum H-FABP değerleri arasındaki ilişki.	85

## RESİM LİSTESİ

	<b><u>Sayfa no.</u></b>
<b>RESİM 1:</b> Deney hayvanının operasyona hazırlanması.	40
<b>RESİM 2:</b> Trakeanın serbestleştirilmesi.	40
<b>RESİM 3:</b> Trakeanın asılması.	41
<b>RESİM 4:</b> Trakeostomi için hazırlığın tamamlanması.	41
<b>RESİM 5:</b> Arter kateterizasyonu amacıyla sol karotis arterin serbestleştirilmesi.	42
<b>RESİM 6:</b> Sol karotis arter kateterizasyonu.	42
<b>RESİM 7:</b> Basınç monitorüne bağlama.	43
<b>RESİM 8:</b> Basınç monitorü.	43
<b>RESİM 9:</b> Trakeostomi açılması.	44
<b>RESİM 10:</b> Mekanik hayvan respiratörüne bağlama.	44
<b>RESİM 11:</b> Mekanik hayvan respiratörü.	45
<b>RESİM 12:</b> Deneğin operasyona hazır hale gelmesi.	45
<b>RESİM 13:</b> Sternotomi yapılması.	46
<b>RESİM 14:</b> Sternotomi sonrası perikardın açılıp kalbin ortaya konması.	46
<b>RESİM 15:</b> LAD'nin 6.0 atravmatik ipek ile intramuskuler geçilmesi.	47
<b>RESİM 16:</b> LAD'nin bağlanması.	47
<b>RESİM 17:</b> Sol karotis arterden kan alınması.	48
<b>RESİM 18:</b> Kalbin çıkarılması.	48
<b>RESİM 19:</b> Çıkarılan kalbin muayenesi.	49
<b>RESİM 20:</b> %10 formol içinde fikse edilmiş kalbin görünümü.	49
<b>RESİM 21:</b> Fikse edilmiş kalbin makroskopik kesitleri.	50
<b>RESİM 22:</b> Spektrofotometre cihazı.	50
<b>RESİM 23:</b> Grup 1, Denek no 2. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge, sitoplazmik eozinofili gözlenen alanlar. (H&Ex20)	78
<b>RESİM 24:</b> RESİM 23'de gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı + 3. (DABx20)	78
<b>RESİM 25:</b> Grup 2, Denek no 7. İnterventriküler septum, herhangi bir hipoksi kriterine rastlanmayan miyokard dokusu. (H&Ex20)	79
<b>RESİM 26:</b> RESİM 25'de gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı + 3. (DABx20)	79

<b>RESİM 27:</b> Grup 3, Denek no 3. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge sitoplazmik eozinofili gözlenen alanlar. (H&E x20)	80
<b>RESİM 28:</b> RESİM 27’de gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı +1. (DABx20)	80
<b>RESİM 29:</b> Grup 4, Denek no 4. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge, sitoplazmik eozinofili gözlenen alanlar. (H&Ex20)	81
<b>RESİM 30:</b> RESİM 29’da gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı + 3. (DABx20)	81
<b>RESİM 31:</b> Sham grubu 5, Denek no 5. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge, herhangi bir hipoksi kriterine rastlanmayan miyokard dokusu. (H&Ex20)	82
<b>RESİM 32:</b> RESİM 31’da gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı yok.(DABx20)	82
<b>RESİM 33:</b> Sham grubu, Denek no 7. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge, sitoplazmik eozinofili gözlenen alanlar. (H&Ex20)	83
<b>RESİM 34:</b> RESİM 33’de gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı + 2. (DABX20)	83



## ŒEKİL LİSTESİ

### Sayfa no.

**Œekil 1:** Deneklerin serum H-FABP düzeyleri ile miyokarda H-FABP kaybı derecesi arasındaki ilişki.

84

## KISALTMALAR

C5b-9:	Terminal kompleman kompleksi
H-FABP:	Kalp Tipi Yağ Asidi Bağlayan Protein
FABP:	Yağ Asidi Bağlayan Protein
CK-MB:	Kalp tipi Kreatin Kinaz
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü
ATP:	Adenozin trifosfat
ADP:	Adenozin difosfat
LDH:	Laktat Dehidrogenaz
cTnI:	kardiyak Troponin I
cTnT:	kardiyak Troponin T
K <sup>+</sup> / Na <sup>+</sup> :	Potasyum/Sodyum
NBT:	Nitro Blue Tetrazolium
TTC:	Trifenil Tetrazolium Klorid
PTAH:	Fosfo Tungstik Asid Hematoksilen
DEÜTF:	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
VLDL:	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoproteinlerin
CPT 1:	Karnitin Palmitiltransferaz 1
CPT 2:	Karnitin Palmitiltransferaz 2
LAD:	Sol ön inen dal
TMB:	Tetrametil benzidin
DAB:	Diaminobenzidin
H&E:	Hematoksilen Eozin
PNL:	Polimorf Nüveli Lökosit
SSPS:	Statistical Package for the Social Sciences

## TEŞEKKÜR

Adli Tıp uzmanlık eğitimim süresince iyi bir insan ve iyi bir hekim olmam için kendi bilgi birikimlerini ve deneyimlerini benimle paylaşan, tezimin fikir aşamasından sonuçlanıncaya kadar olan süreçte değerli vaktini, emeğini ve bilimsel desteğini benden esirgemeyen, yaşam biçimi ve düşünceleriyle örnek aldığım değerli öğretmenim Prof. Dr. Serpil Salaçin'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yapımında bilimsel ve teknik yardımlarını benden esirgemeyen Multidisipliner Laboratuvarı ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Osman Yılmaz ve Arş. Gör. Efsun Kolatan'a, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Aydanur Kargı ve Uzm. Dr. Mehtat Ünlü'ye, özellikle tezimin patoloji ile ilgili bulgularının değerlendirilmesi ve yazımı aşamasında bana destek olan anabilim dalımız öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Zehra Demiroğlu'na, Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'ndan Dr. Tuğra Gençpınar'a, Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Sezer Uysal'a, istatistiksel çözümlenmelerde bana yardımcı olan Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Arş. Gör. Gül Saatli'ye teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan keyif duyan, iyi bir insan ve iyi bir hekim olarak yetişmemde katkısı olan anabilim dalımızın çok değerli öğretim üyeleri Doç. Dr. Yücel Arısoy, Doç. Dr. Erdem Özkara, Doç. Dr. M. Hakan Özdemir, Yard. Doç. Dr. Akça Toprak Ergönen, Yard. Doç. Dr. Zehra Demiroğlu'na ve asistan olarak bir süre beraber çalıştığımız sevgili dostum Yard. Doç. Dr. İsmail Özgür Can'a ayrıca teşekkür etmeyi kendime borç bilirim.

Uzmanlık eğitim süresince birlikte çalıştığım, kendilerini tanımaktan mutluluk duyduğum sevgili dostlarım Uzm. Dr. Ersel Sönmez, Uzm. Dr. Mustafa Önder, Dr. Sevgül Dayar Kırılmaz, Dr. Göktuğ Yaşar Koşar, Dr. Gökmen Karabağ ve Dr. Semih Petekkaya'ya teşekkür ederim.

Bu zorlu ve uzun süreçte desteğini benden esirgemeyen, her zaman yanımda olan, zorlukları beraber aştığımız sevgili eşim Gökçen Çiçek Köker'e ve "aslan babam" diyerek bana sarılıp destek olan biricik kuzucuğum Damla'ya teşekkür ederim.

Dr. Murat Köker

İzmir- Temmuz 2008



## ÖZET

### AKUT MİYOKARD İSKEMİSİNİN POSTMORTEM TANISINDA H-FABP'NİN DEĞERİ

Dr. Murat Köker, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye ([murat.koker@deu.edu.tr](mailto:murat.koker@deu.edu.tr))

Ani ve beklenmedik ölümlerin medikolegal yönden araştırıldığı çalışmalarda; erişkin yaş grubunda akut miyokard infarktüsünün, ölümlerin en sık nedeni olduğu belirtilmektedir.

Ölüm miyokard infarktüsünün hiperakut fazında meydana geldiğinde, miyokard dokusunda iskemik hasarın postmortem tanısında birçok biyokimyasal, makroskopik, histokimyasal ve immunohistokimyasal yöntem ve belirteç kullanılmaktadır. Ancak bu dönemde tanı koydurucu tek bir yöntem ya da belirteç bulunmamaktadır.

Bu çalışmada; kalp tipi yağ asidi bağlayan proteinin (H-FABP) miyokard iskemisinin erken döneminde post- mortem tanı koydurucu özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla deney hayvanında (Wistar- Albino sıçan) iskemik kalp modeli oluşturularak erken miyokardiyal iskemide H-FABP'nin serumdaki artışı ve miyositlerdeki azalması post-mortem biyokimyasal ve immunohistokimyasal olarak araştırılmıştır. Çalışmada; deneklerde sol ön inen koroner arter (LAD) bağlandıktan sonra 5, 15, 30, 45 dakika sonra kan ve doku örneği alınan dört grup oluşturularak LAD bağlanmayan sham grubu ve diğer gruplar birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda; LAD'nin bağlandığı çalışma gruplarında serum H-FABP düzeyi normalin üzerinde düzeylerde ölçüldü, serum H-FABP düzeyleri grup içinde büyük standart sapmalar gösteriyordu. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklar bulundu, ancak bu farklılığın sürenin uzamasına paralellik göstermediği sonucuna varıldı. Bu çalışma; sıçanda oluşturulan iskemik kalp modelinde LAD bağlı kalma sürelerini yansıtmayan nitelikte, düzensiz serum H-FABP düzeyi artışı olduğunu göstermiştir. Bu

nedenle bu parametrenin deney modelinde koroner arter akımının kısa sürelerle kesilmesini yansıtacak bir bulgu olmadığı sonucuna varıldı.

Miyokard hücrelerinde H-FABP'nin kayıp derecesi ile LAD bağlı kalma süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Grupların içinde ve gruplar arasında H-FABP'nin miyokarda azalması ile serum düzeyinin artışının ilişkisinin araştırılmasında; LAD bağlanma sürelerine koşut miyokarda H-FABP azalması ve serumda H-FABP düzeyinde artış izlenmediği sonucuna varıldı.

Bu bulgularımızla miyositlerin iskemi koşullarında hücre dışına kaybedeceği ve hızla seruma katılacağı beklenen H-FABP'in en azından bu modelde ve deneyimizde belirlediğimiz koroner arter bağlı kalma sürelerinde bir belirteç olarak kullanılamayacağı sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Miyokard infarktüsü, kardiyak ölüm, kalp tipi yağ asidi bağlayan protein (H-FABP), postmortem, adli tıp

## SUMMARY

### **THE VALUE OF HEART TYPE FATTY ACID BINDING PROTEIN FOR POSTMORTEM DETECTION OF ACUT MYOCARDIAL ISCHEMIA**

Dr. Murat Köker, Dokuz Eylül University Faculty of Medicine Department of Forensic Medicine, İzmir, Turkey ([murat.koker@deu.edu.tr](mailto:murat.koker@deu.edu.tr))

Acute myocardial infarction is found as the most frequent cause of death among adults in studies related to medicolegal aspects of sudden unexpected deaths.

Multiple biochemical, macroscopic, histochemical and immunohistochemical methods and markers are applied to diagnose postmortem ischemic injury in myocardial tissue while the death is occurred in hyper-acute phase of myocardial infarction. Though these methods, there is neither a single method nor a marker as a diagnostic tool.

In this study, Heart type fatty acid binding protein (H-FABP) was aimed to be studied as a postmortem diagnostic tool in early period of myocardial ischemia.

Therefore an ischemic myocardial model was set up in laboratory animals (Wistar-Albino rats) and elevation of H-FABP in serum and leakage in myosits in early myocardial ischemia were researched postmortem biochemically and immunohistochemically. Left anterior descending coronary artery (LAD) was ligated, four rat study groups were formed and blood and tissue samples were taken after 5, 15, 30 and 45 minutes in these groups. The results of these groups and sham- operated group which the LAD was not ligated were compared.

In our study, serum H-FABP levels showed elevations upper from normal in all of ligated LAD study groups and showed greater standard deviation in groups. Statistical significances were found between study groups however the differences were not found parallel to duration. This study results showed that irregular serum H-FABP levels not reflecting interval of ligated LAD in this rat ischemic myocardial model. For this reason this parameter could not be accepted as a result reflecting blockage of coronary artery flow for a short while in experimental model.

Statistically significant correlation was not found between the degree of leakage H-FABP in myosits and interval of ligated LAD. When the relation between leakage of H-FABP in myosits and increase in serum levels inter and in the groups were examined, leakage of H-FABP in myosits and increase of H-FABP serum levels were not observed in parallel to interval of ligated LAD.

These findings suggest that expectancy of rapidly releasing of H-FABP from cell to serum under ischemic conditions could not be used as an indicator for interval of ligated coronary artery in this and our experimental model.

**Keywords:** Myocardial infarction, cardiac death, heart type fatty acid binding protein (H-FABP), postmortem, forensic medicine



## 1. GİRİŞ- AMAÇ

Medikolegal yönden incelenmesi gereken ölümlerde sağlıklı verilere dayanılarak konacak tanı çok önemlidir. Ölen bireylerin, doğal olarak değerlendirilen bir biçimde ölmesi ile doğal olmayan ölüm nedenlerinin ortaya konması, ölümün medikolegal yönden daha fazla incelenip incelenmeyeceğine karar vermek anlamına gelmektedir. Yanıltıcı biçimde doğal ölüm nedenlerinden birinin ölüm nedeni olarak yorumlanması, bu görünümlere eşlik eden ancak ileri araştırmalarla ortaya konabilecek nitelikteki bir tablonun atlanmasına neden olabilir. Adli Tıp alanında çalışan tıp doktorlarının ölümün bu yönünü aydınlatmak amacı ile elde edilen verilerin yorumu konusunda bilgi ve becerilerini geliştirmeleri önemlidir. Tüm bu nedenlerle uzun yıllardır; postmortem tanıda kullanılan yöntemler için güvenilirlik ve spesifiklik çalışmaları, alanın temel konularından olmuştur.

Ani beklenmedik ölümlerde ölüm nedeninin ve ölüm mekanizmasının açıklanabilmesi her zaman kolay olmamaktadır. Kaynaklarda adli soruşturma bilgileri, ölen kişinin yakınlarından elde edilen bilgiler, varsa kişi ile ilgili tıbbi bilgiler ve klinik muayene bulguları, otopsi, postmortem histopatoloji ve laboratuvar sonuçlarının birlikte değerlendirilmesinin medikolegal değerlendirmelerde önem taşıdığı belirtilmektedir (1) Ani beklenmedik ölümlere birçok hastalığın neden olduğu bilinmektedir. Ani ve beklenmedik ölümlerin medikolegal yönden araştırıldığı çalışmalarda; akut miyokard infarktüsünün en sık neden olarak gözlendiği bildirilmektedir (1, 2, 3, 4, 5, 6). Otopside ani beklenmedik ölümlerin medikolegal yönden araştırılmasında oldukça güvenilir olduklarından rutin makroskopik ve mikroskopik değerlendirmeler kullanılmaktadır (7).

Miyokard infarktüsüne bağlı olarak kısa sürede ölenlerin postmortem tanısı ciddi sınırlılıklar taşımaktadır. Bu niteliklerdeki ölümlerde miyokard dokusundaki hipoksik ve anoksik değişikliklerin ortaya konmasındaki zorluklar güvenilir tanıya engel olmaktadır. Hipoksik ve anoksik miyokardiyal lezyonların ortaya konmasında; makroskopik morfolojik, histokimyasal, enzim histokimyası, elektron mikroskopisi ve immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak çeşitli biyolojik belirteçler gösterilmeye çalışılmaktadır. Kullanılan belirteçlerin güvenilirliği, özgünlüğü araştırılmaktadır. Bu belirteçlerin bazıları nonspesifik olup, iskeminin geç döneminde gelişebilen lezyonların ayırd edilmesinde kullanılabilecek özelliklerdedir. Bu özellikleri nedeni ile akut miyokard

infarktüsünün erken dönemde postmortem tanısında kullanımlarının yararsız olacağı bilinmektedir (8).

Medikolegal değerlendirmede miyokard infarktüsünün erken dönemde rutin makroskopik ve mikroskopik yöntemlerle tanısını koymakta sınırlılıklarla karşılaşmaktadır. Rutin boyama yöntemleri ile perfüzyonun bozulmasından itibaren 6 saat ve daha fazla yaşayanlarda iskemik lezyonlar ortaya konabilmektedir (7). Miyogloblin, desmin, aktin, tropomiyosin, fibronektin ve terminal kompleman kompleksi (C5b-9) gibi belirteçlerin birlikte kullanımı erken iskemik lezyonların ayırd edilebilmesine katkıda bulunmaktadır. Ancak yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip tek bir immunohistokimyasal belirteç olmadığı belirtilmektedir (9, 10). Miyokard iskemisi gelişikten kısa süre sonra ölenlerde bu iskemiye ait lezyonların ortaya konabilmesindeki tanı zorluklarına bir de otoliz bulgularının eklenmesi ayırıcı tanıyı zorlaştırmaktadır (11).

Kalbin fizyolojik koşullarda enerji ihtiyacının % 60-70'i yağ asidlerinin mitokondrial oksidasyonu ile karşılanmaktadır. Ancak fizyolojik koşullarda kardiyomiyositler uzun zincirli yağ asitlerini sınırlı miktarda depoladığından sürekli olarak sirkülasyondan almak zorundadır. Yağ asidleri plazmada albumine veya dolaşımdaki lipoproteinlerin triaçil gliserolde kovalent bağlı olarak taşınmaktadırlar. Yağ asidi albumin ayrışması veya triaçilgliserollerin hidrolizi sonrası yağ asidleri kardiyak hücrelere kapiller endotel ve interstisyel kompartman sayesinde kapiller lümeninden transfer edilmektedir. Sitoplazmaya alınan uzun zincirli yağ asidleri kalp tipi yağ asidi bağlayan protein (H-FABP) yardımıyla mitokondriye taşınmaktadır (12).

Yağ asidi bağlayan proteinler (FABP) rat ve insan dokularında 1970 yılların başında tanımlanmıştır. Tüm FABP'lerin moleküler ağırlıkları 14-16 kDa arasındadır ve 127-133 aminoasidden oluşmaktadırlar. H-FABP miyokardiyal hücrelerin sitoplazmalarında bol miktarda (% 15-30) bulunan, düşük (14-15 kDa) moleküler ağırlıklı bir proteindir. Kalpteki toplam solubl proteinin yaklaşık % 5'inin FABP olduğu belirtilmektedir. Aminoasid birleşimi intestinal tip FABP gibi sistein aminoasidi içermemektedir. H-FABP kodlayan genin lokalizasyonunun insanda birinci kromozomda olduğu gösterilmiştir (13).

Yağ asidi metabolizması bozukluklarında, yağ asidi seviyesinde artmada, karbonhidrat metabolizması bozukluklarında, mitokodrial translokasyon enzimleri veya  $\beta$  oksidasyon enzimleri bozukluklarında, diabetes mellitus, kalp hipertrofisi, iskemik kalp hastalıkları gibi birçok hastalıkta miyokardiyal karnitin içeriğinde bozulma gösterilmiştir (14).

H-FABP'nin küçük bir molekül olması ve suda çözünen yapısı nedeniyle hücrel hasarda hızla ekstrasellüler alana geçerek kan dolaşımındaki seviyesinin yükseldiği ratlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (7). Ratlarda deneysel olarak oluşturulan sol koroner arter oklüzyonu sonrası 15 dakika gibi kısa bir zamanda plazma seviyesinde 4 kat artış gösterebileceği, dokudaki azalmasının ise immunohistokimyasal boyama ile iskemik lezyonlarının oluşumundan 30 dakika sonra tanımlanabileceği belirtilmektedir (7). İskemiden 60 dakika sonra ve reperfüzyonun 60. dakikasını takiben, H-FABP doku seviyesi % 50'den daha fazla azaldığı ileri sürülmektedir (15).

Serumda troponin ve H-FABP gibi kardiyak proteinlerin erken iskemide biyokimyasal olarak ölçülmesinin, kalp tipi kreatin kinaz ölçümünden (CK-MB) daha uygun olduğu ileri sürülmektedir (16,17). H-FABP kalp kasında iskelet kasından daha fazla miktarlarda bulunmaktadır. İskelet kasındaki H-FABP miktarının kalp kasındaki miktarın yaklaşık % 10-30'u olduğu bildirilmektedir. Miyoglobinin ise iskelet kasında daha fazla olduğu, kalp kasında bulunan miktarın yaklaşık iki katından fazla bulunduğu belirtilmektedir. Bu özellik nedeni ile H-FABP'nin miyokardiyal hasarın erken dönemde tanımlanmasında miyoglobine göre daha duyarlı ve özgün bir belirteç olarak ileri sürülmektedir (18).

Bu çalışmanın amacı; H-FABP'nin miyokard iskemisinin erken döneminde post-mortem tanı koydurucu özelliklerini araştırmaktır. Bu amaçla deney hayvanı (Wistar-Albino sıçan) iskemik kalp modelinde çalışılarak, çok erken miyokardiyal iskemide H-FABP'nin serumdaki artışı ve miyositlerdeki azalması post-mortem biyokimyasal ve immunohistokimyasal olarak araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ölümün Medikolegal Yönü

Ölen bireylerin, doğal olarak değerlendirilen bir biçimde ölmesi ile doğal olmayan ölümün nedenlerinin ortaya konması, ölümün medikolegal yönden daha fazla incelenip incelenmeyeceğine karar vermek anlamına da gelmektedir. Yanıltıcı biçimde doğal ölüm nedenlerinden birinin ölüm nedeni olarak yorumlanması, bu görünümlere eşlik eden ancak ileri araştırmalarla ortaya konabilecek nitelikteki bir tablonun atlanmasına neden olabilmektedir. Adli tıp alanında çalışan tıp doktorlarının ölümün bu yönünü aydınlatmak amacıyla elde edilen verilerin yorumu konusunda bilgi ve becerilerini geliştirmeleri önemli olduğu bilinmektedir.

Kalıtsal hastalıkların çoğunun bebeklik ve çocuklukta var olmasına rağmen bazen genç erişkin ve yetişkin yaşlarda ani beklenmedik ölüme neden olabildikleri izlenmektedir. Bu nedenle, ani beklenmedik ölümlerin nedenlerinin araştırılmasında kalıtsal hastalıkların da araştırılması önemli bulunmaktadır (1).

#### 2.1.1. Ani Beklenmedik Şüpheli Ölümler

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) semptomların başlamasından sonra 24 saat içinde meydana gelen ölümleri ani ölüm olarak tanımlamaktadır (1,3). Güncel adli tıp kaynaklarında, final semptomlarının başlangıcından itibaren 1 saat içinde meydana gelen doğal ve beklenmedik ölümlerin ani ölüm olarak değerlendirilmesi gerektiği belirtilmektedir. Fakat bu tanımlamanın sıklıkla yararsız olduğu, çünkü ölümlerin yaklaşık % 40'nın kişi uykuda veya yalnızken meydana geldiği ileri sürülmektedir (4).

Bilinen bir hastalığı olmayan bir kişinin ölü bulunması, bilinen bir hastalığı olmayan kişinin kısa bir sürede nedeni anlaşılmadan ölmesi ya da bilinen bir hastalığı olup da bu hastalığı ölüme neden olacak şekilde bir klinik göstermeyen bir kişinin ölmesi yakınları tarafından genellikle beklenmedik bir ölüm olarak değerlendirilip şüpheye karşılanmaktadır (19).

Bu kavramlar klasik kaynaklarda çeşitli şekillerde tanımlanmaktadır.

- Ani ölüm (sudden death): Var olan hastalığı kendisi ve çevresi tarafından bilinmeyen bir kişinin çok kısa zamanda ölmesi.
- Beklenmedik ölüm (unexpected death): Sağlıklı görünen bir kişinin birdenbire hastalanıp daha tanısı konmadan çok kısa sürede ölmesi.
- Şüpheli ölüm (suspected death): Bilinen bir hastalığı olmayan ya da bilinen hastalığı öldürücü nitelikte komplikasyon çıkaracak durumda olmayan kişinin ölü bulunması olarak tanımlanmaktadır (19).

### **2.1.2. Ani Beklenmedik Şüpheli Ölümlerin Sınıflandırılması**

Klasik adli tıp kaynaklarında; ani beklenmedik ölümler, otopside karşılaşılabilecek bulgulara göre üç farklı grupta değerlendirilmektedir (19).

#### **1- Doğal Nedenlerle Meydana Gelen Ölümler:**

a- Otopside, yaşamla bağdaşmayacak düzeyde lezyon saptanan ölümler (aort anevrizması rüptürü, beyin sapı hemorajisi).

b- Otopside, ölüme neden olabilecek, ancak hayatın devamına da izin verebilecek ağırlıkta lezyonlar saptanan ölümler (koroner ateroskleroz vb.).

#### **2- Doğal Olmayan Nedenlerle Meydana Gelen Ölümler:**

a- Otopside yaşamla bağdaşmayacak düzeyde yaralanma ya da lezyon saptanan ölümler (geniş kronik subdural hematoma ve buna bağlı herniasyon vb.).

b- Otopside ölüme sebep olabilecek ancak hayatın devamına izin verebilecek ağırlıkta yaralanma veya lezyon saptanan ölümler (medulla spinalis kesileri vb.).

### **3- Ölüm Nedeni Belirlenemeyenler:**

Bu tür ölümlerde ya hiç lezyon yoktur ya da lezyon bulunsa bile minimaldir.

a- Otopside makroskopik olarak organlarda dikkati çekecek ölçüde herhangi lezyon saptanmayan ölümler.

b- Otopside nonspesifik bazı lezyon ya da bulguların gözleendiği ölümler olarak tanımlanmaktadır (19).

Adli tıp kaynaklarında, bu ayırımların pratik uygulamalarda çoğu zaman mümkün olmadığı ve hızlı, beklenmedik ve doğal ölümlerin ani ölüm olarak değerlendirilmesinin uygun olduğu belirtilmektedir (4).

Ani beklenmedik ölüm nedenlerinin kişinin özellikleri, o kişinin sosyoekonomik ve sosyokültürel yapısı, kişinin yaşadığı ülkenin sağlık hizmetlerinin düzeyi ve yaygınlığı gibi pek çok faktöre bağlı olarak farklılıklar gösterdiği belirtilmektedir (19).

Kaynaklarda doğal nedenli ani ölümler iki ana başlıkta incelenmektedir. Birinci grupta, yaşamla bağdaşmayacak derecede ağır lezyonu olan doğal nedenli ölümlerin, ikinci grupta ise ölüme neden olabilecek, ancak hayatın devamına da izin verebilecek ağırlıkta lezyonları olan doğal nedenli ölümlerin yer aldığı belirtilmektedir (6).

#### **2.1.3. Ani Beklenmedik Ölümlere Yol Açan Etkenler**

Ani beklenmedik ölümlere birçok hastalığın neden olduğu bilinmektedir. Ani beklenmedik ölüme yol açan en sık nedenin kardiyovasküler sistem hastalıkları olduğu ve tüm kardiyovasküler sistem hastalıklarına bağlı ani beklenmedik ölüm sıklığının % 50-80 oranında olduğu bildirilmektedir (1, 2, 3, 4, 5, 6). Kardiyovasküler sistemde koroner arter hastalığı, kardiyomiyopatiler, ileti sistemi anomalileri, hipertansif kalp hastalığı gibi nedenlerin daha sık gözleendiği aktarılmaktadır. Diğer sistemlere bakıldığında; santral sinir sisteminde beyin kanamaları, beyin tümörleri, beyin apselerinin, solunum sisteminde astım, pulmoner embolizm, spontan pnömotoraks, pnömoninin, ürogenital sistemde nefritler, pyelonefritler, dış gebelik ve kriminal abortusların, endokrin hastalıklardan

diabetes mellitus ve addison hastalığının, sistemik enfeksiyon hastalıklarının, sürrenal kanamaların ani beklenmedik ölümlere neden olabildiği belirtilmektedir (1, 4).

Ani beklenmedik ölümlerin yaklaşık % 5-10'nda ölüm nedeninin, adli soruşturma bilgileri, otopsi, postmortem toksikolojik ve histopatolojik incelemelere rağmen saptanamadığı belirtilmektedir. Fonksiyonel kardiyak patolojiler, epilepsi, astım, yüksek dozda uyuşturucu madde alımı, hipotermi veya hipertermi, böcek sokması gibi nedenlere bağlı ölümlerde genellikle ölümü açıklayabilecek hiçbir lezyon bulunmadığı ya da minimal lezyonlar saptanabileceği belirtilmektedir (1).

Ani beklenmedik ölümlerde ölüm nedeninin ve ölüm mekanizmasının açıklanabilmesi her zaman kolay olmamaktadır. Olguların büyük bir bölümünde ölüm nedeninin ortaya konması; İyi bir olay yeri incelenmesine, iyi anamnez alınmasına, patolojik bulguların ileri yorumlanmasına, toksikolojik incelemelerin ve ölümü etkileyen çevresel koşulların göz önünde bulundurulmasına gereksinim duymaktadır. Kaynaklarda adli soruşturma bilgileri, ölen kişinin yakınlarından elde edilen bilgiler, varsa kişi ile ilgili tıbbi bilgiler ve klinik muayene bulguları, otopsi, postmortem histopatoloji ve laboratuvar sonuçlarının birlikte değerlendirilmesinin medikolegal değerlendirmelerde önem taşıdığı belirtilmektedir (1).

#### **2.1.4. Otopsi Çalışmalarından Kardiyovasküler Nedenli Ölümle İlgili Veriler**

Güney Karolina Üniversitesi'nde 1989-2003 yılları arasında yapılan 13227 adli otopsinin incelendiği bir çalışmada; olguların % 52.4'nün ölüm orjininin doğal olarak kabul edildiği bildirilmektedir. Bu ölümlerin % 45.5'nin kardiyak nedenli hastalıklara, % 17.1'nin malignitelere, % 9.3'nün enfeksiyonlara bağlı olduğu belirtilmektedir. Maligniteler arasında akciğer ve kolorektal kanserlerin, enfeksiyonlar arasında pnömoni ve AIDS nedeniyle gelişen enfeksiyonların en sık gözlenen neden olduğu ifade edilmektedir (20).

Norveç'te 1972-1992 yılları arasında yapılmış olan 2004 medikolegal otopsinin incelendiği bir çalışmada; olguların % 27.8'nde ölüm orjininin doğal olarak nitelendirildiği, bunlardan % 87.2'sinde otopsi sonrası ölüm nedeninin belirlendiği

belirtilmektedir. Ölüm nedeni belirlenen olguların % 62.6'sının kardiyovasküler sistem hastalıkları, % 12.4'nün akciğer hastalıkları, % 9.8'nin santral sinir sistemi hastalıkları nedeniyle öldüğü bildirilmektedir. Kardiyovasküler sistem hastalıkları içinde koroner aterosklerozun, akciğer hastalıkları içinde pnömoninin, serebrovasküler sistem hastalıkları içinde subaraknoid kanamanın en sık neden olduğu bildirilmektedir. Ölüm nedeni açıklanamayan olguların büyük bir kısmında kronik alkolizm ve epilepsi hikayesi olduğu belirtilmektedir (21).

İspanya'da yapılmış 1991-1998 yıllarını kapsayan bir çalışmada; 1-35 yaş arasında otopsileri yapılmış 1514 olgunun 107'sinde ölümün ani ölüm olduğu, ani ölüm nedenleri arasında kardiyak nedenli ölümlerin ilk sırada olduğu belirtilmektedir (22).

Fransa'da 1995-2000 yılları arasında ani ölüm olarak değerlendirilen ve otopsi yapılmış 77 olgunun incelendiği bir çalışmada da; olguların % 72.7'sinin kardiyovasküler sistem, % 10.4'nün nörolojik sistem, % 9'nun solunum sistemi hastalıklarına bağlı nedenlerle öldüğü, % 6.5'nde ise ölüm nedeninin saptanamadığı belirtilmektedir. Bu çalışmada, benzer çalışmalarda olduğu gibi erişkinlerde kardiyak kökenli ani ölüm nedeninin en sık koroner ateroskleroz olduğu bildirilmektedir (23).

Kuzey İspanya'da 1990-1997 yılları arasında 1-19 yaş arası ani beklenmedik ölümlerin incelendiği bir araştırmada ise; olguların % 29'nun kardiyovasküler sistem hastalıkları, % 18'inin solunum sistemi hastalıkları ve % 15'nin nörolojik hastalıklar nedeniyle öldüğü belirtilmektedir (24).

Japonya'da yapılmış 1989-1995 yıllarını kapsayan bir çalışmada, 10 işyerinde çalışan işçilerin kayıtları incelendiğinde; bu süre içerisinde 264 çalışanın ölümünün ani ölüm tanısı aldığı belirtilmektedir. Olguların % 58.6'sının kardiyovasküler sistem hastalıkları, % 30.3'nün serebrovasküler hastalıklar, % 5.7'sinin solunum sistemi hastalıkları nedeniyle öldüğü, kardiyovasküler sistem hastalıkları içinde akut kalp yetmezliği ve akut miyokard infarktüsünün, serebrovasküler sistem hastalıkları içinde subaraknoid ve serebral hemorajinin en sık ölüm nedeni olduğu belirtilmektedir (5).



Japonya'nın Okinawa adasında 1992-1994 yılları arasında 20-75 yaş arası ölenlerin hastane kayıtları ve özel doktorlar tarafından düzenlenen ölüm sertifikalarının incelendiği bir araştırmada; tüm ölümlerin %10'nu ani ölümlerin oluşturduğu belirtilmektedir. Olguların % 18.3'nün kardiyovasküler sistem hastalıkları, % 18.3'nün santral sinir sistemi hastalıkları nedeniyle öldüğü, % 49.2'sinde ise ölüm nedeninin belirlenemediği bildirilmektedir (25).

Avustralya'da New South Wales bölgesinde 1998 yılının ilk 6 aylık döneminde otopsi yapılan 1118 olgunun incelendiği bir çalışmada; ölümlerin % 38.4'nün doğal ölüm olduğu belirtilmektedir. Doğal ölümlerin % 79.7'sinden kardiyovasküler sistem hastalıklarının sorumlu olduğu bildirilmektedir. Çalışma grubunun % 61.7'sinde görülen iskemik kalp hastalığının en sık gözlenen kardiyovasküler sistem hastalığı olduğu ifade edilmektedir (26).

Malezya'da 2000-2004 yılları arasında doğal nedenli ani ölümlerin incelendiği bir çalışmada; bu dönemde 2895 medikolegal otopsi yapıldığı, olguların % 18.8'inin doğal nedenli ölüm olduğu, doğal nedenli ani ölümlerin % 64.9'nun kardiyovasküler sistem hastalıklarına, % 5.5'inin serebrovasküler hastalıklara, % 13.2'sinin solunum sistemi hastalıklarına bağlı meydana geldiği belirtilmektedir. Kardiyovasküler sistem hastalıkları içinde en sık miyokard infarktüsü, iskemik kalp hastalığı ve hipertansif kalp hastalığı, solunum sistemi hastalıkları içinde en sık pnömoni, tüberküloz ve astımın gözleendiği bildirilmektedir. Bu sonuçların önceki çalışmalar ile benzer olduğu belirtilmektedir. Ani beklenmedik ölümler cinsiyet ve yaş gruplarına göre değerlendirildiğinde; erkek cinsiyetin çok daha fazla risk taşıdığı, bu çalışmada erkek/ kadın oranının 6.75/1 olarak gözleendiği, ölümlerin en sık 41-50 yaş arasında gözleendiği bildirilmektedir (6).

