

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN

**İSOPROTERENOL İLE MİYOKART İNFARKTÜSÜ
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA L-LİZİN'İN
TOTAL SİALİK ASİT DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Selda ŞENTÜRK

EDİRNE-2008

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN

**İSOPROTERENOL İLE MİYOKART İNFARKTÜSÜ
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA L-LİZİN'İN
TOTAL SİALİK ASİT DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Selda ŞENTÜRK

EDİRNE-2008

Tez no:

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Selda ŞENTÜRK tarafından tez başlığı “İsoproterenol İle Miyokart İnfarktüsü Oluşturulmuş Ratlarda L-lizinin Total Sialik Asit Düzeylerine Etkisinin İncelenmesi” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “Yüksek Lisans Tezi” olarak kabul edilmiştir.

İmza
Prof. Dr. Erol ÇAKIR
JÜRİ BAŞKANI

İmza
Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN
ÜYE

İmza
Prof. Dr. Turhan KÜRÜM
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda bilgi ve tecrübeleri ile yanımda olan değerli danışman hocam Biyokimya AD öğretim üyesi Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN'e, Biyokimya AD Başkanı Prof. Dr. Erol ÇAKIR'a, Biyokimya AD öğretim üyeleri Doç. Dr. Sevgi ESKİOCAK'a ve Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŐ'a, Vet. Hek. Ziya ÇUKUR'a, Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA'ya, Uzm. Dr. Cemal KAZEZOĞLU'na, Yüksek Lisans Öğr. Ezgi KÜRKÇÜ'ye ve tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
SİALİKASİT.....	3
AKUT MİYOKART İNFARKTÜSÜ.....	11
ISOPROTERENOL.....	17
L-LİZİN.....	18
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	22
BULGULAR.....	28
TARTIŞMA.....	36
SONUÇLAR.....	43
ÖZET.....	45
İNGİLİZCE ÖZET.....	47
KAYNAKLAR.....	49
RESİMLEMELER LİSTESİ.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	61
EKLER	

GİRİŞ VE AMAÇ

Miyokardın iskemik nekrozu olan miyokart infarktüsü (MI), genellikle toplumun üretken yaş grubunda sıkça görülen, akut dönem sonrası komplikasyonlara bağlı olarak ciddi sorunlara yol açan ve ölümlü sonuçlanabilen önemli bir toplum sağlığı sorunudur (1). Akut miyokart infarktüsü geçiren hastaların %90'ında hasar gören alanı besleyen koroner arter sıklıkla plak yırtılması ile ilişkili olarak akut trombus oluşması sonucu tıkanır. Aterosklerotik plağın neden olduğu endotel değişikliğinin başlattığı trombosit fonksiyonundaki bozukluk pıhtı oluşumuna katkıda bulunur (2). Koroner arterin trombotik tıkanmasından sonra kan akımının ani kesilmesi irreversibl hücre ve hücre membran hasarına yol açar. Hücre membranının hasarı uğraması sonucu miyokart dokusunda bulunan hücre içerikleri dolaşıma salıverilir. Hücre hasarına bağlı olarak kan dolaşımına salıverilen bazı enzim ve proteinler miyokart infarktüsünün tanısında klinik olarak önemli rol oynarlar (3,4).

Sialik asitler, glikoprotein ve glikolipidlerin oligosakkarid zincirlerinin N-terminal ucunda yer alan açillenmiş nöraminik asit türevleri olup, nöraminik asitten N-asetilasyon yoluyla oluşurlar. Sialik asitler hücre membranının önemli bileşenlerinden olup hücre yüzeyinin negatif yüküne katkıda bulunurlar. Hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerinde ve biyolojik bilginin transferinde önemli rol oynayan sialik asitler, spesifik hücresel tanıma bölgelerini maskeleyen yeteneğine de sahiptirler. Sialik asitler ayrıca glikolipidlere ve glikoproteinlere antijenik özellik kazandırır ve glukokonjugatların makromoleküler yapısını etkilerler (5,6). Serum total sialik asit (TSA)'in yükselmiş düzeylerinin artmış kardiyovasküler mortalite ve serebrovasküler hastalıklarla ilişkili bir kardiyovasküler risk faktörü olabileceğinin gösterilmesi son yıllarda sialik asite olan ilgiyi artırmıştır (7-9).

Miyokart infarktöslü hastaların da serum sialik asit düzeylerinde bir artışın bulunduğu bildirilmiş ve bu artıştan oligosakkarid yan zincirlerinin terminal pozisyonunda sialik asit kalıntısı içeren akut faz proteinlerinin karaciğerden dolaşıma artmış atılımlarının rol oynayabileceği ileri sürölmüştür (10-12). Akut miyokart infarktüsü sonrası serumda yükselmiş sialik asit düzeylerinden, hasara uğramış miyokardiyal hücre ve/veya hücre membranından sialik asit kalıntılarının salıverilmesinin de sorumlu olabileceği bildirilmiştir (13,14). Hücre membranından sialik asit kalıntılarının salıverilmesi spontanöz olabilir (15) ya da sialoglikokonjugatların terminal ucundan sialik asit kalıntılarını ayıran sialidaz (16) aktivitesindeki artışa bağlı olabilir. Miyokart infarktöslü hastaların serum sialidaz aktivitesinde bir artış olduğu bilinmektedir (17). Bununla birlikte sialidaz aktivasyonu veya indüksiyonu olmaksızın oksidatif stresin de hücre yüzeyindeki oligosakkaridlerden sialik asitin salıverilmesini başlatabileceği gösterilmiştir (18). Reaktif oksijen partikülleri (ROS)'nin üretiminin post-iskemik miyokartta hızlandığı (19) ve bunun da akut inflamatuvar yanıtta ve post-iskemik doku zedelenmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (20). Bu nedenle miyokardiyal iskemideki doku zedelenmesine eşlik eden oksidatif stres de akut miyokart infarktüsü sonrası artmış serum sialik asit düzeylerinden sorumlu olabilir.

Arginaz, karaciğerde amonyağın zehirsizleştirilmesinden sorumlu üre döngüsündeki son enzim olup, argininin, ornitin ve üreye hidrolizini katalizleyen bir metaloenzimdir (21,22). Karaciğer dışı arginazın başlıca glutamik asit, poliamin ve prolin sentezi ile ilişkili olabileceği ileri sürölmüştür (23,24). Arginaz'ın substratı olan L-arginin aynı zamanda damar regölasyonu ve immun modölasyon ile ilişkili olan nitrik oksit (NO) üretimi için NO sentaz'ın da substratıdır (25). NO'nun reaktif oksijen partikülleri aracılığı ile oluşan doku hasarını azalttığı ve bu yolla kalbi koruyucu etki gösterdiği ileri sürölmüştür (26). Esansiyel bir amino asit olan L-lizin, arginaz enziminin güçlü bir inhibitörüdür ve L-arginin'den arginaz aracılığı ile üre oluşumunu bloke etme yeteneğine sahiptir (27). L-Lizin verilisinin isoproterenol ile uyarılmış kardiyak hasara karşı koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (28). L-Lizin verilisi ile arginaz enzimi inhibe edilerek L-arginin'in NO oluşum yoluna kayması sağlandığında, NO düzeylerindeki artışın hücre hasarını azaltacağı ve dolayısıyla miyokardiyal hücreden dolaşıma daha az sialik asitin salıverilmesine yol açacağı açıktır.

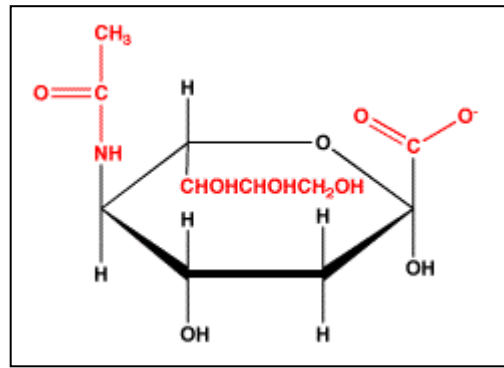
Bu çalışmanın amacı, isoproterenol (ISO) ile deneysel miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda L-lizin'in serum ve doku TSA düzeylerine etkisini incelemek ve MI'da gözlenen serum sialik asit artışında oksidatif hücre hasarının rolünü irdelemektir.

GENEL BİLGİLER

SİALİK ASİT

Sialik Asitin Yapısı

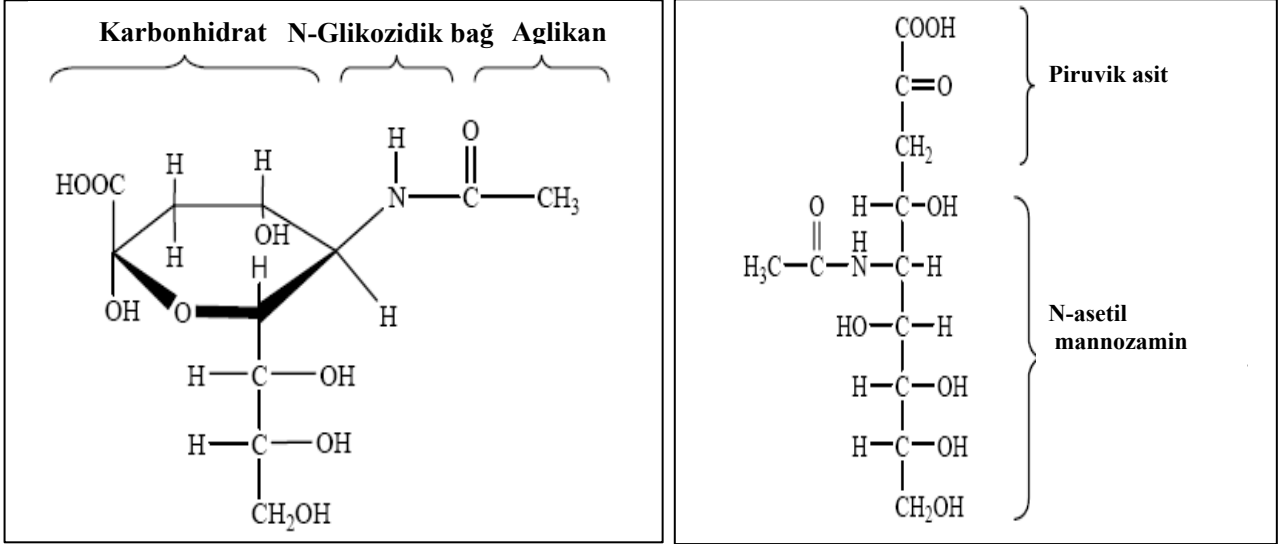
Plazma membranları ve diğer hücrel bileşenlerin yapısındaki glikoprotein ve glikolipidlerin N-terminal ucunda bulunan sialik asitler, dokuz karbonlu bir amino şeker olan nöraminik asitin asetillenmiş türevlerinden oluşan amino şekerlerdir (29). Sialik asit ilk kez 1936 yılında Blix tarafından sığırların tükürük bezi mütininden izole edilmiştir (30).



Şekil 1. N-Asetilnöraminik asit (31).

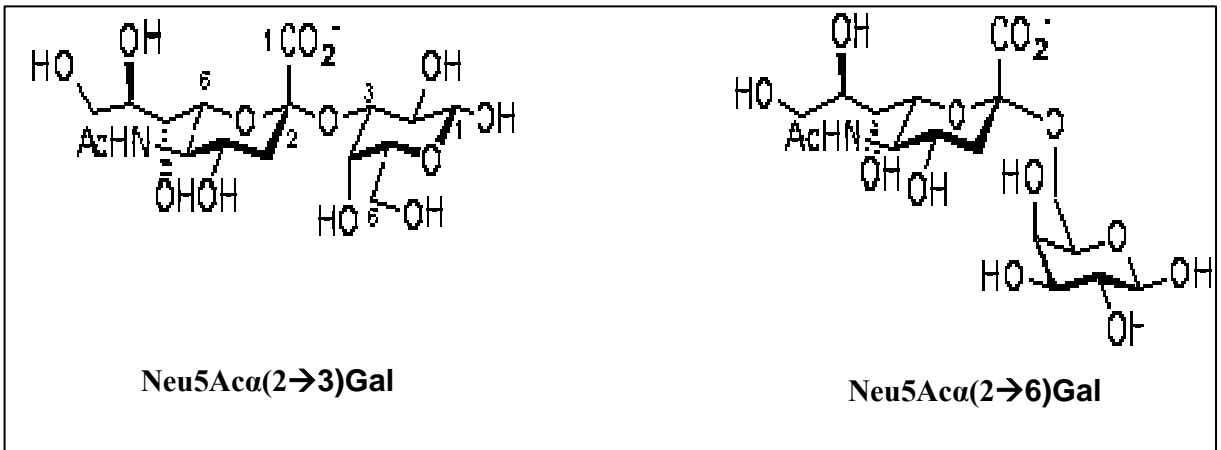
Doğada birçok canlı türünde yirmiden fazla sialik asit türü mevcuttur. İnsan dokularında yer alan temel sialik asit türevi, beşinci karbon atomu asetillenmiş N-asetilnöraminik asit (NANA)'tir (Şekil 1) (31,32). Moleküler formülü $C_{11}H_{19}NO_9$ olan

NANA'nın moleküler ağırlığı ise 309 daltondur (33). Sialik asitin lineer ve piranoz olmak üzere iki formu bulunur (Şekil 2) (34).



Şekil 2. Sialik asitin piranoz ve lineer formu (34).

Sialik asit glikoproteinlerin yapısına oligosakkarit zincirinin terminal α (2→6) bağı ile ganglioitlerin yapısına ise oligosakkarit zincirinin ortasından α (2→3) bağı ile bağlıdır (Şekil 3) (32,35). N-Asetil galaktozamin ya da N-asetilglukozamine genellikle galaktoz α -glikozidik bağ ile bağlıdır (6).



Şekil 3. NANA'nın oligosakkarid zincirinde α (2→3) ve α (2→6) bağı durumu (35).

Sialik Asit Metabolizması

Sialik asit sentezi sitozolde başlar. İlk sentezlenen molekül bir amino şekerdir ve amino şekerin öncüsü fruktoz-6-fosfat'tır. Azot atomları ise glutaminin amid grubundan gelir. Fruktoz-6-fosfata glutaminin amino grubu transfer edilerek glukozamin-6-fosfat meydana gelir. Bu reaksiyonu katalizleyen enzim glutaminfruktoz-6-fosfat aminotransferaz'dır. Bu reaksiyon geri dönüşümsüzdür ve uridin difosfat (UDP)-N-asetilglukozamin tarafından inhibe edilir.

Glukozamin-6-fosfat, asetil-KoA ile reaksiyona girerek N-asetilglukozamin-6-fosfat'ı oluşturur. Glukozamin-6-fosfat ya bir mutaz enzimi aracılığı ile N-asetilglukozamin-1-fosfat'a ya da epimeraz enzimi etkisiyle N-asetilmannozamin-6-fosfat'a dönüşür. Mutaz enzimi aracılığıyla oluşan N-asetilglukozamin-1-fosfat, üridin trifosfat (UTP) varlığında UDP-N-asetilglukozamin fosforilaz enziminin katalizörlüğü ile UDP-N-asetilglukozamin'e çevrilir. Oluşan bu ürün, okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) varlığında, UDP-N-asetilglukozamin epimeraz etkisiyle UDP-N-asetilgalaktozamin'i oluşturur. Bu yol daha sonra glukozaminoglikan ve glikoprotein sentezine doğru ilerler (36).

Epimeraz enzimi etkisiyle N-asetilglukozamin-6-fosfat'tan oluşan N-asetilmannozamin-6-fosfat, fosfoenolpiruvat ile aldol kondensasyonuna katılır ve N-asetilnöraminik asit-9-fosfat oluşur. Bu reaksiyon NANA aldolaz ile katalizlenir. Daha sonra N-asetilnöraminik asit-9-fosfat hidrolizi ile NANA ve inorganik fosfat (Pi) meydana gelir. Oligosakkaritlere bağlanmadan önce NANA, sitidin trifosfat (CTP) ile aktifleşerek sitidin monofosfat (CMP)-NANA'yı meydana getirir. Bu reaksiyon N-asetilnöraminat-CMP-pirofosforilaz tarafından katalizlenir. Bu sırada bir mol pirofosfat (PPi) ayrılır (Şekil 4) (6, 36).

CMP-Sialik asitler nükleusta sentezlenir. Sialoglikokonjugatların sentezlendiği tüm dokularda (özellikle karaciğer, beyin, submandibular bezler), bu nükleotid esterlerinin olduğu düşünülmektedir. Ancak düşük miktarlarda bulunduğu için izolasyonu zordur (36).