Jamaika'da 1983-1997 yılları arasında otopsi yapılan 1640 olgunun incelendiği bir çalışmada; ölümlerin % 51.3'nün doğal ölüm olduğu, doğal ölümlerin % 24.1'nin santral sinir sistemi, % 23'nün solunum sistemi, % 18.4'nün kardiyovasküler sistem hastalıklarına bağlı olduğu belirtilmektedir. Santral sinir sistemi nedenli ölüm olgularının % 56.2'sini serebrovasküler nedenlerin oluşturduğu, bu olguların % 78.1'nin hipertansiyon öyküsünün olduğu bildirilmektedir. Solunum sistemi hastalıkları içinde en sık pnömonin, kardiyovasküler sistem hastalıkları arasında ise en sık koroner aterosklerozun gözleendiği

bildirilmektedir. Bu çalışmada ölümlerin en sık 61-70 yaş grubunda görüldüğü ifade edilmektedir (27).

Ülkemizde de medikolegal yönden değerlendirilen ve otopsi yapılan olguların incelendiği birçok çalışma olduğu gözlenmektedir.

İstanbul'da 1988-1992 yılları arasında otopsi yapılan 8700 olgunun otopsi raporlarının retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada; bu ölümlerin % 20.63'nün doğal ölüm olduğu, doğal ölümlerin % 54.09'nun kardiyovasküler sistem hastalıklarına, % 22.61'inin solunum sistemi hastalıklarına, % 10.30'nun santral sinir sistemi hastalıklarına bağlı olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada kardiyovasküler sistem hastalıklarına bağlı ölümlerin % 92.5'nin koroner arter hastalığına bağlı olduğu bildirilmektedir (28).

İstanbul'da 1992 yılında 417 beklenmedik ölüm olgusunun otopsi bulgularının incelendiği bir araştırmada; % 36.3'nün kardiyovasküler sistem hastalıklarına, % 28'inin solunum sistemi hastalıklarına, % 11.3'nün santral sinir sistemi hastalıklarına, % 4.3'nün gastrointestinal sistem hastalıklarına bağlı olduğu, % 9.1'nin ise negatif otopsi olarak değerlendirildiği belirtilmektedir. Bu çalışmada kardiyovasküler sistem hastalıklarına bağlı ölümlerin % 85.9'nun konjestif kalp yetmezliğine bağlı olduğu aktarılmaktadır (29).

İstanbul'da yapılmış bir diğer çalışmada 1996 yılında ölümün medikolegal yönden araştırıldığı 2069 olguda; olguların % 14'ünün doğal nedenlerle öldüğü, en sık nedenin koroner arter lezyonlarının olduğu bildirilmektedir (30).

Ankara'da 1987-1993 yılları arasında otopsi yapılan 2213 olgunun dosyalarının retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada; ölümlerin % 18.66'sının doğal nedenli ani beklenmeyen ölüm olduğu, bu ölümlerin % 61.03'nün kardiyovasküler sistem hastalıklarına, % 7.51'nin solunum sistemi hastalıklarına, % 7.2'sinin santral sinir sistemi hastalıklarına bağlı olduğu, % 5.08'nde ise ölüm nedeninin belirlenemediği belirtilmektedir. Kardiyovasküler sistem hastalıkları içinde en sık koroner arter hastalığının gözlemlendiği bildirilmektedir (31).

Ankara'da 1992-2004 yılları arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Gazi Hastanesi'nde düzenlenen 802 ölü muayene tutanağının incelendiği bir çalışmada; ölüm nedeni olarak olguların % 4.7'sinin şüpheli ölüm, % 2.3'nün miyokard infarktüsü olarak değerlendirildiği, ancak hastaneye ölü olarak gelen ve miyokard infarktüsü olarak değerlendirilen olguların hiç birisine otopsi yapılmadığı belirtilmektedir (32).

Aydın'da 2000-2003 yılları arasında Adnan Menderes Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı tarafından düzenlenen 437 ölü muayene ve otopsi tutanağının incelendiği bir çalışmada; olguların % 64.1'ne otopsi yapıldığı, % 35.9'nun ise sadece ölü muayenesi yapılarak değerlendirildiği bildirilmektedir. Meydana gelen ölümlerin % 18.1'nin şüpheli doğal ölüm olduğu belirtilmektedir (33).

Sivas'ta 1984-1993 yılları arasında ölü muayenesi ve otopsi yapılan 714 olgunun ölüm nedenleri incelendiğinde; % 14.4'nün patolojik ölüm olarak nitelendirildiği belirtilmektedir (34).

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde adli otopsi yapılan 384 olgunun ölü muayene ve keşif tutanaklarının incelendiği bir çalışmada; ölüm nedeninin doğal sebeplere bağlı olduğu düşünülen 100 olgu olduğu bildirilmektedir. Doğal ölümlerin tüm ölümlerin % 26'sını oluşturduğu belirtilmektedir. Bu ölümlerin % 50'sinin kardiyovasküler sistem, % 19'nun solunum sistemi, % 13'nün santral sinir sistemi, % 10'nun gastrointestinal sistem hastalıklarına bağlı olduğu aktarılmaktadır. Bu çalışmada kardiyovasküler sistem hastalıklarına bağlı ölümlerin % 62'sinin miyokard infarktüsüne, solunum sistemine bağlı ölümlerin % 78.9'nun pnömoniye bağlı olduğu gösterilmiştir (35).

Edirne'de 1984-2005 yılları arasında otopsi yapılan 1321 olgunun otopsi raporlarının retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada; ölümlerin % 28.9'nun ani doğal ölüm olduğu bildirilmektedir. Bu ölümlerde; ölüm nedeninin % 55'nin kardiyovasküler sistem, % 19.1'nin solunum sistemi, % 14.4'nün santral sinir sistemi, % 10.4'nün gastrointestinal sistem, % 1.1'nin ürogenital sistem hastalıklarına bağlı olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada kardiyovasküler sistem hastalıkları içinde en sık olarak iskemik kalp hastalığı ve miyokard infarktüsünün görüldüğü belirtilmektedir (36).

Adli Tıp Kurumu Adana Grup Başkanlığı'nda 1983-1988 yılları arasında otopsi yapılan 1000 olgunun retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada; ölümlerin % 36'sının doğal ölüm olduğu, bu ölümlerin % 27.7'sinin kardiyovasküler sistem hastalıklarına, % 26.6'sının enfeksiyonlara bağlı olduğu belirtilmektedir (37).

Adli Tıp Kurumu Diyarbakır Grup Başkanlığı'nda 2000-2004 yılları arasında adli ölü muayenesi ve otopsi yapılan 2859 olgunun retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada; olguların % 46.7'sine otopsi yapıldığı, ölümlerin % 20.9'nun doğal ölüm olduğu bildirilmektedir (38).

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Adli Tıp Anabilim Dalı'nda 2000-2004 yılları arasında düzenlenen adli raporlar ve otopsi raporlarının retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada; 255 olguya otopsi yapıldığı; ölümlerin % 7.1'nin ani beklenmedik ölüm olduğu belirtilmektedir (39).

## **2.2. Miyokardiyal İskemi**

### **2.2.1. Miyokard Dokusunun Enerji Metabolizması**

Miyokard dokusunun glukoz, yağ asidi, laktat, aminoasitler ve keton cisimleri gibi bir çok endojen veya ekzojen substratı kullanarak enerji elde ettiği bilinmektedir (40). Miyokard dokusunda adenosin trifosfat (ATP) sentezi için gerekli enerjinin % 60-90'nın mitokondrilerde yağ asitlerinin oksidatif fosforilasyonu ile sağlandığı belirtilmektedir. Geri kalan enerjinin glikoliz ve laktatın piruvat üzerinden oksidasyonu ile elde edildiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (41, 42, 43).

Miyokard dokusunda; elde edilen ATP'nin yaklaşık 2/3'ünün miyokardın kontraksiyonunda kullanıldığı, kalan 1/3'ünün ise sarkoplasmik retikulumda  $Ca^{+2}$ -ATPaz ve diğer iyon pompalarının fonksiyonlarının sürdürülmesi için gerekli olduğu belirtilmektedir (41).

### **2.2.2. Miyokardiyal İskemi Nedenleri**

Miyokard hücrelerinin enerji ihtiyacı ile koroner kan akımı ve koroner oksijen miktarının yeterliliği arasında bulunan dengenin bozulmasının miyokardiyal iskemiye neden olduğu bilinmektedir. Kaynaklarda bu dengenin bozulmasından; hemodinamik, kardiyak ve bazı hematolojik faktörler ile kan akımı veya oksijen içeriğini azaltan sistemik bazı hastalıklar sorumlu tutulmaktadır. Koroner arterlerde rezistansda artma, hipotansiyon, hemoraji nedeniyle azalmış kan volumü hemodinamik faktörler arasında sıralanmaktadır. Kalbin diastolik dolum zamanının azalması, kapaklardaki yetersizlik kardiyak faktörler içinde tanımlanmaktadır. Kanın oksijen taşıma kapasitesinde azalmaya neden olan durumlar hematolojik faktörler içinde gösterilmektedir (44,45).

Erişkin yaş grubunda miyokardiyal iskeminin en sık nedeninin koroner ateroskleroz olduğu belirtilmektedir. Koroner arterlerde gelişen plak formasyonunun sıklıkla damar lümeninde oklüzyona neden olduğu bilinmektedir. Bu oklüzyonun miyokardın oksijen ve nutrisyonel gereksinimlerinin yetmezliği ile sonuçlandığı belirtilmektedir (44,45). Vasküler tutulumun çocukluk dönemi değişiklikleri ile başladığı, ilerleyen yaş ile birlikte sessizce ağırlaştığı ve genellikle de ancak orta ya da ileri yaşlarda arteryel yetmezliğe yol açtığı klinik belirtiler verdiği bilinmektedir. Klinik bir bulgunun ortaya çıkması için damar lümeninde % 75 daralmanın olması gerektiği aktarılmaktadır (45).

### **2.2.3. Miyokardiyal İskemide Patofizyoloji**

İskemide hücrede glukoz azalması nedeniyle gerekli olan enerjinin aerobik metabolizma yerine anaerobik yoldan elde edildiği bilinmektedir. Glikolizin artmasına bağlı piruvat dehidrogenazın inhibe olması nedeniyle piruvatın Krebs siklusuna girmediği, bunun yerine laktat ve alanine yıkıldığı ve hücrelerde laktatın biriktiği belirtilmektedir (40, 41). Miyokard dokusuna gelen kan akımının kesilmesinden 3-5 dakika sonra, miyokardın iskemi gelişen bölgesinde miyokard kontraksiyonunun durduğu gösterilmiştir. Bu kontraksiyondaki ani durmanın mitokondrial ATP üretimindeki hızlı azalmaya ve laktatın birikmesine bağlı olduğu belirtilmektedir. Kaynaklarda; iskemide glikoliz yolu ile elde edilen enerjinin miyokardın total enerji gereksiniminin sadece % 65-70'ni karşıladığı ve miyokard hücrelerinin iskemik koşullar altında ortalama 20 dakika yaşayabildikleri ileri

sürülmektedir. Kan akımı yeniden sağlanabilirse hücrelerde aerobik metabolizmanın ve kontraktilitenin yeniden başlayabileceği ileri sürülmektedir (44, 45). Eğer geçici bir iskemik dönem sonrası reperfüzyon gelişirse bu durumun miyokard hasarına katkıda bulunduğu aktarılmaktadır. Reperfüzyon sonrası hücre içine büyük miktarlarda giren kalsiyum ve oluşan oksijen radikalleri nedeniyle hücresel hasarın arttığı belirtilmektedir (46).

Miyokardiyal iskemi sırasında salınan anjiyotensin II'nin sistemik etki ile periferik vasokonstriksiyon ve sıvı retansiyonuna neden olduğu bilinmektedir. Bu hemostatik yanıtın miyokardın yükünü artırarak ters yönde etki yaptığı ve miyosit kontraktilitésinin kaybının daha da arttırdığı belirtilmektedir (44).

İskemi sırasında salınan katekolaminler nedeniyle parasempatik ve sempatik sistem arasındaki denge de bozulmaktadır. Bu bozulmanın ritim bozuklukları ve kalp yetmezliği gelişimini kolaylaştırdığı belirtilmektedir. Katekolaminlerin glikojen, glukoz ve serbest yağ asidi salınımını hızlandırdığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda akut miyokard infarktüsünün başlangıcından sonra gliserol ve serbest yağ asidi plazma konsantrasyonlarının bir saat içinde arttığı gösterilmiştir. Ayrıca serbest yağ asitlerindeki aşırı artışın hücre membranlarına deterjan etkisi göstererek zarar verdiği ileri sürülmektedir (44).

Miyokard infarktüsü sonrası anormal miyokardiyal duvar hareketleri nedeniyle kardiyak kontraktilitede, ejeksiyon fraksiyonunda ve atım volumünde azalma, sol ventrikül uyumunda bozulma, sol ventrikülün diastol sonu basıncında artma, sinoatriyal düğümde bozukluk gibi fonksiyonel değişiklikler meydana geldiği bilinmektedir. Gelişen kalp yetmezliği ve disritmilerin sıklıkla miyokard infarktüsünü takip ettiği belirtilmektedir (44).

Miyokard infarktüslerinin tipik olarak transmural olduğu bilinmektedir. Nekrozun birkaç saat içinde miyokardın orta ve subepikardiyal alanlarına yayıldığı, zamanla ventrikülün tüm kalınlığını tutacak şekilde genişlediği ve genellikle infarktüs gelişiminden sonra 3-6 saatlik dönemde en gelişmiş boyutuna ulaştığı ileri sürülmektedir (45).

### 2.3. Miyokard İnfarktüsünde Görülen Morfolojik Değişiklikler

Miyokard infarktüsü gelişiminden 0-1/2 saat sonra miyokard dokusunda yapılan makroskopik ve ışık mikroskopik rutin incelemelerde; sıklıkla herhangi bir değişiklik gözlenmemektedir. Elektron mikroskopik incelemelerde ise, miyofibrillerde gevşeme, mitokondrial ödem ve glikojen kaybının gözlenebildiği belirtilmektedir (45).

Miyokard infarktüsü gelişiminden 1/2-4 saat sonra dahi hem makroskopik hem de ışık mikroskopisinde genellikle herhangi bir değişiklik gözlenmemektedir. Ancak infarktüs sınırındaki fibrillerde değişen düzeylerde dalgalı görünüm gözlenebilmektedir. Elektron mikroskopik incelemelerde ise, sarkolemmada bozulma ve mitokondriyalarda amorf kristaller görülebildiği belirtilmektedir (45).

Miyokard infarktüsü gelişiminden 4-12 saat sonra koyu renkli beneklenmeler şeklinde makroskopik değişiklikler gözlenmeye başlamaktadır. Işık mikroskopik incelemelerde koagülasyon nekrozunun başladığı, ödem ve hemorajinin gözlendiği belirtilmektedir (45).

Miyokard infarktüsü gelişiminden 12-24 saat sonra koyu renkli beneklenmeler makroskopik incelemelerde daha belirgin olarak gözlenebilmektedir. Işık mikroskopik incelemelerde ise koagülasyon nekrozu ile birlikte nötrofil infiltrasyonun başladığı, miyositlerde hipereosinofili, nükleusta piknoz ve miyositlerin kenarlarında kontraksiyon band nekrozunun gözlenebildiği belirtilmektedir (45).

Miyokard infarktüsü gelişiminden 1-3 gün sonra makroskopik olarak infarktüs alanının merkezinde sarı-kahverengi beneklenmeler gözlenmektedir. Işık mikroskopisinde ise koagülasyon nekrozu, hücre nükleuslarının çoğunun kaybı ve intersitisyel nötrofil infiltrasyonunun gözlenebildiği belirtilmektedir (45).

Miyokard infarktüsü gelişiminden 3-7 gün sonra makroskopik olarak infarktüs alanının merkezinde sarı-kahverengi yumuşama ve sınırlarda hiperemik bir alan gözlenebilmektedir. Bu zaman diliminde; ışık mikroskopisinde ölü miyofibrillerin

parçalanmaya başlaması, ölü nötrofiller, infarkt sınırında makrofajların fagositik aktivitelerinin gözlenebildiği belirtilmektedir (45).

Miyokard infarktüsü gelişiminden 7-10 gün sonra infarktüs alanında makroskopik olarak sarı- sarı kahverengi renk değişikliği ve yumuşamanın maksimum düzeyde olduğu, alanın çevresinde kırmızı-kahverengi çökmelerin belirdiği izlenebilmektedir. Işık mikroskopisinde bu dönemde; fagositozun arttığı, kenarlarda fibrovasküler granülasyon dokusunun erken formasyonunun başladığı belirtilmektedir (45).

Miyokard infarktüsü gelişiminden 10-14 gün sonra makroskopik olarak infarktüs alanının kırmızı- gri çökük bir görünüme döndüğü gözlenmektedir. Bu bulguların izlendiği dokuların ışık mikroskopik incelemesinde; yeni kan damarları ve kollajen birikimi ile granülasyon dokusunun geliştiği gözlenebilmektedir (45).

Miyokard infarktüsü gelişiminden 2-8 hafta sonra ise infarktüs alanı, çevreden merkeze doğru ilerleyen gri-beyaz skar dokusu şeklinde makroskopik olarak ayırt edilebilmektedir. Bu evredeki tamir dokusu, kollajen birikimi ve azalmış hücresel yapısı ile dikkat çekicidir. İnfarktüs gelişiminden itibaren yaklaşık iki ay geçtikten sonra makroskopik olarak skar dokusunun tamamlandığı ayırt edilebilmektedir. Işık mikroskopik incelemelerde ise skar dokusunun tek komponenti olarak yoğun kollajenin bulunduğu belirtilmektedir (45).

#### **2.4. Akut Miyokard İnfarktüsünün Postmortem Tanısında Kullanılan Yöntemler**

Medikolegal yönden araştırılan ölümlerde; özellikle ölüm miyokard infarktüsünün hiperakut fazında meydana gelmişse, makroskopik yöntemler ve rutin histolojik boyamalar ile miyokard infarktüsünün ortaya konmasının oldukça zor olduğu bilinmektedir. Kaynaklarda miyokard infarktüsünün postmortem tanısında birçok biyokimyasal, makroskopik, histokimyasal ve immunohistokimyasal belirtecin kullanılabileceği bildirilmektedir (47, 48). Ancak erken iskemik hasarın postmortem tanısında birçok belirteç ve yöntem kullanılsa da bu karmaşık sorunu çözebilecek tek bir yöntem ya da belirtecin olmadığı belirtilmektedir (7, 8, 10, 45, 48).



#### **2.4.1. Akut Miyokard İnfarktüsünün Postmortem Tanısında Kullanılan Biyokimyasal Belirteçler**

Akut miyokard infarktüsünün postmortem olarak ortaya konması için aşağıda listelenen belirteçler sık olarak kullanılmaktadır.

**Kalp tipi Kreatin Kinaz (CK-MB):** İskelet kası, kalp kası ve beyin dokusunda aktivitesi yüksek olan kreatin kinazın dokularda kreatin fosfatı kullanarak adenozin difosfattan (ADP) ATP oluşumunu katalize ettiği bilinmektedir (49). Kreatin kinazın alt tiplerinden biri olan CK-MB'nin kalp dokusu dışında iskelet kasında da az miktarda bulunduğu belirtilmektedir. Klinik olarak kreatin kinazın miyokard infarktüs gelişiminden 2- 4 saat sonra serumda yükselmeye başladığı, 18-24. saatlerde en yüksek düzeye ulaştığı ve 72. saatte normale döndüğü belirtilmektedir. Daha spesifik olan CK-MB'nin kreatin kinazın yaklaşık % 15-45'ini oluşturduğu, miyokard infarktüs sonrası 18. saatte serumda en yüksek değerlere ulaştığı, 48. saatte normale döndüğü belirtilmektedir (50, 51).

CK-MB'nin sağlıklı insanlarda uzun süreli egzersiz, koşu, maraton gibi ağır eforlarda serumda yükseldiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda multipl yaralanmalarda, kardiyak cerrahi sonrası, kardiyopulmoner resüsitasyona bağlı olarak gelişen iskelet kası hasarlarında yanlış pozitif sonuçların elde edilebileceği gösterilmiştir (51, 52, 53).

**Laktat dehidrogenaz (LDH):** Bir hidrojen aktarıcı olan LDH'ın laktatın piruvata dönüşümünü katalizlediği bilinmektedir. Beş farklı izoenzimi bulunan LDH'ın LDH 1 formunun kalp kasında yüksek oranda bulunduğu belirtilmektedir (49). Sitoplazmik bir enzim olan LDH'ın doku hasarına bağlı olarak gelişen hücre zarı hasarı nedeniyle miyokard infarktüsü semptomlarının başlangıcından sonra 10. saatte serumda yükselmeye başladığı, 24.-48. saatlerde en yüksek düzeye ulaştığı ve serumda 1 hafta kadar yüksek kaldığı bilinmektedir (51). Miyokard dokusu dışında iskelet kası, eritrosit, böbrek, karaciğer, akciğerde de bulunması nedeniyle özgüllüğünün az olduğu ileri sürülmektedir (50, 51).

**Troponin I (cTnI) ve T (cTnT):** İskelet kasının kontraksiyonu için düzenleyici protein olan troponinin; troponin C, troponin I ve troponin T olarak isimlendirilen üç alt birimden oluştuğu bilinmektedir (54, 55). Troponin C'nin yapısal ve fonksiyonel olarak düz kaslarda bulunan kalmodülünün benzeri olduğu, kalsiyum bağlayarak kontraksiyonların başlamasına yardımcı olduğu belirtilmektedir. Troponin T'nin troponini tropomiyozine bağladığı, troponin I'nin ise miyozin başının aktine bağlanmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (55). Kaynaklarda kardiyak miyofibriller spesifik proteinler olarak isimlendirilen troponinlerden cTnI'nin yalnızca kalpte bulunduğu belirtilmektedir (56). cTnT ve cTnI, CK-MB ile benzer şekilde semptomların başlangıcından 2-12 saat sonra serumda yükselmeye başladığı, 18-24 saat sonra en yüksek düzeye ulaştığı, 7-10 gün sonra bile serumda yüksek olarak saptanabildiği belirtilmektedir (51, 57). Kardiyak miyofibrillerin yaralanmasının bir belirteci olarak cTnI ve cTnT'nin CK-MB'ye göre çok daha duyarlı belirteçler oldukları, cTnI/CK-MB oranının miyofibriller yaralanmanın bir indeksi olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir (58).

**Miyogloblin:** "HEM" grubu taşıyan globüler bir protein olan miyoglobinin kas dokusunda yaygın olarak bulunduğu ve kas dokusunda oksijen depolanmasında rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda düşük moleküler ağırlığa sahip olduğundan miyokardiyal hasar meydana geldiğinde serumda çok kısa sürede arttığı gösterilmiştir. Miyokardiyal hasarın başlamasından bir saat sonra serumda artmaya başladığı, 12-24 saat sonra normale döndüğü belirtilmektedir (51). Ancak iskelet kasında da bol miktarda bulunduğu duyarlılığı ve özgüllüğünün düşük olduğu ileri sürülmektedir (7). Perikardiyal sıvıdaki miyogloblin konsantrasyonunun belirlenmesinin miyokard infarktüsünün postmortem tanısında özgül bir yöntem olduğu aktarılmaktadır (11).

**Potasyum/Sodyum ( $K^+$  /  $Na^+$ ) oranı:** Distile edilen homojenize miyokard dokusunda potasyum ve sodyum oranlarına bakılan bu yöntemin miyokard infarktüsünün erken dönem tanısında oldukça kullanışlı olduğu ileri sürülmektedir.  $K^+$  /  $Na^+$  oranının 0,7 veya daha düşük olmasının infarktüs lehine yorumlandığı belirtilmektedir (11).

Bu yöntemin oldukça basit olduğu ve miyokard infarktüsü sonrası ölüm meydana gelen olgularda bir saat içinde gerçekleştirilmesi gerektiği belirtilmektedir. Otoliz gelişse bile  $K^+$  /  $Na^+$  oranının değişmemesi nedeniyle güvenilir bir kılavuz olacağı ileri

sürülmektedir. Ventriküler hipertrofi, konjestif kalp yetmezliği, digital kullanımına bağlı olarak miyokardın iyon içeriğinin değişmesine neden olan patolojik koşulların bu yöntemin güvenilirliğini azalttığı gösterilmiştir (59).

**Seruloplazmin:** Bir plazma proteini olan seruloplazminin bakırın başlıca taşıyıcısı olduğu bilinmektedir. Kaynaklarda sağlıklı erişkinlerde dolaşımdaki total bakırın yaklaşık % 90'nın seruloplazmine bağlı olarak bulunduğu belirtilmektedir (55). Yapılan çalışmalarda başlıca sentezlendiği yer karaciğer olan seruloplazminin aynı zamanda inflamasyon ve doku hasarı gibi durumlarda ılımlı yanıt gösteren bir akut faz proteini olduğu gösterilmiştir. Ateroskleroz, abdominal aort anevrizması, “unstable” anjina, vaskülit ve periferik arter hastalığı gibi çoklu kardiyovasküler bozukluğu olan hastalarda ve miyokard infarktüsünde serumda seruloplazmin düzeylerinin arttığı ileri sürülmektedir (60).

**Kalp Tipi Yağ Asidi Bağlayan Protein (H-FABP):** Yağ asitlerinin mitokondrilere taşınım  $\beta$  oksidasyonu ile ATP elde edilmesinde rol oynayan bir intrasitoplazmik protein olduğu bilinmektedir (14, 61). Kardiyomiyositlerin sitoplazmalarında bol miktarda bulunan düşük moleküler ağırlıklı bu proteinin miyokard infarktüsü semptomlarının başlangıcından kısa süre sonra serumda ve idrarda saptanabildiği belirtilmektedir (62). Yapılan çalışmalarda akut miyokard infarktüsünün hiperakut fazında serumdaki artışın miyogloblin ve CK-MB'ye göre çok daha çabuk olduğu, duyarlılığının çok daha yüksek olduğu ileri sürülmektedir (18, 62). Cerrahi olarak miyokard infarktüsü oluşturulan deney hayvanlarında yapılan çalışmalar, miyokard infarktüsü gelişiminden sonra elde edilen H-FABP plazma konsantrasyonunun, histolojik olarak gösterilen infarkt alanının büyüklüğü ile ilişkili olduğunu göstermiştir (63).

Böbreklerden değişmeden atılan H-FABP'nin kronik böbrek yetmezliği gibi böbrek fonksiyonlarının bozulduğu koşullarda plazma konsantrasyonlarının yüksek olarak saptanabileceği belirtilmektedir (7).

Kaynaklarda postmortem tanıda biyokimyasal olarak değerlendirilecek belirteçlerin perikard sıvısında serumdan daha hızlı bir şekilde saptanabildiği belirtilmektedir. Ayrıca perikard sıvısının kontaminasyonun sınırlı olması ve otopside kolaylıkla elde edilebilmesi

nedeniyle, postmortem biyokimyasal incelemelerde perikard sıvısının kullanımının seruma göre çok daha uygun olduğu ileri sürülmektedir (64).

#### **2.4.2. Akut Miyokard İnfarktüsünün Postmortem Tanısında Kullanılan Makroskopik Belirteçler**

**Nitro Blue Tetrazolium (NBT) Testi:** Miyokard infarktüsünün postmortem tanısı için yapılan makroskopik incelemelerde kullanılan NBT testinin genel bir dehidrojenaz reaksiyonuna dayandığı bilinmektedir. Yaşayan kas hücrelerinde yeterli miktarda koenzim, substrat ve dehidrojenaz aktivitesi bulunduğundan uygulanan NBT'un formazana indirgenmediği, yaşayan miyokard dokusunun koyu lacivert bir renk aldığı, hasarlı miyokard liflerinde enzim ve substrat kaybı nedeniyle indirgenme reaksiyonu olmayacağı ve infarkt alanın boyanmadan kalacağı belirtilmektedir. Bu yöntemle makroskopik olarak infarkt tanısının, infarktüstü sonraki 6-8 saat içinde konulabildiği gösterilmiştir (59, 65).

Bu yöntemin 30 dakika gibi kısa sürede ve otopsi salonunda hızlı bir şekilde uygulanabileceği belirtilmektedir. Yaygın olarak kullanılan bu testin iyi ve güvenilir bir teknik olduğu, özgüllüğünün yüksek olmasına rağmen yanlış negatif sonuçlar vermesi nedeniyle duyarlılığının düşük olduğu aktarılmaktadır (11). Ayrıca otolizin medikolegal değerlendirmeleri olumsuz olarak etkilemesi nedeniyle, bu yöntemin değerini azalttığı ileri sürülmektedir (59).

**Trifenil Tetrazolium Klorid (TTC):** Tetrazolium tuzlarında oksidasyon-redüksiyon tepkimesine dayanan bir yöntem olduğu ve erken dönemde miyokard iskemisini saptamak amacıyla kullanıldığı bilinmektedir (47). Bu yöntem kullanıldığında dehidrojenaz aktivasyonuna bağlı olarak yaşayan miyokard dokusunun kırmızıya boyanacağı, hasarlı miyokard dokusunun ise boyanmadan kalacağı belirtilmektedir (66).

Morfolojik tanı yöntemi olarak duyarlılığının % 77.4, özgüllüğünün ise % 92.6 olduğu belirtilmektedir. Postmortem 18 saatten daha uzun süre ve 4° C de beklemiş cesetlerde miyokardın dehidrojenaz aktivitesinde gelişen değişiklikler ve otoliz nedeniyle güvenilir olmadığı gösterilmiştir (47).

### **2.4.3. Akut Miyokard İnfarktüsünün Postmortem Tanısında Kullanılan Mikroskopik Belirteçler**

Kaynaklarda rutin boyama yöntemleri ile miyokard perfüzyonunun bozulmasından itibaren 6 saat ve daha fazla yaşayanlarda iskemiye ait bulguların ortaya konabildiği belirtilmektedir (7, 67).

**Hematoksilen Basik Fuksin- Pikrik Asid Metodu:** Bu yöntemde fuksin pozitif boyanma alanlarının iskemiye ve miyosit düzeyindeki nekrozu gösterdiği belirtilmektedir (47). Yapılan çalışmalarda koroner arter oklüzyonundan 30 dakika sonra erken iskemik değişiklikler gelişen alanın pozitif boyanma reaksiyonu verdiği ve 36 saate kadar bu pozitif boyanmanın devam ettiği gösterilmiştir. Hematoksilen eozin floresans yöntemi ile birlikte kullanımının erken miyokardiyal hasarın gösterilmesinde güvenilir olduğu belirtilmektedir (68). Uygulamada değerlendirme zorluklarının olması nedeniyle yanlış pozitif ve yanlış negatif değerlendirmelerin sık olduğu, bu nedenle güvenilirliğinin tartışmalı olduğu ileri sürülmektedir (69).

**Floresan Mikroskopik Akridin Orange Metodu:** Bu yöntemde infarkt alanının, floresan mikroskopta yeşil röfle verdiği, sağlam dokunun kahverengi olarak gözlemlendiği belirtilmektedir. Floresan mikroskop gerektiren bir teknik olması ve boyanın çabuk solmasına bağlı saklanamaması nedeniyle rutin uygulanmasının kısıtlı olduğu bildirilmektedir. Kolay ve çabuk uygulanabilen bir yöntem olmasına rağmen güvenilirliği tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar miyokard infarktüsü tanısında düşük duyarlılığa sahip olduğu için kullanışlı bir yöntem olmadığını aktarmaktadırlar (11). Bazı araştırmacılara göre ise miyokard infarktüsü tanısı şüpheli olan olgularda infarktüs tanısının doğrulanması için hematoksilen eozin boyamaya göre çok daha duyarlı ve kullanışlı bir yöntem olduğu, bu nedenle miyokard infarktüsü tanısında güvenilir bir yöntem olarak kullanılabilceği belirtilmektedir. Ayrıca bu yöntemin otolize bağlı değişiklikler gelişmemişse postmortem 2-3 gün sonra bile güvenilir olarak kullanılabilceği ileri sürülmektedir (70).

**Hematoksilen Eozin Otofloresansı:** Eozin boyasının, ultraviole mikroskopta izlenebilen kendine özgü floresan kapasitesinin incelenmesine dayanmaktadır. Özellikle histolojide eozinofilik miyositlerin görülmesi durumunda kullanılabilceği

belirtilmektedir. Bu yöntemle ultraviolede normal miyokard dokusunun zeytin yeşili, hasarlı miyokard dokusunun sarı renkte gözleendiği belirtilmektedir. Duyarlılığının acridin orange yöntemine eşit olduğu bildirilmektedir. Preparatların istendiği kadar saklanabilmesi ve parafin blokların kullanılabilir olması yöntemin avantajlı yönleri olduğu ileri sürülmektedir (71).

**Van-Gieson ve Masson Trichrome Boyaları:** Kollajeni boyamaları nedeniyle infarktüsün daha geç dönemlerinde yararlı oldukları ve oluşmaya başlayan fibrozisi gösterdikleri belirtilmektedir.

**Fosfo Tungstik Asid Hematoksilen (PTAH):** Özellikle miyofibrilleri boyaması nedeniyle kontraksiyon bant nekrozlarının gösterilmesinde kullanıldığı belirtilmektedir. Travmalarda, elektrik yaralanmalarında, güçlü sempatik stimülasyona yol açan ani ölüm olgularında kontraksiyon band nekrozu görülebilmesi nedeniyle özgüllüğünün az olduğu ileri sürülmektedir (72).

#### **2.4.4. Akut Miyokard İnfarktüsünün Postmortem Tanısında Kullanılan İmmunohistokimyasal Belirteçler**

Akut miyokard infarktüsünün postmortem olarak ortaya konması için aşağıda bazıları belirtilen çok sayıda immunohistokimyasal belirteç sık olarak kullanılmaktadır.

**Enzim immunohistokimyası:** Ölen hücrelerde laktat dehidrogenaz ve süksinat dehidrogenaz gibi enzimlerin kaybının immunohistokimyasal olarak gösterilmesine dayanmaktadır.

**Fibronektin:** Ekstrasellüler matrikste majör bir glikoprotein olan ve plazmada çözünmüş olarak bulunan fibronektinin, büyük molekül ağırlıklı, dimer ya da polimer disülfid bağlı, 220-250 kDa'luk bir polipeptit olduğu bilinmektedir. Ekstrasellüler matrikse hücrelerin yapışmasında rol oynaması nedeniyle özellikle yara iyileşmesinde önemli olduğu, granülasyon dokusunda bol miktarda bulunduğu belirtilmektedir (8, 55, 73). Miyokard iskemisi sırasında fibronektinin hasarlı kapiller ve miyositlerde biriktiği, immunohistokimyasal boyama yöntemleri ile sağlam miyositlerin sitoplazmalarının

boyanmadığı, biriken fibronektinin ise gösterilebildiği belirtilmektedir. Medikolegal değerlendirmelerde fibronektinin postmortem otolizden etkilenmediği de gösterilmiştir. Miyositlerdeki pozitif boyanmanın erken miyokard infarktüsünün değerlendirilmesinde değerli bir belirteç olduğu, pratikte fibronektinin erken miyokard infarktüsünün postmortem tanısında güvenilir ve duyarlı bir yöntem olarak kullanılabilceği ileri sürülmektedir (8).

**Hücre iskelet proteinleri:** Desmin, vinculin ve alfa aktinin hücre iskeletinin üç komponenti olduğu bilinmektedir. Hücre iskelet proteinlerinin; hücrenin mekanik güçlere direncini sağladığı, hücre zarının stabilitesinin ve hücre organellerinin internal organizasyonun sağlanmasında önemli rol oynadığı belirtilmektedir (55). Miyokard infarktüsü semptomlarının başlamasından bir saat veya daha sonra ölen kişilerin miyokard dokusunda bu proteinlerin immunohistokimyasal olarak dokudaki azalması gösterilmiştir. Bu belirtecin kolaylıkla yapılabildiği ve laboratuvarlarda sık olarak kullanıldığı, miyoglobininle karşılaştırıldığında çok daha güçlü kontrast göstermesi nedeniyle miyokard iskemisini çok daha iyi gösterdiği ileri sürülmektedir. Bu üç hücre iskelet proteini arasında alfa aktininin diğerlerine göre çok daha duyarlı ve özgül bir belirteç olduğu belirtilmektedir (74).

**Miyoglobin:** Hem grubu taşıyan globüler bir protein olan miyoglobinin kas dokusunda yaygın olarak bulunduğu ve kas dokusunda oksijen depolanmasında rol oynadığı bilinmektedir (55). Ratlarda yapılan çalışmalarda, koroner arter ligasyonu sonrası sol ventrikül ön duvarının subendokardiyal hücrelerindeki lokal miyoglobin azalması ligasyondan 30 dakika sonra gözlenmiştir. Ligasyon sonrası dönem uzadıkça lokal miyoglobin azalmasının subepikardiyal hücrelere yayıldığı, üç saat sonra miyokardın tüm tabakalarında gözlendiği belirtilmektedir (75). Miyoglobinin, miyokard infarktüsü sonrası miyokardiyal hasarlı hücrelerdeki kaybının, postmortem tanıda negatif bir belirteç olarak kullanılabilceğine dikkat çekilmektedir (48, 75).

**Troponin I (cTnI) ve T (cTnT):** cTnT'nin troponini tropomiyozine bağladığı, cTnI'nin ise miyozin başının aktine bağlanmasını inhibe ettiği bilinmektedir (55). Miyokard infarktüsünden çok kısa süre geçse bile troponin I ve T'nin miyokard dokusundaki kaybının immunohistokimyasal olarak gösterilebildiği, bu nedenle rutin

boyama yöntemlerine göre çok daha duyarlı belirteçler olduğu belirtilmektedir (76). cTnI'nın miyogloblin, miyosin ve diğer kas protein komponentleri gibi miyokardiyal hasarlı hücreden kaybolmasının, negatif bir belirteç olarak kullanılabilceği ileri sürülmektedir (10).

**Fibrinojen:** Bir plazma proteini olan ve pıhtılaşma faktörlerinden biri olarak pıhtılaşmada rol oynayan fibrinojenin hücre hasarına bağılı olarak hasarlı hücrelerde birikmesi immunohistokimyasal olarak birçok çalışmada gösterilmiştir (75, 77). Hasarlı hücrelerde plazma proteinlerinin miyokard hücrelerine girişinin geri dönüşümsüz hücre hasarının bir göstergesi olduğu düşünölmektedir (75, 77). Ratlarda yapılan çalışmalarda; sol koroner arter ligasyonu sonrası subendokardiyal hücrelerde fibrinojen yoğunluğunun artmaya başladığı, süre uzadıkça bu yoğunluğun miktarında ve genişliğinde artma meydana geldiği gösterilmiştir (75). Köpeklerde yapılan bir çalışmada; sol koroner arter ligasyonundan 3 saat sonra hasarlı hücrelerde fibrinojenin arttığı gösterilmiştir (77). Ancak fibrinojenin erken miyokard infarktüsünün postmortem tanısında kullanımının çok pratik bir yöntem olmasına rağmen kan komponentleri ile kontamine olma eğilimi nedeniyle güvenilirliğinin düşük olduğu ileri sürölmektedir (75).

**C5b-9 kompleksi:** Kompleman sisteminin bir parçası olan C5b-9'un immunohistokimyasal çalışmalara ile hasarlı hücrelerde ve arter duvarlarının iç tabaklarında gösterilebildiği ve erken iskemik hasarın tanısında da yardımcı olabileceği belirtilmektedir (9, 16, 72, 78, 79). Yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda C5b-9 kompleksinin iskemik hücrelerde ve arter duvarlarının iç tabakalarında biriktiği gösterilmiştir (79). Eğer miyokardiyal hasar lokal ise ve kişi 40 dakikadan daha uzun süre yaşamışsa C5b-9'un hasarlı hücrelerdeki artışının gösterilebileceği belirtilmektedir (78). C5b-9'un immunohistokimyasal olarak hasarlı hücrelerdeki artışının gösterilmesinin çürüme ve otoliz gelişse bile infarktüs şüphesinde tanı koymada yardımcı olabileceği ileri sürölmektedir (16, 79).

**Kalp Tipi Yağ Asidi Bağlayan Protein (H-FABP):** Miyogloblinle karşılaştırıldığında daha küçük bir molekül olduğu, miyokard infarktüsü sonrası hasarlı kardiyomiyositlerden hücre dışına kaçışının daha çabuk olduğu bilinmektedir (7). H-FABP'nin miyogloblin gibi iskelet kasında da bulunduğu, ancak iskelet kasının



miyoglobin içeriği H-FABP içeriğinin yaklaşık 2 katı olduğu belirtilmektedir (7). Yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda miyokard infarktüsü sonrası 30 dakika gibi kısa bir süre sonra iskemik dokudaki azalmasının gösterilebildiği, bu nedenle erken miyokard infarktüsünün postmortem tanısında kullanılabilecek değerli bir belirteç olduğu ileri sürülmektedir (7).

## **2.5. Yağ Asidi Bağlayan Proteinler (FABP's)**

Yağ asitlerinin albumin veya lipoproteinlerdeki triaçilgliseroller şeklinde dokulara taşındıkları bilinmektedir. Yağ asitlerine bağlanabilen, farklı affinitelere sahip, ekstrasellüler, sellüler, intrasellüler birçok farklı protein olduğu belirtilmektedir (80). Albuminin kanda yağ asitlerini taşıyan ana taşıyıcı olduğu, vitamin D bağlayan protein, laktoglobulin, retinol, ısı şok protein, glutatyon S transferaz ve fetusta alfa fetoprotein ve fetuin gibi birçok proteinin yağ asitlerine affinitesi olduğu gösterilmiştir (13, 80).

### **2.5.1. Sitoplazmik Yağ Asidi Bağlayan Proteinler**

İlk olarak 1972 yılında Ockner ve arkadaşları tarafından sitoplazmada tanımlanan sitoplazmik yağ asidi bağlayan proteinlerin çeşitli hücresel süreçlerde direkt veya indirekt etki göstererek rol aldıkları bilinmektedir (80, 81, 82).

Elde edilen kaynaklarda FABP'nin yapısal olarak birbirinden farklı en az 7 tipi tanımlanmıştır (80). Tüm FABP'lerin moleküler ağırlıklarınının 14-16 kDa arasında olduğu, 127-133 aminoasitten oluştuğu gösterilmiştir (13, 14, 82, 83). Yapılan çalışmalar kalp, yağ dokusu, miyelin ve epidermal tip FABP'lerinin aminoasid diziliminin % 60-70 oranında birbirine benzediğini, karaciğer ve intestinal tip FABP'lerde triptofan ve sistein aminoasidlerinin bulunmadığını göstermiştir. İnsanda karaciğer tipi FABP'ni kodlayan genin 2. kromozomda, intestinal tip FABP kodlayan genin 4. kromozomda, kalp tipi FABP kodlayan genin 1. kromozomda olduğu belirtilmektedir (13, 80).

Kaynaklarda yapısal olarak FABP'lerin uzun zincirli yağ asitleri ve yağ açıl CoA esterlerinin taşınması, hücre içinde esterleşmesi ve oksidasyonuna yardımcı olabilen ve albuminin intrasellüler bir özdeşi olarak davranan bir molekül olduğu ileri sürülmektedir

(13, 80, 84). Karaciğer, muhtemelen renal ve intestinal FABP tiplerinin lipofilik ligandların yaygın olarak taşınmasında fonksiyonu olabileceği belirtilmektedir. FABP'lerinin sadece çeşitli metabolik yollarda yağ asitlerinin sadece kullanımında yardımcı olmadığı, aynı zamanda yağ asidi ile ilgili metabolik yollarda farklı yağ asitlerinin kullanımında önemli olabileceği ileri sürülmektedir (14).

İntrasellüler yağ asitlerinin enerji üretimi, membran lipidleri ve prostoglandin, lökotrienler ve tromboksanlar gibi lipid mediatörlerinin sentezi için çok önemli bir molekül olduğu bilinmektedir. FABP'lerin direkt veya indirekt etki ile çeşitli hücre sel süreçleri etkileyip kompleks süreçlerin regülasyonu, büyüme ve sinyal iletiminde etkili olabileceği ileri sürülmektedir (13).

Yağ açıl CoA esterlerinin bir substrat olarak yağ metabolizmasındaki birçok enzimin aktivasyonun biyokimyasal düzenleyicisi olarak rol oynayabildiği ve mitokondriyal adenin nükleotid translokaz ve Na-K ATPaz gibi enzimlerin inhibe olmasına neden olduğu bilinmektedir. Ayrıca yağ asitlerinin kalsiyum sekestrasyonu ile kalbin mekanik fonksiyonlarına etki edebileceği ve hücre zarına deterjan etkisi göstererek zarar verebileceği belirtilmektedir. FABP'nin yağ asitlerinin ve iskemi sırasında meydana gelen yağ asidi esterlerinin yüksek intrasellüler seviyelerinin zarar verici etkisine karşı koruyucu etki gösterebileceği ileri sürülmektedir (13, 14, 84).

Yapılan immunohistokimyasal ve immunokimyasal değerlendirmelerde FABP'lerin fizyolojik koşullarda doku dağılımının sınırlı olduğu gösterilmiştir. Ratlarda karaciğer tipi FABP ve onun mRNA'sının sadece karaciğer, mide ve bağırsaklarda olduğu, kalp tipi FABP ve mRNA'sının iskelet kası, aorta, mide, meme dokusu, böbrek, adrenaller ve plasentada bulunduğu belirtilmektedir (13, 80). Karaciğer ve kalp FABP tiplerinin böbreklerde mevcut olduğu, ancak farklı lokalizasyonlarda bulunduğu, karaciğer ve intestinal tip FABP'lerin birlikte jejunum ve ileumdaki enterositlerde bulunduğu, fakat kolonositlerde sadece karaciğer tipi FABP bulunduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (13). Kardiyak dokuda kalp tipi FABP ve epidermal tip FABP olmak üzere iki tip sitoplazmik FABP bulunduğu bilinmektedir (85). Kalp tipi FABP'nin kalp ve iskelet kası dışında birçok dokuda yaygın olarak bulunmasına rağmen, intestinal, yağ dokusu, miyelin ve epidermal tip FABP'lerin doku dağılımlarının sınırlı olduğu ileri sürülmektedir (13, 80).

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda FABP'nin kalp, karaciğer, iskelet kasları, adrenaller, meme dokusu, beyin ve böbreklerde sitozolik proteinlerin % 2-5'ni kapsadığı, kalp ve karaciğerde bu oranın daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca FABP içeriğinin yavaş kasılan kaslarda hızlı kasılan kaslardan daha yüksek olduğu gösterilmiştir (13).

### **2.5.2. Kalp Tipi Yağ Asidi Bağlayan Protein (H-FABP)**

H-FABP'nin kardiyomiyositlerin sitoplazmalarında bol miktarda bulunmaktadır. 14-15 kDa ağırlıkta, 132 aminoasitten oluşan bu proteinin, sitoplazmada yağ asidi ve açıl-CoA'ları bağlayarak mitokondriye taşınmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (83, 85). Ratlarda sitoplazmik proteinlerin yaklaşık % 4-8'ini oluşturduğu belirtilmektedir (83). İmmunohistokimyasal çalışmalarda küçük miktarda H-FABP'nin mitokondrial matrix ve nükleus iç yüzeyinde de olduğu gösterilmiştir (85). Kardiyomiyositler yanında, düşük miktarlarda olsa da kalp kapiller endotel hücrelerinde, kardiyak fibroblastlar, sığır aort dokusunda elde edilen endotel hücre kültürlerinde, damar düz kas hücrelerinde de H-FABP olduğu belirtilmektedir. Diğer FABP tiplerinden farklı olarak doku dağılımının daha yaygın olduğu, kalp dışında kırmızı kas hücreleri, renal korteks, testisler ve beyinde de bulunduğu ifade edilmektedir (61, 84, 85).

İnsanda H-FABP kodlayan genin 1. kromozomda olduğu bilinmektedir. Farelerde yapılan çalışmalarda, H-FABP kodlayan genin 4. kromozomda olduğu, ancak birçok kromozomda psödogenlerin tanımlandığı belirtilmektedir (85).

### **2.6. Kalpte Yağ Asidi Oksidasyonu**

Kalbin enerji ihtiyacının karşılanmasında uzun zincirli yağ asitlerinin primer olarak kullanıldığı bilinmektedir. Düşük karbonhidrat desteği olan durumlarda yağ asidi oksidasyonunun gerekli enerji ihtiyacının yaklaşık % 75'ini karşıladığı belirtilmektedir. Bu nedenle kalp dokusunun yağ asidi oksidasyonu kapasitesinin karaciğer kadar ya da daha yüksek olduğu ileri sürülmektedir. Kardiyomiyositlerin yağ asidi depolaması sınırlı olduğundan sürekli olarak dolaşımdan yağ asidi alması gerektiği belirtilmektedir (84, 86).

Yağ asitlerinin diyet ile alındığı ya da yağ dokusu veya karaciğerde yeniden sentezlenerek elde edildiği bilinmektedir. Bağırsaklarda diyetle alınan yağ asitlerinin gliserol ile esterifiye olarak ve şilomikronlarla birleşerek hızla kan dolaşımına geçtiği belirtilmektedir. Karaciğerde yeniden sentezlenen yağ asitlerinin ise, şilomikronların hepatik lipolizi ile salınan çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (VLDL) triaçil gliserol ile birleştiği belirtilmektedir. Yağ asitlerinin albumine bağlı, şilomikronlar ve VLDL'de yağ esterleri şeklinde pasif difüzyon ya da taşıyıcı proteinlerle kalp hücrelerine taşındığı ve endotelial hücrelerin lümeninde bulunan lipoprotein lipaz yardımıyla yağ asitlerinin serbestleştiği kabul edilmektedir (12, 14, 84).

Sitoplazmaya alınan yağ asitlerinin H-FABP'e bağlanıp, Açıl CoA sentetaz enzimi ile uzun zincirli Açıl CoA şeklinde aktive oldukları gösterilmiştir. Açıl kısımları karnitin palmitiltransferaz 1 (CPT 1), karnitin açilkarnitin translokaz ve karnitin palmitiltransferaz 2 (CPT 2) enzim kompleksi yardımı ile mitokondriye taşındığı belirtilmektedir. Mitokondri matriksinde uzun zincirli açıl CoA'ların asetil CoA üretimi için  $\beta$  oksidasyonu gerçekleştiren enzim sisteminden geçtiği ileri sürülmektedir (14, 61).

### **2.6.1. Yağ Asidi Oksidasyonu Bozuklukları**

Yağ asitlerinin oksidasyonunun miyokardın tüm enerji ihtiyacının % 60-70'ini karşıladığı, diabet gibi durumlarda bu oranın % 90'ı aşabildiği belirtilmektedir. Diabetes mellitus, kalp hipertrofisi, uzun süreli açlık, iskemik kalp hastalığı, hipertansiyon gibi birçok hastalıkta yağ asidi metabolizmasının bozulduğu bilinmektedir. Bu hastalıklarda; miyokard karnitin içeriğinin azalması, yağ asidi seviyesinin artması ve karbonhidrat metabolizmasının bozulması, mitokondride yağ asidi metabolizması için gerekli enzimlerin bozuklukları veya yağ asidi oksidasyonunda görevli enzimlerde eksiklik nedeniyle yağ asidi metabolizmasının bozulduğu ileri sürülmektedir (12, 14).

Kalp hipertrofisinde ana metabolik bozukluğun yağ asidi oksidasyonunda meydana gelen azalma olduğu belirtilmektedir. Bu yağ asidi oksidasyonundaki azalmanın hipertrofik miyokard dokusunda azalan karnitin miktarına bağlı olduğu düşünülmektedir. Hipertrofi gelişen kalp dokusunda karnitin içeriğinin azalmasının yağ asitlerinin

oksidasyonunda azalmaya neden olacağı, miyokard dokusunun ATP ihtiyacının karşılanabilmesi için glikolizin arttığı ileri sürülmektedir (12, 14).

Ratlarda yapılan çalışmalarda diabette ve uzun süreli açlıkta da benzer şekilde miyokardın karnitin içeriğinin azaldığı, ancak hipertrofik kalpteki yağ asidi oksidasyonun azalmasının tersine diabetik rat kalbinde yağ asidi oksidasyonun azalmayıp arttığı belirtilmektedir. Bu artışın sarkolemmaya giren glukoz miktarındaki azalmaya ve enerji gereksinmesinin dolaşımında artmış olan yağ asitleri ile sağlanmasına bağlı olduğu ileri sürülmektedir (14, 86). Ratlarda yapılan bazı çalışmalarda yağ asidi oksidasyonunun artmasına paralel olarak sitoplazmik FABP seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (12).

Yağ asitlerinin  $\beta$  oksidasyonla yıkımında görevli enzimlerdeki eksikliklerin de metabolik bozukluklara neden olduğu bilinmektedir. Karnitin palmitiltransferaz enzim eksikliğinin en sık görülen enzim eksikliği olduğu belirtilmektedir (14).

Plazma yağ asidi seviyesinin akut miyokard infarktüsünü takiben ya da kardiyak cerrahi sonrası arttığı bilinmektedir. İskemiye maruz kalmış kardiyomiyositlerde reperfüzyon sırasında artan plazma yağ asidi seviyesinin katekolaminlerle birlikte hücrelere zarar verici etki gösterdiği belirtilmektedir (14).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Çalışmanın Planlanması ve İşbirliği Organizasyonu:

Çalışmanın hipotezi Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Adli Tıp Anabilim Dalı'nda oluşturulduktan sonra, perfüzyon sintigrafisi yapılması için Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nın, biyokimya inceleme basamakları için DEÜTF Biyokimya Anabilim Dalı'nın, histokimya ve immunohistokimya inceleme basamakları için DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı'nın laboratuvarlarından ve danışmanlıklarından yararlanılması, deney hayvanlarında oluşturulacak model için DEÜTF Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı ve DEÜTF Multidisipliner Laboratuvarı ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı Anabilim Dalı'ndan destek alınması planlandı.

28.06.2007 tarihinde anabilim dalımız akademik kurul kararı ile tez projesi ön hazırlık çalışması kabul edildi. Hazırlanan çalışma projesi, 02.07.2007 tarihinde DEÜTF Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu'na görüş alınmak üzere gönderildi. Adı geçen kurulun 21.09.2007 tarih ve 87 sayılı kararı ile bu çalışmanın yapılması için olumlu görüş alındı (Ek 1).

Tez proje teklif ve değerlendirme formu 28.09.2007 tarihinde DEÜTF Dekanlığı aracılığı ile rektörlüğe gönderildi. Proje; DEÜ Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü ödeneğinden 2007.KB.SAG.042 numarası ile desteklendi.

Çalışmanın bir parçasını oluşturan ve Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda yapılması planlanan perfüzyon sintigrafisinde kullanılacak cihazın bozuk olması ve tamirinin mümkün olmadığı belirtilmesi nedeniyle bu basamak çalışmadan çıkartıldı. DEÜTF Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu bilgilendirildi.

Çalışma öncesi eksikliklerin saptanması, anestezi uygulamasının ve uygulanacak cerrahi yöntemin sınanması amacıyla iki sıçan üzerinde 14.12.2007 tarihinde DEÜTF Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı ve DEÜTF Multidisipliner Laboratuvarı ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı Anabilim Dalı araştırmacıları ile birlikte uygulama salonunda ön çalışma gerçekleştirildi. Ön çalışma ile planlanan çalışmada

uygulanması düşünölen yöntemde bazı değışiklikler yapıldı. Bu değışiklikler DEÜTF Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu'na sunuldu.

Çalışmanın deney aşaması 30.01.2008- 27.02.2008 tarihleri arasında DEÜTF Multidisipliner Laboratuvarı ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı Anabilim Dalı uygulama salonunda yapıldı. Alınan kan örneklerinin analizi DEÜTF Öğrenme Kaynakları Merkezi Araştırma laboratuvarında ve alınan doku örneklerinin analizi DEÜTF Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekteştirildi.

Çalışmada belirlenen gruplar içinde ilk çalışma günü sol ön inen (LAD) koroner arter 6.0-10 mm.lik atravmatik iğneli sütün materyeli ile bağlandıktan sonra önce 30 dakika iskemi oluşturulan gruptan bir denek ve daha sonra 45 dakika iskemi oluşturulan gruptan bir denek ile çalışmaya başlandı. Daha sonraki çalışma günlerinde önce 45 dakika, sonra sırasıyla 30 dakika, 15 dakika, 5 dakika ve sham grubu çalışıldı.

Çalışmadan elde edilen verilerin ve gözlemlerin kaydedilmesi için araştırma veri kayıt defteri hazırlandı. Çalışma süresince çalışılan günlerde DEÜTF Multidisipliner Laboratuvarı ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı Anabilim Dalı deney hayvanı protokol defterine düzenli olarak kayıt yapıldı.

## **3.2 Deney Hayvanı Modeli**

### **3.2.1 Kullanılan Deneklerin Sayısı ve Türü**

Bu çalışma DEÜTF Deney Hayvanı Araştırmaları Etik Kurulu'ndan izin alındıktan sonra DEÜTF Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'ndan sağlanan 35 adet ağırlıkları 200-250 gram arasında değışen, erişkin dişi Wistar- Albino sıçan kullanılarak yapıldı.

### **3.2.2 Denek Olarak Sıçan Seçilme Nedeni**

DEÜTF Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda Wistar- Albino sıçan suşunun araştırmalarda kullanılmak üzere bulunması ve miyokardiyal iskemi modellerinde

miyokardiyal kollateral dolaşımın bu sıçanlarda daha az olması (87) nedeniyle çalışmanın erişkin dişi Wistar- Albino sıçanlarda yapılması planlanlandı.

### **3.2.3 Deneklerin Bakım Yeri, Süresi ve Koşulları**

Sıçanlar araştırmanın başlangıcına kadar oda ısısında ( $20 \pm 2$  santigrat derece) ve 12'şer saatlik zaman dilimlerinde gün ışığı/karanlık ortamda tutulup, standart pelet sıçan yemi ile beslendi ve su kısıtlanması uygulanmadı. Uygulanacak cerrahi işlemden 12 saat önce sıçanlar aç bırakıldı, sadece su içmelerine izin verildi.

### **3.2.4 Çalışma Gruplarının Belirlenmesi**

Wistar- Albino sıçanlarda her bir grup yedi sıçandan oluşacak şekilde, dördü çalışma grubu ve biri sham grubu olmak üzere beş grup oluşturuldu. Ayrıca hiçbir cerrahi işlem uygulanmayıp sadece kuyruk veninden kan örneği alınan bir kontrol grubu oluşturuldu. LAD ilk diagonal dalı verdikten sonra bağlanarak oklüzyon oluşturulmasıyla elde edilen çalışma gruplarında; iskemi oluşumundan sonra birinci grupta 5 dakika, ikinci grupta 15 dakika, üçüncü grupta 30 dakika, dördüncü grupta 45 dakika beklendikten sonra deneklerden kataterden kan alındı. Kan örnekleri alındıktan sonra kalp çıkarılarak denekler sakrifiye edildi. Çalışma grupları için tanımlanan alandan atravmatik iğneli suture materyeli geçirilmiş fakat koroner arter bağlanmayan sham grubunda ise deneklerden terminal noktada (45 dakika) kan alındı. Kan alındıktan sonra kalp çıkarılarak denekler sakrifiye edildi. Deneklerin düz tüpe alınan kanları biyokimyasal incelemelerin yapılabilmesi için Biyokimya Anabilim Dalı'na, alınan kalpleri % 10'luk tamponlu formaldehit solüsyonu içinde histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeler için Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına gönderildi.

Çalışma gruplarının özellikleri aşağıda özetlendi;

1. Grup (n:7)- LAD bağlandıktan 5 dakika sonra kan ve doku örneği alınan grup
2. Grup (n:7)- LAD bağlandıktan 15 dakika sonra kan ve doku örneği alınan grup
3. Grup (n:7)- LAD bağlandıktan 30 dakika sonra kan ve doku örneği alınan grup
4. Grup (n:7)- LAD bağlandıktan 45 dakika sonra kan ve doku örneği alınan grup
5. Grup (Sham grubu) (n:7)- LAD bağlanmayıp, sadece çalışma alanından atravmatik iğneli suture materyeli geçirilen grup.

Kontrol grubu (n:7) - Hiçbir cerrahi işlem uygulanmayıp sadece kan örneği alınan grup.



### **3.2.5. Kullanılan Anestezi ve Analjezi Türü**

Deneklerin anestezisi 45 mg/kg ketamin (ketalar flakon 50 mg/ml, Eczacıbaşı İlaç ve Ticaret A.Ş., İstanbul) ve 5 mg/kg Ksilazine (Rompun flakon, 23.32 mg/ml, Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti., İstanbul) intraperitoneal yolla verilerek yapıldı.

### **3.2.6 İskemik Kalp Modelinin Oluşturulması**

#### **3.2.6.1 Hazırlık ve Monitörizasyon**

Anestezi altında olan deneklerin ekstremiteleri flaster yardımıyla sabitlendikten sonra boyun ve göğüs ön duvarı tıraş edilip cerrahi saha batikonla silindi. Boyun insizyonu ile trakeostomi açılarak solunum sayısı 60/dakika, %100 oksijen desteği ile 10-15 ml/kg tidal volümde denek hayvan respiratörüne (No. 7025 Rodent Ventilator, Ugo Basile, İtalya) bağlandı. Devamlı basınç monitörizasyonu için sol karotis arterinden 24G branül ile kateterize edildi. Kalp hızı ve kan basıncı deneyin sonuna kadar basınç monitörü ekranından (Petaş KMA 250) sürekli olarak takip edildi. Oluşturulan araştırma veri kayıt defterine elde edilen veriler (tansiyon arteriyel ve nabız) çalışma süresince düzenli aralıklarla kaydedildi.

Elde edilen verilerin kaydedilme süreleri aşağıda özetlendi.

1. Grup- a) Kateterizasyondan sonra, b) LAD bağlandıktan sonra, c) Kan ve doku örnekleri alınmadan hemen önce.
2. Grup- a) Kateterizasyondan sonra, b) LAD bağlandıktan sonra, c) Kan ve doku örnekleri alınana kadar beşer dakikalık aralarla.
3. Grup- a) Kateterizasyondan sonra, b) LAD bağlandıktan sonra, c) Kan ve doku örnekleri alınana kadar beşer dakikalık aralarla.
4. Grup- a) Kateterizasyondan sonra, b) LAD bağlandıktan sonra, c) Kan ve doku örnekleri alınana kadar beşer dakikalık aralarla.
5. Grup (Sham grubu)- a) Kateterizasyondan sonra, b) LAD bağlanmayıp, sadece çalışma alanından atravmatik iğneli sütur materyeli geçirildikten sonra, c) Kan ve doku örnekleri alınana kadar onar dakikalık aralarla.

### **3.2.6.2 Uygulanan Yöntem**

Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı araştırmacısı tarafından kalbe ulaşmak için sternotomi yapıldı. Perikardiyotomi sonrası ekartör konularak kalp görünür hale getirildi. Loop yardımıyla sol ana koroner arterin kalbin ön yüzündeki interventriküler septum boyunca ilerleyen LAD dalı gözlemlendi. LAD ilk diagonal yan dalını verdikten sonra mid LAD bölgesinden 6.0-10 mm.lik atravmatik iğneli suture materyeli ile intramiyokardiyal olarak geçildi ve çalışma gruplarında arter bağlandı (88, 89). Sham grubunda ise çalışma grubunda tanımlanan alandan 6.0-10 mm.lik atravmatik iğneli suture materyeli geçirildi. Fakat LAD bağlanmadı.

Sıvı uygulaması; işlemler sırasında tahmini kaybedilen kan volümünün üç katı olacak biçimde % 0.9 NaCl solüsyonu perfüzyon aleti ile operasyon süresince karotis arter kateterizasyonundan verildi.

### **3.2.6.3 Alınan Tedbirler ve Deneklerin Araştırmadan Çıkarılma Kriterleri**

Çalışma sırasında tüm araştırmacılar tarafından eldiven, maske kullanıldı.

Çalışmanın hazırlık ve monitörizasyon aşamasında veya uygulanan koroner arter ligasyonu sonrası izlem aşaması basamaklarında çalışmayı tamamlayamayan denekler kan ya da doku örnekleri alınmadan çalışmadan çıkartıldı. Çalışma süresince 30.01.2008 tarihinde yapılan uygulamada iki denek, 18.02.2008 tarihinde yapılan uygulamada bir denek kateterizasyon yapılamadığı için çalışmayı tamamlayamadı ve çalışma dışı bırakıldı. Çalışma dışı bırakılan deneklerin yerine yeni denekler çalışmaya alındı.

### **3.2.6.4 Deneklerin Yaşamını Sonlandırma Yöntemi ve Zamanı**

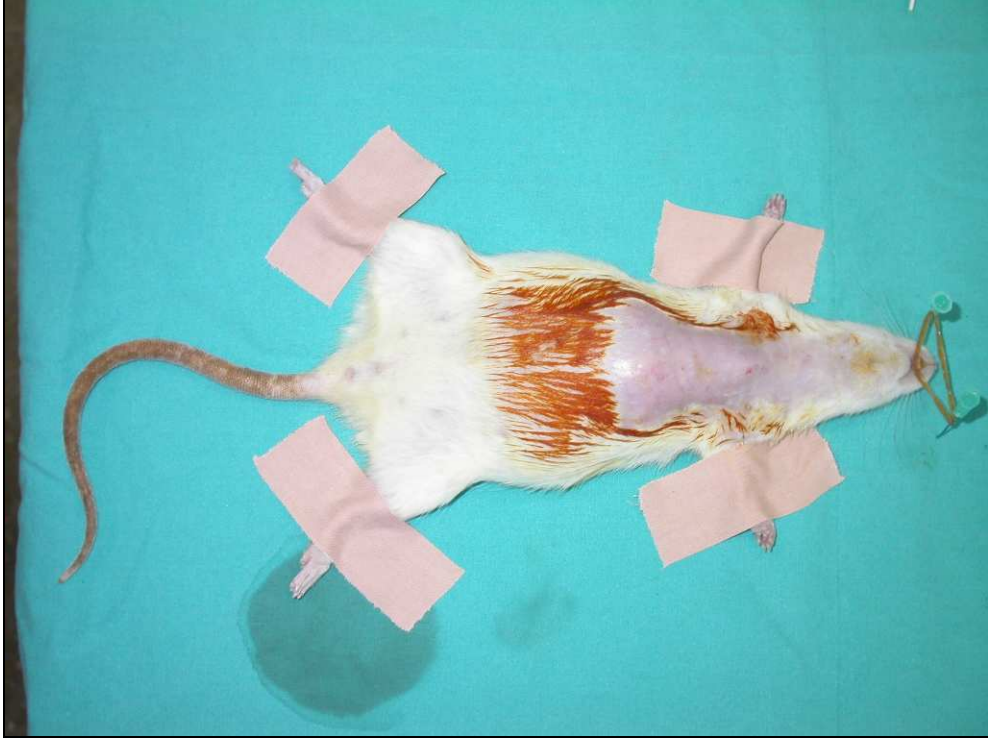
Çalışmaya katılan anestezi altındaki deneklerden her bir grupta belirlenen sürelerin sonunda biyokimyasal incelemeler için kan alındı. Histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeler için deneklerin kalpleri aorta ve pulmoner arterin kalpten çıkış seviyesinden kesilip çıkarıldı. Doku örneği alınmasıyla denekler kurban edilmiş oldu.

Grupların uygulanan cerrahi işlem sonrası sakrifiye edildiği zaman dilimleri;

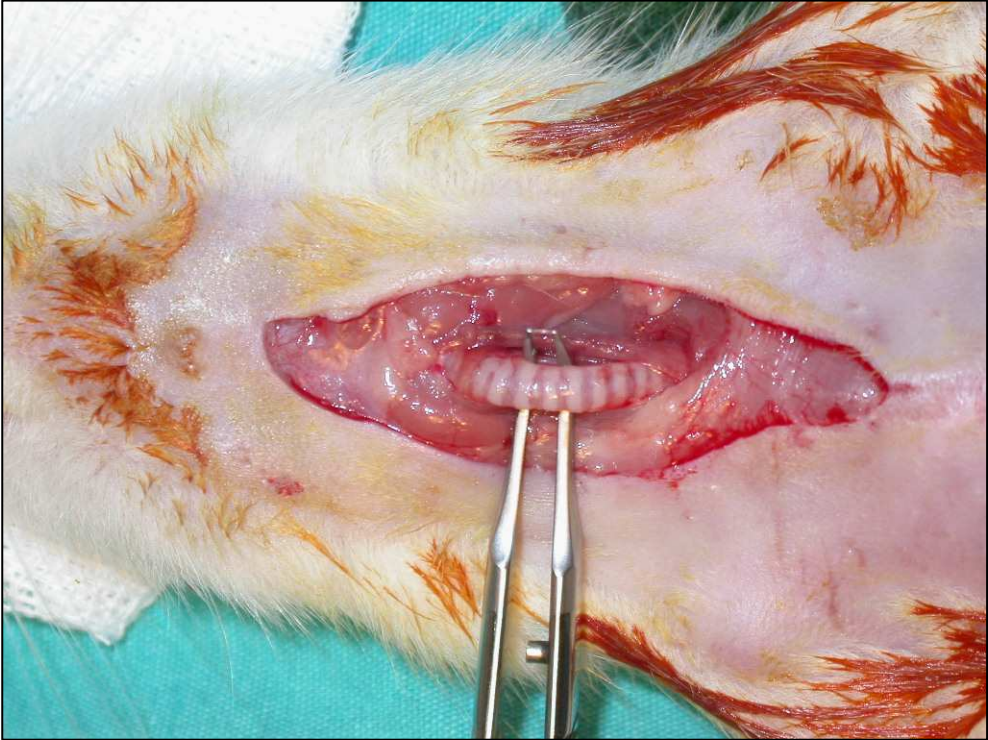
1. grup 5. dakika
2. grup 15. dakika
3. grup 30. dakika
4. grup 45. dakika
5. grupta 45 dakika olarak belirlendi.

Deneklerin hazırlanması hipoksi modelinin oluşturulması deneklerin izlenmesi ve deneyin sonlandırılması ile ilgili girişimsel basamaklar RESİM 1-22'de gösterilmiştir.