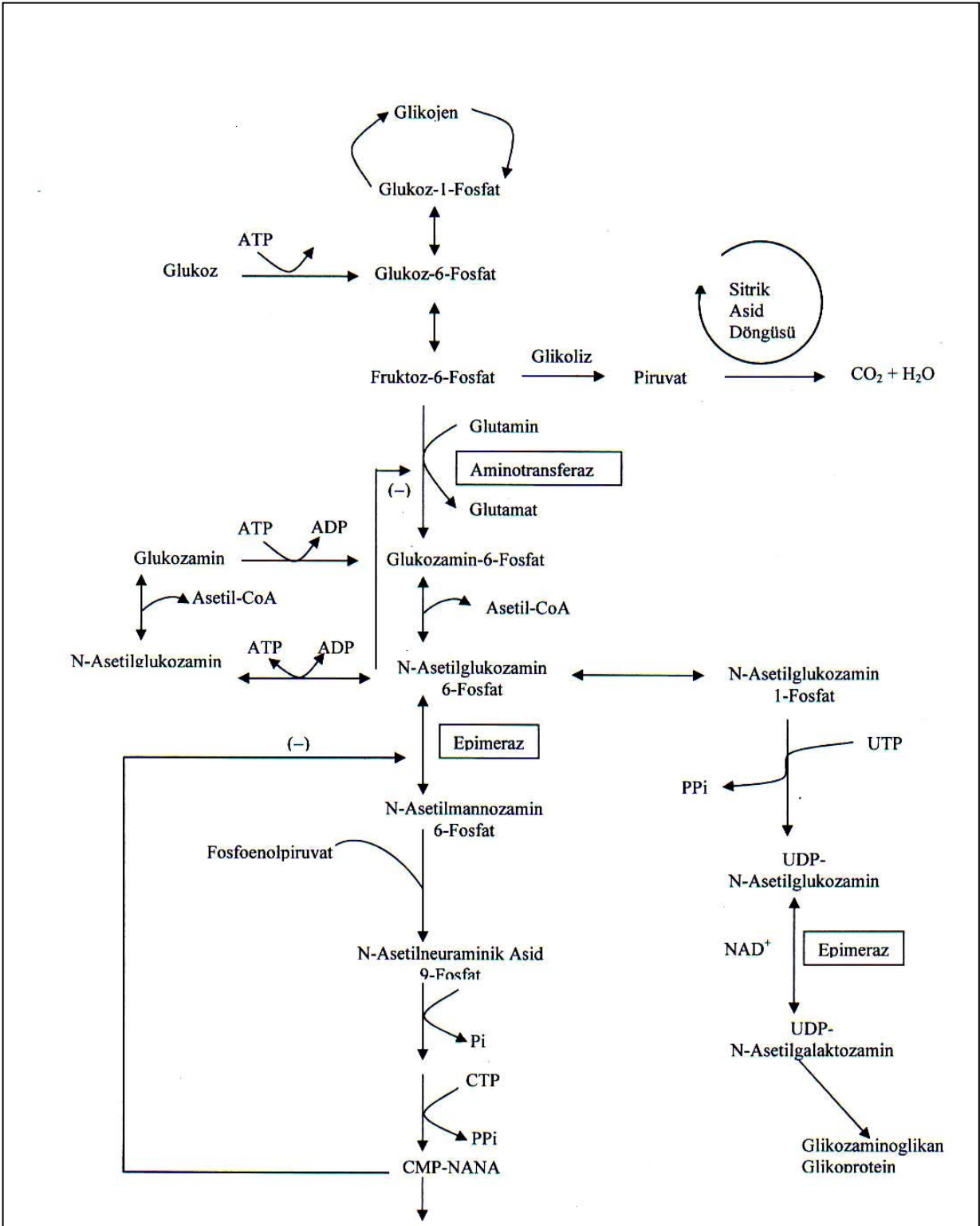
Sialik asit biyosentezinin kontrolü feedback inhibisyon mekanizması ile olur. Bu regülasyonda görevli enzimler fruktoz-6-fosfat aminotransferaz ve UDP-N-asetilglukozamin epimeraz'dır. CMP-NANA düzeyi arttığında, UDP-N-asetilglukozamin epimeraz enzimi inhibe olur, aynı şekilde UDP-N-asetilglukozamin düzeyi arttığında, fruktoz-6-fosfat aminotransferaz aktivitesi azalır (36,37). Serumdaki sialik asit molekülleri plazmadan böbrekler aracılığı ile glomerullar filtrata geçer ve tübüllerde reabsorbsiyona uğramadan idrar yoluyla atılır (38).

Glikoproteinlerin sentezi sırasında sialik asit kalıntılarının ilavesi trans-golgede olur. CMP-Sialik asit kompleksindeki sialik asit kalıntılarının, asialoglikoproteinlere transferinden sorumlu enzimler sialiltransferazlardır (E.C.2.4.99.1). Bu enzimler, glikoziltransferazlar grubuna dahildir ve monosakkaridleri glikoprotein veya glikolipid kalıntlarına eklerler. Glukokonjugatların spesifikliğine göre farklı enzim çeşitleri vardır ve transfer reaksiyonlarında α -glikozidik bağın (2→3), (2→4), (2→8) gibi farklı türleri oluşmaktadır (37).

Memeli hücrelerinde, glukokonjugatların terminal ucunda bulunan sialik asit kalıntılarının hidrolizi sialidaz (nöraminidaz, EC.3.2.1.18) enzimiyle gerçekleşir. (39). Sialidaz, sialik asit katabolizmasında anahtar enzimdir ve memeliler gibi yüksek organizmaların yanı sıra protozoalar, virüsler ve bakteriler gibi basit organizmalarda da bulunur (32). Sialidaz enzimi, sialillenmiş glikokonjugatlardaki bağ tiplerine bağlı olarak; (2→3) bağlarını hızlı, (2→6) bağlarını daha yavaş hidroliz eder (39). Sialidaz ile sialik asit kalıntılarının uzaklaştırılması, sialoglikokonjugatın dolaşımdaki ömrünü, antijenik ekspresyon ve reseptör tarafından tanınma gibi önemli biyolojik süreçleri etkileyebilir (6,16,39).

Subsellular lokalizasyon gösteren sialidazın substrat spesifikliğı, ısıya dayanıklılık, kationlar tarafından inhibisyona duyarlılık ve kinetik özellikleri temel alınarak farklı tiplerinin bulunduğu gösterilmiştir (6,16). Sıçan karaciğerinde immunolojik, katalitik özellik, subsellular lokalizasyon gibi özellikler göz önünde bulundurularak en az 4 farklı tip sialidazın varlığı tespit edilmiştir. Bunlar; intralizozomal, sitozolik ve membrana bağlı sialidaz I ve II'dir. İmmunolojik çalışmalar ile diğer memeli türlerinde ve çeşitli sıçan dokularında aynı tip sialidazların var olduğu anlaşılmıştır (40).

Konjenital sialidaz enzimi eksikliğinde, hücre sitoplazmasında sialiloligosakkaritlerin birikmesiyle meydana gelen hücre hasarıyla karakterize olan ve özellikle santral sinir sistemi, retiküloendotelyal sistem ve iskelet sistemini tutan, otozomal resesif geçişli bir kalıtsal lizozomal depo hastalığı olan sialidozis ortaya çıkar (41).



Şekil 4. Sialik asit ve glikoprotein sentezi (36).

UTP: Uridin trifosfat; **PPi:** Pirofosfat; **UDP:** Uridin difosfat; **CTP:** Sitidin trifosfat; **CMP:** Sitidin monofosfat; **NANA:** N-Asetilnöraminik asit; **ADP:** Adenozin difosfat; **ATP:** Adenozin trifosfat; **NAD:** Nikotinamid adenin dinükleotid.

Sialik Asitin Fonksiyonları

Canlı hücre ve organizmalardaki moleküler ve hücrel etkileşimlerin kontrolünde sialik asitler önemli görevlere sahiptir. Hücre membranlarındaki eksternal lokalizasyonları ve glukokonjugatlardaki periferik durumları onların önemini artırır (Şekil5). Sialik asitlerin %98-99'u glikoproteinlere, ufak bir bölümü lipidlere bağlıdır (6). Sialik asitin fonksiyonlarını 4 ana başlık altında toplayabiliriz (16,32,42):

1. Sialik asitlerin negatif yüklerinden dolayı fonksiyonları: Terminal durumdaki sialik asitlerin hücre adhezyonuna katıldığı kabul edilir (6). Nöraminik asitin birinci pozisyonundaki karboksil grubu, fizyolojik pH'da moleküle güçlü bir organik asit kadar negatif bir yük kazandırır (NANA için $pK_a=2,6$) (32). Sialik asitin negatif yükünün itici elektrostatik gücü; hücre membranının yapısal bütünlüğünün korunmasında etkilidir. Kültür ortamında membran sialik asitlerinin, elektrostatik itmeden dolayı trombositler, eritrositler ve kanser hücrelerinde hücre agregasyonunu önlediği bildirilmiştir (43). Yapılan çalışmalar; eritrosit membran sialidaz ile muamele edildikten sonra, eritrositlerin ömrünün 120 günden 2 saate düştüğünü göstermiştir. Bu da sialik asit içeriğinin, bu hücrelerin yaşam süresiyle yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (44). Yeni doğanda eritrositlerin yaşam süresiyle eritrosit membran sialik asitinin yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (45). Ayrıca sialik asitin negatif yükünün sinir hücrelerinin aktivitesinde de rol oynadığı ortaya konmuştur (6). Makromoleküllere ve hücrelere katyonik bileşiklerin bağlanmasını da sialik asitler kolaylaştırmaktadır. Özellikle kas hücrelerinde, sialik asit kalıntıları Ca^{+2} bağlayıcı olarak görevlidir (46).

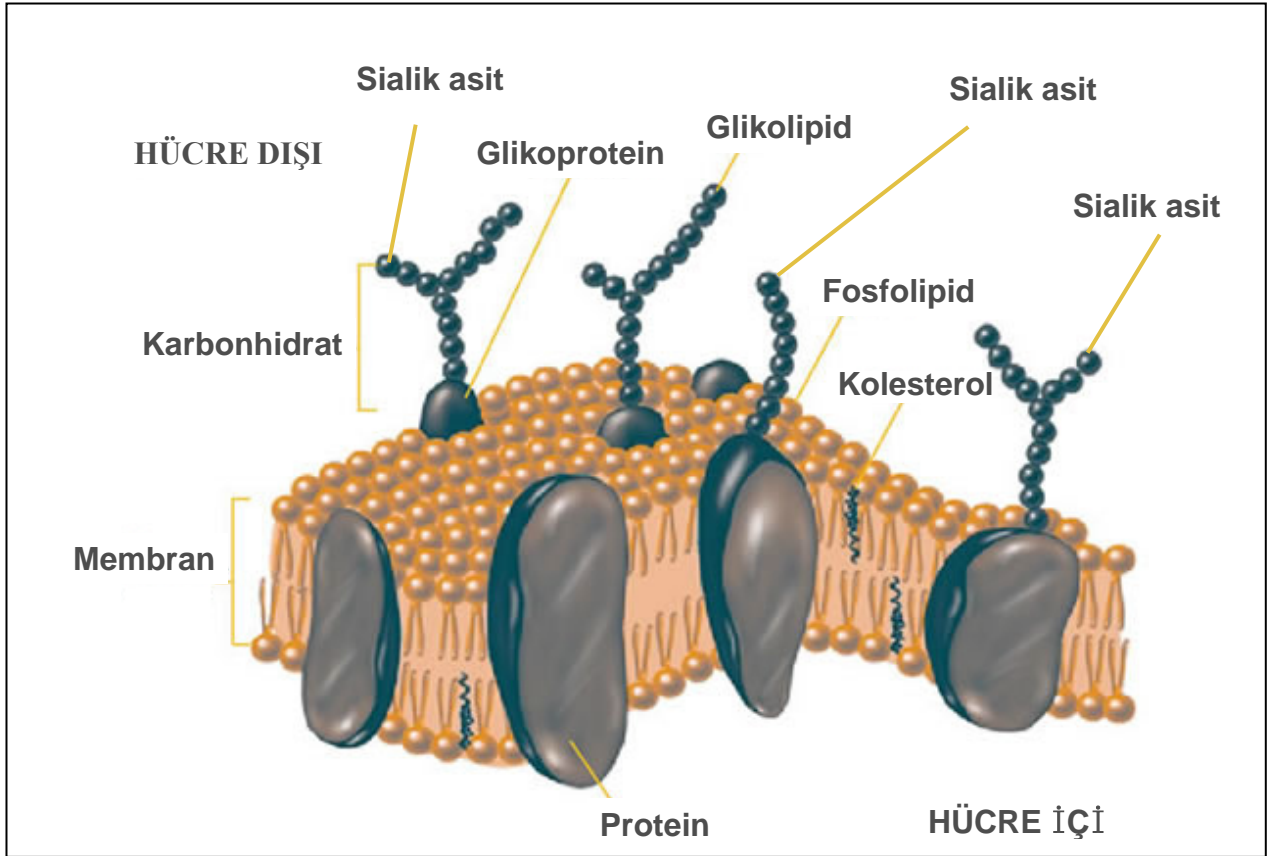
2. Makromoleküler yapılarda ve reseptör bileşeni olarak sialik asitler: Sialik asitler birçok hücre yüzey reseptörünün esansiyel bileşeni olarak bulunurlar. İnsülin, serotonin, opiat, östrojen, interferon ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) reseptörlerinin yapısında sialik asit varlığına rastlanmıştır (6,32,47). Hücreye, tetanoz, difteri, botulismus, kolera, tubokürar gibi çeşitli toksinlerin bağlanması ve dolayısıyla ve birçok viral infeksiyon sialik asit içeren reseptörler aracılığıyla gerçekleşir (6).

Makromoleküler yapılarda da sialik asitlerin çeşitli etkileri vardır. Sialik asit bölgeleri tüm glikoproteinlerin intrinsik akışkanlığını artırır. Bu nedenle solunum, sindirim, ürogenital sistem, göz içi sıvısı ve eklem sıvısı gibi müsin yapıdaki sekresyonların akışkanlığı üzerine önemli bir etkisi vardır. Submandibular bez glikoproteinlerinden sialik asitlerin kısmen uzaklaştırılması ile akışkanlıklarının çok azaldığı gözlenmiştir (6). İnsan endometriumunda sialik asit içeren bir glikoproteinin bulunduğu ve sperm membranına spesifik şekilde bağlanarak sperm depolanmasında rol oynadığı gösterilmiştir (Şekil 5) (48,49).

3. Sialik asitlerin maskeleye etkisi: Maskeleye özelliği sialik asitlerin en önemli görevlerinden birisidir. Sialik asitler, maskeleye etkisiyle oligosakkarid zincirlerinin ve glukokonjugat moleküllerinin protein ve lipid kısımlarının antijenikliğini azaltırlar. Sialik asitler enzimatik olarak uzaklaştırıldığında ya da karboksil grupları bir alkole indirgenendiğinde antijeniklik değişir veya anlamlı derecede artar (50). Sialik asitler maskeleye etkisi ile eritrosit, lenfosit ve trombositlerin yaşam süreleri, immunglobulinlerin aktiviteleri, LDL'nin metabolik klirensi gibi birçok biyolojik olayı kontrol ederler.

Sialik asitlerin maskeleye etkisi üreme sisteminde de görülür. Plasentanın trofoblast hücrelerinin yüzeyinde bulunan sialik asitçe zengin glikoprotein tabakasının, fetütle anne arasında bir immun bariyer oluşturduğu ve annenin fetüse karşı antikor oluşturmasını önlediği gözlenmiştir (51).

4. Sialik asitlerin belirteç olarak önemi: Hücre membranları, hücrenin büyümesi ve neoplastik hareketleri için sialik asite ihtiyaç duyarlar (6). Yapılan çalışmalar sialik asitin normal gebelik süresince doğrusal bir artış gösterdiğini ve bu artışın fetüsün anne tarafından reddedilmesini önleyici bir etken olduğunu göstermiştir (51). Negatif yükü sayesinde sialik asit, hücre biyolojisinde glikoproteinlerin konformasyonlarını etkiler, mikroorganizmalar, toksinler ve hormonlar için reseptör görevi yapar, diğer moleköl ve hücrelerin immunolojik tanıma bölgelerini maskeler (32,37). Glikoprotein ve gangliozidlerde yer alan sialik asit kalıntılarının, inflamatuvar hastalıklar ve kanser ile ilişkili hücresel tanıma ve immunolojik reaksiyonlarda önemli rolü olduğu bildirilmiştir (6). Kanserde ve renal hastalıklarda da sialik asit düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (38,52).



Şekil 5. Hücre membran yapısında sialik asit (49).

Desialilasyon

Desialilasyon; sialik asit kalıntılarının sialidaz enzimi aracılığıyla bir glikoproteinden uzaklaŐtırılmasıdır. Glikoproteinlerin antijenik özellikleri, reseptörler tarafından tanınma, fonksiyonunu yerine getirmedeki yapısal etkinlikleri ve dolaŐımda kalma gibi çeşitli biyolojik süreçleri desialilasyondan etkilenebilir (53). Total hücre sialik asitinin %70'i plazma membranının dıŐ yüzeyindeki glikoproteinlerin ve gangliozidlerin yapısında bulunan sialik asittir. Sialik asit burada membranının negatif yükünden sorumlu olup katyon bağlanması, transport ve permabilite gibi membranla ilgili birçok temel iŐlevden sorumludur (42).

Sialik asitlerin negatif yüklü karboksil grupları, hücre membranında Ca^{+2} 'un bağlanma yerlerinden biridir. Kas hücresinin desialilasyona uğraması sonucunda kalsiyumun membrana bağlanması azalır, hücreye giriŐi artar ve membran polaritesi azalır. Miyokart hücrelerinin yüzeyinde bol miktarda sialik asit vardır ve bu sialik asitler miyokardiyal kastaki Ca^{+2} alışveriŐini kontrol ederler (6,54).

Sialoglikoproteinlerin çoğu, sialik asitten dolayı proteolitik ajanlara karşı dirençlidir. Örneğin; fibronektin ve dopamin-β-hidroksilaz, desialilasyona uğramaları sonucu proteazların etkisine maruz kalırlar ve biyolojik görevlerini yerine getiremezler (6).

Sialik asitler hücre yüzeyinin negatif yükünün yaklaşık %50'sinden sorumludurlar. Bu nedenle membran glikolipid ve glikoproteinlerinin karbonhidrat zincirlerinin bileşimindeki en ufak bir değişim membran fonksiyonunda önemli değişikliklere sebep olur (6,55).

AKUT MİYOKART İNFARKTÜSÜ

Tanım

Akut miyokart infarktüsü, uzamış iskemi sonucu meydana gelen geri dönüşümsüz kalp kası nekrozu olarak tanımlanır. Akut miyokart infarktüsünün şiddeti, miyokardın O₂ gereksinimi ile koroner kan sağlanması arasındaki dengesizliğin derecesi ve süresi ile yakından ilişkilidir (56). Hastadaki belirti ve bulgular, uzamış iskemi esnasında gelişen fizyolojik, hücrel ve biyokimyasal değişiklikleri yansıtır (57).