**RESİM 1:** Deneş hayvanının operasyona hazırlanması.

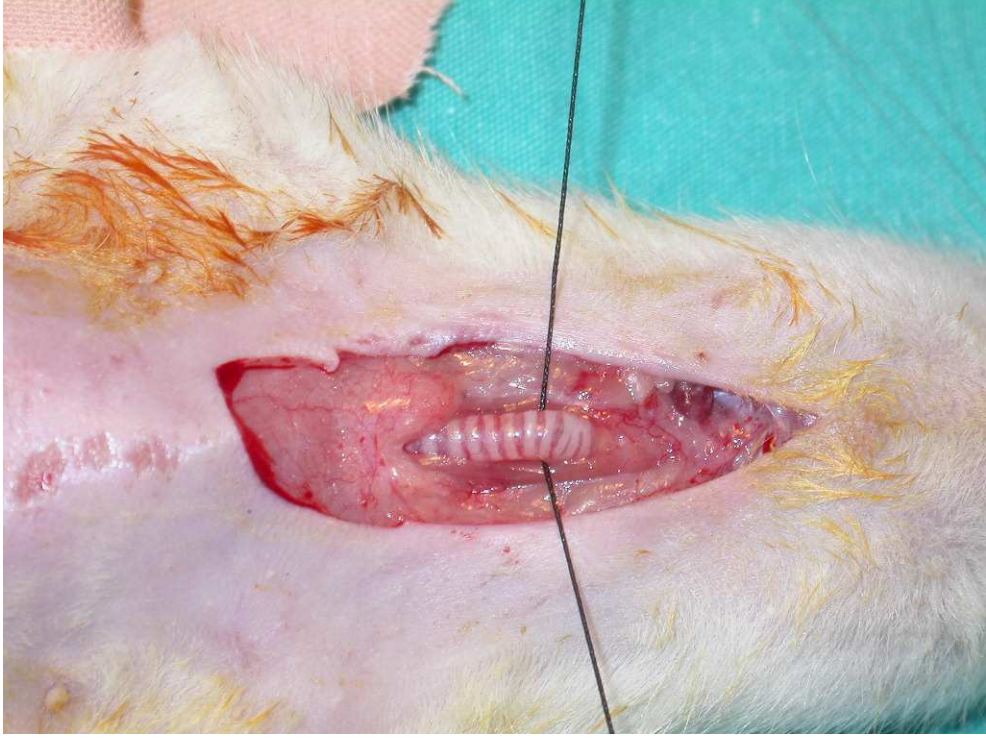


**RESİM 2:** Trakeanın serbestleştirilmesi.

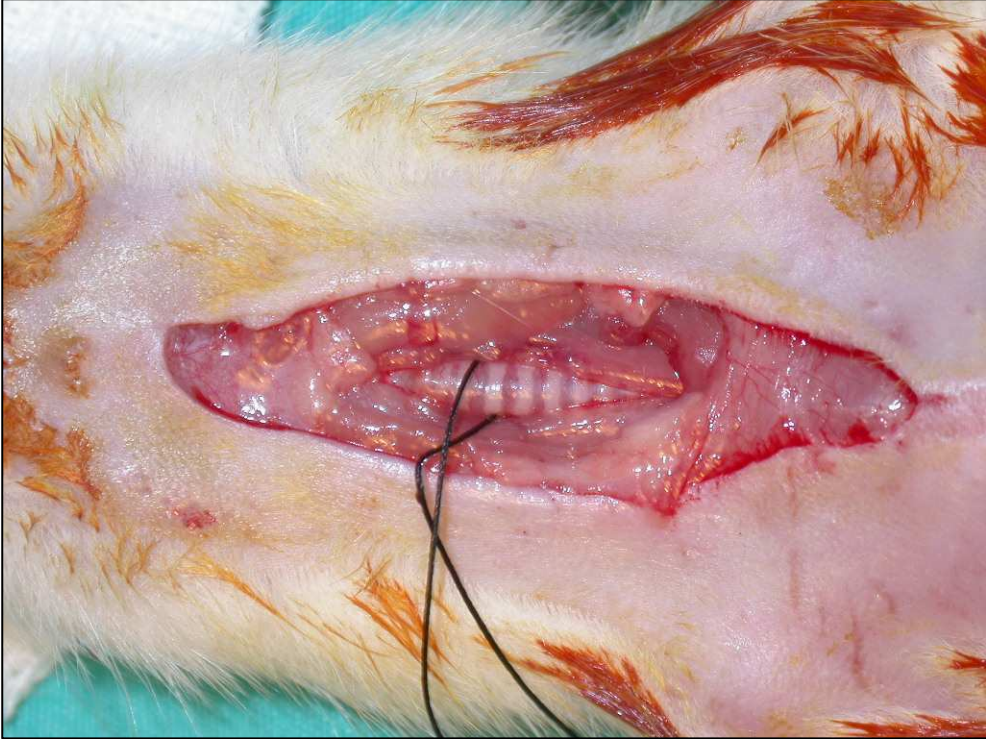




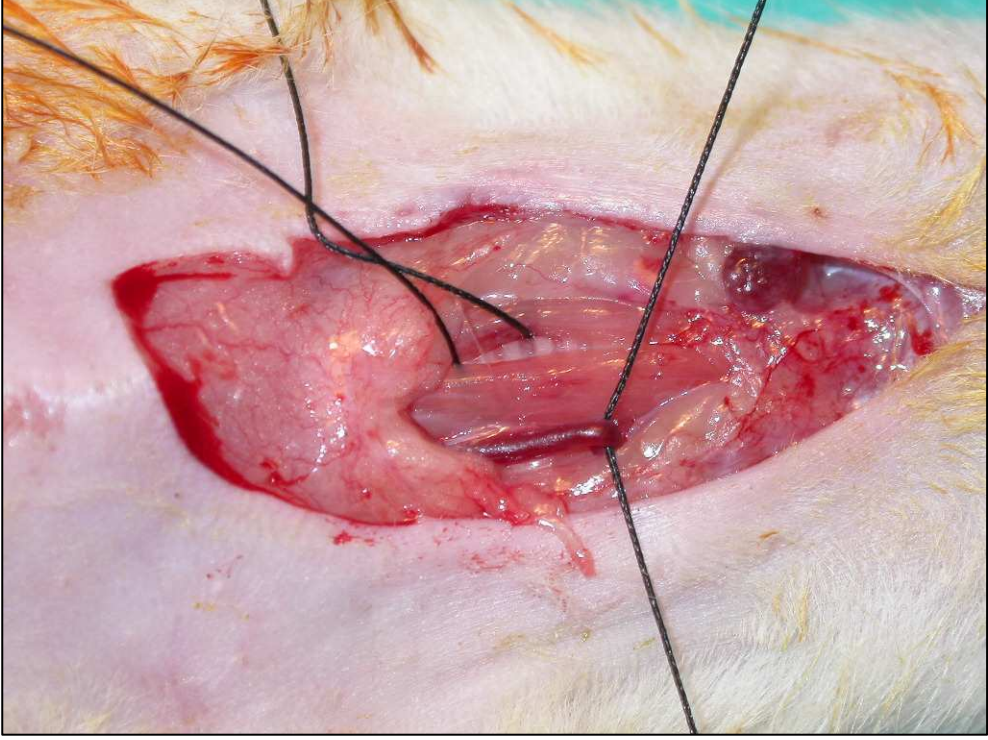
**RESİM 3:** Trakeanın askıya alınması.



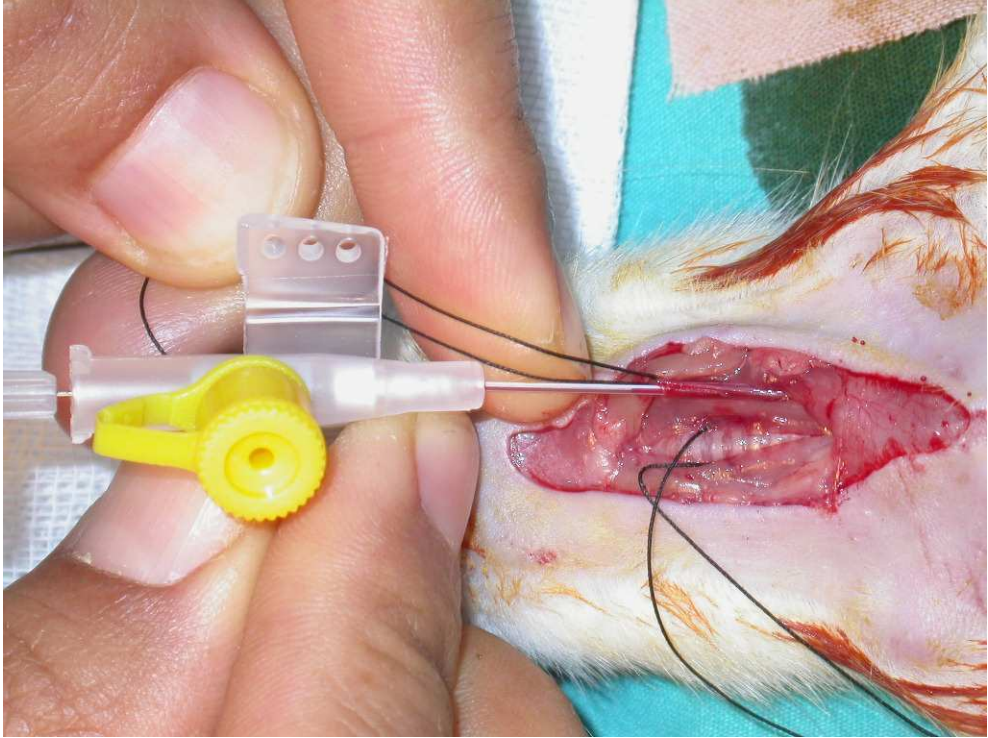
**RESİM 4:** Trakeostomi için hazırlığın tamamlanması.



**RESİM 5:** Arter kateterizasyonu amacıyla sol karotis arterin serbestleştirilmesi.

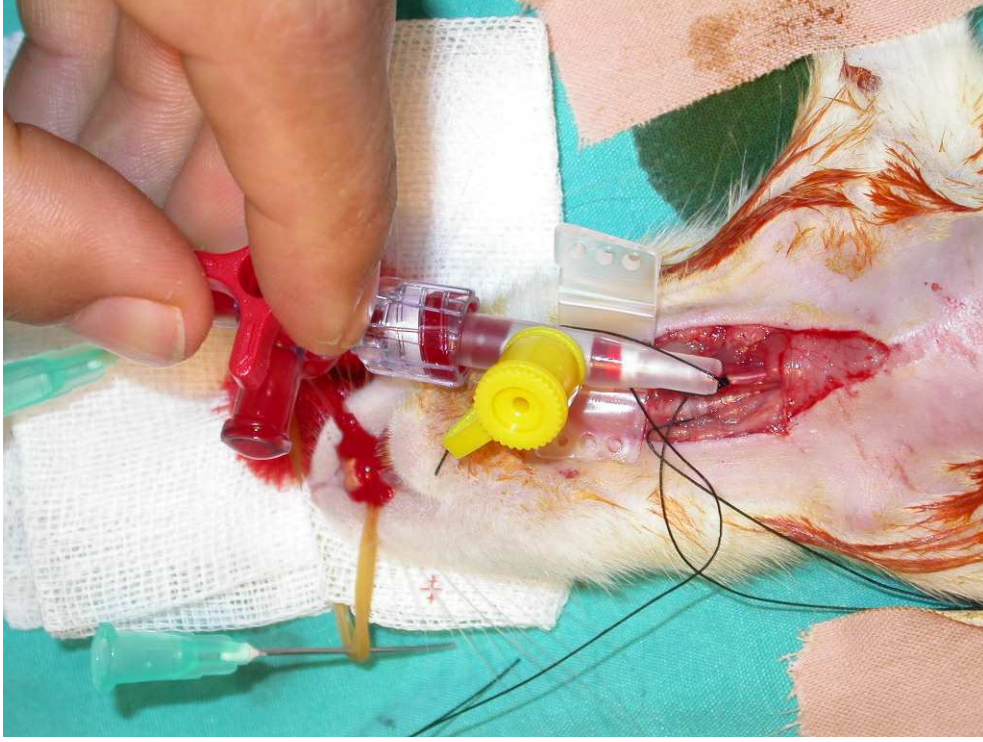


**RESİM 6:** Sol karotis arter kateterizasyonu.

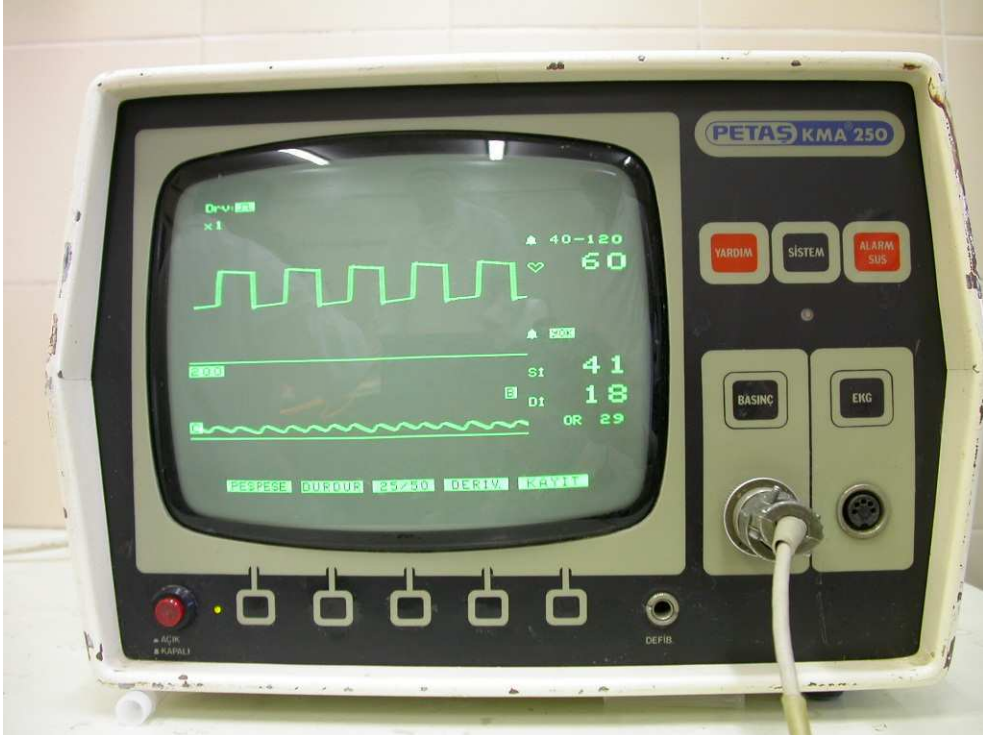




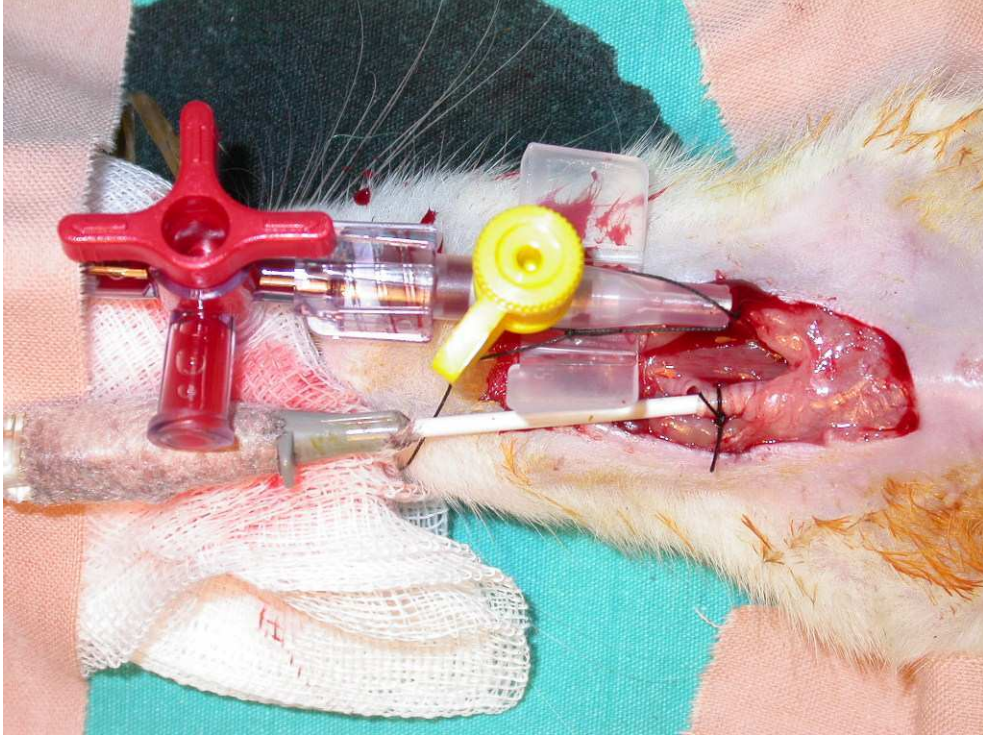
**RESİM 7:** Basınç monitorüne bağlama.



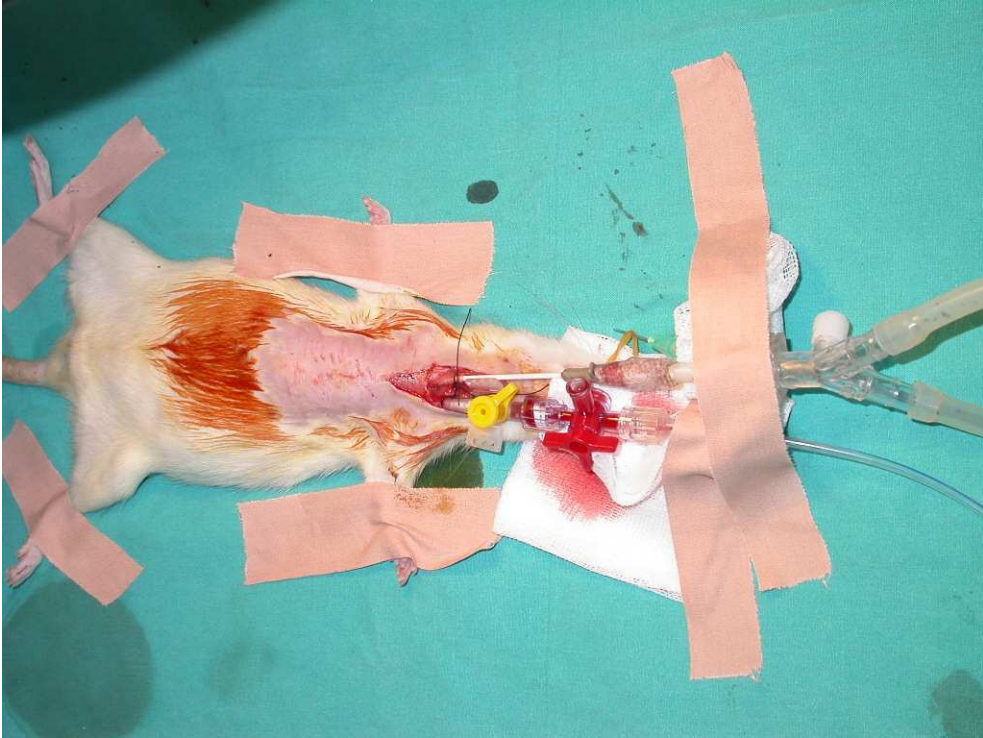
**RESİM 8:** Basınç monitorü.



**RESİM 9:** Trakeostomi açılması.



**RESİM 10:** Mekanik hayvan respiratörüne bağlama.

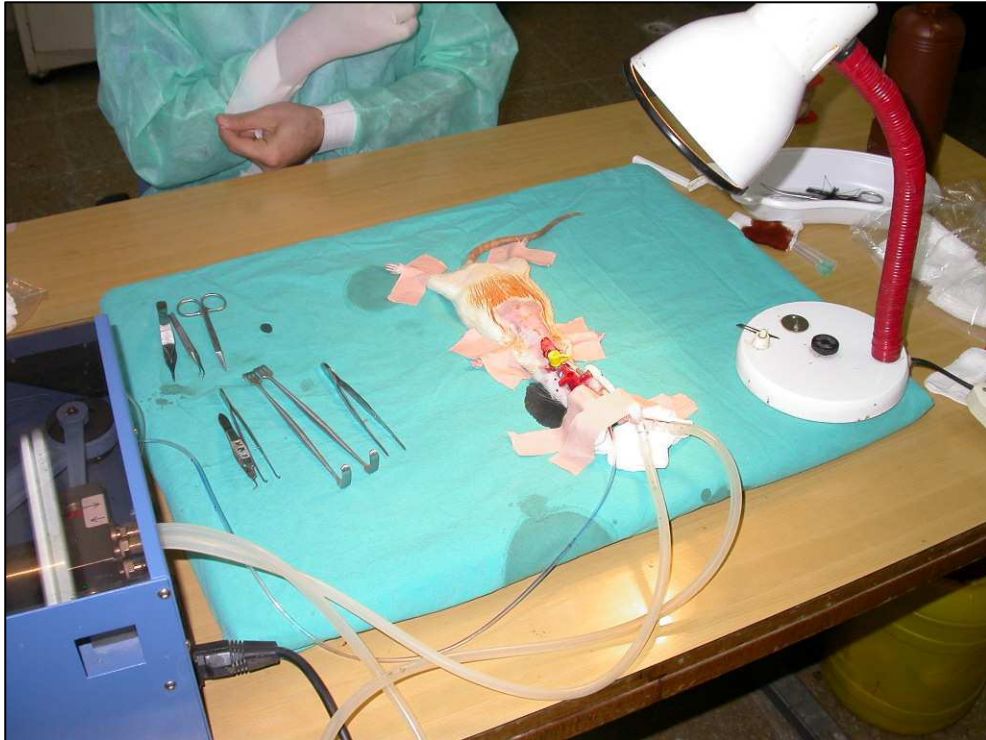




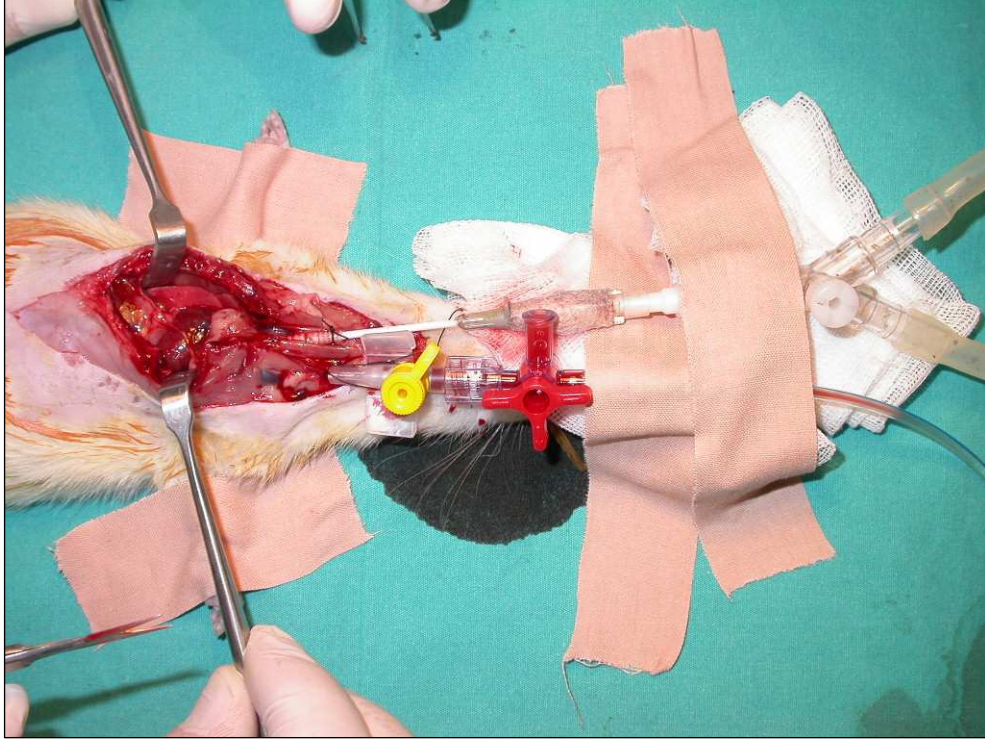
**RESİM 11:** Mekanik hayvan respiratörü.



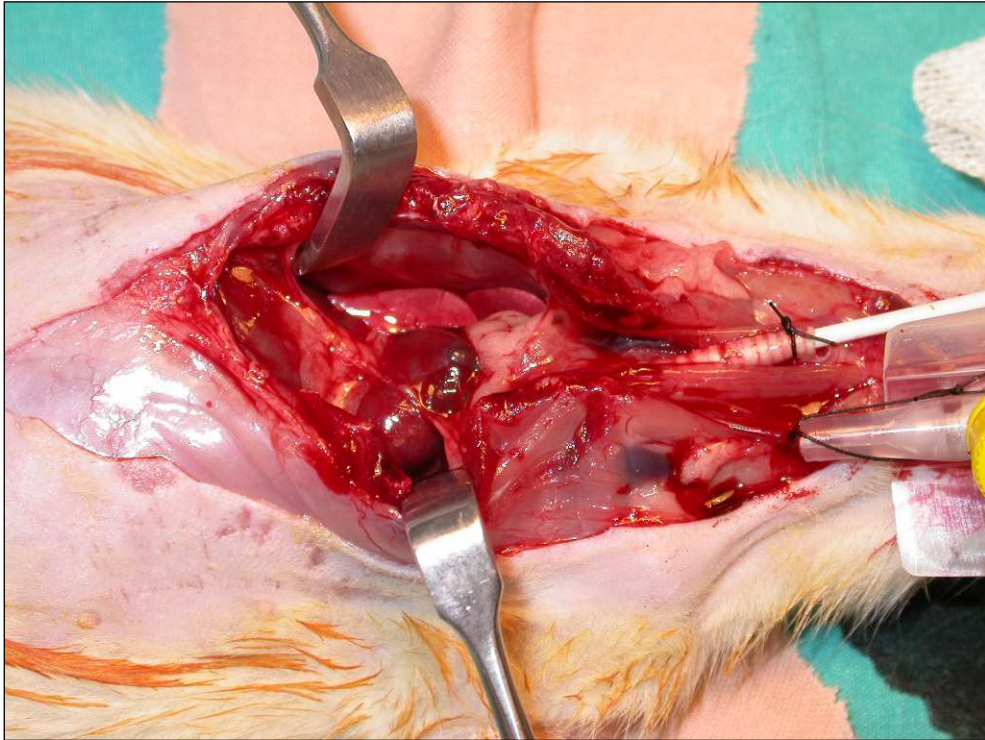
**RESİM 12:** Deneğin operasyona hazır hale gelmesi.



**RESİM 13:** Sternotomi yapılması.

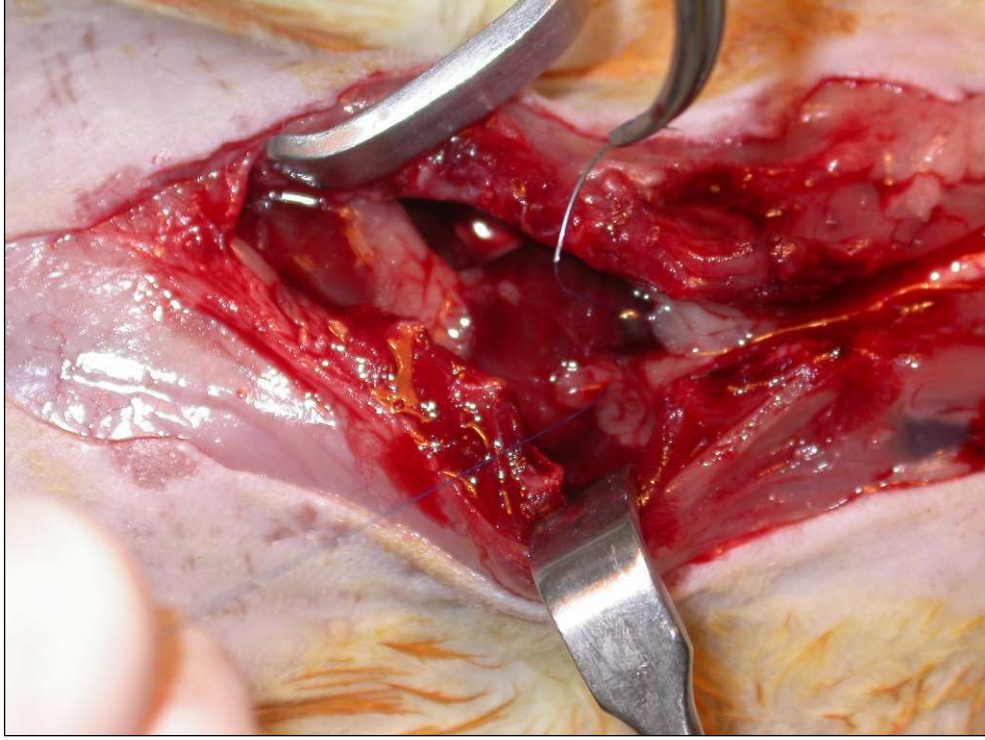


**RESİM 14:** Sternotomi sonrası perikardın açılıp kalbin ortaya konması.

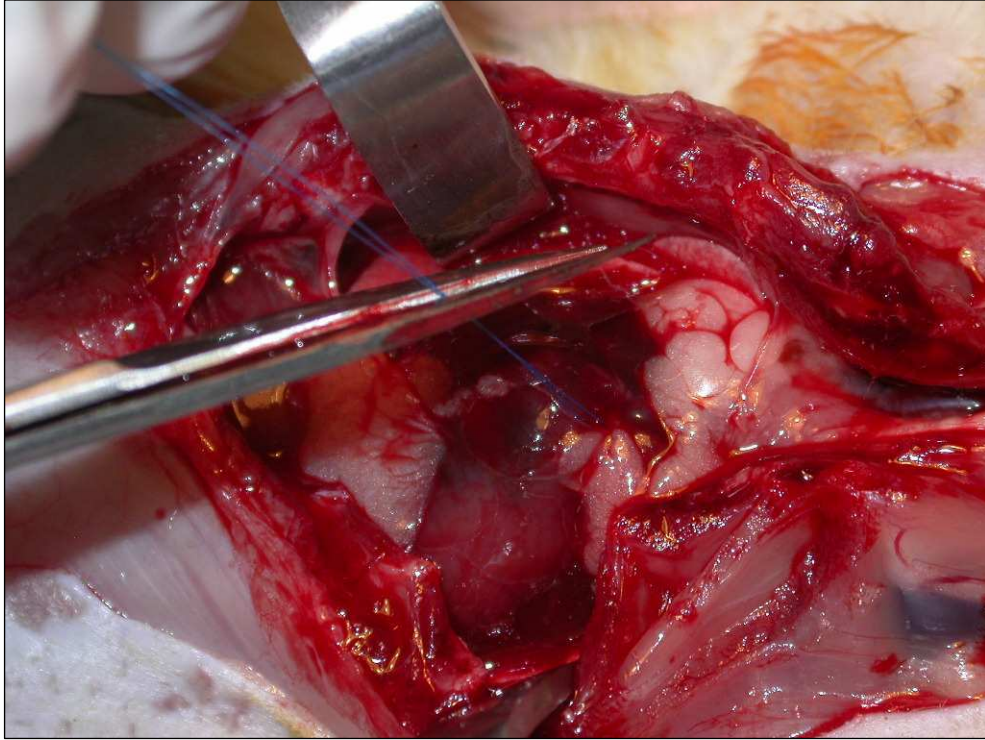




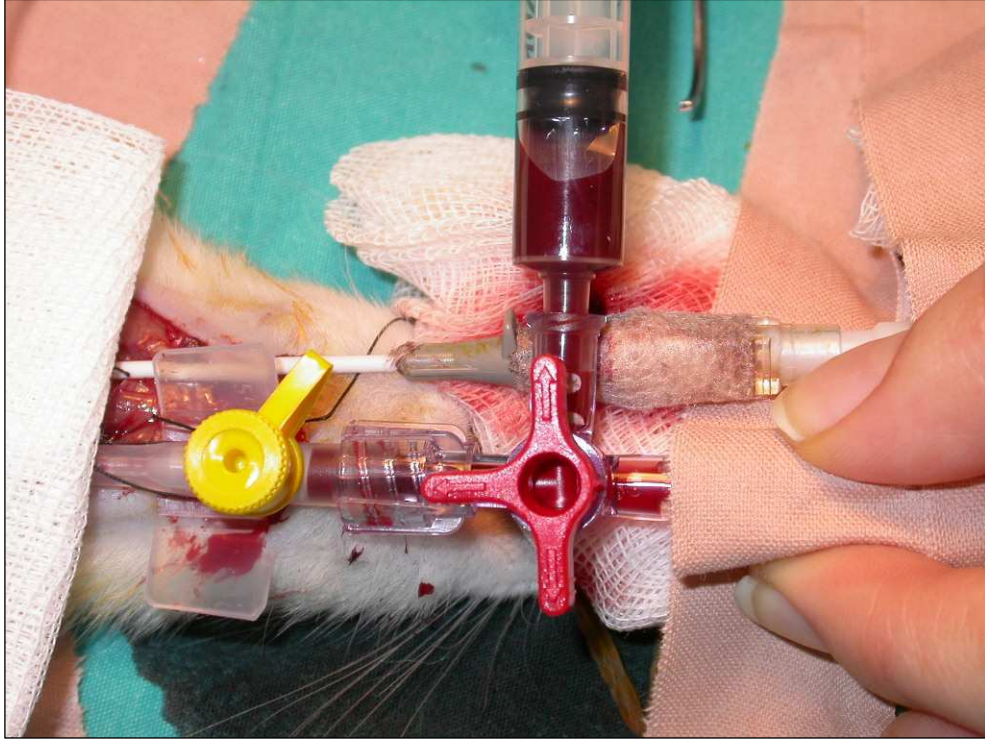
**RESİM 15:** LAD'nin 6.0 atravmatik ipek ile intramuskuler geçilmesi.



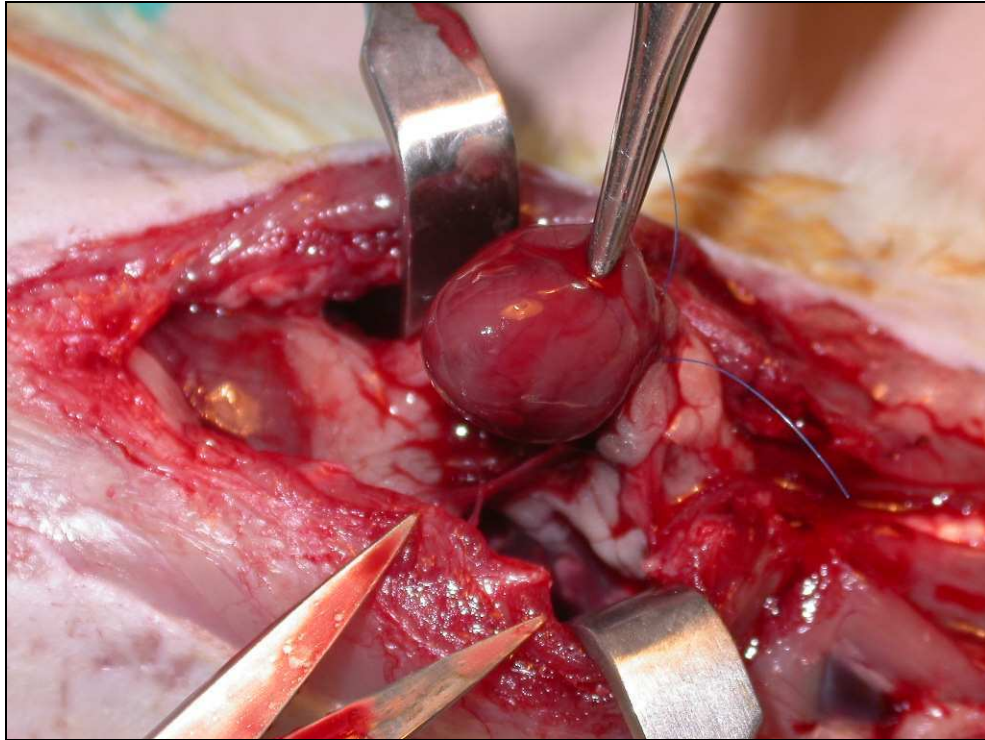
**RESİM 16:** LAD'nin bağlanması.