Epidemiyoloji

Ülkemizde ve sanayileşmiş toplumlarda en önemli morbidite ve mortalite nedeni son yıllarda tanı ve tedavide sağlanan gelişmelere rağmen akut miyokart infarktüsü'dür (56). Akut miyokart infarktüsünün hastane mortalitesi 1950-60 yılları arasında %30-35 oranında iken, akut miyokart infarktüsü'nün rutin bir tedavinin bir parçası haline gelmesi ve çeşitli tedavi yöntemlerinin gelişmesi ile 1980'li yılların başlarında %10-15'lere kadar gerilemiştir. Fakat tüm bu olumlu gelişmelere rağmen, yapılan geniş çaplı epidemiyolojik çalışmalardan "akut koroner olay"a bağlı ölümlerin %60-75'i hastane dışında meydana gelir ve bu yüzden klinik çalışmalarda bildirilen hastane mortalitesinin total mortaliteyi yansıtmadığı düşünülmektedir (58). Hastaneye ulaşan hastalardan sağ kalanların yaklaşık %4'ü, MI'yı izleyen ilk bir yıl içerisinde kaybedilir (59).

On yıllık (1990-2000) TEKHARF çalışması verilerine göre, ülkemizde 45-74 yaş arasında koroner kalp hastalığının yıllık mortalitesi erkeklerde binde 20.3, kadınlarda ise binde 12.9'dur. Bu veriler ülkemizi, özellikle kadınlarda Avrupa ülkeleri arasında en yüksek sıralara oturtmaktadır. Aynı yaş grubunda koroner kalp hastalıklarının ölüm prevalansları

sırasıyla binde 8.0 ve 4.7'dir (60). Hastane mortalitesinin yaklaşık 2/3'nin ilk 24 saat içinde, 1/3'nin ise ilk 1 saat içinde olması nedeniyle akut miyokart infarktüsü mortalitesinin azaltılmasında yapılacak tıbbi müdahalenin etkinliği yeterli değildir. Bu nedenle akut miyokart infarktüsü sıklığının azaltılmasında, yüksek riskli hasta gruplarının ve iskemik kalp hastalığı tanısı konmuş hastaların takip ve tedavisi önem kazanmaktadır (58).

Etiyoloji ve Patogenez

Miyokart infarktüsünün %85'inden fazlası ateroskleroz nedeniyle daralmış bir koroner arteri tıkayan akut trombus ile oluşur. Böyle bir trombus; aterosklerotik plak, koroner damar endoteli, dolaşımdaki trombositler ve damar duvarının dinamik vazomotor tonusu arasındaki etkileşimlerle gelişmektedir (56).

Ateroskleroz yaygın tutulum gösteren bir hastalık olup, elastik arterlerin (aorta, karotis ve iliak arterler) ve orta büyüklükteki müküler arterlerin hastalığıdır. Buna karşılık küçük arterler nadiren etkilenir (61). Epikardial koroner arterler; vücutta ateroskleroza en yatkın damarlardır. Bu damarlarda bulunan aterom plağının fibröz kapsülünün rüptüre ya da fissüre olmasıyla trombositler ve koagülasyon sistemi aktive olarak, hasarlı yüzeyde trombosit kümelenmesine neden olur. Plak üzerine eklenen trombus, lümen içi daralma veya tıkanmaya neden olarak miyokart dokusunda perfüzyon yetersizliğine yani iskemiye yol açar (62).

Miyokardiyal iskemi sonucu oluşan klinik sendromlar şunlardır (63): angina pectoris (stabil angina, unstabil angina veya varyant angina), miyokart infarktüsü, iskemik kardiyomiyopati ve ani kardiyak ölüm.

Akut miyokart infarktüsü; belirgin koroner ateroskleroz, plak fissürü, rüptürü veya plak içi hemorajiye eklenen trombus, trombosit aktivasyonu ile agregasyonu ve vazospazm gibi bazı etkenlerin ilişkisi sonucunda gelişmektedir (64). Rüptüre olmuş ya da üzerindeki endotelde fonksiyon bozukluğu gelişmiş olan aterom plağına yerleşen trombus, koroner damarlarda tıkanmaya ve iskemik nekroza neden olur (65). Akut miyokart infarktüsünde gelişen fizyopatolojik olaylar 2 evrede gelişir (Tablo1) (56):

1. Akut infarktüs zamanında gelişen erken değişiklikler (<5gün): İnfarktüsün histopatolojik değişimi ve miyokart kontraktilesi üzerine O₂ eksikliğinin fonksiyonel etkisi ile oluşur. Bu değişiklikler, damar tıkanıldıktan sonra hemen başlar, pH düşmesi ile miyokart kontraktilesi azalır ve 2-4 gün içinde miyokart koagülasyon nekrozunun gelişmesi ile son bulur. Akut iskemi durumunda, aerobik metabolizma yetersizleşince hücre içi Adenozin trifosfat (ATP) azalır. Sonuçta hücre içi asidoz gelişir ve ATP' ye bağımlı süreçler bozulur.

2. Miyokardın rekonstrüksiyonu esnasında gelişen geç değişiklikler (>5gün): Nekrotik miyokart makrofajlar tarafından temizlenir ve kollajen birikimi ile skar dokusu gelişir. İnfarktüstten 7 hafta sonra fibrozis ve skarlaşma tamamlanır. İnfarktüsle ventriküllerin kasılması hızla bozulur ve genellikle kalp debisi düşer (56).

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (NCEP- ATP III) kriterlerine göre koroner arter hastalığı risk faktörleri Tablo 2’de görülmektedir (66,67).

Tablo 1. Akut miyokart infarktüsü sırasında gelişen erken ve geç değişiklikler (56).

ZAMAN	OLAY
Erken Değişiklikler	
1-2 dk 10 dk 20-40 dk 4-12 saat 18-24 saat 2-4 gün	ATP düzeyi düşer, kasılma azalır veya durur ATP düzeyi %50 azalınca hücre ödemi olur, membran potansiyeli azalır Geri dönüşümsüz hücre ölümü olur Hemoraji, ödem Koagülasyon nekrozu Total koagülasyon nekrozu
Geç Değişiklikler	
5-7 gün 7 hafta	Makrofajların ölü dokuya rezorpsiyonu ve yumuşama gelişir Fibrozis ve skarlaşma tamamlanır

ATP: Adenozin trifosfat.

Tablo 2. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri (66).

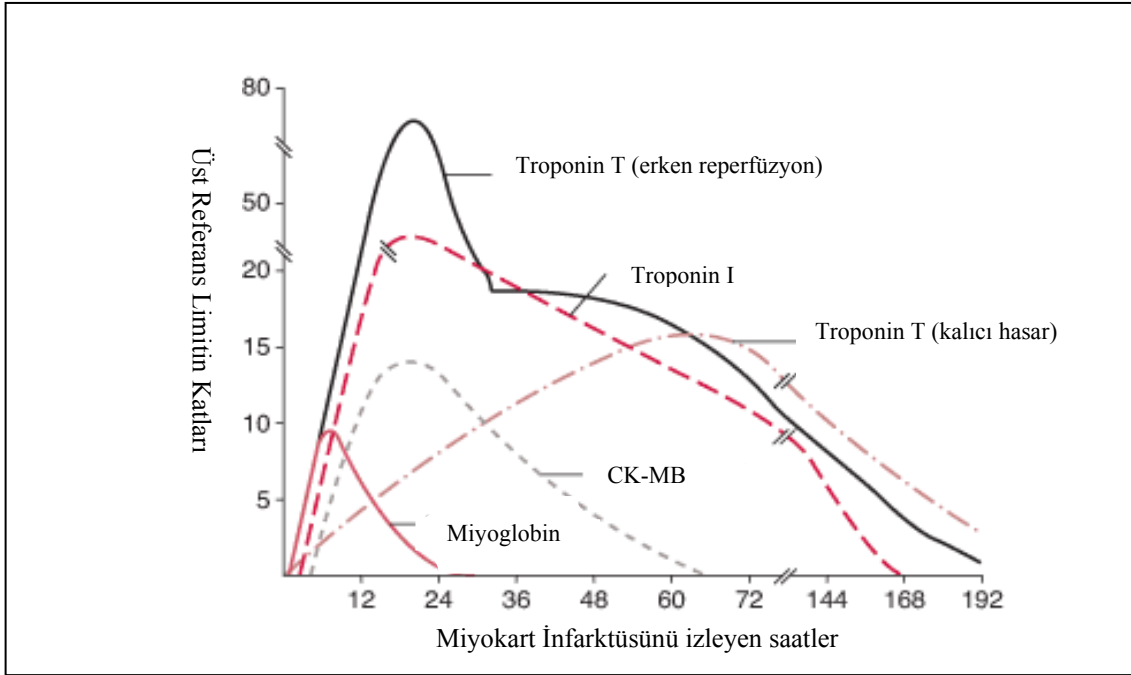
RİSK FAKTÖRLERİ		
Lipid Risk Faktörleri	Non-Lipid Risk Faktörleri	
<ul style="list-style-type: none"> ·LDL kolesterol yüksekliği ·Trigliseritler ·Non-HDL kolesterol ·HDL kolesterol düşüklüğü, ·Aterojenik dislipidemi 	Modifiye Edilebilen Risk Faktörleri	Modifiye Edilemeyen Risk Faktörleri
		<ul style="list-style-type: none"> ·Hipertansiyon ·Sigara ·Diabetes Mellitus ·Obezite ·Fiziksel inaktivite ·Aterojenik diyet ·Trombojenik durum

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein; HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein.

Akut Miyokart İnfarktüs Tanısı

Akut miyokart infarktüsünün teşhisi; klinik tanı (karakteristik hikaye ve klinik bulgular), elektrokardiyografi (EKG) değişiklikleri ve spesifik serum enzim yükselişleri olmak üzere üç temele dayandırılır (56). Akut miyokart infarktüsü tanısı koymada, iskemik tipteki göğüs ağrısı ile birlikte elektrokardiogramdaki değişiklikler en hızlı sonuç veren yöntemdir (68). EKG'nin tanısal özgüllüğü yaklaşık %100, tanısal duyarlılığı %63-82 olduğundan tanı koymada serum kardiyak belirleyicilere ihtiyaç duyulur (Tablo 3) (62).

Kardiyak belirteçler, akut miyokart infarktüsünün veya minör miyokardiyal hasarın saptanmasında faydalı olan klinik laboratuvar testleridir. Miyokart hücrelerinde membran hasarı sonucunda, dolaşıma belirli miyokart enzimleri salınır ve bunlar infarktüsün laboratuvar desteğini oluştururlar. Bu enzimlerin plazma konsantrasyonlarındaki yükselişi, miyokart nekrozunun yaygınlığına ve bu enzimlerin dolaşıma karışmasına bağlıdır (56). Bu enzim ve proteinlerden en sık kullanılanları; kreatin kinaz (CK) izoenzimleri, laktat dehidrogenaz (LD), miyogloblin ve troponin I (TnI) ve troponin T (TnT)'dir. Kardiyak belirteçler, miyosit içindeki yerleşimleri, hasar sonrası salınımları ve serum klirensleri açısından farklılık gösterirler (Şekil 6) (62,69).



Şekil 6. Akut miyokart infarktüsünde kardiyak belirteçlerin salınma zamanları (69).

CK-MB: Kreatin kinaz-MB.

Tablo 3. Serum kardiyak belirteçleri (62).

Belirteç	Molekül ağırlık	Üst referans sınırı aştığı (saat)	Tepe konsantrasyona ulaşması için geçen zaman (saat)	Referans aralık düzeyine inmesi için geçen zaman (gün)
CK	86000	3–8	10–24	3–4
CK-MB (CK-2)	86000	3–8	10–24	2–3
LD, LD-1	135000	8–12	72–144	8–14
Miyoglobin	18000	1–3	6–9	1
Tn I ve T	23000 (I) 42000 (T)	3–8	24–48 (ilk tepe) 72–100 (ikinci tepe; sadece T)	3–5 (I) 5–10 (T)

CK: Kreatin kinaz; **CK-MB:** Kreatin kinaz-MB; **LD:** Laktat dehidrogenaz; **LD-1:** Laktat dehidrogenaz-1; **TnI:** Troponin I; **TnT:** Troponin T.

CK izoenzimleri: Canlı organizmalarda iskelet kasında (CK-MM), kalp kasında (CK-MB) ve sinir dokusunda (CK-BB) olmak üzere üç izoenzimi vardır. Kreatin kinazın başlıca görevi, yüksek enerjili fosfat gruplarının geçici bir depolanma şekli olan fosfokreatinden, fosfat grubunu adenzin difosfat (ADP)'a transfer ederek enerjinin hemen kullanılabilir şekli olan ATP'nin oluşumunu sağlamak ve kreatinin, ATP tarafından tekrar fosfokreatine fosforillenmesini katalizlemektir (70). CK, 6 saat içinde serumda yükselmeye başlar, 24 saat içinde pik yapar ve infarktüs sonrası 2–4 gün içinde normale döner. Total serum CK aktivitesi, iskelet kası harabiyeti, alkol intoksikasyonu ve konvülsiyonlarında da yükselir. Çünkü kreatin kinaz, kalp, kaslar, beyin ve diğer organlarda bulunur. Daha çok kalp kasına spesifik izoenzimi, CK-MB'dir. MI sonrasında total serum CK'nın %5'inden daha fazla yükselir. İnfarktüs genişliği, CK-MB yükselme seviyesi ile tahmin edilebilir. CK-MB'nin nadir kaynakları, uterus, prostat, mide, barsak, dil ve diyaframda bulunur (56). CK-MB düzeyleri akut miyokart infarktüsünün tanısında uzun yıllar altın standart olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte iskelet kasında da bulunduğu için kas hastalıkları, akut ya da

kronik kas zedelenmesi gibi bazı klinik durumlarda ve renal yetmezlikte yalancı pozitiflik verebilir (71).

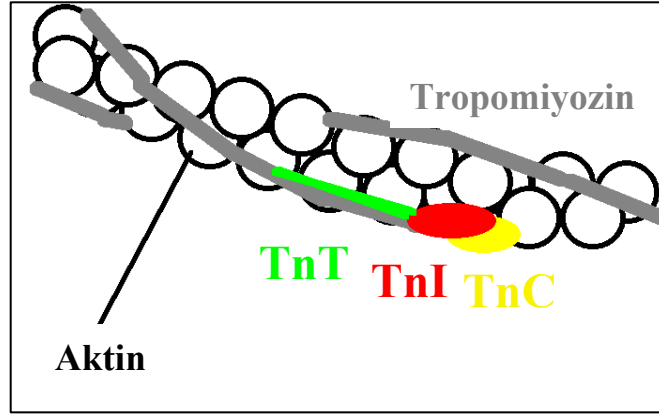
Laktat dehidrogenaz: Piruvat'tan laktat'ın oluşumunu LD katalizler. Birçok dokuda bulunur ve 5 izoenzimi vardır. MI tanısında LD-1 ve LD-2 izoenzimleri kullanılır. LD-1/ LD-2 oranı 1'den büyükse miyokart nekrozunu gösterir. LD-2 eritrositlerde LD-4 ve LD-5 ise karaciğer ve iskelet kaslarında bulunur. LD-1, serumda 8-12. saatten sonra yükselmeye başlar, 1-3 günde pik yapar ve yüksek kan düzeyi 7-10 gün devam eder. Göğüs ağrısı başladıktan sonra geç kalan hastalarda (>48 saat) faydalı diyagnostik testtir. Dokuya özgü bir enzim olmadığı için kalp hastalığından başka, hemoliz durumunda kan hastalıklarında, akciğer infarktüsünde ve çeşitli karaciğer hastalıklarında yükselir (56,71).

Miyogloblin: Miyogloblin, düz kaslarda bulunmaz, kalp ve iskelet kaslarının sitoplazmik proteindir. Molekül ağırlığı küçük olduğundan ufak bir hasarda bile kana karışabilir. Miyokart infarktüsünde; ilk 1-2 saat içinde yükselmeye başlar, 6-10 saat içinde en yüksek düzeyine ulaşır, yaklaşık 24 saatte normal düzeye döner. Miyokart infarktüsü için ilk 2 saat özgüllüğü %95 ve doğruluğu %37 olarak bulunmuştur (71,72).

Kardiyak troponin I ve T: Troponin, çizgili kasta bulunan ve 3 alt gruba sahip bir komplekstir. Bunlar, troponin C (TnC) (kalsiyum bağlayıcı bileşen) (18 kDa), TnI (inhibitör bileşen) (24 kDa) ve TnT (tropomiyozin bağlayıcı bileşen) (37 kDa)'dir (73). TnC, kalsiyumu bağlar ve kontraksiyonu başlatır; troponin I, aktini bağlar ve istirahat sırasında aktin-miyozin etkileşimini inhibe eder. TnT ise troponin kompleksinin tropomiyozine bağlanmasını sağlar. Düz kas hücrelerinde kontraksiyonu düzenleyen bir troponin kompleksi ise yoktur. Bu hücrelerde kontraksiyon miyozin hafif zinciri-2'nin fosforilasyonu ile düzenlenmektedir (Şekil 7) (74,75).