**RESİM 17:** Sol karotis arterden kan alınması.

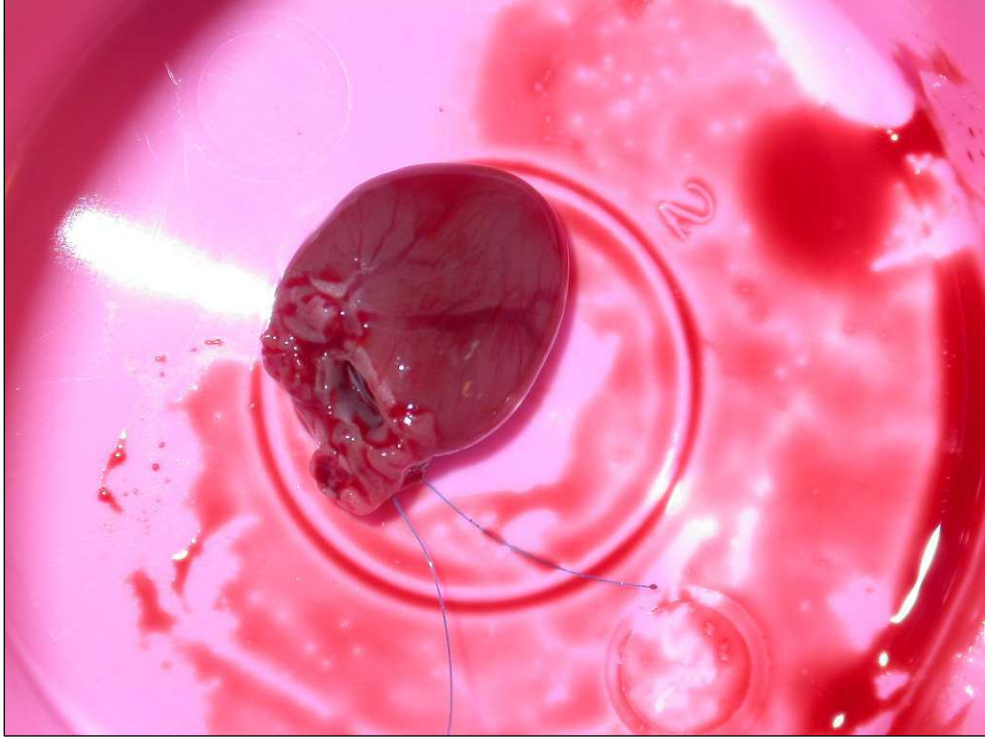


**RESİM 18:** Kalbin çıkarılması.





**RESİM 19:** Çıkarılan kalbin muayenesi.



**RESİM 20:** %10 formal içinde fikse edilmiş kalbin görünümü.



**RESİM 21:** Fikse edilmiş kalbin makroskobik kesitleri.



**RESİM 22:** Spektrofotometre cihazı.



### **3.3. Kullanılan Tanı Yöntemleri**

#### **3.3.1 Biyokimyasal İncelemeler**

Sakrifiye edilen deneklerin kataterlerinden 2 ml alınan kan örnekleri düz tüpe konuldu. Alınan kan örnekleri numaralandı. Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarına ulaştırıldı. Kısa zaman içinde 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilip serumları ayrıldı. Serumlar -70 santigrat derecede saklandı. Daha sonraki bir zamanda dondurulmuş örnekler oda ısısında çözüldü ve H-FABP'nin serum düzeyi ELİSA kiti (Hycult Biotechnology, Hollanda) ile kantitatif olarak değerlendirildi.

Serumda "H-FABP" düzeyi tayini için kullanılan kantitatif test metodu solid faz enzim bağımlı immunosorbent ölçüm yöntemine dayanmaktadır. Test örneği simultane olarak solid faz immobilize anti H-FABP antikoru ve antikor- enzim kompleksi ile reaksiyona sokularak H-FABP molekülleri 2 antikor arasında sandviç oluşturuldu. Tetrametil benzidin (TMB) solüsyonu kullanılarak meydana gelen renk değişikliği 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü (90).

#### **3.3.2 Histopatolojik İncelemeler**

##### **3.3.2.1 Doku Örneklerinin Alınması**

Sakrifiye edilen deneklerin açık olan torakslarından kalp aorta ve pulmoner arterin kalpten çıkış seviyesinden ayrılarak çıkarıldı. Günün sonunda alınan tüm kalpler % 10'luk tamponlu formaldehit solüsyonu içinde Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırıldı. Alınan kalplere apekten proksimale doğru 0.5 cm.lik kesitler yapıldı. Elde edilen kesit yüzeyleri makroskopik olarak incelendi. Kesitlerden örnekleme yapılarak doku örnekleri parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklara uygulanan 3-5 mikron kalınlığındaki kesitlere Hematoksilen eozin (H&E) boyası uygulandı. Aynı bloklardan seri kesitlere devam edildi, elde edilen kesitlere immunohistokimyasal boyama yöntemi uygulandı. Rat H-FABP için monoklonal antikor (Hycult Biotechnology, Hollanda) kullanılarak diaminobenzidin (DAB) uygulandı. Boyalı preparatlar; birbirinden ve deneğin grubunun hangisi olduğundan habersiz üç patoloj tarafından iki kez değerlendirildi.

### **3.3.2.2 Kesitlerin Hazırlanması**

Formalin ile fikse edilen doku örnekleri özel rutin doku takip makinelerinde 2 saat % 10'luk tamponlu formaldehit içinde tespit edildikten sonra birer saat yükselen alkol serilerinde (%80-90-96), daha sonra isopropil ve xylol basamakları ile parafinize edildi.

### **3.3.2.3 H&E Boyama Yöntemi**

Toplamda 12 saatlik bu doku takip işlemi sonrası parafin bloklara gömülü dokulardan lam üzerine 3-5 mikronluk kesitler alınarak rutin boyama için H&E uygulandı. Bu boyama işlemi sırasında da kesitler sırasıyla xylol, düşen alkol serileri (% 96-90-80-70), hematoxilen, asetil alkol, amonyaklı su, eozin yükselen alkol serileri (% 70-80-90-96) ve izopropil alkole maruz bırakıldı ve yaklaşık 25-30 dakika süren boyama işleminden sonra en son xylolde 10 dakika şeffaflanması sağlanan kesitler entellan ve lamel ile kapatılarak değerlendirildi.

### **3.3.2.4 İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi**

Deneklerin doku örneklerinin immunohistokimyasal değerlendirilmesinde rat H-FABP için monoklonal antikor (Hycult Biotechnology, Hollanda,) kullanıldı. Preparatların hazırlanmasında uygulanan basamaklar ve süreleri aşağıda listelendi.

1. 2-3 mikron kalınlığındaki kesitler bir gece 40 derece etüvde bekletildi.
2. 20 dakika ksilolde bekletildi.
3. Azalan alkol serileri uygulandı.
4. Triss ile yıkandı ve %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'de 15 dakika bekletildi.
5. Triss ile tekrar yıkandı.
6. Ultra v blok solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
7. Primer antikor uygulanıp 30- 60 dakika bekletildi.
8. Triss ile yıkandı.
9. Biotinde 10- 20 dakika bekletildi.
10. Triss ile yıkama
11. Streptavidin peroksidazda 10- 20 dakika bekletildi.
12. Triss ile yıkandı.
13. DAB'de 5- 15 dakika bekletildi.
14. Akan çeşme suyunda 5 dakika bekletildi.
15. Mayers Hematoksilende 3- 4 saniye zıt boyama yapıldı.



16. Çeşme suyunda bir dakika yıkama yapıldıktan sonra yükselen alkol serileri uygulandı.
17. Ksilolde 5- 10 dakika şeffaflama yapılarak entellan ile kapatıldı.

### **3.3.2.5 Işık Mikroskopisi Değerlendirme Kriterleri**

H&E boyalı kesitlerde her bir grubun miyokard doku kesitlerinin değerlendirmeleri yapıldı. Tüm preparatlar nükleer hiperkromazi, sitoplazmik eozinofili, striasyon kaybı, polimorf nüveli lökosit (PNL) infiltrasyonu, hücresel şişme, kontraksiyon bandı ve nekroz olup olmadığı yönünden ışık mikroskopisi ile incelendi.

İmmunohistokimya boyalı preparatlarda; H-FABP'in normal miyokard dokusu ile karşılaştırıldığında miyokard dokusundaki kaybı ya da azalması; [0] negatif reaksiyon, [1] zayıf reaksiyon, [2] güçlü reaksiyon olarak derecelendirilerek değerlendirilmesi planlandı (20). Ancak preparatların Patoloji Anabilim Dalı tarafından yapılan değerlendirmesi sırasında H-FABP'in miyokard dokusundaki kaybının ya da azalmasının; [0] negatif reaksiyon, [1] zayıf reaksiyon, [2] orta düzeyde reaksiyon ve [3] güçlü reaksiyon olarak derecelendirilerek değerlendirildi ve immunohistokimyasal incelemeler bu derecelendirmeye uygun olarak yapıldı.

### **3.4. İstatistik Değerlendirme**

Veriler Statistical Package for the Social Sciences (SSPS) 15.0 programı kullanılarak bilgisayara kaydedildi. Veri analizinde grupların hemodinamik parametrelerinin istatistiksel değerlendirmesinde Freidman varyans analizi kullanıldı. Çalışmaya katılan tüm deneklerin kateterizasyon sonrası, LAD bağlandıktan sonra, deney sonunda kan ve doku örneği alınmadan önce elde edilen hemodinamik parametrelerinin ikili karşılaştırmaları Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanılarak yapıldı. Grupların biyokimyasal verilerinin karşılaştırılmasında nonparametrik bir test olan Kruskal- Wallis analizi kullanıldı. Biyokimyasal verilerin çözümlemesinde gruplar arasında anlamlı fark çıkması durumunda Mann- Whitney U test kullanılarak ikili karşılaştırmalar yapıldı. Grupların histopatolojik verilerinin birbiriyle ilişkisinin değerlendirilmesinde Pearson korelasyon kullanıldı. Tüm deneklerin biyokimyasal ve histopatolojik verilerin arasında ilişki olup olmadığı Pearson korelasyon ve grupların biyokimyasal ve histopatolojik verilerin arasında ilişki olup olmadığı Spearman korelasyon ile değerlendirildi. P değerinin 0.05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi (91).

## 4. BULGULAR:

### 4.1. Deney Hayvanı Modeli

Çalışma sırasında çıkabilecek sorunların saptanıp ne tür önlemler alınabileceğinin planlanabilmesi amacıyla deneylere en uzun süre LAD'si bağlı kalacak gruplar ile başlanması düşünüldü. Belirlenen gruplar içinde LAD 6.0-10 mm.lik atravmatik iğneli suture materyeli ile bağlandıktan sonra, önce 30 dakika iskemi oluşturulan gruptan bir denek ve daha sonra 45 dakika iskemi oluşturulan gruptan bir denek ile çalışmaya başlandı. Daha sonraki çalışma günlerinde önce 45 dakika, sonra sırasıyla 30 dakika, 15 dakika, 5 dakika ve sham grubu çalışıldı.

Sol karotis arterinden uygulanan kateterizasyonda sıçanın küçük bir hayvan olması nedeniyle karşılaşılan güçlükler ve sorunlarla ancak deneyimli ekip elemanı ile başa çıkılabildi.

Fizyolojik koşullarda ratların sistolik kan basıncının 88-184 mmHg, diastolik kan basıncının 58-145 mmHg, nabzının 250-450 atım/dakika olduğu bilinmektedir (92). Ratlara uygulanan kateterizasyon ile basınç monitorü ekranı yardımıyla deneklerin tansiyon arteriyel ve nabız takibi yapıldı ve araştırma veri kayıt defterine düzenli olarak elde edilen veriler not edildi. Ancak bazı deneklerde kateterin tıkanması nedeniyle hemodinamik parametreler düzenli olarak kaydedilemedi. Deneklerin gözlenmesi ile yetinildi. Çalışma süresince birinci çalışma gününde iki denek, üçüncü çalışma gününde bir denek kateterizasyon yapılamadığı için çalışmayı tamamlayamadı ve çalışma dışı bırakıldı.

### 4.2. Verilerin Değerlendirmesi

LAD'nin tam bağlı kalma süresinin hangi parametreleri ne yönde ve nasıl etkilediği araştırıldı. Bu değerlendirmelerde; elde edilen tüm verilerin hipotezde sorulan soruyu yanıtlamaya yönelik olarak hem grup içinde hem gruplar arasındaki belirleyici nitelikleri araştırıldı. Hemodinamik parametreler ile biyokimyasal ve histopatolojik verilerin birbirleri ile ilişkileri araştırıldı. Bu ilişkilerin her biri istatistiksel modellerle de sorgulandı.

### 4.3. Tüm grupların hemodinamik, biyokimya ve immunohistokimya bulguları

4.3.1 Tüm deneklerin hemodinamik parametrelerinin elde edilme zamanları ve elde edilen veriler tablo 1 ve tablo 2’de aktarıldı.

**Tablo 1:** Tüm deneklerin hemodinamik parametrelerinin elde edilme zamanları.

Çalışma günü	Grup-Denek	Uygulama saati			
		Kataterizasyon	Trakeostomi	LAD Bağlama	Örnek Alma
Birinci Çalışma Günü	2. Grup - 1. Denek	09.50		10.02	10.17
	4. Grup - 1. Denek	10.20	10.22	10.29	11.14
İkinci Çalışma Günü	3. Grup - 1. Denek	10.24	10.16	10.40	11.10
	3. Grup - 2. Denek	11.05	11.25	11.32	12.02
	4. Grup - 2. Denek	13.10		13.15	14.00
	4. Grup - 3. Denek	14.01	14.10	14.14	14.59
	4. Grup - 4. Denek	15.18		15.30	16.15
	3. Grup - 3. Denek	16.20		16.31	17.01
Üçüncü Çalışma Günü	4. Grup - 5. Denek	09.55		10.04	10.49
	4. Grup - 6. Denek	11.05	10.58	11.10	11.55
	4. Grup - 7. Denek	12.11	12.05	12.20	13.05
	3. Grup - 4. Denek	13.55	13.50	14.00	14.30
	3. Grup - 5. Denek	14.42	14.35	14.50	15.20
	3. Grup - 6. Denek	16.18	16.15	16.25	16.55
3. Grup - 7. Denek	16.45	17.00	17.03	17.33	
Dördüncü Çalışma Günü	2. Grup - 2. Denek	09.50	09.55	10.00	10.15
	2. Grup - 3. Denek	10.33	10.35	10.41	10.56
	2. Grup - 4. Denek	11.12	11.15	11.20	11.35
	2. Grup - 5. Denek	11.55	11.57	11.59	12.14
	1. Grup - 1. Denek	13.30	13.32	13.36	13.41
	2. Grup - 6. Denek	13.59	14.00	14.04	14.19
	2. Grup - 7. Denek	14.35		14.40	14.55
	1. Grup - 2. Denek	15.15	15.18	15.22	15.27
	1. Grup - 3. Denek	15.30	15.32	15.34	15.39
	1. Grup - 4. Denek	15.47		15.53	15.58
	1. Grup - 5. Denek	16.00		16.04	16.09
	1. Grup - 6. Denek	16.14		16.25	16.30
1. Grup - 7. Denek	16.29		16.34	16.39	
Beşinci çalışma Günü	Sham Grubu - 1. Denek	09.22	09.24	09.28	10.13
	Sham Grubu - 2. Denek	10.25	10.27	10.30	11.15
	Sham Grubu - 3. Denek	11.30	11.31	11.33	12.18
	Sham Grubu - 4. Denek	13.10	13.13	13.16	14.01
	Sham Grubu - 5. Denek	14.00	14.02	14.06	14.51
	Sham Grubu - 6. Denek	14.50	14.51	14.56	15.41
	Sham Grubu - 7. Denek	15.40	15.42	15.45	16.30

**Tablo 2:** Tüm deneklerin hemodinamik parametreleri.

Grup	Denek No	Kateterizasyon sonrası		LAD bağlandıktan sonra		Kan ve doku örneği alınmadan önce	
		TA mmHg	Nabız dk.	TA mmHg	Nabız dk.	TA mmHg	Nabız Dk
Birinci Grup	1	101/80	180	60/52	-	20/14	-
	2	65/52	144	60/42	108	57/33	96
	3	121/70	252	30/08	144	-	-
	4	35/08	228	43/13	180	32/14	204
	5	90/28	168	52/16	84	35/05	96
	6	55/13	192	-	-	-	-
	7	88/86	-	-	-	-	-
İkinci Grup	1	72/54	60	61/27	-	39/11	-
	2	75/61	192	42/13	96	30/15	-
	3	96/70	192	60/45	96	31/23	132
	4	80/58	228	66/45	84	82/40	144
	5	127/90	204	90/69	84	60/58	84
	6	112/79	192	24/18	96	-	-
	7	93/63	-	33/27	108	47/27	132
Üçüncü grup	1	180/161	60	160/157	-	-	-
	2	77/46	-	58/49	-	18/05	-
	3	84/59	220	57/53	120	18/09	96
	4	61/41	168	71/54	84	55/41	120
	5	58/51	-	35/20	204	27/24	-
	6	48/21	216	57/35	132	50/22	192
	7	102/66	228	143/101	144	102/77	132
Dördüncü Grup	1	79/49	-	84/69	-	22/13	-
	2	63/40	-	-	-	-	-
	3	84/46	-	41/38	-	15/12	-
	4	90/88	192	45/30	84	65/38	216
	5	82/48	240	64/37	72	24/09	96
	6	84/42	192	73/56	132	45/39	120
	7	89/85	-	81/55	84	64/46	168
Sham Grubu	1	68/47	120	36/28	84	10/07	-
	2	73/49	180	63/35	120	22/18	108
	3	106/89	240	80/54	192	57/45	144
	4	107/82	192	79/72	120	40/10	144
	5	133/80	204	63/29	132	62/19	144
	6	77/45	168	69/40	168	42/28	-
	7	47/23	192	60/46	192	77/49	132

**4.3.2.** Tüm gGruplarda yer alan deneklerin deneydeki hemodinamik parametreleri, serum H-FABP düzeyinin biyokimyasal kantitatif değerleri ve miyokard dokusunun H-FABP kaybının immunohistokimyasal yöntemle gösterilmesinde elde edilen dereceleri yansıtır genel özellikleri tablo 3’de toplu olarak gösterildi.

**Tablo 3:** Tüm grupların hemodinamik parametreleri, biyokimya ve immunohistokimya bulguları

Grup	Denek	Kateterizasyon sonrası		LAD bağlandıktan sonra		Kan ve doku örneği alınmadan önce		Postmortem değerlendirme	
		TA mmHg	Nabız dk.	TA mmHg	Nabız dk.	TA mmHg	Nabız Dk.	Serum H-FABP	H-FABP kayıp derecesi
Birinci Grup	1	101/8	180	60/52	-	20/14	-	3,51	2 +
	2	65/52	144	60/42	108	57/33	96	2,62	3 +
	3	121/7	252	30/08	144	-	-	0,70	3 +
	4	35/08	228	43/13	180	32/14	204	2,15	3 +
	5	90/28	168	52/16	84	35/05	96	3,50	1 +
	6	55/13	192	-	-	-	-	3,52	2 +
	7	88/86	-	-	-	-	-	4,98	1 +
İkinci Grup	1	72/54	60	61/27	-	39/11	-	15,25	2 +
	2	75/61	192	42/13	96	30/15	-	11,83	1 +
	3	96/70	192	60/45	96	31/23	132	20,85	1 +
	4	80/58	228	66/45	84	82/40	144	14,74	1 +
	5	127/9	204	90/69	84	60/58	84	10,14	1 +
	6	112/7	192	24/18	96	-	-	2,88	1 +
	7	93/63	-	33/27	108	47/27	132	7,14	3 +
Üçüncü grup	1	180/1	60	160/157	-	-	-	6,74	3 +
	2	77/46	-	58/49	-	18/05	-	14,03	2 +
	3	84/59	220	57/53	120	18/09	96	9,90	1 +
	4	61/41	168	71/54	84	55/41	120	10,76	3 +
	5	58/51	-	35/20	204	27/24	-	11,63	2 +
	6	48/21	216	57/35	132	50/22	192	7,81	1 +
	7	102/6	228	143/101	144	102/77	132	3,06	3 +
Dördüncü Grup	1	79/49	-	84/69	-	22/13	-	13,52	1 +
	2	63/40	-	-	-	-	-	18,37	1 +
	3	84/46	-	41/38	-	15/12	-	12,60	3 +
	4	90/88	192	45/30	84	65/38	216	7,99	3 +
	5	82/48	240	64/37	72	24/09	96	13,67	-
	6	84/42	192	73/56	132	45/39	120	8,85	1 +
	7	89/85	-	81/55	84	64/46	168	10,46	2 +
Sham Grubu	1	68/47	120	36/28	84	10/07	-	20,40	3 +
	2	73/49	180	63/35	120	22/18	108	8,02	1 +
	3	106/8	240	80/54	192	57/45	144	5,66	2 +
	4	107/8	192	79/72	120	40/10	144	9,37	2 +
	5	133/8	204	63/29	132	62/19	144	11,89	-
	6	77/45	168	69/40	168	42/28	-	1,73	1 +
	7	47/23	192	60/46	192	77/49	132	3,99	2 +

Tablo 3’de deneyler sırasında basınç monitörü ekranından alınan hemodinamik parametreler aktarıldı. Ancak kateter tıkanıklığı nedeniyle basınç monitörü ekranından bulgu elde edilemeyen ve gözlenerek takip edilen deneklere ait hemodinamik parametreler yansıtılmadı. Çalışma boyunca hemodinamik parametrelerin takibinde en çok nabız sayımında sıkıntı yaşandı.

#### 4.3.3 Grupların Hemodinamik Parametrelerinin Karşılaştırılması

Deney sırasında deneklerin hemodinamik parametreleri beklenen şekilde etkilendi. Deney süresince önceden de belirtildiği gibi bazı deneklerin nabız takibi düzenli olarak yapılamadığından istatistiksel olarak değerlendirmeye alınmadı.

Her grupta sistolik kan basıncı değerlerinin çoğunlukla kateterizasyon sonrası fizyolojik sınırlarda kalmadığı gözlemlendi. Sistolik kan basıncı ortalama değerlerinin kateterizasyon sonrası düştüğü, LAD bağlandıktan sonra da sistolik kan basıncının düştüğü, LAD bağlı kalma süresinden bağımsız olarak sistolik kan basıncı değerlerinin azaldığı izlendi.

Her bir çalışma grubunun sistolik kan basıncı ortalamaları değerlendirildiğinde kateterizasyon sonrası, LAD bağlandıktan sonra, deney sonunda kan ve doku örneği alınmadan önce elde edilen sistolik kan basıncı ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Friedman testi,  $\chi^2 = 29.443$ ,  $p=0.000$ ). Grupların sistolik kan basıncı ortalamaları ve farklılığın istatistiksel değerlendirmesi aşağıda tablo 4’de aktarıldı.

**Tablo 4:** Grupların sistolik kan basıncı ortalamalarının karşılaştırılması.

Gruplar	Sistolik Kan Basıncı Ortalamaları (mmHg)			$\chi^2^*$	p
	Kateterizasyon sonrası	LAD bağlandıktan sonra	Kan ve doku örneği alınmadan önce		
1. Grup	72.75 ± 29.33	53.75 ± 8.10	36.00 ± 15.42	29.443	0.000
2. Grup	90.50 ± 20.30	58.66 ± 19.89	48.16 ± 19.97		
3. Grup	71.66 ± 19.80	70.16 ± 37.51	45.00 ± 32.11		
4. Grup	84.66 ±	64.66 ± 18.20	39.16 ± 22.03		
Sham	87.28 ± 29.25	64.28 ± 14.76	44.28 ± 23.24		

\*Friedman testi

Tüm deneklerin *a)* Kateterizasyon sonrası - LAD bağlandıktan sonra elde edilen sistolik kan basıncı ortalamaları, *b)* Kateterizasyon sonrası - Deney sonunda kan ve doku örnekleri alınmadan önce elde edilen sistolik kan basıncı ortalamaları, *c)* LAD bağlandıktan sonra – Deney sonunda kan ve doku örnekleri alınmadan önce elde edilen sistolik kan basıncı ortalamaları karşılaştırıldı. Yapılan bu ikili karşılaştırmalarda *a,b,c* gruplarının birbirinden farklı sistolik kan basıncı ortalamalarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Wilcoxon işaretli sıralar testi,  $p=0.000$ ). Deneklerin sistolik kan basıncı ortalamalarının ikili karşılaştırmaları aşağıda tablo 5’de aktarıldı.

**Tablo 5:** Deneklerin sistolik kan basıncı ortalamalarının ikili karşılaştırmaları.

Sistolik Kan Basıncı Ortalaması	Z*	p
Kateterizasyon sonrası - LAD bağlandıktan sonra	- 3.899	0.000
Kateterizasyon sonrası - Deney sonunda kan ve doku örnekleri alınmadan önce	- 4.373	0.000
LAD bağlandıktan sonra - Kan ve doku örnekleri alınmadan önce	- 3.850	0.000

\*Wilcoxon işaretli sıralar testi

Her grupta diastolik kan basıncı değerlerinin kateterizasyon sonrası fizyolojik sınırlarda kalmadığı düşme eğiliminde olduğu gözlemlendi. Diastolik kan basıncı ortalama değerlerinin kateterizasyon sonrası düştüğü, LAD bağlandıktan sonra da kan basıncının düştüğü, LAD bağlı kalma süresinden bağımsız olarak diastolik basınç değerlerinin azaldığı izlendi.

Her bir çalışma grubunun kateterizasyon sonrası, LAD bağlandıktan sonra, deney sonunda kan ve doku örneği alınmadan önce elde edilen diastolik kan basıncı ortalamaları arasında ki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Friedman testi,  $\chi^2 = 22.439$ ,  $p=0.000$ ). Grupların diastolik kan basıncı ortalamaları ve farklılığın istatistiksel değerlendirilmesi aşağıda tablo 6’da aktarıldı.

**Tablo 6:** Grupların diastolik kan basıncı ortalamalarının karşılaştırılması.

Gruplar	Diastolik kan basıncı ortalamaları (mmHg)			$\chi^2$ *	p
	Kateterizasyon sonrası	LAD bağlandıktan sonra	Kan ve doku örneği alınmadan önce		
1. Grup	42.00 ± 31.06	30.75 ± 19.24	16.50 ± 11.78	22.439	0.000
2. Grup	66.00 ± 12.91	37.66 ± 19.62	29.00 ± 17.44		
3. Grup	47.33 ± 15.70	52.00 ± 27.30	29.66 ± 26.43		
4. Grup	59.66 ± 20.94	47.50 ± 14.81	26.16 ± 22.03		
Sham	59.28 ± 224.51	43.42 ± 15.61	25.14 ± 16.42		

\*Friedman testi

Tüm deneklerin *a)* Kateterizasyon sonrası - LAD bağlandıktan sonra elde edilen diastolik kan basıncı ortalamaları, *b)* Kateterizasyon sonrası - Deney sonunda kan ve doku örnekleri alınmadan önce elde edilen diastolik kan basıncı ortalamaları, *c)* LAD bağlandıktan sonra – Deney sonunda kan ve doku örnekleri alınmadan önce elde edilen diastolik kan basıncı ortalamaları karşılaştırıldı. Yapılan bu ikili karşılaştırmalarda *a,b,c* gruplarının birbirinden farklı diastolik kan basıncı ortalamalarının olduğu saptandı. Bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Wilcoxon işaretli sıralar testi,  $p=0.000$ ). Deneklerin diastolik kan basıncı ortalamalarının ikili karşılaştırmaları aşağıda tablo 7’de aktarıldı.

**Tablo 7:** Deneklerin diastolik kan basıncı ortalamalarının ikili karşılaştırmaları.

Diastolik Kan Basıncı Ortalaması	Z*	p
Kateterizasyon sonrası - LAD bağlandıktan sonra	- 2.964	0.003
Kateterizasyon sonrası - Deney sonunda kan ve doku örnekleri alınmadan önce	- 4.236	0.000
LAD bağlandıktan sonra - Kan ve doku örnekleri alınmadan önce	- 4.259	0.000

\*Wilcoxon işaretli sıralar testi

Elde edilen bu bulgular; deneklerin hemodinamik parametrelerinin takibinde kullanılan kateterizasyon uygulamasının deneklerde ciddi strese neden olduğunu gösterdi. Bu koşullardaki deneğe LAD bağlanmasının tabloyu daha da ağırlaştırdığı izlendi. LAD bağlanmayan Sham grubunda da hemodinamik parametrelerin azalarak seyretmesi



kateterizasyonla hemodinamik parametrelerin monitorizasyonunun hipoksik kalp modeli oluşturulmasında riskli bir izleme modeli olduğunu düşündürdü.

#### 4.4. Biyokimyasal İnceleme Bulguları

##### 4.4.1. Deney Gruplarının Serum H-FABP Değerleri

Deneklerin serumlarında ELİSA kiti yardımıyla solid faz enzim bağımlı immunosorbent yöntemi ile H-FABP düzeyinin ölçüm yöntemi tüm deneklerin örneklerine başarı ile uygulandı, bir sorunla karşılaşılmadı.

##### 4.4.1.1. Ratların Serum H-FABP Fizyolojik Değeri

Ratların serum H-FABP normal değerlerinin belirlenmesi için hiçbir cerrahi işlem uygulanmayan ve deneyin diğer basamaklarına alınmayan yedi denekten oluşan kontrol grubunun ELİSA kiti yardımıyla solid faz enzim bağımlı immunosorbent ölçüm yöntemi ile elde edilen serum H-FABP değerleri tablo 8’de aktarıldı.

**Tablo 8:** Kontrol grubunun serum H-FABP değerleri.

Kontrol Grubu	H-FABP serum düzeyi (ng/ml)	Ortalama Değer (ng/ml)	Standart Sapma
Denek 1	2.785	2.7967	0.56638
Denek 2	2.917		
Denek 3	2.443		
Denek 4	3.233		
Denek 5	3.760		
Denek 6	2.206		
Denek 7	2.233		

Kontrol grubunda serum H-FABP değeri en düşük 2.206 ng/ml, en yüksek 3.760 ng/ml, ortalama 2.7967 ng/ml, standart sapması 0.56638 ng/ml olarak belirlendi. Elde edilen bu ortalama değer çalışma gruplarının verilerinin karşılaştırmalarında beklenen normal fizyolojik değer (baseline value) kabul edilerek kullanıldı. Serum H-FABP’ın istatistiksel değerlendirmelerinde kolaylık olması açısından bu gruba kontrol grubu adı verildi. Aşağıda bu parametre ile ilgili tablolarda bu tanımlama kullanılmıştır.

**4.4.1.2.** Sham grubu (LAD bağlanmayıp sadece çalışma alanından atravmatik iğneli sütün materyeli geçirilen grup) deneklerinin ELİSA kiti yardımıyla solid faz enzim bağımlı immunosorbent ölçüm yöntemi ile elde edilen serum H-FABP değerleri tablo 9’da aktarıldı.

**Tablo 9:** Sham grubunun serum H-FABP değerleri.

Sham grubu	H-FABP serum düzeyi (ng/ml)	Ortalama Değer (ng/ml)	Standart Sapma
Denek 1	20.40	8.7223	6.16554
Denek 2	8,02		
Denek 3	5,66		
Denek 4	9,37		
Denek 5	11,89		
Denek 6	1.73		
Denek 7	3.99		

Sham grubunda serum H-FABP değeri en düşük 1.73 ng/ml, en yüksek 20.40 ng/ml, ortalama 8.7223 ng/ml, standart sapması 6.16554 ng/ml olarak belirlendi.

Sham grubunda serum H-FABP değerleri baseline değerden (en düşük 2.206 ng/ml, en yüksek 3.760 ng/ml, ortalama 2.7967 ng/ml) çok farklı düzeylerde bulundu. Grup ortalaması ve standart sapmanın yüksekliği kateter uygulamasının denekte oluşturduğu strese bağlı hipoksik bir durum olarak değerlendirildi. Kateter uygulamalarının deneyimli araştırmacı tarafından uygulanmış olması bu farklılığın uygulamadaki yetersizliklerden çok deneklerin bu tür streslere hassas olmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

**4.4.1.3.** Birinci grupta (LAD beş dakika bağlı kalan grup) deneklerin ELİSA kiti yardımıyla solid faz enzim bağımlı immunosorbent ölçüm yöntemi ile elde edilen serum H-FABP değerleri tablo 10’da aktarıldı.

**Tablo 10:** Birinci grubun serum H-FABP değerleri.

<b>1. Grup</b>	<b>H-FABP serum düzeyi (ng/ml)</b>	<b>Ortalama Değer (ng/ml)</b>	<b>Standart Sapma</b>
Denek 1	3,51	2.9961	1.34467
Denek 2	2,62		
Denek 3	0.70		
Denek 4	2,15		
Denek 5	3,50		
Denek 6	3,52		
Denek 7	4,98		

Birinci grupta serum H-FABP deęerleri; en dűşük 0.70 ng/ml, en yüksek 4.98 ng/ml, ortalama 2.9961 ng/ml, standart sapması 1.34467 ng/ml olarak belirlendi. Baseline deęer (en dűşük 2.206 ng/ml, en yüksek 3.760 ng/ml, ortalama 2.7967 ng/ml)

**4.4.1.4.** İkinci grupta (LAD 15 dakika bağlı kalan grup) deneklerin ELİSA kiti yardımıyla solid faz enzim bağımlı immunosorbent ölçüm yöntemi ile elde edilen serum H-FABP değerleri tablo 11’de aktarıldı.

**Tablo 11:** İkinci grubun serum H-FABP değerleri.

<b>2. Grup</b>	<b>H-FABP serum düzeyi (ng/ml)</b>	<b>Ortalama Değer (ng/ml)</b>	<b>Standart Sapma</b>
Denek 1	15,25	11.8323	5.86610
Denek 2	11,83		
Denek 3	20,85		
Denek 4	14,74		
Denek 5	10,14		
Denek 6	2,88		
Denek 7	7,14		

İkinci grupta serum H-FABP deęerleri; en dűşük 2.88 ng/ml, en yüksek 20.85 ng/ml, ortalama 11.8323 ng/ml, standart sapması 5.86610 ng/ml olarak belirlendi. Baseline deęer (en dűşük 2.206 ng/ml, en yüksek 3.760 ng/ml, ortalama 2.7967 ng/ml)

**4.4.1.5.** Üçüncü grupta (LAD 30 dakika bağlı kalan grup) deneklerin ELİSA kiti yardımıyla solid faz enzim bağımlı immunosorbent ölçüm yöntemi ile elde edilen serum H-FABP değerleri tablo 12’de aktarıldı.

**Tablo 12:** Üçüncü grubun serum H-FABP değerleri.

<b>3. Grup</b>	<b>H-FABP serum düzeyi (ng/ml)</b>	<b>Ortalama Değer (ng/ml)</b>	<b>Standart Sapma</b>
Denek 1	6,74	9.1330	3.60123
Denek 2	14,03		
Denek 3	9,90		
Denek 4	10,76		
Denek 5	11,63		
Denek 6	7,81		
Denek 7	3,06		

Üçüncü grupta serum H-FABP değeri en düşük 3.06 ng/ml, en yüksek 14.03 ng/ml, ortalama 9.1330 ng/ml, standart sapması 3.60123 ng/ml olarak belirlendi. Baseline değer (en düşük 2.206 ng/ml, en yüksek 3.760 ng/ml, ortalama 2.7967 ng/ml)

**4.4.1.6.** Dördüncü grupta (LAD 45 dakika bağlı kalan grup) deneklerin ELİSA kiti yardımıyla solid faz enzim bağımlı immunosorbent ölçüm yöntemi ile elde edilen serum H-FABP değerleri tablo 13’de aktarıldı.

**Tablo 13:** Dördüncü grubun serum H-FABP değerleri.

<b>4. Grup</b>	<b>H-FABP serum düzeyi (ng/ml)</b>	<b>Ortalama Değer (ng/ml)</b>	<b>Standart Sapma</b>
Denek 1	13,52	12.2080	3.51446
Denek 2	18,37		
Denek 3	12,60		
Denek 4	7,99		
Denek 5	13,67		
Denek 6	8,85		
Denek 7	10,46		

Dördüncü grupta serum H-FABP değeri en düşük 7.99 ng/ml, en yüksek 18.37 ng/ml, ortalama 12.2080 ng/ml, standart sapması 3.51446 ng/ml olarak belirlendi. Baseline değer (en düşük 2.206 ng/ml, en yüksek 3.760 ng/ml, ortalama 2.7967 ng/ml)

#### 4.5. Grupların Serum H-FABP Değerlerinin İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

Serum H-FABP düzeyi ortalamasının kontrol grubunda en düşük, dördüncü grupta ise en yüksek olduğu gözlemlendi. Gruplarda bulunan deneklerin serum H-FABP düzeyi ortalamaları istatistiksel yönden değerlendirildiğinde; gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Kruskal- Wallis testi,  $\chi^2 = 22.547$ ,  $p = 0.000$ ). Grupların serum H-FABP düzeylerinin ortalamaları ve farklılığın istatistiksel değerlendirmesi aşağıda tablo 14’de aktarıldı.

**Tablo 14:** Grupların Serum H-FABP Değerlerinin Karşılaştırılması.

Gruplar	H-FABP Serum Düzeyi (ng/ml)		$\chi^2$ *	p
	Ortalama	Standart sapma		
1. Grup	2.99	1.34	22.547	0.000
2. Grup	11.83	5.86		
3. Grup	9.13	3.60		
4. Grup	12.21	3.51		
Sham Grubu	8.72	6.16		
Kontrol Grubu	2.79	0.56		

\*Kruskal- Wallis testi

Yukarıda belirtilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunan farklılığın nereden kaynaklandığının ortaya konabilmesi için Mann- Whitney U testine göre ikili grup karşılaştırmaları yapıldı. Birinci grup ve sağlıklıların ayrı ayrı ikinci, üçüncü, dördüncü ve sham grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Mann- Whitney U testi,  $p < 0.05$ ). Birinci grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi (Mann- Whitney U testi,  $p > 0.05$ ). İkinci, üçüncü, dördüncü ve beşinci gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında; bu grupların serum H-FABP düzeyleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi (Mann- Whitney U testi,  $p > 0.05$ ). İkili grup karşılaştırmaları aşağıda tablo 15’de aktarıldı.

**Tablo 15:** Serum H-FABP Değerleri yönünden İkili Grup Karşılaştırmaları.

Grup Karşılaştırmaları	<i>t</i> <sup>*</sup>	<i>p</i>
1. Grup – 2. Grup	4.000	0.009
1. Grup -3. Grup	4.000	0.009
1. Grup – 4. Grup	0.000	0.002
1. Grup- Sham Grubu	7.000	0.025
1. Grup – Kontrol grubu	21.000	0.655
2. Grup – 3. Grup	16.000	0.277
2. Grup – 4. Grup	24.000	0.949
2. Grup – Sham Grubu	16.000	0.277
2. Grup – Kontrol Grubu	3.000	0.006
3. Grup – 4. Grup	14.000	0.180
3. Grup – Sham Grubu	21.000	0.655
3. Grup – Kontrol Grubu	2.000	0.004
4. Grup - Sham Grubu	13.000	0.142
4. Grup – Kontrol Grubu	0.000	0.002
Sham Grubu – Kontrol Grubu	7.000	0.025

\* Mann Whitney U testi

Elde edilen bu bulgular ve istatistiksel değerlendirmeleri, LAD bağlanma süresine koşut olmaksızın her denekte farklı serum H-FABP düzeyleri ölçüldüğü, çoğunun baseline değerden yüksek (en düşük 2.206 ng/ml, en yüksek 3.760 ng/ml, ortalama 2.7967 ng/ml) olduğu anlaşıldı. Ancak bu yüksekliğin LAD bağlanma süresinin uzunluğunu yansıtır nitelikte olmadığı düşünüldü.

#### 4.6. Histopatolojik İncelemeler

Deneklerin histopatolojik incelemeleri birbirinin değerlendirme bulgularından habersiz üç deneyimli patoloj tarafından ikişer kez yapıldı. Bu patolojlar ayrıca inceledikleri preparatın hangi gruptaki deneğe ait olduğunu da bilmeden değerlendirmelerini yaptı. İki kez değerlendirilen preparatlarda benzer bulguların elde edildiği görüldü.

##### 4.6.1. H&E Boyalı Preparatlarda Gözlenen Bulgular

Sham grubu ve diğer deney gruplarındaki deneklerin miyokard dokusu örneklerinde miyokard hücrelerinde striasyon kaybı, sitoplazmik eozinofili, kontraksiyon bandı, nükleer hiperkromazi, hücresel şişme, nekroz varlığı ve miyokard dokusunda polimorf

nüveli lökosit infiltrasyonunun varlığı hipoksi kriteri olarak H&E boyalı preparatlarda araştırıldı. Bulgular istatistiksel olarak değerlendirildi.

**4.6.1.1. Birinci grubun (LAD beş dakika bağlı kalan grup) H&E boyalı preparatlarının değerlendirilmesi:** Bir numaralı denekte sol ventrikül duvarı lateral bölgede ve papiller kaslar içinde fokal eozinofili izlendi. Bu alanlardaki miyositlerin striasyonları korunmuştu. İki, ve yedi numaralı deneklerde sol ventrikül duvarı lateral bölgede, beş numaralı denekte sol ventrikülde papiller kaslarda, üç numaralı denekte interventriküler septumda, sağ ve sol ventrikül papiller kaslarında fokal eozinofili, bu alanlarda miyositlerde belirgin striasyon kaybı gözlemlendi. Tanımlanan bu değişikliklerin büyük bölümü subendokardiyal yerleşimliydi. Dört ve altı numaralı deneklerde ışık mikroskopisinde herhangi bir değişiklik ayırt edilmedi. Bu grubun H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulgularının genel dökümü tablo 16'da aktarıldı.

**Tablo 16:** Birinci grupta (LAD beş dakika bağlı kalan grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.

Denek no.	1	2	3	4	5	6	7
Nükleer Hiperkromazi	-	-	-	-	-	-	-
Sitoplazmik eozinofili	+	+	+	-	+	-	+
Striasyon kaybı	-	+	+	-	+	-	+
PNL infiltrasyonu	-	-	-	-	-	-	-
Hüresel şişme	-	-	-	-	-	-	-
Kontraksiyon bandı	-	-	-	-	-	-	-
Nekroz	-	-	-	-	-	-	-

**4.6.1.2. İkinci grubun (LAD 15 dakika bağlı kalan grup) H&E boyalı preparatlarının değerlendirilmesi:** İki ve beş numaralı deneklerde sol ventrikül papiller kaslarında fokal subendokardiyal eozinofili izlendi. Bu alanlardaki miyositlerin striasyonları korunmuştu. Bir, üç, dört, altı ve yedi numaralı deneklerde mikroskopisinde herhangi bir değişiklik ayırt edilmedi. Bu grubun H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulgularının genel dökümü tablo 17'de aktarıldı.

**Tablo 17:** İkinci grupta (LAD 15 dakika bağlı kalan grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.

Denek no.	1	2	3	4	5	6	7
Nükleer Hiperkromazi	-	-	-	-	-	-	-
Sitoplazmik eozinofili	-	+	-	-	+	-	-
Striasyon kaybı	-	-	-	-	-	-	-
PNL infiltrasyonu	-	-	-	-	-	-	-
Hüresel şişme	-	-	-	-	-	-	-
Kontraksiyon bandı	-	-	-	-	-	-	-
Nekroz	-	-	-	-	-	-	-

**4.6.1.3. Üçüncü grubun (LAD 30 dakika bağlı kalan grup) H&E boyalı preparatlarının değerlendirilmesi:** İki numaralı denekte miyokard kesitlerinde sol ventrikül papiller kaslarında fokal subendokardiyal eozinofili izlendi. Bu alanlarda miyositlerin striasyonları korunmuştu. Üç numaralı denekte sol ventrikül duvarı lateral bölgede, beş ve yedi numaralı deneklerde interventriküler septumda fokal subendokardiyal eozinofili gözlemlendi. Bu alanlarda miyositlerde striasyon kaybı da izlendi. Bir, dört ve altı numaralı deneklerde ışık mikroskopisinde herhangi bir değişiklik ayırt edilmedi. Bu grubun H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulgularının genel dökümü tablo 18’de aktarıldı.

**Tablo 18:** Üçüncü grupta (LAD 30 dakika bağlı kalan grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.

Denek no.	1	2	3	4	5	6	7
Nükleer Hiperkromazi	-	-	-	-	-	-	-
Sitoplazmik eozinofili	-	+	+	-	+	-	+
Striasyon kaybı	-	-	+	-	+	-	+
PNL infiltrasyonu	-	-	-	-	-	-	-
Hüresel şişme	-	-	-	-	-	-	-
Kontraksiyon bandı	-	-	-	-	-	-	-
Nekroz	-	-	-	-	-	-	-

**4.6.1.4. Dördüncü grubun (LAD 45 dakika bağlı kalan grup) H&E boyalı preparatlarının değerlendirilmesi:** Bir numaralı denekte sol ventrikül papiller kaslarda miyositlerde fokal nükleus kaybı, iki numaralı olguda sol ventrikül papiller kaslarda fokal



subendokardiyal hücre şişmeleri izlendi. Dört ve beş numaralı deneklerde sol ventrikül papiller kaslarda subendokardiyal hücrelerde şişme, interstisyel ödem ve eozinofili gözlemlendi. Ayrıca beş numaralı denekte bu bulgulara ek olarak bazı miyositlerde yer yer nükleer atipi mevcuttu. Altı numaralı denekte miyokardiyal hücrelerde fokal nükleer dejenerasyon ve hiperkromazi gözlemlendi. Üç ve yedi numaralı deneklerde ışık mikroskopisinde herhangi bir değişiklik ayırt edilmedi. Bu grubun H&E preparatlarının değerlendirme bulgularının genel dökümü tablo 19’da aktarıldı.

**Tablo 19:** Dördüncü grupta (LAD 45 dakika bağlı kalan grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.

<b>Denek no.</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
Nükleer Hiperkromazi	-	-	-	-	-	+	-
Sitoplazmik eozinofili	-	-	-	+	+	-	-
Striasyon kaybı	-	-	-	+	-	-	-
PNL infiltrasyonu	-	-	-	-	-	-	-
Hüresel şişme	-	+	-	+	+	-	-
Kontraksiyon bandı	-	-	-	-	-	-	-
Nekroz	-	-	-	-	-	-	-

**4.6.1.5. Sham grubunun (LAD bağlanmayıp sadece çalışma alanından atravmatik iğneli sütür materyeli geçirilen grup) H&E boyalı preparatlarının değerlendirilmesi:**

Bir ve yedi numaralı deneklerde sol ventrikül papiller kaslarda, dört numaralı denekte sol ventrikül duvarı lateral bölgede ve papiller kaslarda fokal subendokardiyal eozinofili izlendi. Bu alanlarda miyositlerin striasyonları kaybolmuştu. İki numaralı denekte interventriküler septumda fokal eozinofili mevcuttu. Fakat bu alanlarda miyositlerin striasyonları korunmuştu. Üç, beş ve altı numaralı deneklerde ışık mikroskopisinde herhangi bir değişiklik ayırt edilmedi. Bu grubun H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulgularının genel dökümü tablo 20’de aktarıldı.

**Tablo 20:** Sham grubunun (LAD bağlanmayıp sadece çalışma alanından atravmatik iğneli sütün materyeli geçirilen grup) miyokard kesitlerinin H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları.

Denek no.	1	2	3	4	5	6	7
Nükleer Hiperkromazi	-	-	-	-	-	-	-
Sitoplazmik eozinofili	+	+	-	+	-	-	+
Striasyon kaybı	+	-	-	+	-	-	+
PNL infiltrasyonu	-	-	-	-	-	-	-
Hüresel şişme	-	-	-	-	-	-	-
Kontraksiyon bandı	-	-	-	-	-	-	-
Nekroz	-	-	-	-	-	-	-

Yukarıda aktarılan bulgulardan da anlaşılacağı gibi; hipoksi kriterlerinin izlendiği anatomik bölge ve bu bölgedeki yerleşim lokalizasyonu çok çeşitlilik gösteriyordu.

H&E boyalı preparatlarda herhangi bir iskemik değişikliğin var olup olmadığı değerlendirildiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ( $\chi^2$ :2.763, p= 0.598) (Tablo 21).

**Tablo 21:** İncelenen gruplar ile H&E boyalı preparatlarda gözlenen değişiklikler arasındaki ilişki.

Gruplar	Herhangi bir Hipoksi Kriteri İzlenen Denek Sayısı H&E		$\chi^2$ *	p
	Var	Yok		
1. Grup	5	2	2.763	0.598
2. Grup	2	5		
3. Grup	4	3		
4. Grup	4	3		
Sham Grubu	4	3		
Toplam	19	16		

\* Pearson ki-kare

H&E boyalı preparatlarda gözlenen hipoksi kriterlerinin gruplara göre dağılımı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; gruplar arasında anlamlı fark olmadığı belirlendi ( $\chi^2$ :26.500, p= 0.328) (Tablo 22).

**Tablo 22:** İncelenen gruplar ile H&E boyalı preparatlarda gözlenen bulgular arasındaki ilişki.

Gruplar	Hipoksi Kriterleri İzlenen Denek Sayısı H&E							$\chi^2^*$	p
	Nükleer Dëğ.	Eozinofili	Eozinofili+ Striasyon kaybı	Eozinofili + Striasyon kaybı + Hücrel şışme	Eozinofili + Hücrel şışme	Hücrel şışme	Bulgu yok		
1. Grup	0	1	4	0	0	0	2	26.500	0.328
2. Grup	0	2	0	0	0	0	5		
3. Grup	0	1	3	0	0	0	3		
4. Grup	1	0	0	1	1	1	3		
Sham	0	1	3	0	0	0	3		
Toplam	1	5	10	1	1	1	16		

\* Pearson ki-kare

Sham grubunda da hipoksi kriteri olarak değeriendirilebilecek bazı bulgular gözlendi. Deneyin diğeri gruplarında bu kriterlerin izlenmesi ile LAD bağlanma süreleri arasında koşut bir artma izlenmedi. Bu bulgu istatistiksel olarak da gösterildi.

#### 4.6.2. İmmunohistokimya Boyalı Preparatlarda Gözlenen Bulgular

İmmunohistokimya uygulamasında ileri derecede deneyimli patoloji laboratuvarında, deneklerin miyokard örneklerini bulunduran preparatlara boyama başarı ile uygulandı. Her bir deneğinin miyokard dokusunda H-FABP kaybı derecelendirilirken, bu değışikliğinin izlendiğii anatomik bölge ve o bölgedeki yerleşim lokalizasyonu belirtildi. Üç farklı patoloğinin bulguları iki kez değeriendirmede de aynı idi. Grupların immunohistokimya boyalı preparatlarının değeriendirme bulguları aşığıda aktarıldı.

**4.6.2.1. Birinci grubun (LAD beş dakika bağılı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarının değeriendirilmesi:** İki, dört, altı ve yedi numaralı deneklerde sol ventrikül duvarı lateralinde, üç numaralı denekte sol ventrikül duvarı laterali, apeks ve papiller kaslar içinde miyokardiyal hücrelerde farklı derecelerde H-FABP kaybı gözlendi. Bir numaralı denekte sadece apekste, beş numaralı olguda ise interventriküler septumda

ve sol ventrikül papiller kaslarda H-FABP boyanma kaybı izlendi. Bu grubun immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirme bulgularının genel dökümü tablo 23’de aktarıldı.

**Tablo 23:** Birinci grupta (LAD beş dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.

Denek no.	H-FABP Kayıp Derecesi	Gözlendiği Anatomik Bölge	Lokalizasyon
Denek 1	2	Sol ventrikül	İntramural
Denek 2	3	Sol ventrikül	İntramural
Denek 3	3	Sol ventrikül	Subend.+ İntramural
Denek 4	3	Sol ventrikül	İntramural
Denek 5	1	İntervent. septum	Subend.
Denek 6	2	Sol ventrikül	Subend.+ İntramural
Denek 7	1	Sol ventrikül	İntramural

**4.6.2.2. İkinci grubun (LAD 15 dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirilmesi:** İki ve dört numaralı denekte sol ventrikül duvarı lateralinde, üç, altı ve yedi numaralı deneklerde interventriküler septumda, bir numaralı olguda sol ventrikül papiller kasları içinde miyokardiyal hücrelerde farklı derecelerde H-FABP kaybı gözlemlendi. Beş numaralı denekte sol ventrikül duvarı lateralinde, interventriküler septumda ve apekte H-FABP kaybı gözlemlendi. Bu grubun immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirme bulgularının genel dökümü tablo 24’de aktarıldı.

**Tablo 24:** İkinci grupta (LAD 15 dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.

Denek no.	H-FABP Kayıp Derecesi	Gözlendiği Anatomik Bölge	Lokalizasyon
Denek 1	2	Sol ventrikül	Subend.
Denek 2	1	Sol ventrikül	Subend.
Denek 3	1	İntervent. septum	Subend.
Denek 4	1	Sol ventrikül	Subend.
Denek 5	1	Sol ventrikül+ İntervent. septum	Subend.+ İntramural
Denek 6	1	İntervent. septum	Subend.
Denek 7	3	İntervent. septum	İntramural

**4.6.2.3. Üçüncü grubun (LAD 30 dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirilmesi:** Bir ve iki numaralı denekte sol ventrikül duvarı lateralinde, üç, dört, altı ve yedi numaralı deneklerde hem sol ventrikül duvarı lateralinde hem de interventriküler septumda farklı derecelerde H-FABP kaybı gözlemlendi. Yedi numaralı denekte interventriküler septumda gözlenen kayıp (derece 3), sol ventrikül duvarı lateralinde gözlenen kayıptan (derece 2) daha fazla olarak değerlendirildi. Beş numaralı denekte H-FABP kaybı sol ventrikül papiller kasları içinde izlendi. Bu grubun immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirme bulgularının genel dökümü tablo 25’de aktarıldı.

**Tablo 25:** Üçüncü grupta (LAD 30 dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.

<b>Denek no.</b>	<b>H-FABP Kayıp Derecesi</b>	<b>Gözlemlendiği Anatmik Bölge</b>	<b>Lokalizasyon</b>
Denek 1	3	Sol ventrikül	İntramural
Denek 2	2	Sol ventrikül	Subend.
Denek 3	1	Sol ventrikül+ İntervent. septum	Subend.
Denek 4	3	Sol ventrikül+ İntervent. septum	İntramural
Denek 5	2	Sol ventrikül	Subend.
Denek 6	1	Sol ventrikül+ İntervent. septum	Subend.
Denek 7	3	Sol ventrikül+ İntervent. septum	Subend.+ İntramural

**4.6.2.4. Dördüncü grubun (LAD 45 dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirilmesi:** İki, dört, ve yedi numaralı deneklerde sol ventrikül duvarı lateralinde, bir ve altı numaralı denekte interventriküler septumda farklı derecelerde H-FABP kaybı gözlemlendi. Üç numaralı denekte sağ ve sol ventrikül duvarı lateralinde intramural, interventriküler septumda subendokardiyal alanda H-FABP kaybı gözlemlendi. Beş numaralı denekte papiller kasları içeren kesitlerde H-FABP kaybı izlenimi veren alanlar mevcuttu. Aynı alanların H&E boyalı preparatları ile birlikte karşılaştırmalı olarak yapılan değerlendirmelerinde yaygın ödemin izlendiği alanlarda H-FABP

özelliğinin azalmasına bağlı olarak böyle bir görünüm izlendiği düşünüldü. Bu grubun immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirme bulgularının genel dökümü tablo 26’da aktarıldı.

**Tablo 26:** Dördüncü grupta (LAD 45 dakika bağlı kalan grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.

Denek no.	H-FABP Kayıp Derecesi	Gözlendiği Anatmik Bölge	Lokalizasyon
Denek 1	1	İntervent. septum	Subend.
Denek 2	1	Sol ventrikül	Subend.
Denek 3	3	Sağ ventrikül+ Sol ventrikül+ İntervent. septum	Subend.+ İntamural
Denek 4	3	Sol ventrikül	Subend.+ İntamural
Denek 5	0	-	-
Denek 6	1	İntervent. septum	Subend.
Denek 7	2	Sol ventrikül	Subend.

**4.6.2.5. Sham grubunun (LAD bağlanmayıp sadece çalışma alanından atravmatik iğneli sütür materyeli geçirilen grup) immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirilmesi:** Bir, iki, dört ve altı numaralı deneklerde sol ventrikül duvarı lateralinde, üç numaralı olguda interventriküler septumda farklı derecelerde H-FABP kaybı gözlendi. Yedi numaralı denekte ise sol ventrikül duvarı laterali, interventriküler septum ve sağ ventrikülde H-FABP kaybı izlendi. Beş numaralı denekte kesitlerde H-FABP boyanmasında kayıp gözlenmedi. Bu grubun immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları tablo 27’de aktarıldı.

**Tablo 27:** Sham grubunun (LAD bağlanmayıp sadece çalışma alanından atravmatik iğneli sütür materyeli geçirilen grup) immunohistokimya boyalı preparatlarda H-FABP kayıp derecesi ve kayıp gözlenen alanlar.

Denek no.	H-FABP Kayıp Derecesi	Gözleendiği Anatomik Bölge	Lokalizasyon
Denek 1	3	Sol ventrikül	Subend.
Denek 2	1	Sol ventrikül	İntramural
Denek 3	2	İntervent. septum	Subend.+ İntramural
Denek 4	2	Sol ventrikül	Subend.
Denek 5	0	-	-
Denek 6	1	Sol ventrikül	Subend.
Denek 7	2	Sol ve sağ ventrikül+ İntervent. septum	Subend.

H-FABP'nin miyokard hücrelerinden kayıp derecesinin LAD bağlanma süreleri ile ilişkisi istatistiksel olarak araştırıldı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ( $\chi^2= 8.984$ ,  $p= 0.704$ ) (Tablo 28).

**Tablo 28:** İncelenen gruplar ile gözlenen H-FABP kayıp derecesi arasındaki ilişki.

Kayıp Derecesi	Denek sayısı				$\chi^2^*$	p
	Kayıp yok (0)	Zayıf (1)	Orta (2)	Yoğun (3)		
1. Grup	0	2	2	3	8.984	0.704
2. Grup	0	5	1	1		
3. Grup	0	2	2	3		
4. Grup	1	3	1	2		
Sham	1	2	3	1		
Toplam	2	14	9	10		

\* Pearson ki-kare

Miyokarda H-FABP kaybı gözlenen anatomik bölgeler değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ( $\chi^2= 19.827$ ,  $p= 0.070$ ) (Tablo 29).

**Tablo 29:** İncelenen gruplar ile kesitlerde H-FABP kaybı gözlenen anatomik bölge arasındaki ilişki.

Gruplar	H-FABP Kaybı Gözlenen Anatomik Bölge				$\chi^2^*$	p
	Sol vent.	İnterventr. Septum	Sol vent. + İntervent. septum	Sol vent. + Sağ vent. + İntervent. septum		
1. Grup	6	1	0	0	19.827	0.070
2. Grup	3	3	1	0		
3. Grup	3	0	4	0		
4. Grup	3	2	0	1		
5. Grup	4	1	0	1		
Toplam	19	7	5	2		

\* Pearson ki-kare

Miyokard dokusunda H-FABP kaybının izlendiği alanlarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlendi ( $\chi^2= 8.810$ ,  $p= 0.359$ ) (Tablo 30).

**Tablo 30:** Denek Grupları ile H-FABP kaybının gözlendiği alanlar arasındaki ilişki.

Gruplar	H-FABP Kaybı Gözlenen Lokalizasyon			$\chi^2^*$	p
	İntramural	Subendokardiyal	İntramural + Subendokardiyal		
1. Grup	4	1	2	8.810	0.359
2. Grup	1	5	1		
3. Grup	2	4	1		
4. Grup	0	4	2		
5. Grup	1	4	1		
Toplam	8	22	5		

\* Pearson ki-kare

#### 4.6.3. Grupların Histopatolojik Verilerinin Karşılaştırılması

İmmunhistokimyasal boyanma yöntemi ile değerlendirilen miyokard kesitlerinde farklı derecelerdeki H-FABP kaybı ile aynı alanların H&E boyalı preparatlarında gözlenen değişimler birlikte ele alınarak istatistiksel olarak anlamlı ilişki olup olmadığı araştırıldı.

Grup ayırımı yapılmadan tüm denekler değerlendirildiğinde; miyokard kesitlerinde farklı derecelerde H-FABP kaybı gözlenen deneklerin H&E boyalı preparatlarda hipoksik değişikliklerin varlığı ya da yokluğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $\chi^2= 0.141$ ,  $p= 0.987$ ) (Tablo 31).



**Tablo 31:** Deneklerin immunohistokimya ve H&E boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları arasındaki ilişki.

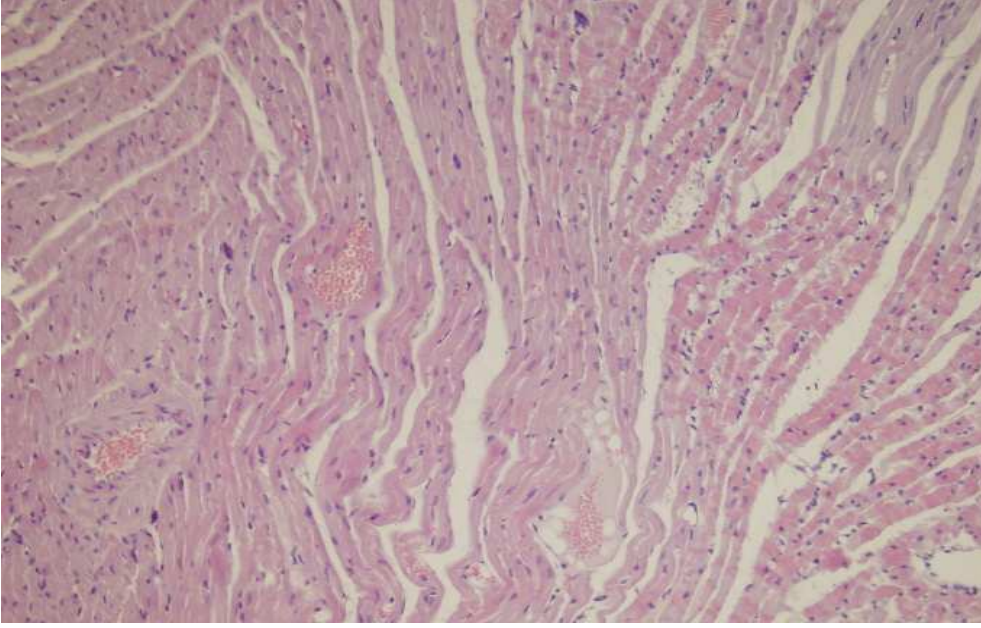
H-FABP Kaybı İmmunohistokimya	Herhangi bir Hipoksi Kriteri İzlenen Denek Sayısı H&E		$\chi^2$ *	p
	Var	Yok		
Kayıp yok (0)	1	1	0.141	0.987
Az (1)	8	6		
Orta (2)	5	4		
Yoğun (3)	5	5		

\* Pearson ki-kare

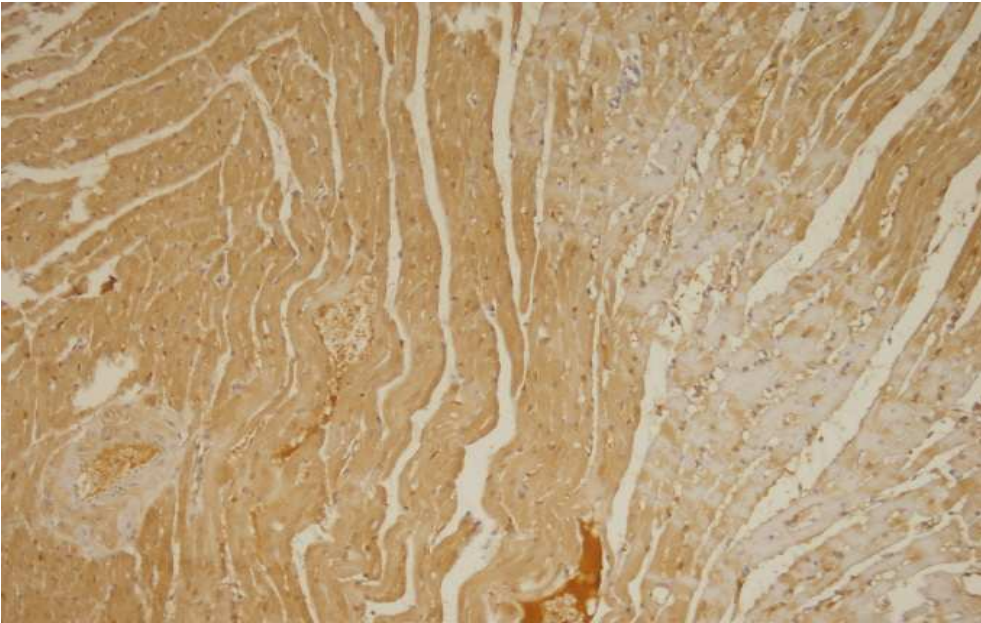
#### 4.6.4. Grupların Histopatolojik Bulgularının Örnek Fotoğrafları

Yukarıda H&E ve H-FABP boyama bulguları aktarılan grupların ele alınan bulgularını yansıtacak nitelikteki preparatların ilgili alanlarının mikro fotoları RESİM 23-34'de örneklendi.