TnI ve TnT akut miyokart infarktüsü sonrası erken dönemde ilk 4-8 saat içinde üst referans limitini aşar ve salınım kinetiği CK-MB'ye benzer. Bu ilk artışın nedeni troponinlerin sitoplazmik fraksiyonudur. Miyofibril bağlı fraksiyonda troponinlerin salınımı devam eder ve akut miyokart infarktüsü sonrası 5 ile 10 gün arasında TnI ve TnT artmış olarak kalır. Eğer kardiyak hasar yoksa kardiyak troponin değerleri oldukça düşüktür, hatta ölçülemeyecek düzeydedir, bu nedenle CK-MB'ye göre miyokart hasarını ve riski belirlemede daha etkindirler (56,76). TnT, infarktüs başlangıcıyla birlikte 4-6 saat içinde artar ve 11. saatte en yüksek seviyesine ulaşır (10-24 saat), 2-5 günde sonlanan bir plato görülür ve azalarak normal değerlerine 7. günde döner. Miyokart infarktüsünün ilk 6 saati içinde TnT, CK-MB ya da miyoglobine göre bir üstünlük sağlamasa da, TnT'nin duyarlılığı 10.saat ile 5

gün arası %100'dür. Tanısal etkinliği ise 6 güne kadar %98'dir. TnT, kalp kası hasarının ayırıcı tanısında kullanılır (62,77).



Şekil 7. Troponin alt grupları (75).

TnI: Troponin I; **TnT:** Troponin T; **TnC:** Troponin C.

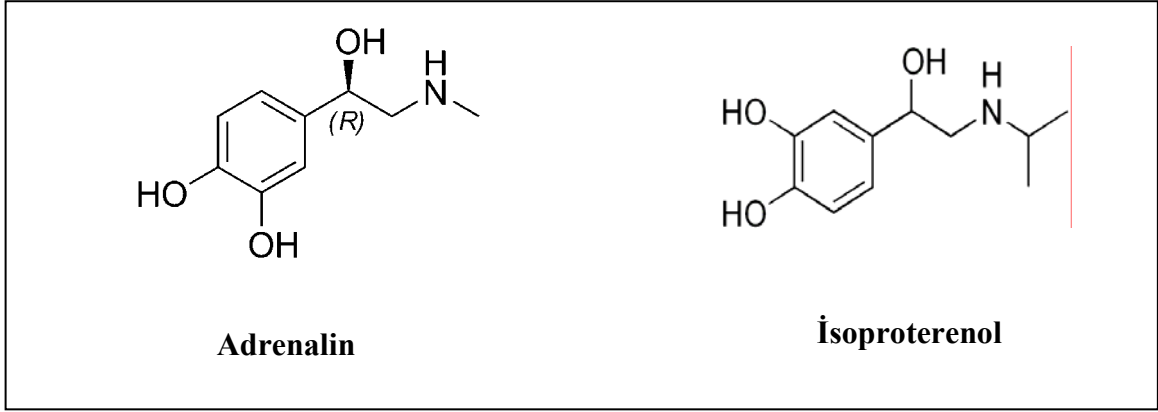
TnI sadece miyokartta bulunur bu nedenle TnT'ye göre kalbe daha spesifiktir. CK-MB ile karşılaştırıldığında, kalp kasında daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve daha hızlı (ilk 4 saatte) yükselir. İskelet kası hasarından sonra serumda TnI bulunmaz, bu nedenle miyokart hasarının çok duyarlı bir indikatörü olarak bilinir. TnI infarktüs sonrası 4-6 saate yükselmeye başlar, 11. saatte pik yapar (10-24 saat arası) ve yaklaşık 5 günde normale döner (78, 79).

İSOPROTERENOL

İsoproterenolün Yapısı ve Etkileri

Sentetik bir sempatomimetik amin (katekolamin) olan ISO'nun sistemik ismi 4-(1-hidroksi-2-[(metiletil)amino]etil)-1,2-benzendiol hidroklorit olup kapalı formülü $C_{11}H_{17}NO_3.HCl$ 'dir ve molekül ağırlığı 242.72 g'dır. Yapı olarak adrenaline çok benzemekle beraber sadece β_1 ve β_2 reseptörlerini uyarır ve α reseptörlerini hiç etkilemez (Şekil 8) (80-82) .

İsoproterenol vazodilatör etkiye sahiptir. Ağız yoluyla kullanılamaz çünkü ISO da adrenaline gibi barsakta inaktive edilir. İskemik koroner hastalığı olanlarda kontrendikedir (80-83). İsoproterenol aynı zamanda aerosol şeklinde inhalasyon yoluyla, astım tedavisinde ve kronik bronşit ve amfizem tedavisinde kullanılan bir ilaçtır (80).



Şekil 8. Adrenalin ve isoproterenolün yapısal benzerliği (82).

ISO, ratlarda deneysel olarak miyokart infarktüsü oluşturmak için yaygın olarak kullanılır (84). ISO, kalp kasının infarktüs benzeri nekrozuna neden olur. İsooproterenolün oluşturduğu bu nekroz membran geçirgenliğinin değişmesine yol açarak miyokart membran bütünlüğünün ve fonksiyonunun kaybına neden olur. ISO tarafından oluşturulan miyokart infarktüsü sonrası sıçan kalbinde oluşan patofizyolojik değişiklikler, insanlarda miyokart infarktüsü sonrası oluşan değişikliklere benzerlik göstermektedir (85).

ISO ile uyarılmış miyokardiyal hasarın mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, çeşitli faktörlerin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Bunlardan, siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeylerindeki artış (86), intrasellüler kalsiyum artışı ve yüksek enerjili fosfatların tüketilmesi en önemli faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır (87). Ayrıca katekolaminlerin oksidatif metabolizmasından kaynaklanan serbest radikallerin aşırı üretimi de olası mekanizmalar arasında sayılmaktadır (88).

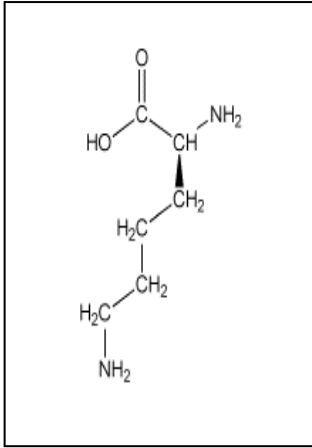
L-LİZİN

Yapısı

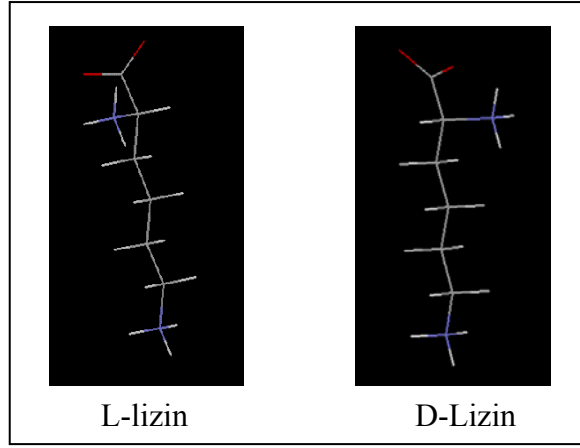
Lizin (Lys), proteinlerde bulunan 20 aminoasitten biridir. Moleküler ağırlığı 146.188 g/mol'dür. 4-Aminobütül (birincil amin) yan zinciri nedeniyle, histidin ve arginin gibi bazik aminoasitler grubuna dahildir. Moleküler formülü $C_6H_{14}N_2O_2$ 'dir.

L-Lizin, insanların besinler yoluyla alması gerekli temel bir esansiyel aminoasittir. Günlük lizin ihtiyacımız 1-1.5 gr arasındadır. Lizin, kalsiyum emilimi, kas proteinlerinin inşası, ameliyat sonrası ve spor yaralanmaları sonrası iyileşme sürecinde, vücut tarafından

hormonların, antikorların ve enzimlerin sentezlenişinde önemli role sahiptir (89). Polarize ışığı çevirme durumuna göre D ve L olmak üzere iki izomeri vardır (Şekil 9 ve 10) (90,91).



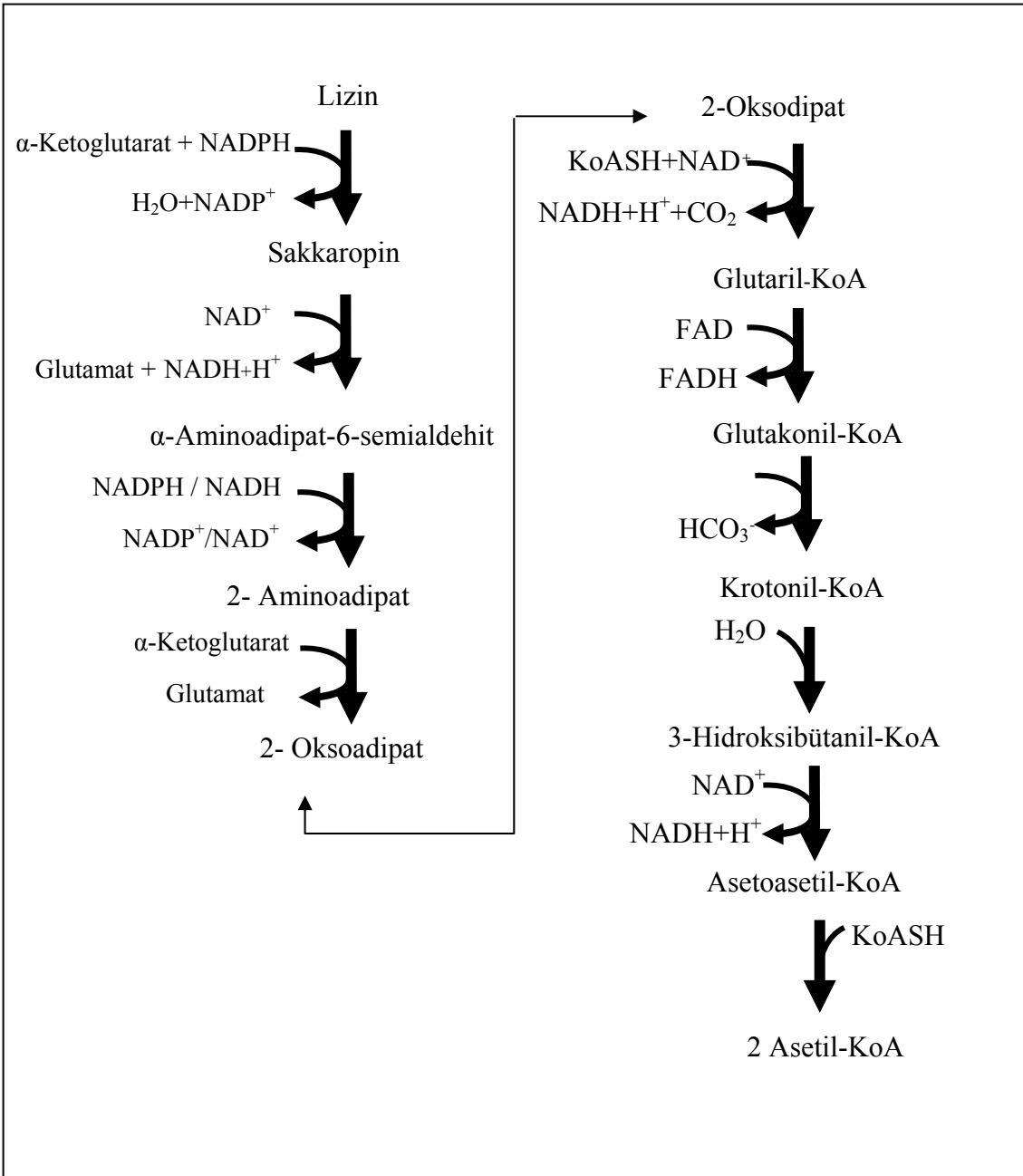
Şekil 9. Lizin'in yapısı (90).



Şekil 10. Lizin'in uzaysal görünümü(91).

L-Lizin'in Metabolizması

Hayvanlar tarafından sentezlenemeyen bir aminoasittir oysa bitki ve mikroorganizmalar, aspartik asitten lizin sentezleyebilirler (89). L-Lizin'in memelilerdeki parçalanması sakkaropin yolu ile olur. L-Lizin, α -ketoglutarat ile kondanse olarak sakkaropini oluşturmasıyla reaksiyon başlar. Bu reaksiyonu katalizleyen enzim lizin- α -ketoglutarat redüktaz'dır. Oluşan sakkaropin, sakkaropin dehidrogenaz katalizörlüğünde 2-aminoadipat-6-semialdehit'e dönüşür. Oluşan bu ürünler çeşitli reaksiyonlarla asetil-KoA'ya dönüşür (Şekil 11) (92,93). Bu enzimlerden lizin- α -ketoglutarat redüktaz'ın eksikliğinde zeka geriliği ve fiziksel gelişme bozukluklarıyla seyreden hiperlizinemi, sakkaropin dehidrogenaz eksikliğinde ise sakkaropinüri denilen genetik hastalıklar meydana gelir (94,95).

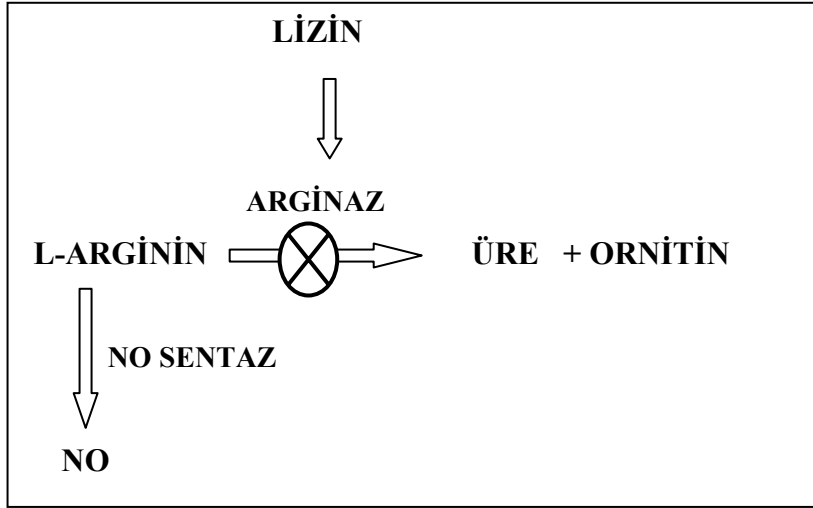


Şekil 11. Memelilerde L-lizin metabolizması (92).

L-Lizin ve Nitrik Oksit

L-Lizin, arginaz enziminin güçlü bir inhibitörüdür ve L-arginin'den arginaz aracılığı ile üre oluşumunu bloke etme kapasitesine sahiptir (Şekil 12) (27). L-Lizin'nin arginininden en önemli farkı, NO sentezi için bir substrat olmamasıdır. L-Arginin, endotel kökenli nitrik oksit üretimini uyaran yarı esansiyel bir aminoasittir (28). Marchesi ve ark. (96) L-arginin'in damar sisteminde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir. Endotelde L-argininden

üretilen NO, kuvvetli bir vazodilatör olarak etki gösteren ve koroner kan akımını arttıran kimyasal bir habercidir. NO'nun ROS aracılığı ile oluşan doku hasarını azalttığı ve bu yolla kalbi koruyucu etki gösterdiği ileri sürülmüştür (97).



Şekil 12. L-Lizin tarafından arginaz'ın inhibisyonu (27).

NO: Nitrik oksit.

Endojen L-arginin'in üretim hızı fizyolojik ihtiyacı karşılamak için yavaş ve yetersizdir. Dahası L-arginin, arginaz enzim aracılığıyla üreye çevrildiğinden NO üretimi için gerekli L-arginin düzeyini de azaltır. L-Lizin, arginaz enziminin kuvvetli bir inhibitörüdür ve L-argininden üre oluşumunu inhibe ederek reaksiyonun NO sentezine kaymasını sağlar (27). L-Arginin ve L-lizin'in birlikte verilmesinin kalp hasarına karşı daha iyi bir koruma sağladığı da bildirilmiştir (28).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmada Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden sağlanan 24 adet sağlıklı yetişkin erkek Wistar albino rat kullanıldı. Hayvanlar oda sıcaklığında, 12 saat ışık 12 saat karanlık siklusu ile barındırıldı. Çalışmaya başlamadan hayvanların tartımları alındı. Total sialik asit düzeylerinin ölçümü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Kalp dokularının histopatolojik incelemesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışma Trakya Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 22.06.2006 tarihinde 10 sayılı oturumda TÜTFEK 2006/098 protokol ile onaylandı (Ek 1).

Deneysel Akut Miyokart İnfarktüsü Modelinin Oluşturulması ve L-Lizin Uygulanması

Deneyde ratlar, ISO grubu (8 rat) , ISO+L-lizin (8 rat) grubu ve kontrol grubu (8 rat) olmak üzere rastgele 3 gruba ayrıldı. ISO grubundaki ratlara intraperitoneal yoldan 24 saat arayla günde 150 mg/kg olacak şekilde toplam 2 kez ISO uygulandı. ISO+L-lizin grubundaki ratlara ise 5 gün boyunca her gün oral yoldan 5mg/kg olacak şekilde L-lizin (28) verildi. Bu gruba 4. ve 5 günler aynı zamanda intraperitoneal yoldan günde 150 mg/kg olacak şekilde 24 saat arayla toplam 2 kez ISO uygulandı. Kontrol grubuna ise % 0.9'luk sodyum klorür (NaCl, serum fizyolojik) 24 saat arayla toplam 2 kez uygulandı. İsoproterenol hidroklorik asit (ISO-HCl)'in deneysel akut miyokart infarktüsü modeli oluşturduğu farklı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (81,98,99).

Kan Örneklerinin Alınması

ISO grubundaki ve ISO+L-lizin grubundaki ratlardan ikinci ISO dozundan 24 saat sonra anestezi altında periferik venöz kan örneği alındı. Kontrol grubundaki ratlardan ise ikinci serum fizyolojik dozundan 24 saat sonra anestezi altında periferik venöz kan örneği alındı. Anestezik ilaç olarak 5 mg/kg ronpun (Ksilazin) ve 50 mg/kg ketalar (Ketamin) kullanıldı. Serum TSA analizi için kanlar biyokimya tüplerine alındı. Alınan kan örnekleri 11000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Serumlar ependorflara konularak analiz gününe kadar -80°C'de saklandı.