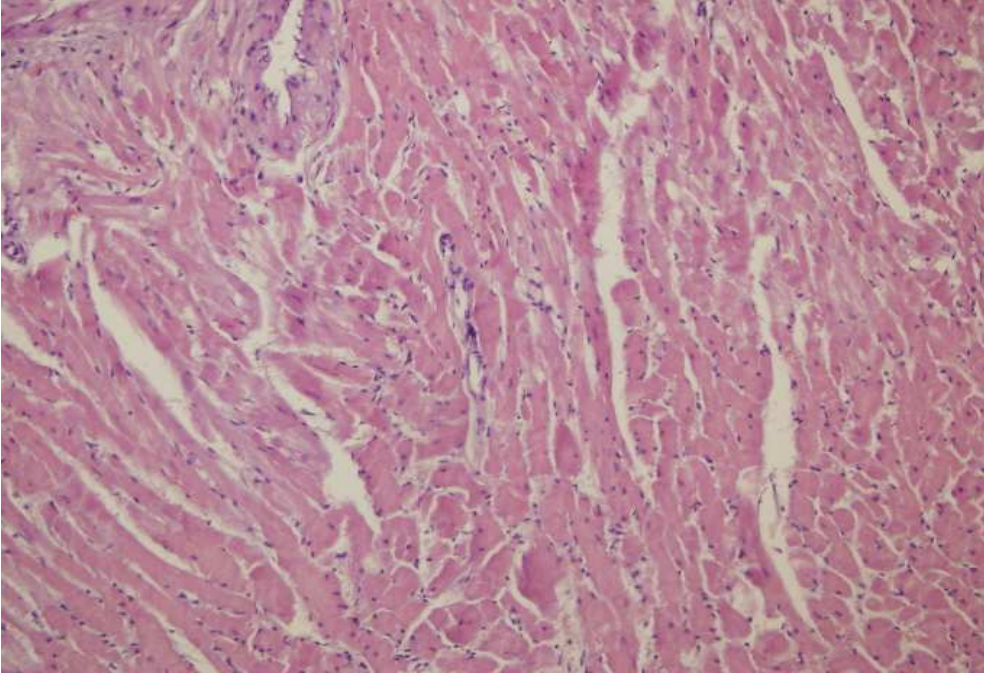
**RESİM 23:** Grup 1, Denek no 2. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge, sitoplazmik eozinofili gözlenen alanlar.( H&Ex20)



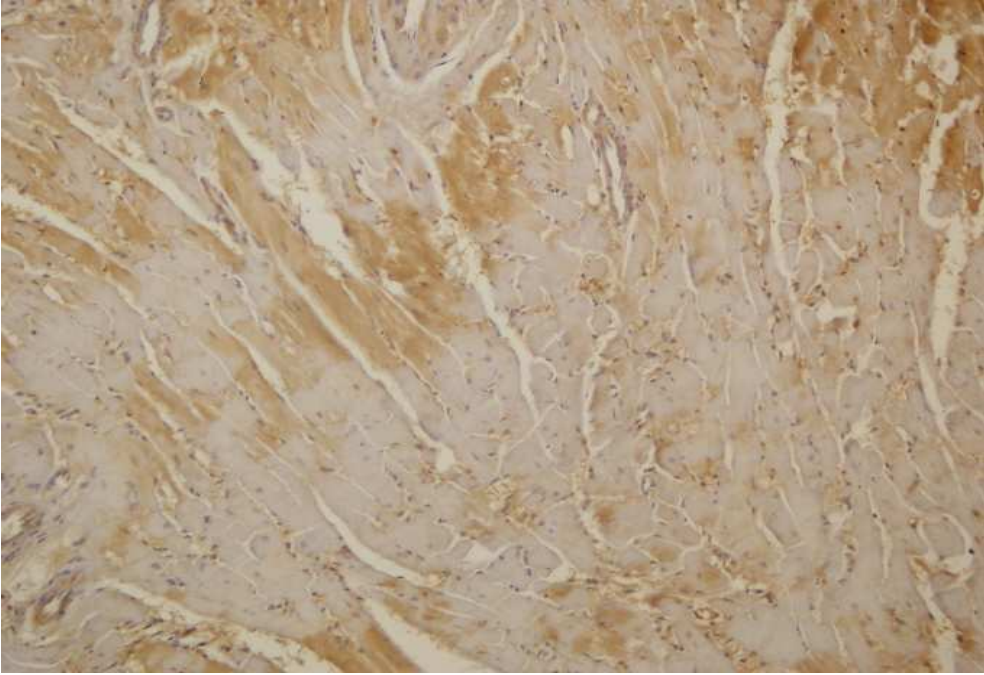
**RESİM 24:** RESİM 23'de gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı + 3. (DABx20)



**RESİM 25:** Grup 2, Denek no 7. İnterventriküler septum, herhangi bir hipoksi kriterine rastlanmayan miyokard dokusu. (H&Ex20)

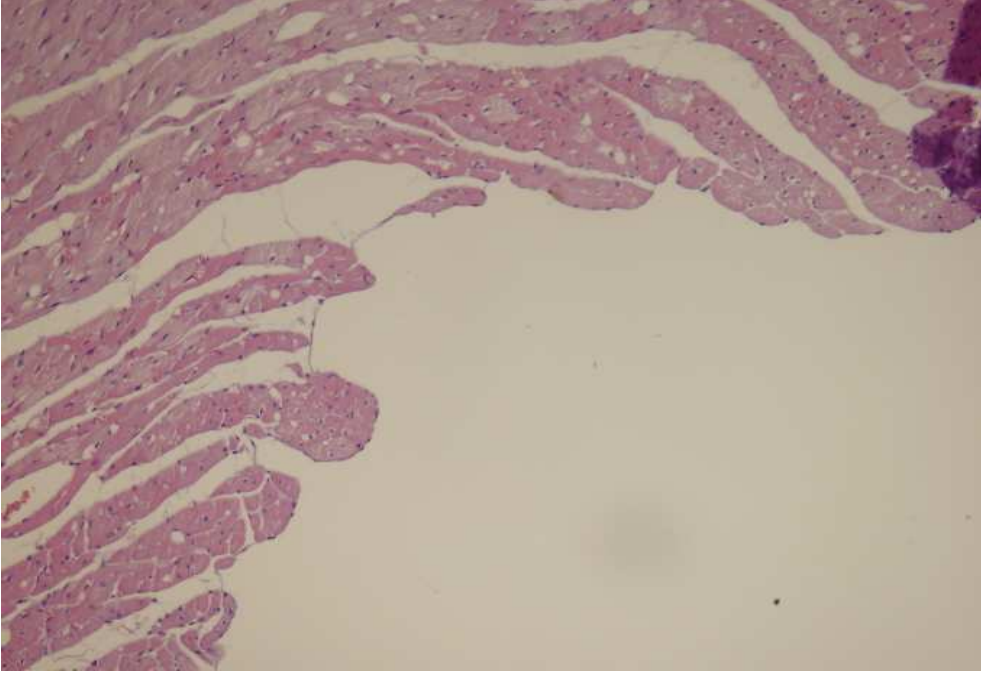


**RESİM 26:** RESİM 25’de gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı + 3. (DABx20)

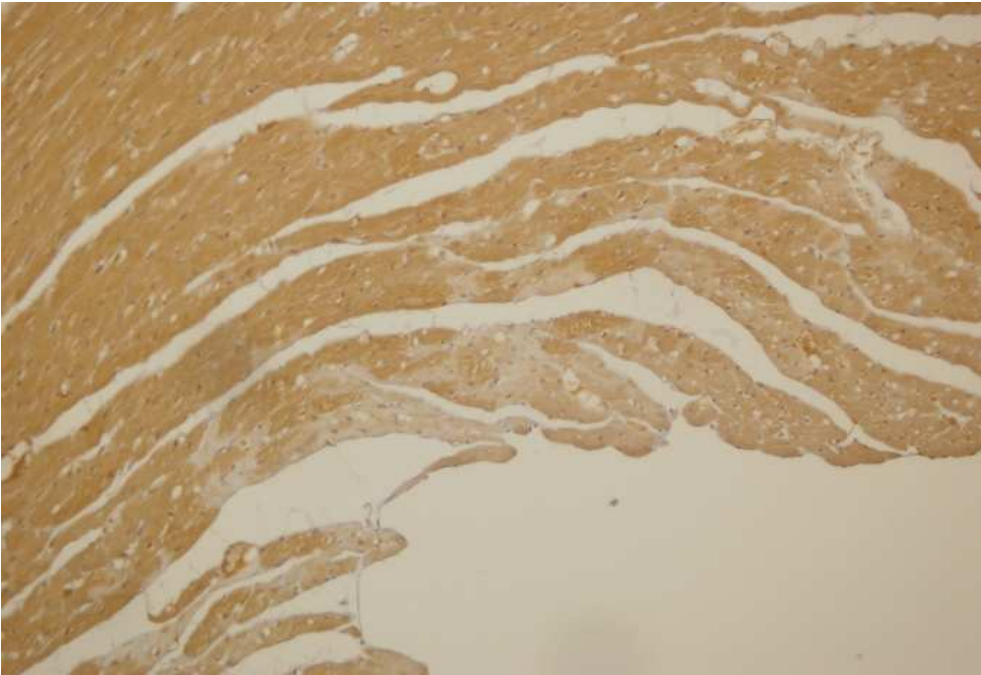




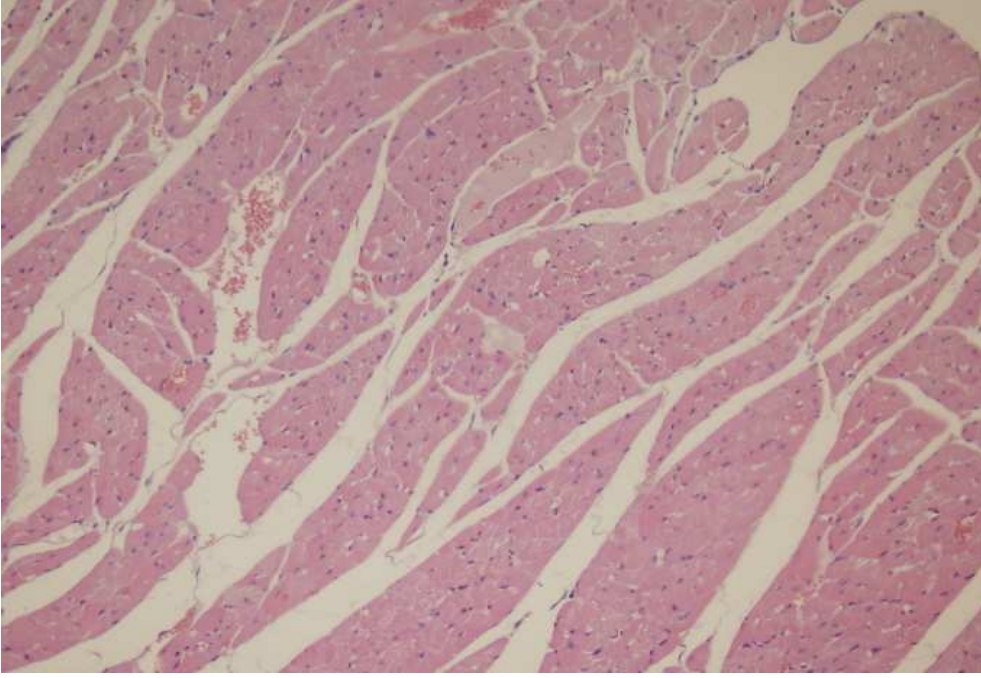
**RESİM 27:** Grup 3, Denek no 3. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge sitoplazmik eozinofili gözlenen alanlar. (H&E x20)



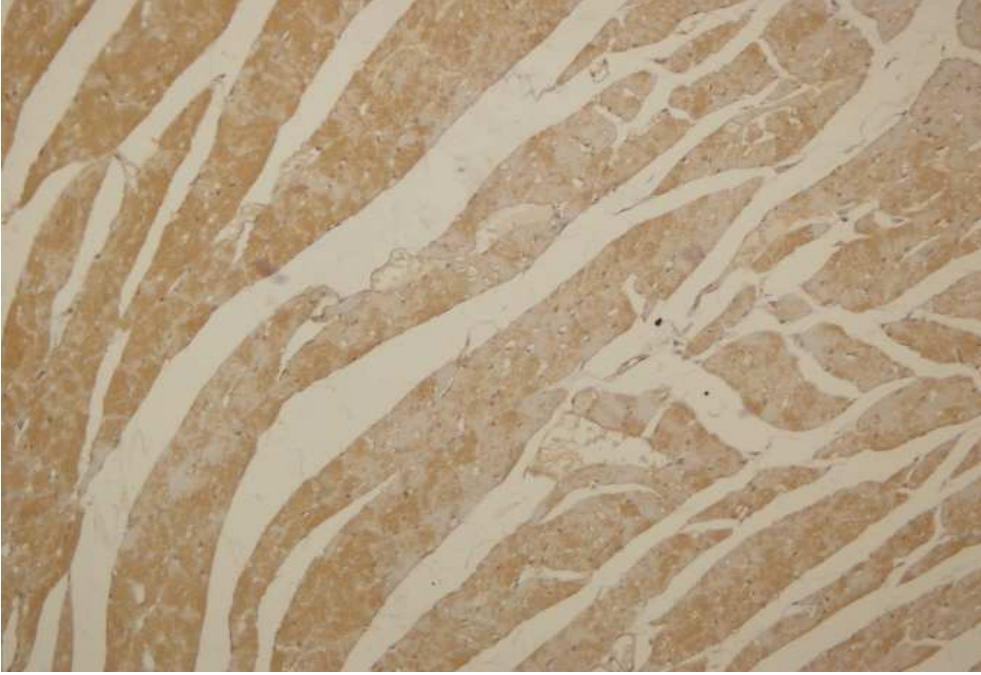
**RESİM 28:** RESİM 27’de gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı +1. (DABx20)



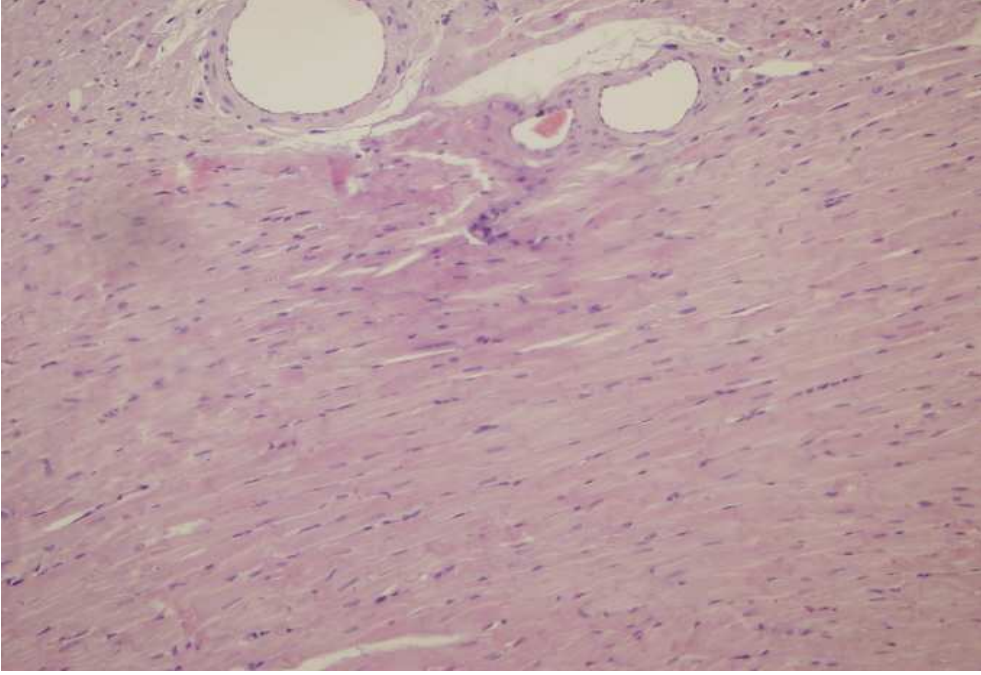
**RESİM 29:** Grup 4, Denek no 4. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge, sitoplazmik eozinofili gözlenen alanlar. (H&Ex20)



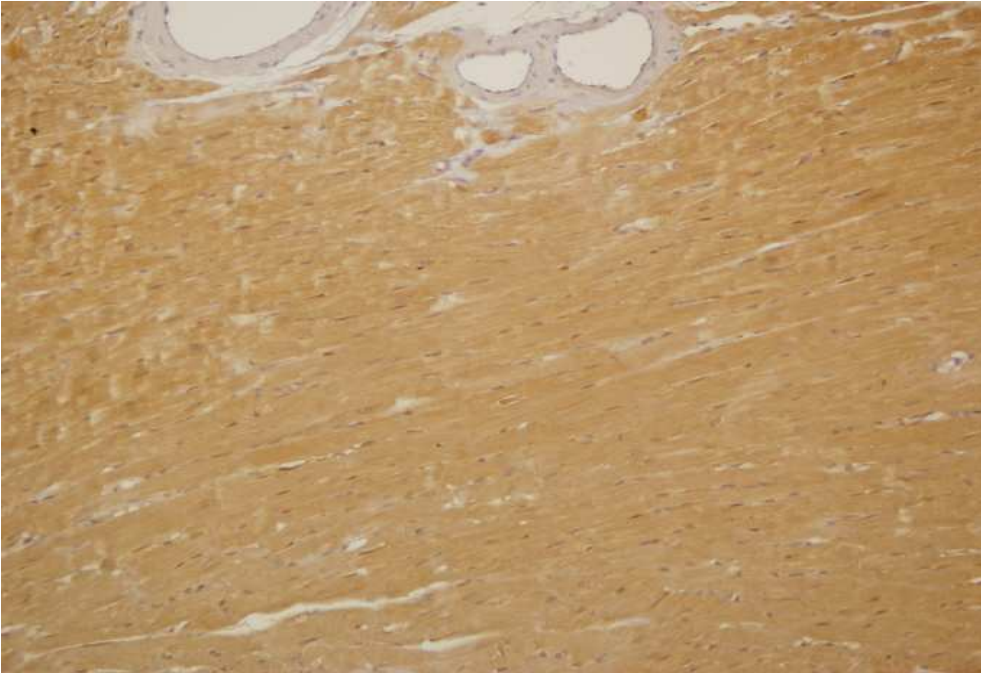
**RESİM 30:** RESİM 29’da gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı + 3. (DABx20)



**RESİM 31:** Sham grubu 5, Denek no 5. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge, herhangi bir hipoksi kriterine rastlanmayan miyokard dokusu. (H&Ex20)

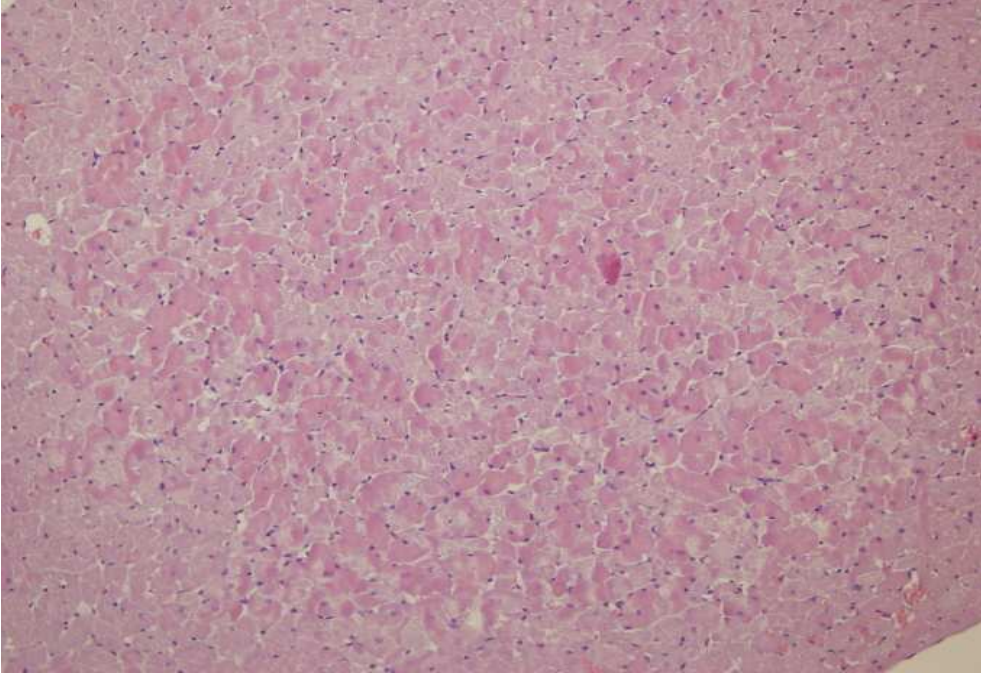


**RESİM 32:** RESİM 31’da gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı gözlenmedi. (DABx20)

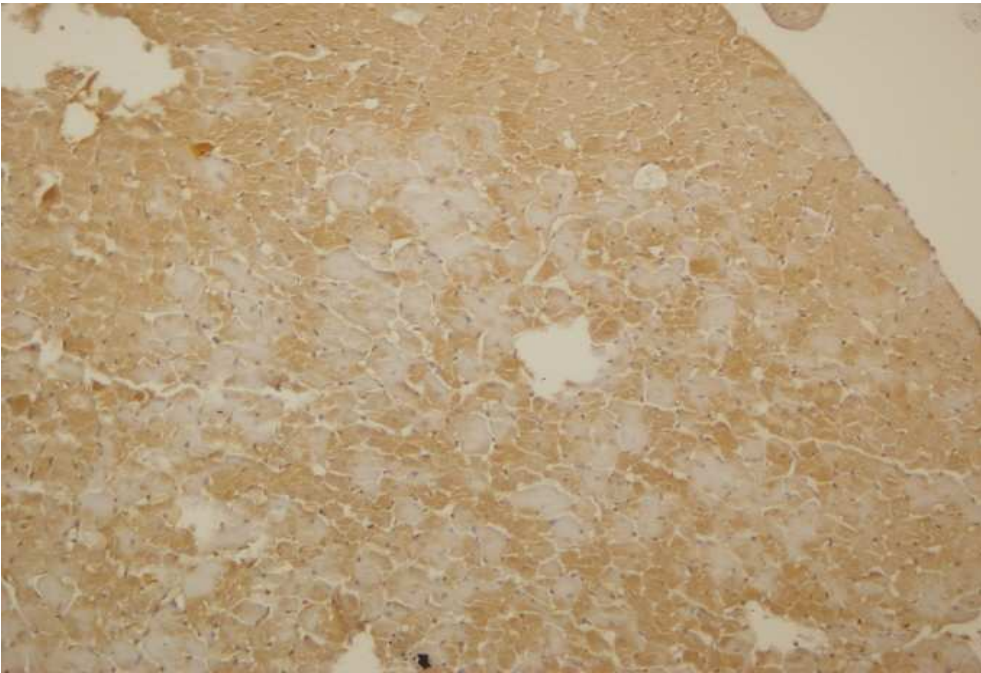




**RESİM 33:** Sham grubu, Denek no 7. Sol ventrikül duvarı, lateral bölge, sitoplazmik eozinofili gözlenen alanlar. (H&Ex20)



**RESİM 34:** RESİM 33’de gösterilen aynı alanda H-FABP kaybı + 2. (DABx20)

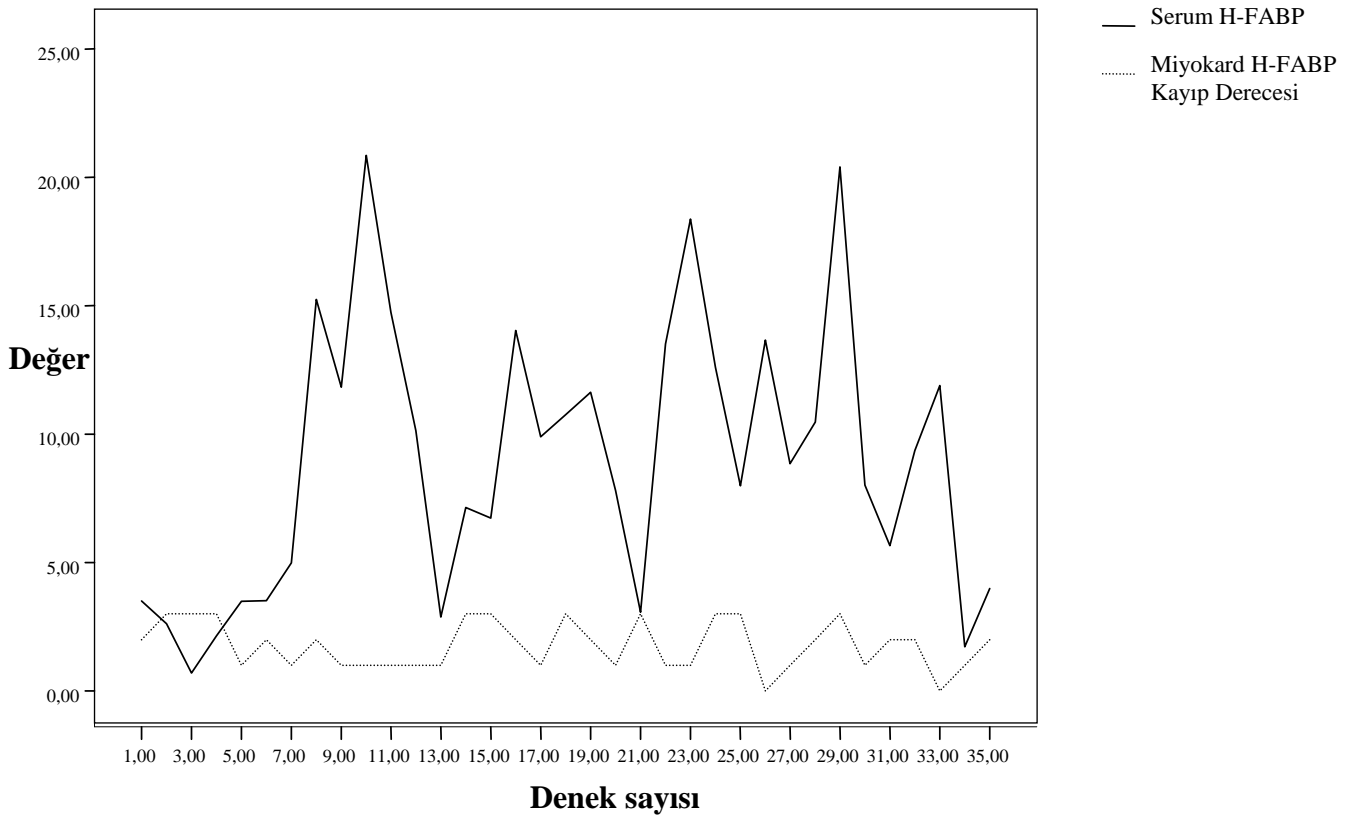


#### 4.7. Miyokardda H-FABP azalması ile serumda H-FABP düzeyinin artışının araştırılması

Grupların içinde ve gruplar arasında miyokardda H-FABP azalması ile serumda H-FABP düzeyinin artışının ilişkisinin araştırılması bu çalışmanın temel konularından biri idi. Bunu araştırmak için elde edilen immunhistokimyasal H-FABP kayıp derecesi ile biyokimyasal olarak serumda ölçülen H-FABP kantitatif düzeyi arasında ilişki olup olmadığı istatistiksel modellerle sorgulandı.

Deneklerin immunohistokimya bulguları ile serum H-FABP değerleri arasında olumsuz yönde ve orta düzeyde ilişki olduğu gözlemlendi. Ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi (pearson korelasyon katsayısı  $r = -.246$ ,  $p = 0.155$ ) (şekil 1)

**Şekil 1:** Deneklerin serum H-FABP düzeyleri ile miyokardda H-FABP kaybı derecesi arasındaki ilişki.





Deney gruplarının serum H-FABP düzeyi ile immunohistokimya boyalı preparatlarda izlenen H-FABP kaybı dereceleri arasındaki ilişki incelendiğinde; birinci grubun serum H-FABP düzeyleri ile miyokarda izlenen H-FABP kaybı dereceleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu (spearman korelasyon katsayısı  $r = -0.79$ ,  $p = 0.033$ ). İkinci, üçüncü, dördüncü ve sham gruplarının serum H-FABP düzeyleri ile H-FABP kaybı dereceleri arasındaki ilişkinin ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ( $p > 0.05$ ). Bu bulgu ile çalışmamızda LAD bağlanma sürelerine koşut miyokarda H-FABP azalması ve serumda H-FABP düzeyinde artış izlenmediği düşünüldü.

Serumda H-FABP düzeyi artışlarına miyokard dokusundan H-FABP kaybının etkisi araştırıldı. İmmunohistokimya boyalı preparatlarda gözlenen H-FABP kayıp derecesine göre serum H-FABP düzeyi ortalamaları alındı. İlişkileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmadı (Kruskal- Wallis testi,  $\chi^2$ : 3.359,  $p= 0.340$ ) (Tablo 32)

**Tablo 32:** Deneklerin immunohistokimya boyalı preparatlarının değerlendirme bulguları ile serum H-FABP değerleri arasındaki ilişki.

H-FABP Kaybı (İmmunohistokimya)	H-FABP Serum Düzeyi (ng/ml)		$\chi^2$ *	p
	Ortalama	Standart sapma		
Kayıp yok (0)	12.7795	1.25653	3.359	0.340
Az (1)	9.7936	5.69761		
Orta (2)	8.6013	4.59105		
Yoğun (3)	7.4160	5.98494		

\*Kruskal- Wallis testi

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışma güncel kaynaklar ışığında planlanmıştır. Çalışmada deneyin planlama ve uygulama evrelerinde deney hayvanı çalışmalarında ileri düzeyde deneyimli araştırmacılar görev almıştır. Deneklerin tümünün anestezi uygulamaları ve cerrahi girişime hazırlığı, fakültemiz DEÜTF Multidisipliner Laboratuvarı ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı Anabilim Dalı sorumlusu deneyimli kıdemli öğretim üyesi tarafından yapılmıştır. Kalp damar cerrahisinin kıdemli öğretim üyesi cerrahi girişimlerin ayrıntılı basamaklarını planlamış ve ilk uygulamaları bizzat kendisi yapmıştır. Sonraki uygulamalar bu öğretim üyesinin eğittiği kıdemli uzmanlık öğrencisi tarafından DEÜTF Multidisipliner Laboratuvarı ve Laboratuvar Hayvanlarının Sağlık Bilimlerinde Kullanımı Anabilim Dalı öğretim üyesinin denetiminde uygulanmıştır. Deneyler süresince her işlem ve durum deneyin resmi laboratuvar defterine kayıt edilmiştir.

Çalışmanın bu avantajlı özelliğine karşın deney süresince deneklerin hemodinamik parametrelerinde olumsuzluklar yaşanmıştır. Aynı model uygulanarak yürütülen diğer çalışmalarda buna değinilmemesinin nedenlerine ulaşılammıştır (93, 94).

Çalışmamızda iskemik kalp oluşturma basamaklarında karşılaşılan bu sorun kaynaklar taranarak tekrar ele alınmıştır. Ratlarda miyokard enfarktüsü oluşturmak için geliştirilen cerrahi modeller, mortalite oranları, karşılaşılan sorunlar ve önerilerin ele alındığı sınırlı sayıda çalışmanın makalelerine ulaşılmıştır (15, 63, 89, 95, 96, 97, 98).

Samsamshariat ve arkadaşlarının (96) California üniversitesinde yaptıkları çalışma ve yorumları tekrar gözden geçirildiğinde benzer yorumlara onların makalesinde de rastlanmıştır. Araştırmacılar miyokard enfarktüsü oluşturmak için kullanılan tarihi modelin ilk makalelerinde ayrıntılı bilgilerin bulunmadığına dikkatleri çekmektedirler. Bu modelin geliştirilerek çok yaygın bir şekilde kullanıldığını ancak deneyin sorunlarına araştırma makalelerinde ayrıntılı olarak değinilmediği vurgulanmaktadır. Çok küçük bir hayvan olan ratların en küçük bir manüplasyona çok duyarlı olmalarının işlemlerin mortalite oranlarını yükselttiği yorumunu yapmaktadırlar.

Bizim çalışmamızda; yukarıda ele alınan hemodinamik instabilite LAD bağlama girişiminden önce toplam sekiz denekte izlenmiştir. Birinci çalışma gününde iki, üçüncü

çalışma gününde bir sıçanda kateterizasyon uygulanırken hemodinamik parametreler fizyolojik sınırların çok altına düşmüş ve bu denekler çalışma dışı bırakılıp yerine yeni denekler çalışmaya alınmıştır. Ayrıca; birinci grup 4. ve 6. denek, üçüncü grup 5. ve 6. denekte, sham grubu 7. denekte de sistolik ve diastolik basınç düşmeleri izlenmiş sonradan değerler toparlanmıştır. Bu bulguların yalnızca hemodinamik parametrelerin takibinde kullanılan basınç monitörünün hassasiyeti ile ilişkili olduğunu düşünmüyoruz. Karotis arterden kateter uygulaması girişiminin gösterilen özen ve deneyime rağmen bu küçük hayvan için travmatik olduğunu düşünüyoruz. Modelin kullanıldığı diğer cerrahi araştırmalar ve anestezi çalışmalarında bu kadar erken bir dönemde çıkan hemodinamik sorunların o çalışmalarda yapılan işlemlerle ve tedavilerle bertaraf edilmiş olabileceği görüşündeyiz.

Deneyin ilerleyen basamaklarına bakıldığında; hemodinamik parametrelerin beklenen şekilde etkilendiği gözlenmiştir. Tüm çalışma gruplarında ve sham grubunda sistolik ve diastolik kan basıncı ortalama değerlerinin kateterizasyon sonrası düştüğü, LAD bağlandıktan sonra da kan basıncının düşme eğiliminde olduğu, LAD'nin bağlı kaldığı süreden bağımsız olarak hem sistolik hem de diastolik kan basıncı değerlerinin azaldığı izlenmiştir. Bu basamaklardaki azalmanın istatistiksel olarak da anlamlı olduğu belirlenmiştir (sistolik kan basıncı için, Friedman testi,  $\chi^2= 29.443$ ,  $p=.000$ ), (diastolik kan basıncı için, Friedman testi,  $\chi^2= 22.439$ ,  $p=.000$ ). Tüm grupların sistolik ve diastolik kan basıncı ortalama değerleri ile yapılan istatistik modelde de basamaklardaki farklılığın sürelerle bağlı olmadan anlamlı olduğu görülmüştür (Wilcoxon işaretli sıralar testi,  $p=0.000$ ). Daha önce aynı laboratuvar da aynı modelle yapılan diğer çalışmalarda buna benzer bulgular belirtilmemiş olduğundan karşılaştırılamamıştır.

Tüm deneklerin altısına laboratuvar ekibinin iş akışındaki koşullar nedeniyle kendi tercihleri olarak entübasyon kateter uygulamasından önce uygulanmıştır. Ancak Sham operasyon grubunun hepsinde kateterizasyonu takip eden ilk 2-3 dakikada entübasyon tamamlanmıştır. Bu gruptaki deneklerde kateterizasyon sonrası 5-6 dakika içinde LAD'nin altından iplik geçirilmiş ve yöntem gereği bağlanmamıştır. Şaşırtıcı biçimde bu grupta bile bir denek dışında kısa sürede arteriyel kan basıncının düştüğü ve bu düşüşün istatistiksel olarak ta anlamlı düzeyde olduğu gözlenmiştir. 45 dakikanın sonunda bu grubun tüm deneklerinde ciddi arteriyel basınç düşüklüğü izlenmiştir.

Sıçanların iskemik kalp modelinde kullanılmasının tartışıldığı bazı makalelerde; deneyde kullanılan anestezi ajanlarının duyarlılığı da ele alınan diğer konulardan biri olmuştur (99). Bizim çalışmamızda güncel kaynaklarda bu deney hayvanı için başarı ile uygulandığı belirtilerek önerilen anestezi preparatı ve dozu 45 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg Ksilazine olarak uygulanmıştır.

Üzerinde durduğumuz bu konuya değinen çalışmaların çoğu deneyin mortalite yüksekliği ve bu sorunun LAD bağlanma seviyesi ile ilişkisini ele alan nitelikteydi(89, 96, 97, 98). LAD'nin çıkışı seviyesinde bağlanmasında mortalitenin yüksek olduğu (%10), bunun sıçanlara özel anatomik yapıdan kaynaklandığı çünkü sirkumfleks dalın yeterli olmadığı ya da bulunmadığı belirtilmekteydi (89). Bizim çalışmamızda güncel kaynakların önerdiği (96) orta seviyeden LAD bağlanması planlanmış ve uygulanmıştır.

Bazı çalışmalarda ise bu küçük hayvanın koroner arterinin lupla ayırt edilmemesi durumunda karşılaşılabilecek sorunlar ele alınmıştır (89, 96). Bizim çalışmamızda LAD bağlama işleminde loop kullanılmış, arter görülerek bağlanmıştır. Ele aldığımız hemodinamik instabilite bu işlemlerden önce de dikkati çekmiştir. Kardiyak cerrahi girişim öncesinde de sorunlar yaşandığı bulgulardan da anlaşılacağı gibi açıktır. Bu nedenle LAD bağlanmasının tabloyu ağırlaştırmış olabileceğini düşündük. Diğer taraftan çok küçük bir alanda bağlama işlemi sırasında koroner artere komşu miyokard dokusu, diğer vasküler yapılar ve hatta sinir doku etkilenmelerinin bile gerçekleşmiş olabileceğini düşündük.

Cerrahi girişimde toraksın açılması aşamasının neden olduğu solunum zorluğunun tartışıldığı geniş serili ilk kaynaklardaki sorunun bizim çalışmamızda da kullanılan modelle aşılabildiği bildirilmektedir (96, 97, 98). Bizim çalışmamızda kullanılan modelde; deneklere trakeostomi uygulanarak entübe edilmiş ve denek mekanik ventilatöre bağlı olarak solutulmuştur. Ayrıca toraks negatif basıncına yardımcı olmak üzere kaynaklarda da önerilen şekilde bir süturla kapatılmıştır.

Deneklere uygulanan anestezi, kateterizasyon ve entübasyonun tüm evreleri çalışılan laboratuvarın hemen her deneyde ve eğitim kurslarında rutin olarak kullandığı modellerdir. Başka düzenekler ve medikasyonla bu birkaç dakikalık sürelerde izlenen hemodinamik instabilitenin dikkati çekmemiş olabileceği görüşüne vardık. Bu görüşümüz nedeni ile kısa

deney süreli kardiyovasküler sistem temelli çalışmalarda sıçanlar için daha az travmatik bir monitorizasyon modeli geliştirilmesinin gerekli olduğu kanısına vardık.

Çalışmamızda kullanılan ve günümüzde yaygın olarak kullanılan ve önerilen sıçanda iskemik kalp modelinin bazı basamaklarının deneklerin en azından hemodinamik parametrelerini etkileyecek kadar travmatik olduğunu görmek bu deneklerden elde edilen doku ve serum örneklerinde çalışılan araştırmamızın parametrelerine daha farklı bir gözle bakmamıza neden olmuştur.

Çalışmamızda; LAD'nin tam bağlı kalma süresinin hangi parametreleri ne yönde ve nasıl etkilediğinin araştırılması temel amaçtı. Elde edilen tüm veriler araştırmamızın hipotezinde yer alan soruyu “LAD bağlı kalma süresinin miyokard hücrelerinde H-FABP kaybına ve serum H-FABP yükselmesine etkisi” yanıtlayacak biçimde incelenmiştir.

Deneklerin serumlarında ELİSA kiti yardımıyla solid faz enzim bağımlı immunosorbent yöntemi ile H-FABP düzeyinin ölçüm yönteminde herhangi bir sorunla karşılaşmamıştır. Sıçanların normal serum H-FABP değerine kaynaklarda da rastlanmamıştır. Bu değer bulunabilmesi en azından bu çalışmada baseline değer olarak kullanılabilmesi için hiçbir cerrahi işlem uygulanmayan ve deneyin diğer basamaklarına alınmayan yedi deneklik bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Bu grupta kuyruk veninde serum H-FABP değeri ortalaması 2.7967 ng/ml, standart sapması 0.56638 ng/ml olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu ortalama değer çalışma gruplarının verilerinin karşılaştırmalarında beklenen normal fizyolojik değer (baseline value) kabul edilerek kullanılmıştır.

LAD bağlanmayıp sadece çalışma alanından atravmatik iğneli suture materyeli geçirilen Sham grubunda; serum H-FABP değeri en düşük 1.73 ng/ml, en yüksek 20.40 ng/ml, ortalama 8.7223 ng/ml, standart sapması 6.16554 ng/ml olarak belirlenmiştir. Bu grupta izlenen serum düzeyi artışları ve bir denekte izlenen düşük serum düzeyinin deney modelinin uygulanması ve koroner artere suture geçirilmesi sırasında denekte oluşan strese bağlı hipoksi ile açıklanabileceğini düşündük. Diğer çalışma gruplarında da serum H-FABP düzeyi normalin üzerinde düzeylerde ölçüldü. LAD'nin bağlandığı gruplardaki deneklerin serum H-FABP düzeyleri grup içinde büyük standart sapmalar gösteriyordu. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklar bulundu (Kruskal- Wallis testi,  $\chi^2 = 22.547$ ,  $p = 0.000$ ), ancak bu

farklılığın sürenin uzamasına paralellik göstermediği anlaşıldı. Bu çalışmada; sıçanda oluşturulan iskemik kalp modelinde LAD bağlı kalma sürelerini yansıtmayan nitelikte, düzensiz serum H-FABP düzeyi artışı olduğu ortaya konmuştur. Bu nedenle bu parametrenin deney modelinde koroner arter akımının kısa sürelerle kesilmesini yansıtacak bir bulgu olmadığını düşünmüyoruz.

Kaynaklarda H-FABP'nin kardiyomiyositler yanında, düşük miktarlarda olsa da kalp kapiller endotel hücrelerinde, kardiyak fibroblastlar, sıgır aort dokusunda elde edilen endotel hücre kültürlerinde, damar düz kas hücrelerinde de olduğu belirtilmektedir (61, 84, 85). Bu bilgi ile kateterizasyon sırasında gerçekleşen karotis duvarı travmasının da bizim çalışmamızdaki serum düzeyi artışlarının kaynağı olabileceğini düşündük.

Meng ve arkadaşları (7) H-FABP'nin miyokard infarktüsü sonrası serum düzeyindeki artışın erken miyokard infarktüsünün postmortem tanısında kullanılabilecek değerli bir belirteç olduğunu rapor etmektedirler. Bizim bulgularımız bununla örtüşmüyordu.

Yapılan birçok klinik çalışma; H-FABP'nin akut miyokard infarktüsünün erken dönem tanısında diğer birçok belirtece göre çok daha duyarlı olduğunu belirtmektedir (17, 18, 62, 100, 101).

İnsanda ve deney hayvanı miyokard dokusunda H&E boyalı kesitlerde bu kadar kısa süreli koroner akım eksikliğini yansıtacak bir bulgu beklemediğimiz halde uygulanacak immunohistokimya boyalı kesitleri değerlendirme kolaylığı açısından bu kesitlerde hipoksi kriterleri incelenmiştir. Miyokard hücrelerinde striasyon kaybı, sitoplazmik eozinofili, kontraksiyon bandı, nükleer hiperkromazi, hücresel şişme, nekroz varlığı ve miyokard dokusunda polimorf nüveli lökosit infiltrasyonunun varlığı hipoksi kriteri olarak H&E boyalı preparatlarda araştırılmıştır. Bu incelemelerdeki sonuçlar şaşırtıcı olmuştur. Çünkü; sham grubunda dahi her üç patoloğ tarafından da aynı şekilde değerlendirilen myosit hipoksisi bulgusu olarak yorumlanabilecek bulgulara rastlanmıştır. H&E boyalı preparatlarda herhangi bir hipoksik değişikliğin var olup olmadığı değerlendirildiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir ( $\chi^2 = 2.763$ ,  $p = 0.598$ ). Diğer taraftan H&E boyalı preparatlarda gözlenen hipoksi kriterlerinin gruplara göre dağılımı da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Deney gruplarında hipoksi kriterine rastlanma ile LAD bağlı kalma süreleri arasında bir ilişki gözlenmemiştir. İzlenen değişikliklerin deneklerin daha önceki

parametrelerde de yorumlandığı gibi deneklerin içinde bulunduğu stres koşullarına bağlı olarak gelişen hipoksi kliniğini yansıttığı düşünülmüştür. Bu bulgumuz klasik iskemi morfolojisi bilgilerimiz ile uyum içindedir. Kaynaklarda bu kadar kısa sürede H&E boyalı kesitlere yansıyabilecek bir koroner arter kaynaklı iskemi histomorfolojisi beklenmemektedir (41, 45, 50).

Çalışmamızda; immunohistokimya boyaları bu alanda ileri düzeyde deneyimli patoloji laboratuvarında uygulanmıştır. Yanlış pozitif ve negatiflik kontrollerle önlenmiştir. Deneklerin boyalı preparatları üç farklı patolog tarafından ikişer kez değerlendirmiş ve aynı derece değerlerine ulaşılmıştır. Her bir denneğin miyokard dokusunda H-FABP kaybı derecelendirilirken, bu değişikliğin izlendiği anatomik bölge ve o bölgedeki yerleşim lokalizasyonu da kayıt edilerek bu özellikler değerlendirilmiştir.

Elde edilen bulgulardan; miyokard hücrelerinde H-FABP'nin kayıp derecesi ile LAD bağlı kalma süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $\chi^2=8.984$ ,  $p=0.704$ ). Miyokarda H-FABP kaybı interventriküler septum, sol ventrikül duvarı ve bazılarında sağ ventrikül duvarında izlenmiştir. Bu yerleşimlerin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği de anlaşılmıştır ( $\chi^2=19.827$ ,  $p=0.070$ ). Miyokard dokusunda H-FABP kaybının izlendiği alanlar incelendiğinde beklenmedik bir şekilde subendokardial alanlardaki kaybın daha çok denekte izlendiği anlaşılmıştır. Oysa bu lokalizasyon anatomik ve fizyolojik nedenlerle daha kolay kompanzasyon geliştirerek hipoksi ve iskemiden daha az etkilenmesi beklenen bir bölgedir. Bu yerleşim farklılığının da istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ( $\chi^2=8.810$ ,  $p=0.359$ ).

Çalışmamızda farklı derecelerdeki H-FABP kaybı ile aynı alanların H&E boyalı preparatlarında gözlenen değişiklikler birlikte ele alınarak istatistiksel olarak anlamlı ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Grup ayırımı yapılmadan değerlendirildiğinde; miyokard kesitlerinde farklı derecelerde H-FABP kaybı gözlenen deneklerin H&E boyalı preparatlarında hipoksik değişikliklerin varlığı ya da yokluğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $\chi^2=0.141$ ,  $p=0.987$ ).

Grupların içinde ve gruplar arasında miyokarda H-FABP azalması ile serumda H-FABP düzeyinin artışının ilişkisinin araştırılması bu çalışmanın temel konularından biri idi. Bunu araştırmak için elde edilen immunhistokimyasal H-FABP kayıp derecesi ile

biyokimyasal olarak serumda ölçülen H-FABP kantitatif düzeyi arasında ilişki olup olmadığı istatistiksel modellerle sorgulandı. Elde edilen bulgularla; birinci grubun serum H-FABP düzeyleri ile miyokarda izlenen H-FABP kaybı dereceleri arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu (spearman korelasyon katsayısı  $r = -0.79$ ,  $p = 0.033$ ). İkinci, üçüncü, dördüncü ve sham gruplarının serum H-FABP düzeyleri ile H-FABP kaybı dereceleri arasındaki ilişkinin ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ( $p > 0.05$ ). Bu bulgu ile LAD bağlanma sürelerine koşut miyokarda H-FABP azalması ve serumda H-FABP düzeyinde artış izlenmediği görüldü. Bu bulgularımız erken miyokard hipoksisi tanısında güvenilir belirteç olarak ileri sürülen görüşlerle örtüşmemektedir (7).

Deneklerin serum H-FABP düzeyindeki artışa miyokard dokusundan H-FABP kaybının etkisini araştırmak için yapılan istatistiksel değerlendirmede; deneklerin immunohistokimya bulguları ile serum H-FABP değerleri arasında olumsuz yönde ve orta düzeyde ilişki olduğu gözlemlendi. Ancak bu ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi (pearson korelasyon katsayısı  $r = -.246$ ,  $p = 0.155$ ). Diğer taraftan gruplar arasında da miyokarda izlenen H-FABP kaybı ile serumda izlenen H-FABP düzeyi artışının LAD bağlı kalma süreleri ile ilişkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (Kruskal- Wallis testi,  $\chi^2 = 3.359$ ,  $p = 0.340$ )

Meng ve arkadaşları (7) H-FABP'nin küçük bir molekül olması ve suda çözünen yapısı nedeniyle hücresel hasarda hızla ekstrasellüler alana geçerek kan dolaşımındaki seviyesinin yükseldiğini belirtmektedirler. Ratlarda deneysel olarak oluşturdukları sol koroner arter oklüzyonundan 15 dakika sonra H-FABP plazma seviyesinde 4 kat artış izlediklerini, dokudaki azalmanın ise immunohistokimyasal boyama ile iskemik lezyonların oluşumundan 30 dakika sonra tanımlayabildiklerini rapor etmektedirler.

Brinkman ve arkadaşları (9) miyokard infarktüsünün postmortem tanısında yüksek duyarlılığa ve özgüllüğe sahip tek bir immunohistokimyasal belirteç olmadığını rapor etmektedirler.

Bu bulgularımızla miyositlerin iskemi koşullarında hücre dışına kaybedeceği ve hızla seruma katılacağı beklenen H-FABP'in en azından bu modelde ve deneyimizde belirlediğimiz koroner arter bağlı kalma sürelerinde bir belirteç olarak kullanılamayacağı görüşüne vardık. Bu bulgumuz daha önce belirttiğimiz gibi Brinkmann ve arkadaşlarının yorumu ile örtüşmektedir.



## 6. SONUÇ

1. Çalışmada deneyin planlama ve uygulama evrelerinde deney hayvanı çalışmalarında ileri düzeyde deneyimli araştırmacıların görev almasına rağmen deney süresince deneklerin hemodinamik parametrelerinde olumsuzluklar yaşanmıştır. Aynı model uygulanarak yürütülen diğer çalışmalarda buna değinilmemesinin nedenlerine ulaşamamıştır.
2. Karotis artere kateter uygulaması girişiminin gösterilen özen ve deneyime rağmen bu küçük hayvan için travmatik olduğu, modelin kullanıldığı diğer cerrahi araştırmalar ve anestezi çalışmalarında bu kadar erken bir dönemde çıkan hemodinamik sorunların çalışmalarda yapılan işlemlerle ve tedavilerle bertaraf edilmiş olabileceği sonucuna varılmıştır.
3. Bu bulgu ve yorumlarımız ışığında; kısa deney süreli kardiyovasküler sistem temelli çalışmalarda sıçanlar için daha az travmatik bir model geliştirilerek hemodinamik parametrelerin monitörizasyonunun sağlanmasının gerekli olduğu sonucuna vardık.
4. Sıçanların normal serum H-FABP değerine kaynaklarda rastlanmamıştır. Bu çalışmada baseline değer olarak kullanmak için hiçbir cerrahi işlem uygulanmayan ve deneyin diğer basamaklarına alınmayan yedi deneklik bir kontrol grubunda kuyruk veninden alınan kan örneklerinden elde edilen serum H-FABP değeri ortalaması 2.7967 ng/ml, standart sapması 0.56638 ng/ml olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu ortalama değer çalışmada kullanılan tür ve ağırlıktaki sıçanlar için beklenen normal fizyolojik değer (baseline value) olduğu sonucuna varılmıştır.
5. Sham grubunda; serum H-FABP düzeyinin en düşük 1.73 ng/ml, en yüksek 20.40 ng/ml ölçülmesi ve ortalama 8.7223 ng/ml, standart sapması 6.16554 ng/ml olarak belirlenmesi izlenen serum düzeyi artışlarının deney modelinin uygulanması ve koroner artere sütün geçirilmesi sırasında denekte oluşan strese bağlı hipoksi ile açıklanabileceği sonucuna vardık.
6. LAD'nin bağlandığı çalışma gruplarında da serum H-FABP düzeyi normalin üzerinde düzeylerde ölçüldü, serum H-FABP düzeyleri grup içinde büyük standart sapmalar

gösteriyordu. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklar bulundu, ancak bu farklılığın sürenin uzamasına paralellik göstermediği sonucuna varıldı.

7. Bu çalışmada; sıçanda oluşturulan iskemik kalp modelinde LAD bağlı kalma sürelerini yansıtmayan nitelikte, düzensiz serum H-FABP düzeyi artışı olduğu ortaya konmuştur. Bu nedenle bu parametrenin deney modelinde koroner arter akımının kısa sürelerle kesilmesini yansıtacak bir bulgu olmadığı sonucuna varıldı.
8. İnsanda ve deney hayvanı miyokard dokusunda H&E boyalı kesitlerde bu kadar kısa süreli koroner akım eksikliğini yansıtacak bir bulgu beklemediğimiz halde sham grubunda dahi her üç patolog tarafından da aynı şekilde değerlendirilen miyosit hipoksisi bulgusu olarak yorumlanabilecek bulgulara rastlanmıştır.
9. Diğer taraftan H&E boyalı preparatlarda gözlenen hipoksi kriterlerinin gruplara göre dağılımı da istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı gibi deney gruplarında hipoksi kriterine rastlanma ile LAD bağlı kalma süreleri arasında da bir ilişki gözlenmemesi, izlenen bu değişikliklerin sıçanların içinde bulunduğu stres koşullarına bağlı olarak gelişen hipoksi kliniğini yansıttığı sonucuna varılmıştır.
10. Miyokard hücrelerinde H-FABP'nin kayıp derecesi ile LAD bağlı kalma süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.
11. Miyokarda H-FABP kaybı interventriküler septum, sol ventrikül duvarı ve bazılarında sağ ventrikül duvarında izlenmiştir. Bu yerleşimlerin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği de anlaşılmıştır.
12. Farklı anatomik bölgelerde miyokard dokusunda H-FABP kaybının beklenmedik bir şekilde subendokardiyal yerleşimi şaşırtıcı bulunmuştur.
13. Grup ayırımı yapılmadan; farklı derecelerde H-FABP kaybı gözlenen deneklerin H&E boyalı preparatlarında hipoksik değişikliklerin varlığı ya da yokluğu da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

14. Grupların içinde ve gruplar arasında miyokartta H-FABP azalması ile serumda H-FABP düzeyinin artışının ilişkisinin araştırılmasında; LAD bağlanma sürelerine koşut miyokartta H-FABP azalması ve serumda H-FABP düzeyinde artış izlenmediği sonucuna varıldı.
15. Bu bulgularımızla miyositlerin iskemi koşullarında hücre dışına kaybedeceği ve hızla seruma katılacağı beklenen H-FABP'in en azından bu modelde ve deneyimizde belirlediğimiz koroner arter bağlı kalma sürelerinde bir belirteç olarak kullanılamayacağı sonucuna varıldı.

## 7. KAYNAKLAR

- 1) Richard FC. Handbook of forensic pathology. second edition, USA: Collage of American Pathologist. Illinois 2003. (105)
- 2) Knight B. Forensic Pathology. A division of Hodder & Stoughton, London, Melbourne, Auckland 1991:444-445.
- 3) Knight B. Simpson Adli Tıp. Onuncu baskı. Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı. İstanbul 1995:187-194.
- 4) De La Grandmaison GL. Is there progress in the autopsy diagnosis of sudden unexpected death in adults ?. Forensic Science International 2006; 156: 138-144.
- 5) Kawamura T, Kondo H, Hirai M, Wakai K et al. Sudden death in working population. European Heart Journal 1999; 20: 338-343.
- 6) Kumar V, San KP, Idwan A, Shah N et al. A study of sudden natural deaths in medicolegal autopsies in University Malaya Medical Centre (UMMC), Kuala Lumpur. Journal of Forensic and Legal Medicine 2007; 14: 151-154.
- 7) Meng X, Ming M, Wang E. Heart fatty acid binding protein as a marker for postmortem detection of early myocardial damage. Forensic Science International 2006; 160: 11-16.
- 8) Hu BJ, Chen YC, Zhu JZ. Immunohistochemical study of fibronectin for postmortem diagnosis of early myocardial infarction. Forensic Science International 1996; 78: 209–217.
- 9) Brinkmann B, Sepulchre MA, Fechner G. The application of selected histochemical and immunohistochemical markers and procedures to the diagnosis of early myocardial damage. Int J Leg Med 1993; 106: 135–141.
- 10) Hansen SH, Rossen K. Evaluation of cardiac troponin I immunoreaction in autopsy hearts: A possible marker of early myocardial infarction. Forensic Science International 1999; 99: 189-196.
- 11) Hougen HP, Valenzuela A, Lachica E, Villanueva E. Sudden cardiac death: A comparative study of morphological, histochemical and biochemical methods. Forensic Science International 1992; 52: 161–169.
- 12) Van Der Vusse GJ, Van Bilsen M, Glatz JF. Cardiac fatty acid uptake and transport in health and disease. Cardiovascular Research 2000; 45: 279-293.
- 13) Veerkamp JH, Peeters RA and Maatman RG. Structural and functional features of different types of cytoplasmic fatty acid binding proteins. Biochim Biophys Acta 1991; 1081: 1-24.

- 14) Lopaschuk GD, Belke DD, Gamble J, Itoi T et al. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1994; 1213: 263-276.
- 15) Knowlton AA, Apstein CS, Saouf R and Brecher P. Leakage of heart fatty acid-binding protein with ischemia and reperfusion in the rat. *J Mol Cell Cardiol* 1989; 21: 577-583.
- 16) Ortmann C, Pfeiffer H, Brinkmann B. A comparative study on the immunohistochemical detection of early myocardial damage. *Int J Legal Med* 2000; 113: 215-220.
- 17) Glatz JF, Van der Vusse GJ, Simoons ML, Kragten JA et al. Fatty acid-binding protein and the early detection of acute myocardial infarction. *Clinica Chimica Acta* 1998; 272: 87-92.
- 18) Okamoto F, Sohmiya K, Ohkaru Y, Kawamura K et al. Human heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein (H-FABP) for the diagnosis of acute myocardial infarction. Clinical evaluation of H-FABP in comparison with myoglobin and creatine isoenzyme MB. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38(3): 231-238.
- 19) Adli Tıp Uzmanları Derneği, Türk Tabipler Birliği. Birinci Basamak İçin Adli Tıp El Kitabı. Ankara. Türk Tabipler Birliği Merkez Konseyi. Ankara. Nisan 1999.
- 20) Christiansen LR, Collins KA. Natural death in the forensic setting a study and approach to the autopsy. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 2007; 28 (1): 20-23.
- 21) Nordrum I, Eide TJ, Jorgensen L. Unexplained and explained natural deaths among persons above 1 year of age in a series of medicolegal autopsies. *Forensic Science International* 1998; 93: 89-98.
- 22) Morentin B, Suarez-Mier MP, Aguilera B. Sudden unexplained death among persons 1-35 years old. *Forensic Science International* 2003; 135: 213-217.
- 23) Grandmaison GL, Durigon M. Sudden adult death: A medicolegal series of 77 cases between 1995-2000. *Medicine Science and Law* 2002; 42 (3): 225-232.
- 24) Morentin B, Aguilera B, Garamendi PM, Suarez-Mier MP. Sudden unexpected non-violent death between 1 and 19 years in North Spain. *Arch Dis Child* 2000; 82: 456-461.
- 25) Tokashiki T, Muratani A, Kimura Y, Muratani H et al. Sudden death in the general population in Okinawa– incidence and causes of death. *Jpn Circ J* 1993; 63: 37-42.
- 26) Nashelsky MB, Lawrence CH. Accuracy of cause of death determination without forensic autopsy examination. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 2003; 24 (4): 313-319.

- 27) Escoffery CT, Shirley SE. Causes of sudden natural death in Jamaica: A medicolegal (coroner's) autopsy study from the University Hospital of the West Indies. *Forensic Science International* 2002; 129: 116-121.
- 28) İnanıcı MA, Aksoy ME. Natural deaths in İstanbul, Turkey (A retrospective study). *Am Acad For Sci Ann Meeting*. Seattle. 13-18/2/1995,125.
- 29) Sözen MS, Elmas I, Arıcan N, Fincancı ŞK. Unexpected death as viewed by the forensic pathologist: A review of 471 consecutive autopsies, 13th International Meeting, Duesseldorf. 22-28/08/1993, A11.
- 30) İnanıcı MA, Birgen N, Aksoy ME, Alkan N et al. Medicolegal death investigations and autopsies in İstanbul, Turkey. *Journal of Clinical Forensic Medicine* 1998; 5: 119-123.
- 31) İnanıcı MA, Polat O, Ötker C. Doğal kökenli ani beklenmeyen ölümler. *Göztepe Tıp Dergisi* 1995; 10: 121-125.
- 32) Akar T, Bakar C, Şenol E, Demirel B. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Gazi Hastanesi'nde adli ölü muayenesi yapılan olguların değerlendirilmesi. *Gazi Tıp Dergisi* 2005; 16 (4): 169-171.
- 33) Erel Ö, Katkıcı U, Pınarbağlı RD, Özkök S. Aydın'da 2000-2003 yılları arasında yapılan adli ölü muayene ve otopsilerinin değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri J Foren Med* 2005; 2: 44-47.
- 34) Özkök MS, Katkıcı U, Özkara E. Sivas'ta 1984-1993 yılları arasında adli otopsi ve ölü muayenesi yapılan olguların retrospektif incelenmesi. I. Adli Bilimler Kongresi, Adana. 12-15 Nisan, 1994.
- 35) Özyılmaz F, Azmak D, Altıner Ş, Şeker V, Kutlu AK. Adli otopsilerde doğal ölüm nedenlerinin araştırılması (1984-1997). *Patoloji Bülteni* 2001; 18 (1): 007-009.
- 36) Azmak AD. Sudden natural deaths in Edirne, Turkey, from 1984 to 2005. *Medicine Science and Law* 2007; 47 (2): 147-155.
- 37) Salaçin S. An analysis of the medicolegal autopsies performed in Adana, Turkey, in 1983-1988. *Am J For Med Path* 1991; 12: 191-193.
- 38) Akar T, Yavuz Y, Demirel B, Şenol E et al. Diyarbakır'da 2000-2004 yılları arasında meydana gelen doğal nedenlere bağlı olmayan ölümler. *Türkiye Klinikleri J Foren Med* 2006; 3: 94-100.
- 39) Çelikel A, Canoğulları G, Teyin M, Balcı Y. Uygulamada Adli Tıp Anabilim Dalları'nın yeri: Eskişehir deneyimi. *Osmangazi Tıp Dergisi* 2006; 28 (2): 103-112.
- 40) Cokkinos DV, Pantos C, Heusch G, Taegtmeyer H. Myocardial ischemia from mechanism to therapeutic potentials. Springer 2006.

- 41) Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA. Hurst's The Heart. 11. edition, Mc-Graw-Hill 2004.
- 42) Onat T, Emerk K. Temel biyokimya. Saray Kitapevleri. İzmir 1997: 910-911.
- 43) Nelson DL, Cox MM. Lehninger Principles of Biochemistry. 4th. edition, New York 2005: 898-899.
- 44) McCance KL, Huether SE. Pathophysiology, the biologic basis for disease in adults and children, fourth edition, Mosby 2002; 1011-1013.
- 45) Kumar, Abbas, Fausto, Robins And Cotran. Pathologic Basis Of Disease. 7th. edition, Elsevier 2005.
- 46) Barlas S, Tireli E, Dayıoğlu E, Barlas C. Miyokard korunması- II: Miyokard metabolizması ve harabiyeti. GKD Cer Dergisi 1994; 2: 313-317.
- 47) Bilgin GN, Gülmen KM, Hilal A, Çekin N. Medikolegal otopsilerde erken miyokard enfarktüsünün; triphnyl tetrazolium chloride (TTC), immunohistokimya ve histokimya yöntemleri ile değerlendirilmesi. Türkiye Klinikleri J Foren Med 2005; 2: 53-60.
- 48) Leadbeatter S, Wawman H M, Jasani B. Immunohistochemical diagnosis of early miyocardial ischaemic/hypoxic damage. Forensic Science International 1989; 40: 171-180.
- 49) Burtis CA, Ashwood ER. Tietz- Klinik kimyada temel ilkeler. Editör- Aslan D. Palme yayıncılık. 5. baskı. Ankara 2005: 354-367.
- 50) Parums DV. Essential clinical pathology. Blackwell Science. London 1996: 314-315.
- 51) Rajappa M, Sharma A. Biomarkers of cardiac injury: An update. Angiology 2005; 56: 677-691.
- 52) Bao-Li Z, Takaki İ, Tomomi M, Dong-Ri L et al. Postmortem cardiac troponin I and creatine kinase MB levels in the blood and pericardial fluid as markers of myocardial damage in medicolegal autopsy. Legal Medicine 2007; 9: 241-250.
- 53) Osuna E, Perez-Carceles M, Vieira D. Distribution of biochemical markers in biologic fluids: Application to the postmortem diagnosis of myocardial infarction. Am J Forensic Med Pathol 1998; 19(2):123-128.
- 54) Vargas SO, Grudzien C, Tanasijevic MJ. Postmortem cardiac troponin-I predict intramyocardial damage at autopsy. J Thromb Thrombolysis 2007; published online.
- 55) Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's illustrated biochemistry. 26<sup>th</sup>. Edition. McGraw Hill 2003.
- 56) Adams JE, Bodor GS, Davila- Roman VG, Delmez JA et al. Cardiac troponin I: A marker with high specifitiy for cardiac injury. Circulation 1993; 88: 101-106.

- 57) Khalifa BA, Najjar M, Addad F, Turki E, Mghirbi T. Cardiac troponin T (cTnT) and the postmortem diagnosis of sudden death. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 2006; 27 (2): 175-177.
- 58) Bao-Li Z, Takaki İ, Tomomi M, Dong-Ri L et al. Postmortem cardiac troponin I and creatine kinase MB levels in the blood and pericardial fluid as markers of myocardial damage in medicolegal autopsy. *Legal medicine* 2007; 9: 241-250.
- 59) McVie JG. Postmortem detection of inapparent myocardial infarction. *J Clin Path* 1970; 23: 203-209.
- 60) Güngör Ö, Sunar B, Özçelik F, Aktaş Z ve ark. Akut miyokard infarktüsünde sialik asit düzeyleri ve seruloplazmin ile ilişkisi. *Türk Biyokimya Dergisi* 2004; 29 (3): 226-231.
- 61) Watanabe M, Ono T, Kondo H. Immunohistochemical studies on the localisation and ontogeny of heart fatty acid binding protein in the rat. *J Anat* 1991; 174: 81-95.
- 62) Tsuji R, Tanaka T, Sohmiya K, Hirata Y et al. Human heart-type cytoplasmic fatty acid binding protein in serum and urine during hyperacute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 1993; 41: 209-217.
- 63) Aartsen WM, Pelsers MM, Hermens WT, Glatz JF et al. Heart fatty acid binding protein and cardiac troponin T plasma concentrations as markers for myocardial infarction after coronary artery ligation in mice. *Eur J Physiol* 2000; 439: 416-422.
- 64) Osuna E, Perez-Carceles M, Vieira D. Distribution of biochemical markers in biologic fluids: Application to the postmortem diagnosis of myocardial infarction. *Am J Forensic Med Pathol* 1998; 19(2):123-128.
- 65) Ramkissoon AR. Macroscopic identification of early myocardial infarction by dehydrogenase alterations. *J Clin Pathol* 1966; 19: 479-481.
- 66) Khalil NP, Siebeck M, Huss R, Pollhammer M et al. Histochemical assesment of early myocardial infarction using 2,3,5- triphenyltetrazolium chloride in blood perfused porcine hearts. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 2006; 54: 307-312.
- 67) Riberio-Silva A, Martin CC, Rossi MA. Is immunohistochemistry a useful tool in the postmortem recognition of myocardial hypoxia in human tissue with no morphological evidence of necrosis ?. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 2002; 23 (1): 72-77.
- 68) Leadbeatter S, Wawman H M, Jasani B. Further evaluation of immunohistochemical staining in the diagnosis of early myocardial ischaemic/hypoxic damage. *Forensic Science International* 1990; 45: 135-141.
- 69) Al-Rufaie HK, Florio RA, Olsen EG. Comparison of the haematoxylin basic fuchsin picric acid method and the fluorescence of haematoxylin and eosin stained sections for the identification of early myocardial infarction. *J Clin Pathol* 1983; 36: 646-649.



- 70) Lachica E, Villanueva E, Luna A. Comparison of different techniques for the postmortem diagnosis of myocardial infarction. *Forensic Science International* 1988; 38: 21-26.
- 71) Badir B, Knight B. Fluorescence microscopy in the detection of early myocardial infarction. *Forensic Science International* 1987; 34: 99-102.
- 72) Edston E. Evaluation of agonal artifacts in the myocardium using a combination of histological stains and immunohistochemistry. *The American Journal of Forensic Medicine and Pathology* 1997;18 (2): 163-167.
- 73) Shekhonin BV, Guriev SB, Irgashev SB, Koteliansky VE. Immunofluorescent identification of fibronectin and fibrinogen/fibrin in experimental myocardial infarction. *J Moll Cell Cardiol* 1990; 22: 533-541.
- 74) Zhang JM, Riddick L. Cytoskeleton immunohistochemical study of early ischemic myocardium. *Forensic Science International* 1996; 80: 229-238.
- 75) Xiaohong Z, Xiaorui C, Jun H, Qisheng Q. The contrast of immunohistochemical studies of myocardial fibrinogen and myoglobin in early myocardial ischemia in rats. *Legal Medicine* 2002; 4: 47-51.
- 76) Fishbein MC, Wang T, Matijasevic M, Hong L et al. Myocardial tissue troponins T and I an immunohistochemical study in experimental models of myocardial ischemia. *Cardiovascular Pathology* 2003; 12: 65-71.
- 77) Fishbein MC, Kulber D, Stancl M, Edwalds G. Distribution of fibrinogen and albumin in normal ischaemic, and necrotic myocardium during the evolution of myocardial infarction: An immunohistochemical study. *Cardiovasc Res* 1986; 20: 36-41.
- 78) Thomsen H, Held H. Immunohistochemical detection of C5b-9<sub>(m)</sub> in myocardium: an aid in distinguishing infarction-induced ischemic heart muscle necrosis from other forms of lethal myocardial injury. *Forensic Science International* 1995; 71: 87-95.
- 79) Thomsen H., Held H. Susceptibility of C5b-9<sub>(m)</sub> to postmortem change. *Int. J. Leg. Med.*, 1994; 106: 291-293.
- 80) Veerkamp JH and Maatman RG. Cytoplasmic fatty acid binding proteins: Their structure and genes. *Prog Lipid Res* 1995; 34 (1): 17-52.
- 81) Fournier NC and Rahim M. Control of energy production in the heart: A new function for fatty acid binding protein. *Biochemistry* 1985; 24 (9): 2387-2396.
- 82) Glatz JF, Van Der Vusse GJ. Cellular fatty acid-binding proteins: Current concepts and future directions. *Mol Cell Biochem* 1990; 98: 237-251.

- 83) Borchers T, Unterberg C, Rüdell H, Robenek H. et al. Subcellular distribution of cardiac fatty acid binding protein in bovine heart muscle and quantitation with an enzyme-linked immunosorbent assay. *Biochimica et Biophysica Acta* 1989; 1002: 54-61.
- 84) Glatz JF, Paulussen RJ, Veerkamp JH. Fatty acid binding proteins from heart. *Chemistry and Physics of Lipids* 1985; 38: 115-129.
- 85) Schaap FG, Van der Vusse GJ, Glatz JF. Fatty acid binding proteins in the heart. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1998; 180: 43-51.
- 86) Spener F, Borchers T. Structural and multifunctional properties of cardiac fatty acid-binding protein: From fatty acid binding to cell growth inhibition. *Biochem Soc Trans* 1992; 20: 806-811.
- 87) Van Gijn ME, Blankesteyn WM, Smits JF, Hierck B. Frizzled 2 is transiently expressed in neural crest containing areas during development of the heart and great arteries in the mouse. *Anat Embryol* 2001; 203: 185-192.
- 88) Kaufman N, Gavan TL, Hill RW. Experimental myocardial infarction in the rat. *Arch Pathol* 1959; 67: 482-488.
- 89) Selye H, Bajusz E, Grasso S, Mendell P. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology* 1960; 11: 398-407.
- 90) Niizeki T, Takeishi Y, Arimoto T, Takabatake N et al. Heart Type Fatty acid binding protein is more sensitive than troponin T to detect the ongoing myocardial damage in chronic heart failure patients. *Journal of Cardiac Failure* 2007; 13 (2): 120-127.
- 91) Aksakoğlu G. Sağlıkta araştırma teknikleri ve analiz yöntemleri. Dokuz Eylül Üniversitesi Rektörlük matbaası, İzmir 2001; 227-236.
- 92) Sharp PE, La Regina MC, A volume in the laboratory animal pocket reference series; the laboratory rat, CRC press, 1998:9-11.
- 93) Emel Ferencı. Akut miyokard infarktüsü sonrası WNT/BETA katenin sinyal ileti yolağının moleküler karakterizasyonu, DEÜTF Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı uzmanlık tezi, İzmir, 2006.
- 94) Hakan Çomaklı. Sıçanlarda miyokardiyal iskemi reperfüzyonu üzerine tacrolimus (FK506)'un koruyucu etkisinin patolojik olarak araştırılması. DEÜTF Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı uzmanlık tezi, İzmir, 2006.
- 95) Vakeva A, Morgan BP, Tikkanen İ, Helin K. et al. Time course of complement activation and inhibitor expression after ischemic injury of rat myocardium. *American Journal of Pathology* 1994; 144 (6): 1357-1368.
- 96) Samsamshariat SE, Samsamshariat ZA, Movahed MR. A novel method for safe and accurate left anterior descending coronary artery ligation for research in rats. *Cardiovascular Revascularization Medicine* 2005; 6:121-123.

- 97) Fishbein MC, Maclean D, Maroko PR. Experimental myocardial infarction in the rat. *American Journal of Pathology* 1978; 90 (1): 57-70.
- 98) Heeneman S, Leendeers PJA, Aarts PJJW, Smits JFM et al. Peripheral vascular alterations during experimental heart failure in the rat. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995; 15 (9): 1503-1511.
- 99) Zeydan F, Hepağuşlar H, Sönmez A, Kar AA, Elar Z. Sıçanlarda adrenalin ile indüklenen aritmi üzerine midazolam ve propofolün etkilerinin karşılaştırılması. *GKD Anest. Yoğ. Bak. Dern. Derg.* 2004; 10(1):4-11.
- 100) Kleine AH, Glatz JF, Van Nieuwenhoven FA and Van der Vusse GJ. Release of heart fatty acid binding protein into plazma after acute myocardial infarction in man. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1992; 116: 155-162.
- 101) Wodzig KW, Pelsers MM, Van der Vusse GJ, Roos W et al. One-step enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for plazma fatty acid-binding protein. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 263-268.

**EK 1**

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP  
FAKÜLTESİ DENEY HAYVANI  
ARAŞTIRMALARI  
ETİK KURULU'NUN 21.09.2007 TARİH VE 87  
SAYILI KARARI.**

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANI ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU**

35340, Inciraltı, İzmir-232 2777777-2254  
<http://tip.deu.edu.tr/etik/deneyetik/>

**Sayı** : 87  
**Tarih** : 24/09/2007  
**Toplantı No** : 01/19/2007  
**Toplantı Tarihi** : 21/09/2007

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,**

72/2007 Protokol No'lu; Adli Tıp Anabilim Dalı Araştırma Görevlilerinden Dr.Murat KÖKER'in sorumlu olduğu "Akut miyokard iskemisinin postmortem tanısında H-FABP'nin değeri" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

**Prof. Dr. Mustafa OLGUNER**  
**Deney Hayvanı Araştırmaları**  
**Etik Kurulu Başkanı**