Sakrifikasyon ve Doku Örneklerinin Alınması

Akut miyokart infarktüsü sonrası kalp dokusunda beklenen değişiklikleri histopatolojik olarak incelemek üzere ayrıca 3 rat daha alınarak, birine kontrol grubundaki, birine ISO grubundaki ve bir diğerine ise ISO+L-lizin grubundaki prosedür uygulandı. Bu ratlar 15. güne kadar yaşatıldı ve ardından anestezi altında sakrifiye edildi. Diğer ratlar ikinci ISO dozundan 24 saat sonra periferik kan örneklerinin alınmasını takiben anestezi altında hemen sakrifiye edilerek kalp dokuları çıkarıldı. Doku total sialik asit ve protein analizi için alınan kalp dokuları, soğuk % 0.9'luk sodyum klorür ile 2 kez yıkanarak analiz gününe kadar serum fizyolojik içinde -80°C'de saklandı. Histopatolojik olarak incelenecek kalp dokuları ise formolle tespit edilip Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi.

Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sülfirik asit (Riedel de Haën)

o-Fosforik asit (Riedel de Haën)

Sodyum m-periyodat (Merck)

Sodyum m-arsenit (Sigma)

Sodyum sülfat (Merck)

Tiyobarbitürik asit (Merck)

Sikloheksanon (Lab-san)

Sodyum karbonat (Sigma)

Sodyum potasyum tartarat (Merck)

Bakır sülfat (Merck)

Folin Ciocalteus Phenol reaktifi (Sigma)

Analizlerde Kullanılan Cam Malzemeler ve Laboratuvar Gereçleri

Santrifüj (Rotofix-32,Hettich)

Otomatik pipetler (Eppendorf, Socorex, Microlit)

Hassas terazi (Sartorius)

Su banyosu (GFL 1083)

Vorteks (VELP)

Manyetik karıştırıcı (IKA)

Spektrofotometre (Unicam)

Distile su cihazı (Nüve NS245)

Deney tüpleri

Balon jojeler

Erlen

Baget

Puar

Portüp

Kardiyak Belirteç Tayini

Rat serumlarında Troponin I analizi, Bolu Köroğlu Devlet Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda time-resolved florometri metodu kullanılarak Innotrac-Aio markalı analizör ve ticari kiti ile gerçekleştirildi.

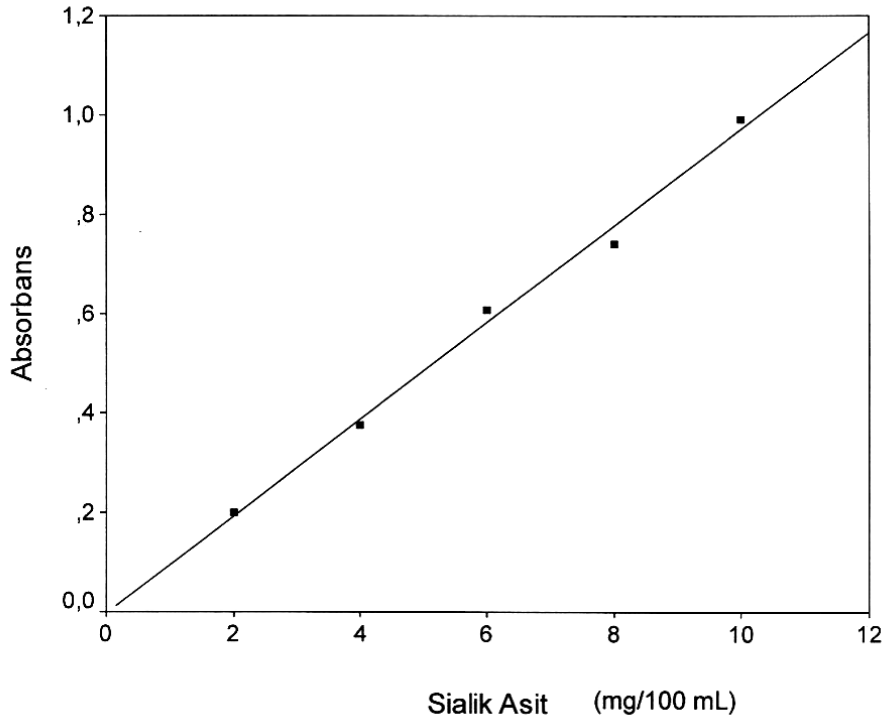
Serum ve Doku Total Sialik Asit Analizi

Serum total sialik asit düzeylerini belirlemek için Warren tarafından geliştirilen tiyobarbitürik asit yöntemi kullanıldı (100).

Deneyin prensibi: Sialik asit, asit ile hidrolizde serbest hale geçer. Asidik ortamda ve periyodat varlığında okside edilir. Oksidasyon sonucu oluşan β -formilpirüvik asit, tiyobarbitürik asit varlığında pembe renkli bir ürün oluşmasına sebep olur. Pembe renkli ürünün absorbansı sialik asit miktarı ile orantılıdır.

Deneyin yapılışı ve standart grafiğinin oluşturulması: Serumda TSA tayini için 0.1 ml serum 1.9 ml 0,1 N H₂SO₄ ile, doku TSA tayini için 0.2 ml doku homojenatı 0.3 N H₂SO₄ ile 80 °C'lik su banyosunda inkübe edilerek hidroliz edildi ve sialik asit serbest hale geçirildi.

Hidrolizattan 0.2 ml alınarak bir tübe konuldu ve %85'lik o-fosforik asit ile hazırlanmış 0.2 M sodyum metaperiyodattan ilave edildi. Üzerine %10'luk sodyum arsenitten 0.5ml ve ardından 0.04 M tiyobarbitürik asitten 1.5 ml eklenerek kaynayan su banyosuna tutuldu. Oda sıcaklığında soğutularak üzerine 2.15 ml siklohekzanon ilave edildi ve ekstraksiyon yapıldı. 1200 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Üstteki pembe renkli fazın absorbansı köre karşı 549 nm'de okundu. Standart eğrisinin hazırlanması için 2, 4, 6, 8 ve 10 mg/100mL konsantrasyonlarında sialik asit standart çözeltileri hazırlandı ve yukarıdaki yöntemle çalışıldı. Absorbansları okunarak konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi (Şekil 13). Regresyon analizinden saptanan formül kullanılarak numunelerdeki sialik asit düzeyleri hesaplandı.



Şekil 13. Sialik asit standart grafiği.

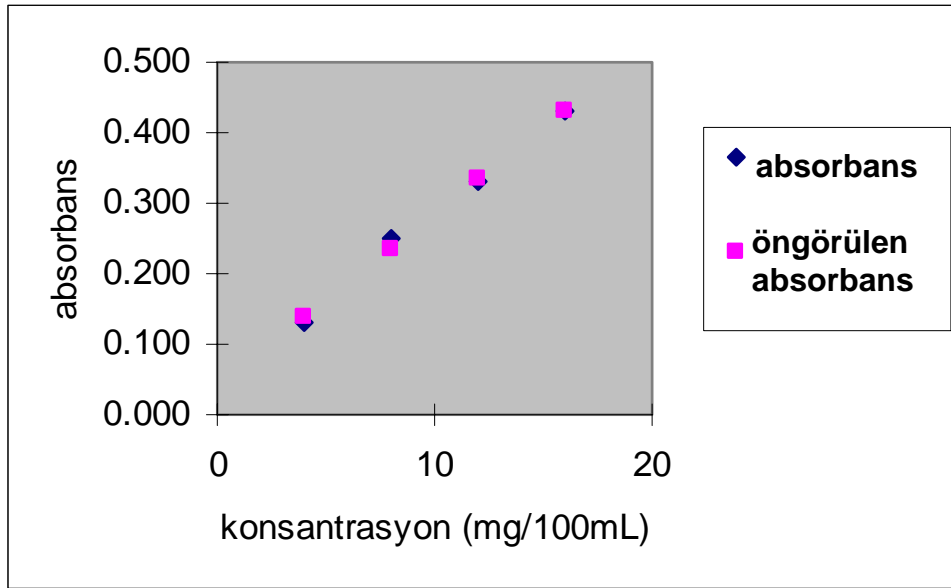
$$\text{Absorbans} = -0.0015834 + 0.09734953 \times \text{Konsantrasyon}$$

Doku Total Protein Analizi

Doku total protein analizi Lowry metodu kullanılarak yapıldı (101). Analiz için 0.5 ml örnek (1/10 dilüe edilmiş) ile 0.5 ml alkali bakır ayırıcı bir deney tüpüne kondu ve 10 dk oda

ısısında bekletildi. Üzerine 2ml folin ayırıcı kondu ve 30dk 37°C’de bekletildi. Absorbans köre karşı 660 nm’de okundu.

Standart eğrisinin hazırlanması için 4, 8, 12, 16 ve 20 mg/100mL konsantrasyonlarında albümin standart çözeltileri hazırlandı. Yukarıdaki yöntem, hazırlanan albümin standart çözeltilerine uygulandı. Absorbansları okunarak konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi (Şekil 14). Regresyon analizinden saptanan formül kullanılarak numunelerdeki protein düzeyleri hesaplandı.



Şekil 14. Albümin standart grafiği.

$$\text{Absorbans} = 0.04 + 0.0245 \times \text{Konsantrasyon}$$

Dokuların Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Öncelikle dokular %10'luk formaldehitte 24 saat tespit edildi. Ardından horizontal olarak sirküler dilimler halinde tamamıyla 16 saatlik alkol takibine alındı. Alkol takip süresinin ardından dokulardan hazırlanan parafin bloklardan 5µ kalınlığında kesitler alınarak hematoxilen-eozin ile boyandı. Kesitler ışık mikroskobunda değerlendirildi. İlk değerlendirmenin ardından uygun görülen bloklardan histokimyasal olarak Mason trikrom boyama için yeni kesitler alındı ve son alınan kesitler önceki kesitlerle birlikte ışık mikroskobu altında yeniden değerlendirmeye tabi tutuldu.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme için Trakya Üniversitesi Tıp Fakóltesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'na kayıtlı STATISCA 7.0 (Lisans no: 31N6YUCV38) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi. Sonuçların değerlendirilmesinde Student's t, One-Way ANOVA ve Pearson korelasyon testi kullanıldı. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

Kontrol grubundaki ratların ağırlığı ortalama 260.75 ± 21.43 g, ISO grubundaki ratların ağırlığı ortalama 273.50 ± 10.51 g, ISO+L-lizin grubundaki ratların ağırlığı ortalama 257.87 ± 18.01 g olarak bulundu. Gruplar arasında ağırlık bakımından istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0.05$). Kontrol grubu, ISO grubu ve ISO+L-lizin gruplarındaki ratların serum total sialik asit düzeyleri Tablo 4’te, troponin I düzeyleri Tablo 5’te, doku total sialik asit düzeyleri ise Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 4. Kontrol, ISO ve ISO+L-lizin gruplarındaki ratların serum TSA düzeyleri.

TSA (mg/100 mL)			
Rat	Kontrol grubu	ISO grubu	ISO+L-lizin grubu
1	65.39	90.98	85.13
2	59.17	95.96	94.61
3	39.48	99.27	77.51
4	63.83	80.52	85.34
5	53.99	92.12	82.80
6	64.25	89.12	79.84
7	55.85	94.92	73.52
8	53.99	109.84	68.03

TSA: Total sialik asit; **ISO:** İsoproterenol.

Tablo 5. Kontrol, ISO ve ISO+L-lizin gruplarındaki ratların TnI düzeyleri.

TnI (ng/mL)			
Rat	Kontrol grubu	ISO grubu	ISO+L-lizin grubu
1	<0.01	6.25	5.84
2	<0.01	5.24	6.56
3	<0.01	8.67	4.13
4	<0.01	15.33	7.27
5	<0.01	6.25	5.92
6	<0.01	9.81	5.73
7	<0.01	9.56	6.75
8	<0.01	17.49	5.00

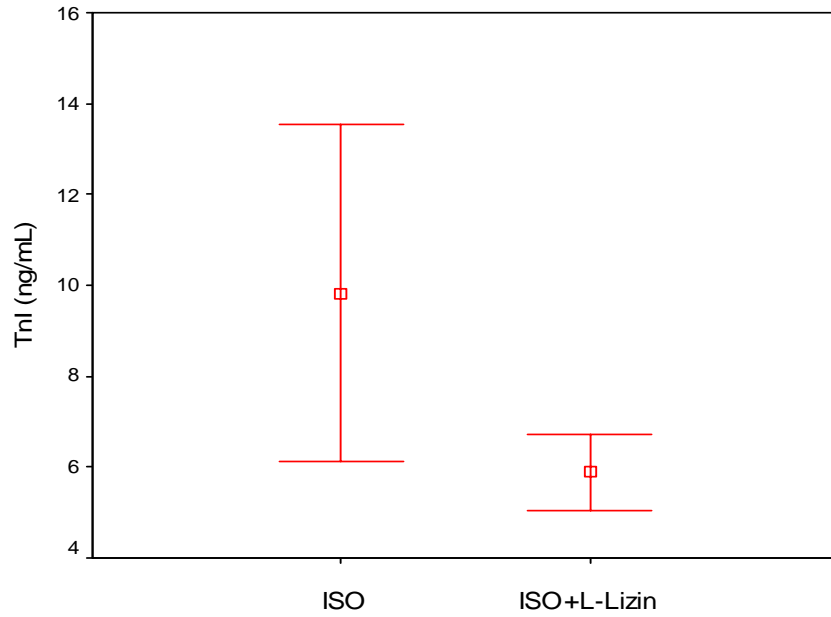
TnI: Troponin I; **ISO:** İsopterenol.

Tablo 6. Kontrol, ISO ve ISO+L-lizin gruplarındaki sıçanların doku TSA düzeyleri.

TSA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ protein)			
Rat	Kontrol grubu	ISO grubu	ISO+L-lizin grubu
1	4.74	7.39	7.33
2	5.73	6.85	7.17
3	5.24	7.57	6.80
4	5.10	6.69	7.51
5	5.15	6.97	7.83
6	5.57	7.92	6.46
7	5.10	6.28	6.00
8	6.43	7.47	7.51

TSA: Total sialik asit; **ISO:** İsopterenol.

Kontrol grubunun serum troponin I düzeyi 0.01 ng/mL'nin altında bulundu. Serum TnI düzeyleri ISO grubunda 9.82 ± 4.42 ng/mL, ISO+L-lizin grubunda ise 5.90 ± 1.00 ng/mL olup, ISO grubunun TnI düzeyleri ISO+L-lizin grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.05$ $t = 2.45$) (Şekil 15).



Şekil 15. ISO grubunun ve ISO+L-lizin grubunun serum troponin I (TnI) düzeylerinin karşılaştırılması.

Serum TSA düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup ($F = 40.56$), ISO grubunun serum TSA düzeyleri kontrol grubunun serum TSA düzeylerine göre daha yüksekti ($p = 0.000$). ISO+L-lizin grubunun serum TSA düzeyleri de kontrol grubunun serum TSA düzeylerinden daha yüksekti ($p = 0.000$). ISO+L-lizin grubunun serum TSA düzeyleri ise ISO grubunun serum TSA düzeylerinden istatistiksel olarak daha düşüktü ($p = 0.012$) (Tablo 7).

Doku TSA düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olup ($F = 25.517$), ISO grubunun doku TSA düzeyleri, kontrol grubunun doku TSA düzeylerine göre daha yüksek bulundu ($p = 0.000$). ISO+L-lizin grubunun doku TSA düzeyleri de kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ($p = 0.000$). Fakat ISO grubunun doku TSA düzeyleri ile ISO+L-lizin grubunun doku TSA düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7. Kontrol, ISO ve ISO+L-lizin grubundaki sıçanların serum ve doku total sialik asit düzeylerinin karşılaştırılması.#

Değişken	Kontrol grubu (n=8) Ort.± SD	ISO grubu (n=8) Ort.± SD	ISO+L-lizin grubu (n=8) Ort.± SD	F
Serum TSA (mg/100mL)	56.99±8.46†	94.09±8.47‡	80.85±8.12	40.56
Doku TSA (µg/mg protein)	5.38±0.52*	7.14±0.54	7.08±0.61	25.52

TSA: Total sialik asit; **ISO:** İsoproterenol.

#: One-Way ANOVA

†: Kontrol grubu, post-hoc Tukey HSD yöntemine göre ISO grubu ve ISO+L-lizin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark, p=0.000

‡: ISO grubu post-hoc Tukey HSD yöntemine göre ISO+L-lizin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark, p=0.012

*: Kontrol grubu, post-hoc Tukey HSD yöntemine göre ISO grubu ve ISO+L-lizin grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel yönden anlamlı fark, p=0.000

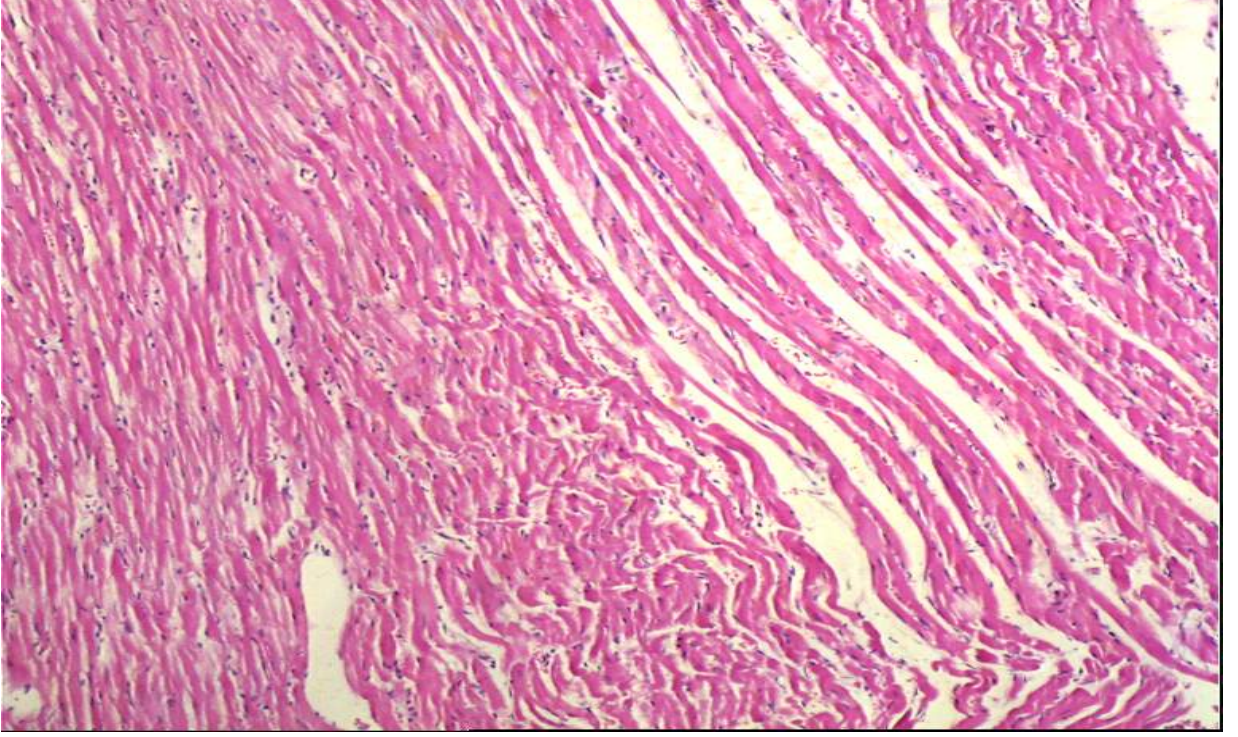
ISO grubunda ve ISO+L-lizin grubunda yapılan Pearson korelasyon analizi sonucu troponin I ve total sialik asit arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı (her ikisi için p>0.05) (Tablo 8).

Tablo 8. ISO grubunda ve ISO+L-lizin grubunda serum TSA ve TnI arasındaki korelasyon analizi sonuçları (n=8).

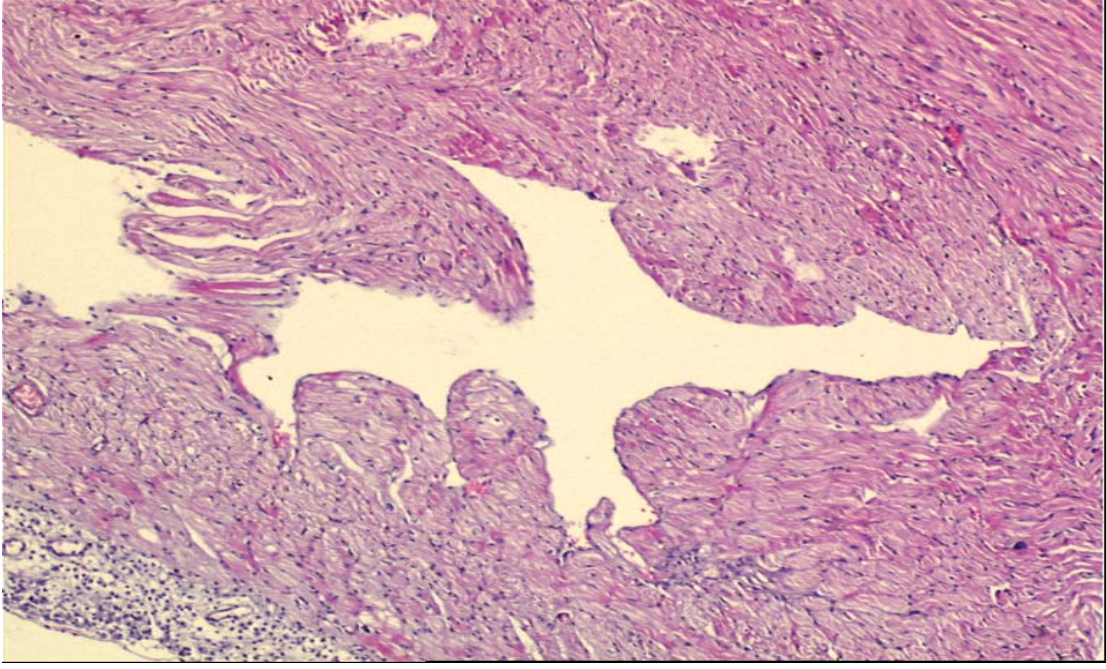
	ISO grubu		ISO+L-lizin grubu	
	r	p	r	p
TSA/TnI	0.189	0.655	0.464	0.247

TSA: Total sialik asit; **ISO:** İsoproterenol; **TnI:** Troponin I.

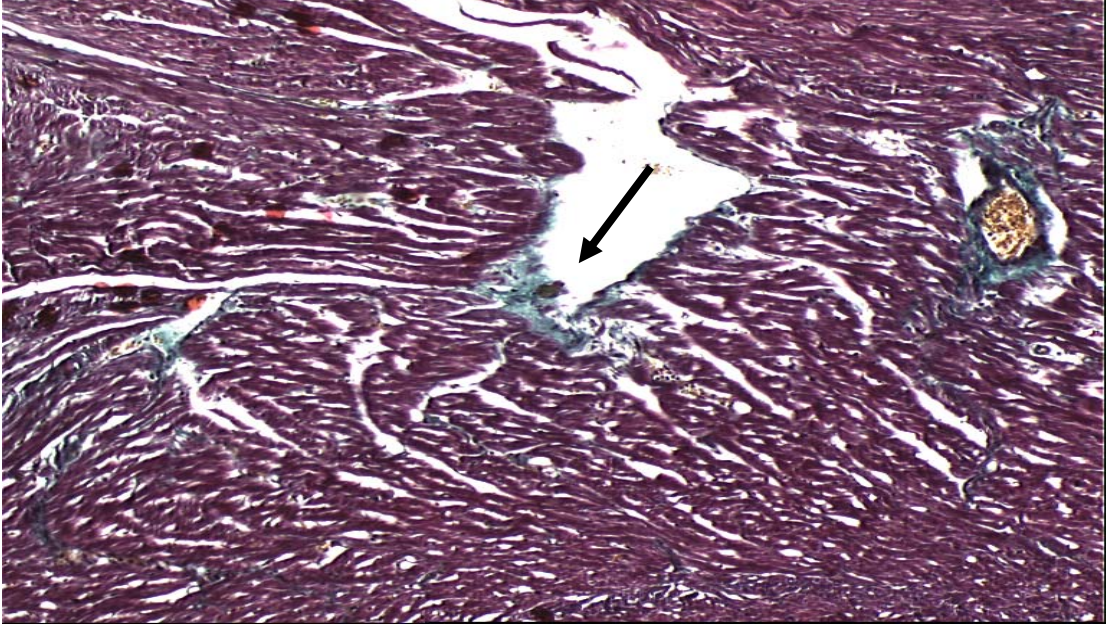
ISO uygulanan ratların 15. güne ait kalp dokusunda mikroskopik olarak kaslarda belirgin atrofi, kas demetleri arasında hafif dereceli inflamasyon ve bu inflamasyona eşlik eden, kalp kasları arasına giren fibrotik değişiklikler görüldü. Bulgular miyokart infarktüsü ile uyumlu olarak değerlendirildi. L-Lizin verilen ratların kalp dokusunda ise hafif dereceli atrofi bulguları (hücre boyutlarında ve nükleer boyutlarda hafif dereceli küçülme) ve kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu gelişimi izlendi. Kontrol grubu kalp dokusunda ise düzenli kalp kası bulguları izlenirken, kalp kasları arasında bağ dokusu gelişimine rastlanmadı (Şekil 16-20).



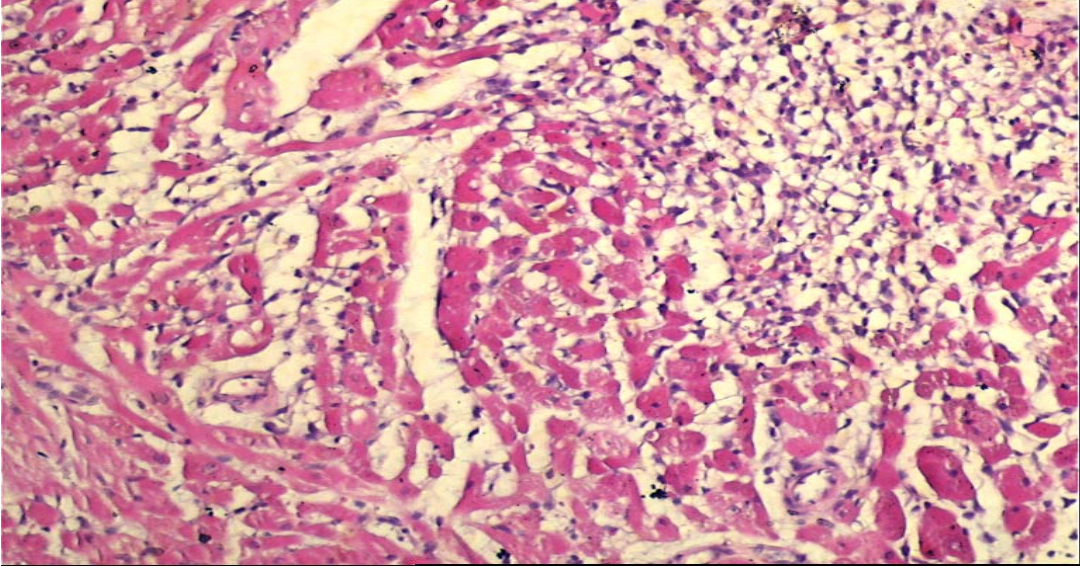
Şekil 16. Kontrol grubu kalp kasında düzenli yapı (HEx50).



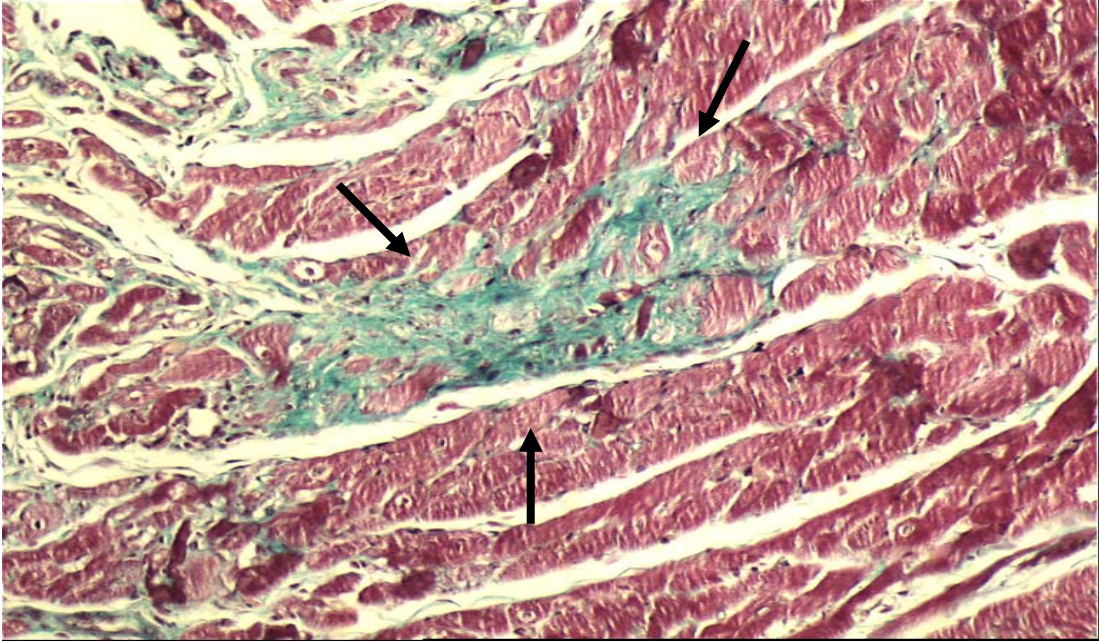
Şekil 17. ISO+L-lizin grubunun akut miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda hafif dereceli atrofi bulguları gelişimi (HEx50).



Şekil 18. ISO+L-lizin grubunun akut miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu (Mason Trikomx50).



Şekil 19. ISO grubunun akut miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda belirgin dereceli atrofi bulguları gelişimi (HEx100).



Şekil 20. ISO grubunun akut miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda kalp kasları arasına giren bağ dokusu (Mason Trikomx100).

TARTIŞMA

Yetersiz doku perfüzyonuna bağlı uzamış iskemi sonucu meydana gelen geri dönüşümsüz miyokart hücre hasarı ve nekrozu olarak tanımlanan miyokart infarktüsü, son yıllarda tanı ve tedavide sağlanan gelişmelere rağmen ülkemiz gibi sanayileşmiş toplumlarda hala en önemli morbidite ve mortalite nedenidir (56). Akut miyokart infarktüsünde, plak yırtılması sonucu oluşan akut trombüs miyokardı besleyen koroner arterin tıkanmasına yol açar. Koroner arterin trombotik olarak tıkanması, kan akımının ani kesilmesine ve hücre ve hücre membran hasarına yol açarak hücre içeriklerinin dolaşıma salıverilmesine neden olur.

Histidin ve arginin gibi bazik aminoasitler grubuna dahil olan L-lizin, kalsiyum emiliminde, kas proteinlerinin inşasında ve hormon, antikor ve enzim gibi önemli vücut moleküllerinin sentezinde görevli esansiyel bir aminoasittir. Arginaz enziminin kuvvetli bir inhibitörü olan L-lizin, L-argininden arginaz aracılığı ile üre oluşumunu inhibe ederek, reaksiyonun, damar regülasyonu ve immün modülasyon gibi önemli biyolojik etkilere sahip olan NO sentezine kaymasını sağlar (27). Endotelde L-argininden üretilen NO, kuvvetli bir vazodilatör olarak etki gösteren ve koroner kan akımını arttıran kimyasal bir habercidir ve bu nedenle kalbi koruyucu bir etkiye sahiptir (28).

Hücre hasarına bağlı olarak kan dolaşımına salıverilen bazı enzim ve proteinler miyokart infarktüsünün tanısında klinik olarak önemlidirler. Bu enzim ve proteinlerden en sık kullanılanları: kreatin kinaz izoenzimleri, laktat dehidrogenaz, miyogloblin ve troponin I ve T'dir (3,4).

Sadece miyokartta bulunması nedeniyle TnI, TnT'ye göre daha kardiospesifiktir. TnI, kalp kasında CK-MB'ye oranla daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve ilk 4 saat içinde yükselir. İskelet kası hasarından sonra serumda bulunmaması nedeniyle miyokart hasarının

çok duyarlı bir indikatörü olarak bilinir. TnI, infarktüs sonrası 4-6 saate yükselmeye başlar, 11. saatte pik yapar (10-24 saat arası) ve yaklaşık 5 günde normal seviyesine döner (78,79).

β -Adrenerjik agonist olan isoproterenolün, yüksek dozlarda akut miyokart infarktüsü oluşturduğu bilinmektedir. İsooproterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçan kalbinde meydana gelen patofizyolojik değişikliklerin insanlarda miyokart infarktüsü sonrası oluşan değişikliklere benzerlik gösterdiği bilinmektedir (102). İsooproterenol, miyokardiyal nekroza neden olarak membran geçirgenliğinin değişmesine ve dolayısıyla miyokart membran bütünlüğünün ve fonksiyonunun bozulmasına neden olur (85). Li ve ark. (103) tarafından yapılan bir çalışmada ISO ile oluşturulmuş miyokardiyal hasara, koroner hipotansiyon ve ardından oluşan miyokardiyal hiperaktivite sonrasında gereksinim duyulan oksijenin sağlanamamasının neden olabileceği gösterilmiştir.

ISO'nun neden olduğu kardiyak hasarda cAMP düzeylerindeki artış (86), intrasellüler kalsiyum artışı ve yüksek enerjili fosfatların tüketilmesi (87) gibi mekanizmaların rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. β -adrenerjik agonistlerin hedef hücrelerde cAMP düzeylerinde bir artışa yol açtıkları ve cAMP'yi parçalayan fosfodiesteraz enzim inhibitörlerinin bu etkiyi daha da arttırdıkları gösterilmiştir (104).

Katekolaminlerin artmış oksidatif metabolizmasından kaynaklanan aşırı serbest radikal üretiminin de miyokardiyal iskemiye neden olduğu bildirilmiştir (105). Singal ve ark. (88) katekolaminlerin otooksidasyonu sonucu oluşan sitotoksik etkili serbest radikallerin, kardiyak hasarın oluşumunda önemli bir role sahip olduğunu göstermişlerdir. ISO ile uyarılan miyokardiyal nekrozun patogenezi multifaktöriyel olmakla beraber, oksidatif stresin en önemli rolü oynadığı oldukça açıktır (106,107).

Nirmala ve ark. (108), ISO ile deneysel miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçanların CK, CK-MB ve LD gibi kardiyak hasarı gösteren enzim düzeylerinde bir artış bulunduğunu bildirmişlerdir. ISO ile deneysel miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçanların serum TnI ve TnT düzeylerinde önemli bir artış olduğunu (109), kalp dokusunda ise miyokardiyal hasarla uyumlu nekrotik lezyonların bulunduğunu (98) gösteren çalışmalar mevcuttur.

Bu çalışmalarla uyumlu olarak biz de çalışmamızda ISO ve ISO+L-lizin (her ikisi için $p<0.05$) grubundaki sıçanların troponin I düzeylerini, miyokart infarktüsü ile uyumlu olarak, kontrol grubuna göre daha yüksek bulduk. ISO ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçan kalp dokusunun histopatolojik olarak değerlendirilmesi sonucu, miyokart infarktüsü ile uyumlu olarak, 15. günde kalp kaslarında belirgin atrofi ve fibrozis gözledik. Bununla birlikte, ISO+L-lizin grubundaki sıçanların kalp dokusunda miyokart infarktüsü ile uyumlu fakat daha hafif

dereceli atrofi bulguları (hücre boyutlarında ve nükleer boyutlarda hafif dereceli küçülme) ve kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu gelişimi gözlemlendi.

Sialik asit, serum ve dokularda bulunan glikolipid ve glikoproteinlerin terminal oligosakkarit zincirlerinin önemli bir komponentidir (43). Asidik yapılarından dolayı membranların negatif elektrik yüküne önemli katkıda bulunan sialik asitler, konformasyonel stabilizasyon, proteazlara karşı koruma, su bağlama kapasitesinin artırılması ve hücre sel tanıma gibi önemli fonksiyonlara sahiptirler (42). Hücre-hücre ya da hücre-matriks etkileşimlerinde ve biyolojik bilginin transferinde rol oynarlar. Spesifik hücre sel tanıma bölgelerini maskeleyen yeteneğine de sahip olan sialik asitler, glukokonjugatların makromoleküler yapısını etkileyebilirler ve glikolipid ve glikoproteinlere antijenik özellik kazandırır (5).

Serum total sialik asitin yükselmiş düzeylerinin artmış kardiyovasküler mortalite ve serebrovasküler hastalıklarla olan ilişkisi son yıllarda önem kazanmıştır (7-9). Crook ve ark. (10), infarktüs sonrası 1.,2. ve 5. günlerde, hastaların plazma TSA düzeylerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiğini fakat lipide bağlı sialik asit (LSA) düzeylerinin değişmediğini bildirmişlerdir. Miyokart infarktüslü hastaların serum TSA ve LSA düzeylerinin infarktüsünün ilk üç gününde dereceli bir artış gösterdiği ve infarktüsün ilk gününde serum TSA ve kardiyak bir belirteç olan LD arasında bir korelasyon bulunduğu ileri sürülmüştür (13).

ISO ile deneysel miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçanların da serum ve doku total sialik asit düzeylerinde bir artış olduğu bildirilmiştir (110). Bu çalışmayı destekler biçimde biz de hem ISO grubunun hem de ISO+L-lizin grubunun serum ve doku total sialik asit düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulduk (tümü için $p < 0.000$).

Akut miyokart infarktüsü sonrası serum sialik asit düzeylerinde gözlenen artıştan çeşitli mekanizmaların sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür. Oligosakkarid yan zincirlerinin terminal pozisyonunda sialik asit kalıntıları bulunması nedeniyle akut faz proteinlerinin karaciğerden dolaşıma artmış atılımının, akut miyokart infarktüsü sonrası serum sialik asit konsantrasyonlarındaki artışta rol oynayabileceği bildirilmiştir (10-12). Süer Gökmen ve ark. (14), akut miyokart infarktüslü hastaların sialik asitçe zengin inflamasyona duyarlı bir protein olan $\alpha 1$ -antitripsin ile sialik asit arasında pozitif bir korelasyon bulunduğunu bildirmişlerdir. Ancak yapısında sialik asit içermeyen bazı akut faz proteinleri ile sialik asit arasında pozitif bir korelasyonun bulunduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (10,12).

Sialik asitin büyük bir çoğunluğu proteinlere, ufak bir kısmı ise lipide bağlı formda bulunur (6). Akut faz proteinlerinin yapısındaki sialik asit sadece proteine bağlı sialik asit

fraksiyonunu temsil ettiğinden, miyokart infarktüsü sonrası akut faz proteinlerinin düzeyindeki artışın yalnızca proteine bağlı sialik asit fraksiyonunu arttıracığı, ancak lipide bağlı fraksiyonu değiştirmeyeceği açıktır. Dolayısıyla akut faz proteinlerinin karaciğerden atılımındaki artışın, akut miyokart infarktüsünde gözlenen serum TSA düzeylerindeki artışı tek başına açıklaması mümkün değildir.

Akut miyokart infarktüsünde serum sialik asit konsantrasyonlarındaki artışın bir diğer nedeni de sialik asit kalıntılarının asiologlukokonjugatlara transferini katalizleyen (6) sialiltransferaz enziminin aktivitesindeki artış olabilir. Aterosklerozda plazma ve/veya aortik intimanın sialiltransferaz aktivitesinde bir artış olduğu bildirilmiştir (111).

Bununla birlikte akut miyokart infarktüsü sonrası yükselmiş serum sialik asit düzeylerinden, hasara uğramış miyokardiyal hücre ve/veya hücre membranından sialik asit kalıntılarının salıverilmesinin de sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (13,14). Bu salıverilme spontanöz ya da sialidaz aracılığı ile olabilir. Tümörlü hastalarda gözlenen serum sialik asit düzeylerindeki artıştan hücre yüzeyindeki sialik asit içeren glukokonjugatlardan sialik asitin spontan olarak salıverilmesinin sorumlu olduğu gösterilmiştir (15).

Tertov ve ark. (112), sialik asitin serbest bir havuz oluşturmadığını, bunun yerine plazmadaki LDL'nin yapısındaki sialik asitin ya da desialilasyon sonucu membrandan salıverilen sialik asitin plazmadaki proteinlere ve glikolipidlere transferiyle glikoprotein ve glikolipidlere bağlı hale geldiğini bildirmişlerdir. Süer Gökmen ve ark. (13), akut miyokart infarktüsülü hastaların serum lipide bağlı sialik asit düzeylerinde de önemli bir artışın bulunduğunu ve miyokart infarktüsünde yükselmiş LSA düzeylerinden, hücre ve/veya hücre membranından spontan olarak salıverilen veya sekrete edilen serbest sialik asitin glikolipidlere transferinin sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Miyokart infarktüsülü hastaların serum sialik asit düzeylerindeki artıştan sialoglikokonjugatların terminal ucundan sialik asit kalıntılarını ayıran sialidaz (16) aktivitesindeki artış da sorumlu olabilir. Akut miyokart infarktüsünden sonra sialidaz enzim aktivitesinde önemli bir artışın olduğu gösterilmiştir (17). Bununla birlikte sialidaz aktivitesinde herhangi bir artış olmaksızın, tek başına oksidatif stresin de hücre yüzeyindeki oligosakkaridlerden sialik asitin salıverilmesini başlatabileceği de gösterilmiştir (18).

Reaktif oksijen türlerinin miyokardiyal iskemi sonrası üretiminin arttığı (19) ve bunun da akut inflamatuvar yanıtta ve post-iskemik doku nekrozunda önemli rol oynadığı bilinmektedir (20). Bu nedenle miyokardiyal iskemideki doku zedelenmesine eşlik eden oksidatif hasarın da miyokardiyal hücre ve/veya hücre membranından sialik asitin dolaşıma salıverilmesinde ve dolayısıyla akut miyokart infarktüsü sonrası serumda gözlenen sialik asit

artışında rolü olabilir. Bu durumda oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip olan bir molekülün, miyokart infarktüsü sonrası serum total sialik asit düzeylerinde gözlenen artışı önleyebileceği açıktır. Mathew ve ark. (110), tarafından ISO ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçanların serum ve kalp dokusu total sialik asit düzeylerinde bir artış olduğu ve antioksidan etkiye sahip karnitin verilişinin sialik asit düzeylerinde bir azalmaya neden olduğu ve miyokartta oluşan nekrozu büyük ölçüde önlediği gösterilmiştir.

Arginaz enziminin inhibitörü olan L-lizin verilişinin üre siklusunu durdurarak arginin ve ornitin düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir (27). L-Lizin verilişi böylece L-arginin'in NO oluşum yoluna kaymasını sağlayarak NO düzeylerinde bir artışa yol açar. NO ise reaktif oksijen partikülleri aracılığı ile oluşan doku hasarını azaltır ve bu yolla kalbi koruyucu etki gösterir (26,97). Dolayısıyla L-lizin verilişinin oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip olan NO üretimini arttırmak suretiyle infarktüs sonrası miyokardiyal hücre ve/veya hücre membranından dolaşıma daha az sialik asitin salıverilmesine yol açması beklenebilir.

L-Lizin'in, ISO ile oluşturulan miyokart infarktüsünde oksidatif hücre hasarını önleyerek serum kardiyak belirteçlerde azalmaya neden olduğu ileri sürülmesine rağmen (28), literatürde serum ve doku TSA düzeylerine L-lizin'in etkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada akut miyokart infarktüsünde gözlenen serum sialik asit artışında oksidatif hücre hasarının rolünü irdelemek amacıyla, oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip olan L-lizin'in ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde serum ve doku TSA düzeylerine etkisini inceledik.

Çalışmamızda ISO+L-lizin grubundaki sıçanların kalp dokusunda miyokart infarktüsü ile uyumlu ancak ISO grubuna göre daha hafif dereceli atrofi bulguları ve kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu gelişimi gözlemlendi. Bu bulgu, lizin verilişinin oksidatif hasara karşı miyokardı koruyucu bir etkiye sahip olduğu görüşünü desteklemektedir.

Buna paralel olarak, ISO+L-lizin grubunun serum TSA düzeyleri ISO grubunun serum TSA düzeylerine göre anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p=0.012$). Bu bulgular, Ebenazar ve ark. (28) tarafından deneysel miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçanlara L-lizin verilişinin serum kardiyak belirteçlerde bir azalmaya sebep olduğunu ileri süren çalışmalarını desteklemektedir. L-Arginin ve L-lizin'in birlikte verilişinin kalp hasarına karşı daha iyi bir koruma sağladığı da bildirilmiştir (28).

Banerjee ve ark. (113) antioksidan etkili sarımsağın isoproterenol ile uyarılmış miyokart infarktüsünde plazmadaki tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) düzeylerinde önemli bir azalmaya yol açtığını göstermişlerdir. Sharma ve ark. (114) ise bitkisel bir

antioksidan olan Ocimum sanctum'un isoproterenol ile uyarılmış miyokart infarktüsünde oksidatif hasarı önlediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde karnitin (115) ve melatonin (116) gibi antioksidan etkiye sahip moleküllerin de lipid peroksidasyonunu önleyerek miyokardı koruyucu etki gösterdikleri ileri sürülmüştür.

Bu çalışmalara paralel olarak biz de oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip NO'nun üretimini arttıran L-lizin'in, ISO ile uyarılan oksidatif miyokardial hasarı azaltıcı bir etkiye sahip olduğunu gösterdik. Tüm bu çalışmalar ISO ile uyarılan miyokardial nekrozun patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rolü oynadığını kanıtlamaktadır.

Çalışmamızda miyokart infarktüsü sonrası ISO grubu ile ISO+L-lizin grubunun doku total sialik asit düzeyleri arasında bir fark olmamasına rağmen, ISO grubunun serum troponin I ve total sialik asit düzeyleri ISO+L-lizin grubundan daha yüksekti. Bu bulguları destekler biçimde ratların miyokart dokularının histopatolojik incelemesi de ISO grubundaki miyokart infarktüsünü kanıtlayan değişikliklerin ISO+L-lizin grubundakilerden daha belirgin olduğunu ortaya koydu. Çalışmamız, oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip bir molekülün, ISO ile uyarılan infarktüs sonrası serum TSA düzeylerinde gözlenen artışı azalttığını göstermesi bakımından bir ilki teşkil etmektedir.

ISO ile uyarılmış deneysel miyokart infarktüsünde L-lizin verilen grubun serum TSA düzeylerinin L-lizin verilmeyen rat grubundan daha düşük olduğu bulgusu, aynı zamanda miyokart infarktüsü sonrası serum total sialik asit düzeylerinde gözlenen artıştan oksidatif hasarın sorumlu olabileceğini kanıtlayan önemli bir bulgudur. Bununla birlikte, L-lizin verilmesi ile oksidatif hasarın azalmasına bağlı olarak yapısında sialik asit içeren akut faz proteinlerinin karaciğerden dolaşıma atılımında da azalma olabilir. Bu nedenle total sialik asitin proteine bağlı fraksiyonunu teşkil eden akut faz proteinlerinin dolaşıma atılımındaki azalmanın da ISO ile uyarılan infarktüste L-lizin verilmesi ile serum TSA düzeylerinde gözlenen azalmada rolü olabileceği göz ardı edilmemelidir. ISO ile uyarılan miyokart infarktüsünde L-lizin verilmesinin, hem sialik asit içeren akut faz protein düzeylerine hem de lipide bağlı sialik asit düzeylerine etkisini araştıran bir çalışmanın konuyu daha iyi aydınlatacağını düşünüyoruz.

Çalışmamız, kontrol grubuna göre ISO grubunda ve ISO+L-lizin grubunda serum ve doku TSA düzeylerinin arttığını, ISO grubuna göre ise, ISO+L-lizin grubunun histopatolojik olarak daha hafif infarktüs bulgularına ve daha düşük serum TSA düzeylerine sahip olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, L-lizin'in, ISO ile uyarılmış miyokart infarktüsünde gözlenen serum total sialik asit düzeylerindeki artışı önleyici bir etkiye sahip olduğunu söyleyebiliriz. Oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip NO'nun üretimini arttıran L-lizin'in, ISO ile uyarılan miyokardiyal infarktüste serum TSA düzeylerinde daha az yükselmeye yol açması miyokart infarktüsü sonrası

serum total sialik asit düzeylerinde gözlenen artıştan miyokardiyal hücre ve/veya hücre membranından sialik asitin oksidatif hasara bağlı olarak salıverilmesinin rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

SONUÇLAR

İsoproterenol ile deneysel olarak miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda L-lizin'in serum ve doku total sialik asit düzeylerine etkisini incelemek ve miyokart infarktüsünde gözlenen sialik asit artışında oksidatif hücre hasarının rolünü irdelemek amacıyla Wistar albino cinsi erkek ratlarla yaptığımız bu çalışmada;

1. Kontrol grubu ratların kalp dokusunun histopatolojik incelemesi sonucunda, kalp dokusunda düzenli kalp kası bulgularının olduğu, kalp kasları arasında bağ dokusu gelişiminin bulunmadığı;

2. İsoproterenol ile deneysel olarak miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratların 15. güne ait kalp dokusunun histopatolojik incelemesi sonucunda, miyokart infarktüsü ile uyumlu olarak kaslarda belirgin atrofi, kas demetleri arasında hafif dereceli inflamasyon ve bu inflamasyona eşlik eden, kalp kasları arasına giren fibrotik değişikliklerin bulunduğu;

3. İsoproterenol+L-lizin verilen ratların 15. güne ait rat kalp dokusunun histopatolojik incelemesi sonucunda hafif dereceli atrofi bulguları (hücre boyutlarında ve nükleer boyutlarda hafif dereceli küçülme) ve kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu gelişiminin olduğu;

4. Kontrol grubundaki ratların serum TnI düzeylerinde bir artış olmadığı;

5. ISO grubundaki ve ISO+L-lizin grubundaki ratların serum TnI düzeylerinde infarktüs ile uyumlu olarak anlamlı bir artış olduğu;

6. ISO+L-lizin grubundaki ratların serum TnI düzeylerinin ISO grubundaki ratların serum TnI düzeylerinden anlamlı olarak daha düşük olduğu;

7. ISO grubunun ve ISO+L-lizin grubunun serum TSA düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu;

8. ISO+L-lizin grubunun serum TSA düzeylerinin, ISO grubunun serum TSA düzeylerinden daha düşük olduğu;

9. ISO grubunun ve ISO+L-lizin grubunun doku TSA düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu;

10. ISO grubu ile ISO+L-lizin grubunun doku TSA düzeyleri arasında fark olmadığı;

11. ISO grubunda ve ISO+L-lizin grubunda miyokardiyal hücre hasarının göstergesi olan TnI ile serum TSA arasında bir korelasyon bulunmadığı görüldü.

Çalışmamız, kontrol grubuna göre ISO grubunda ve ISO+L-lizin grubunda serum ve doku TSA düzeylerinin arttđını ancak ISO grubuna göre ISO+L-lizin grubunun histopatolojik olarak daha hafif infarktüs bulgularına ve daha düşük serum TSA düzeylerine sahip olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, akut miyokart infarktüsü sonrası serum TSA düzeylerinde gözlenen artışta, miyokardiyal hücre ve/veya hücre membranından sialik asitin oksidatif hasara bağlı olarak salıverilmesinin rol oynayabileceğini söyleyebiliriz.

ÖZET

Miyokart infarktüsü sonrası serum sialik asit miktarındaki artışın nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, oligosakkaridlerden sialik asidin ayrılmasına yol açan oksidatif stres bu artışta önemli rol oynayabilir. İsoproterenol ile uyarılan miyokart infarktüsünün patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı ve L-lizin verilisinin oksidatif hücre hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, isoproterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda L-lizin'in serum ve doku total sialik asit düzeylerine etkisini incelemek ve infarktüs sonrası gözlenen serum sialik asit artışında oksidatif hücre hasarının rolünü irdelemektir.

Deneyde 24 yetişkin erkek Wistar albino rat, kontrol, isoproterenol ve isoproterenol+L-lizin grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. İntraperitoneal yoldan 24 saat arayla günde 150 mg/kg olacak şekilde toplam 2 kez isoproterenol verilerek ratlarda miyokart infarktüsü oluşturuldu. L-lizin ise 5 gün boyunca her gün oral yoldan 250mg/kg olacak şekilde verildi. Total sialik asit ve protein düzeyleri sırasıyla Warren ve Lowry metodları kullanılarak ölçüldü.

İsoproterenol verilışı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında isoproterenol grubunun ve isoproterenol+L-lizin grubunun serum troponin I ve serum ve doku total sialik asit düzeylerinde belirgin bir artışa yol açtı. Miyokart infarktüsü sonrası isoproterenol grubu ile isoproterenol+L-lizin grubu arasında doku total sialik asit düzeyleri bakımından fark olmamasına rağmen, isoproterenol grubunun serum troponin I ve total sialik asit düzeyleri isoproterenol+L-lizin grubundan daha yüksekti. Bu bulguları destekler biçimde ratların miyokart dokularının histopatolojik incelemesi de isoproterenol grubundaki miyokart

infarktüsünü kanıtlayan değişikliklerin isoproterenol+L-lizin grubundakilerden daha belirgin olduğunu ortaya koydu.

Sonuç olarak, L-lizin'in, isoproterenol ile uyarılmış miyokart infarktüsünde gözlenen serum total sialik asit düzeylerindeki artışı önleyici bir etkiye sahip olduğunu ve infarktüs sonrası gözlenen total sialik asit artışında, miyokardiyal hücre ve/veya hücre membranından sialik asitin oksidatif hasara bağlı olarak salıverilmesinin rol oynayabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Total sialik asit, L-lizin, isoproterenol, akut miyokart infarktüsü

THE INVESTIGATION OF THE EFFECT OF L-LYSINE ON TOTAL SIALIC ACID LEVELS IN ISOPROTERENOL-INDUCED MYOCARDIAL INFARCTION IN RATS

SUMMARY

Although the reason for the elevation in serum sialic acid content after myocardial infarction remains obscure, oxidative stress which leads to cleavage of the sialic acid from oligosaccharides may play an important role in it. It has been shown that oxidative stress plays a major role in the pathogenesis of isoproterenol-induced myocardial infarction and L-lysine supplementation has protective effects against oxidative cellular damage. The aim of the present study is to investigate the effect of L-lysine on serum and tissue total sialic acid levels in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats and evaluate the role of oxidative cell stress in sialic acid increase after infarction.

Twenty four adult male albino rats of Wistar strain divided into 3 groups for the experiment: control group, isoproterenol group and isoproterenol+L-lysine group. Myocardial infarction was produced with 150 mg/kg of isoproterenol administered intraperitoneally twice at an interval of 24h. L-Lysine was given orally (250 mg/kg/day) for 5 days. Total sialic acid and protein levels were determined using the methods of Warren and Lowry, respectively.

Isoproterenol administration caused a marked elevation in serum troponin I and serum and tissue total sialic acid levels in isoproterenol group and isoproterenol+L-lysine group when compared with control group. Although there was no difference between tissue total

sialic acid levels of isoproterenol group and isoproterenol+L-lysine group after myocardial infarction, serum troponin I and total sialic acid levels of isoproterenol group was higher than that of isoproterenol-lysine group. In keeping with these findings, histopathological examinations of the myocardial tissues of rats also revealed that the changes confirming myocardial infarction in isoproterenol group are more prominent than those in isoproterenol+L-lysine group.

As a result, we can report that L-lysine has a preventative effect against to an increase in total sialic acid levels in isoproterenol-induced myocardial infarction and the secretion of sialic acid from the myocardial cell and/or cell membrane due to oxidative damage may also be responsible for the elevated serum total sialic acid levels after infarction.

Key words: Total sialic acid, L-lysine, isoproterenol, acute myocardial infarction

KAYNAKLAR

1. Fuster V, Alexander RW, O'Rourke R (Çeviri: M. Esen). Hurst's the Heart. İstanbul: AND Yayıncılık; 2002: 94-155.
2. Killip T, MD (Çeviri: M. Tuzcu). Kalp damar hastalıkları. Berkow R (Editör). The Merck Manual Tanı/Tedavi El Kitabı'nda. 16. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1995:411-507.
3. Chapman, JF, Christenson RH, Silverman LM. Cardiac and muscle disease. In: Kaplan LA, Pesce AJ (Eds.). Clinical Biochemistry. 3rd ed. USA: Mosby; 1996: p.593-612.
4. Elliot MA, Braunwald E (Çeviri: A. Birand). Akut Miyokart İnfarktüsü. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (Editörler). Harrison İç Hastalıkları Prensipleri'nde. 15. baskı. 1.Cilt. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2004: p.1386-7.
5. Schauer R. Sialic acids and their role as biological masks. Trends Biochem Sci 1985; 10:357-60.
6. Schauer R. Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acids. In: Stuart T, Horton D (Eds.). Advances in Carbonhydrate Chemistry and Biochemistry. Vol. 40. New York: Academic Press Inc; 1982: p.131-234.
7. Lindberg G, Eklund GA, Gullberg B, Rastam L. Serum sialic acid concentration and cardiovascular mortality. BMJ 1991; 302 (6769):143-6.

8. Allain P, Olivier E, Le Bouil A, Benoit C, Geslin P, Tadei A. Increase of sialic acid concentration in the plasma of patients with coronary disease. *Presse Med* 1996; 25(3):96-8.
9. Lindberg G, Rastam L, Gullberg B, Eklund GA. Serum sialic acid concentration predicts both coronary heart disease and stroke mortality: multivariate analysis including 54,385 men and women during 20,5 years follow up. *Int J Epidemiol* 1992; 21:253-7.
10. Crook M, Haq M, Haq S, Tutt P. Plasma sialic acid and acute phase proteins in patients with myocardial infarction. *Angiology* 1994; 45(8):709-15.
11. Taniuchi K, Chifu K, Hayashi N. A new enzymatic method for the determination of sialic acid in serum and its application for a marker of acute phase reactants. *Kobe J Med Sci* 1981; 27(3):91-102.
12. Haq M, Haq S, Tutt P, Crook M. Serum total sialic acid and lipid-associated sialic acid in normal individuals and patients with myocardial infarction and their relationship to acute phase proteins. *Ann Clin Biochem* 1993; 30 (Pt 4):383-6.
13. Gokmen SS, Kilicli G, Ozcelik F, Gulen S. Serum total and lipid-bound sialic acid levels following acute myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38:1249-55.
14. Gokmen SS, Kazezoğlu C, Sunar B, Özçelik F, Güngör Ö, Yorulmaz F, Gülen Ş. Relationship between serum sialic acids, sialic acid-rich inflammation-sensitive proteins and cell damage in patients with acute myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44:199-206.
15. Singhal A, Hakomori S. Molecular changes in carbohydrate antigens associated with cancer. *Bioassays* 1990; 12 (5):223-30.
16. Miyagi T, Tsuiki S. Purification and characterization of cytosolic sialidase from rat liver. *J. Biol. Chem* 1985; 26:6710-6.
17. Hanson VA, Shettigar UR, Loungani RR, Nadijcka MD. Plasma sialidase activity in acute myocardial infarction. *Am. Heart J* 1987; 114(1 Pt 1):59-63.
18. Eguchi H, Ikeda Y, Ookawara T, Koyota S, Fujiwara N, Honke K, Wang PG, Taniguchi N, Suzuki K. Modification of oligosaccharides by reactive oxygen species decreases sialyl lewis x-mediated cell adhesion. *Glycobiology* 2005; 15(11):1094-101.
19. Lefer DJ, Granger DN. Oxidative stress and cardiac disease. *Am J Med* 2000; 109(4):315-23.
20. McCord JM. Free radicals and heart disease. *Bibl Nutr Dieta* 1989; 43:327-37.

21. Berüter J, Colombo JP, Bachmann C. Purification and properties of arginase from human liver and erythrocytes. *Biochem J* 1978; 175(2):449-54.
22. Scolnick LR, Kanyo ZF, Cavalli C, Ash DE, Christianson DW. Altering the binuclear manganese cluster of arginase diminishes thermo stability and catalytic function. *Biochemistry* 1997; 36(34):10558–65.
23. Morgan DML. Polyamines. *Essays Biochemistry* 1987; 23:82-115.
24. Gotoh T, Araki M, Mori M. Chromosomal localisation of the human arginase II gene and tissue distribution of its mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 233(2):487–91.
25. Chang CI, Liao JC, Kuo L. Arginase modulates nitric oxide production in activated macrophages. *Am J Physiol* 1998; 274 (1 Pt 2):H342–8.
26. Wink DA, Hanbauer I, Krishna MC, DeGraff W, Gamson J, Mitchell JB. Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90(21):9813–7.
27. Kato T, Sano M, Mizutani N. Inhibitory effect of intravenous lysine infusion on urea cycle metabolism. *Eur J Pediatr* 1987; 146(1):56–8.
28. Ebenezar KK, Sathish V, Devaki T. Effect of L-arginine and L-lysine on lysosomal hydrolases and n-membrane bound phosphatases in experimentally induced myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem* 2003; 247(1-2):163-9.
29. Nigam PK, Narain VS, Kumar A. Sialic acid in cardiovascular diseases. *Indian J Clin Biochem* 2006; 21(1):54-61.
30. Blix G. The carbohydrate groups of the submaxillary mucin. *Z Physiol Chem* 1936; 240:43-54.
31. Eric C. Niederhoffer, Ph.D. Associate Professor of Biochemistry and Molecular Biology. Erişim Tarihi: 09.08.2008.
http://www.siu.edu/departments/biochem/web_lessons/bmb_images/Nacneu
32. Traving C, Schauer R. Structure, function and metabolism of sialic acids. *Cell Mol Life Sci* 1998; 54(12):1330–49.
33. Blix G, 1952. Sialic Acid. Erişim Tarihi: 09.08.2008
http://en.wikipedia.org/wiki/Sialic_acid
34. Altıntaş S. Kahramanmaraş'ta Bazı İş Kollarında Çalışan Boya İşçilerinde Plazma ve Eritrosit Membranı Sialik Asit, Glutatyon, Plazma Nitrik Oksit ve Lipid Peroksidasyonu Düzeylerinin Değerlendirilmesi (tez). Kahramanmaraş: Sütçü İmam Üniversitesi; 2006.

35. De Meo C, Ph.D. NANA. Erişim Tarihi: 09.08.2008. <http://www.siue.edu/~cdemeo>
36. Mayes PA (Çeviri: G. Menteş). Pentoz fosfat yolu ve heksoz metabolizmasının diğer yolları. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodvell VW (Editörler). Harper'in Biyokimyası'nda. İstanbul: Barış Kitabevi; 1993: p.237-48.
37. Kelm S, Schauer R. Sialic acids in molecular and cellular interactions. *Int Rev Cytol* 1997; 175:137-240.
38. Özben T. Elevated serum and urine sialic acid levels in renal diseases. *Ann Clin Biochem* 1991; 28:44-48.
39. Fingerhut R, van der Horst GT, Verheijen FW, Conzelmann E. Degradation of gangliosides by the lysosomal sialidase requires an activator protein. *Eur J Biochem* 1992; 208(3):623-9.
40. Miyagi T, Hata K, Konno K, Tsuiki S. Multiple forms of mammalian sialidase: altered expression in carcinogenesis. *Tohoku J Exp Med* 1992; 168(2):223-9.
41. Sarıboyacı AE, Uysal O, Tutak E, Candan Z, Kutlu M. (Editörler). Fetalisli bir Konjenital Sialidozisli Yenidoğan Olgusuna Ait Karaciğer Ve Fibroblast Hücrelerinin Ultrastrüktürü. 18. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi; 2007 Ağustos 26-29; Eskişehir, Türkiye: 1996.
42. Schauer R, Kelm S, Reuter G, Roggentin P, Shaw L. Biochemistry and role of sialic acids. In: Rosenberg A (Ed.). *Biology of Sialic Acids*. Chapter 2. New York: Plenum Pres; 1995: p.7-67.
43. Ng SS, Dain JJ. Biological roles of sialic acid. In: Rosenberg A, Schengrund CL (Eds.). *Biochemistry*. NewYork: Plenum Press; 1976: p.59-102.
44. Jancik J, Schauer R, Streicher HJ. Influence of membrane-bound N-acetylneuraminic acid on the survival of erythrocytes in man. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1975; 356(8):1329-31.
45. Calatroni A, Cordaro V, Salpietro C, Barberi I. Erythrocyte membrane sialic acid in new-born infants. *Acta Haematol* 1984; 71(3):198-203.
46. Harding SE, Halliday J. Removal of sialic acid from cardiac sarcolemma does not affect contractile function in electrically stimulated guinea pig left atria. *Nature* 1980; 286(5775):819-21.
47. Crook M. The determination of plasma or serum sialic acid. *Clin Biochem* 1993; 26:31-8.

48. Banerjee M, Chowdury M. Induction of capacitation in human spermatozoa in vitro by an endometrial sialic acid binding protein. *Hum Reprod* 1995; 10 (12):3147-53.
49. The Chemistry of Health. Chapter 3: Sugars and Fats: Are We What We Eat? Cell Membrane. Erişim Tarihi: 09.08.2008.
http://publications.nigms.nih.gov/chemhealth/images/ch3_plasma.jpg
50. Schauer R. Sialic acid as antigenic determinants of complex carbohydrates. *Adv Exp Med Biol* 1988; 228:47-72.
51. Kelley LK, Ling BF, Johnson LW, Smith CH. Protein composition and structure of human placental microvillous membrane. External surface sialic acid containing extrinsic and intrinsic components. *Exp Cell Res* 1979; 123:167-76.
52. Kazezoğlu C, Sürer Gökmen S, Sunar B, Aygıt C, Çakır B. Benin ve melanom dışı malin deri tümörlü hastalarda serum total ve lipide bağlı siyalik asit düzeyleri. *Türk Biyokimya Dergisi* 2007; 32(1):17-21.
53. Yogeswaran G. Cell surface glycolipids and glycoproteins in malignant transformation. *Adv Cancer Res* 1983; 38:289-350.
54. Frank JS, Langer GA, Nudd LM, Seraydarian K. The myocardial cell surface, its histochemistry, and the effect of sialic acid and calcium removal on its structure and cellular ionic Exchange *Circ Res* 1977; 41(5):702-714.
55. Schauer R, Corfield AP, Wember M, Danon D. A micro-method for quantitative determination of acylneuraminic acids from erythrocyte membranes. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1975; 356(11):1727-32.
56. Gök H. Klinik Kardiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1996:97-171.
57. Sobel BE. Acute Myocardial Infarction. In: Goldman L, Bennet JC (Eds.) *Cecil Textbook of Medicine*. 21st ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 2000. p.304-14.
58. Enar R. Akut Myokard İnfarktüsü ve Koroner Kalp Hastalığının Epidemiyolojisi, Patofizyolojisi, Tanı ve Tedavisi. Enar R, Kültürsay H, Öngen Z, Pehlivanoğlu S (Editörler). *Akut Myokard İnfarktüsü El Kitabı'nda*. İstanbul: MI Kulübü; 1998: p.3-95.
59. Türkeş Ş. Akut Miyokard İnfarktöslü Hastalarda Asimetrik Dimetilarginin ve Nitrik Oksit düzeylerinin Erken Prognoz Üzerine Etkileri (tez). İstanbul: Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2007.

60. Onat A, Keleş İ, Çetinkaya A, Başar Ö, Yıldırım B, Erer B, ve ark. On Yıllık TEKHARF çalışması verilerine göre Türk erişkinlerinde koroner kökenli ölüm ve olayların prevalansı yüksek. Türk Kardiyol Dern Arş 2001; 29:8-19.
61. Acar Z. Sol Ana Koroner Arter Hastalığında Operasyon Zamanının Hastane İçi Mortalite ve Morbiditeye Etkisi (tez). İstanbul: Siyami Ersek Göğüs Kalp Ve Damar Cerrahisi Merkezi; 2006.
62. Apple FS, Henderson AR. Cardiac function. In: Burtis CA, Ashwood ER (Eds.). Tietz Text Book of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999: p.630-7.
63. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (Çeviri: U. Çevikbaş). Temel Patoloji'de. İkinci baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1995: 277-304.
64. Falk E, Fuster V (Çeviri: Y.Güneş). Aterogenez ve Belirleyicileri. İstanbul: And Danışmanlık Yayıncılık; 2002: 65-93.
65. Demiroğlu C. Kalb Hastalıklarının Tıbbi Tedavisi'nde. 4. baskı. İstanbul: Florence Nighthingale Hastanesi, 2000:59-151.
66. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02-5215 September 2002.
67. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. Circulation 2004;109(3):433-8.
68. Öngen Z. Akut Miyokard İnfarktüsülü Hastaya İlk Yaklaşım. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Acil Hekimlik Sempozyumu'nda: 1997 Ekim 16 -17; İstanbul, Türkiye; 175-185.
69. Robert S. Porter, Justin L. Kaplan, Barbara P. Homeier, Mark H. Beers. Cardiac Markers. Erişim Tarihi: 09.08.2008. <http://www.merck.com/media/mmpe/figures>
70. Mayes PA. Bioenergetics. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (Eds.). Harper's Biochemistry. 21st ed. California: Appleton and Lange; 1988: p.93-9.
71. Adams JE, Miracle VA. Cardiac biomarkers: Past, present, and future. Am J Crit Care 1998; 7(6):418-23.

72. Aksu B. Kardiyak marker:Miyogloblin. Erişim Tarihi: 09.08.2008.
http://www.sabem.saglik.gov.tr/Akademik_Metinler
73. Christenson RH, Apple FS, Morgan DL ve ark. Cardiac troponin I measurement with the Access immunoassay system:analytical and clinical performance characteristics. Clin Chem 1998; 44(1):52-60.
74. Tanalp AC. Elektif Perkutan Koroner Girişim Sonrası Troponin-I Pozitifliğinin Prediktörleri ve Uzun Dönemde Prognostik Önemi (tez). İstanbul: Koşuyolu Kalp Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Anabilim Dalı; 2004.
75. Tobacman L. Annu Rev Physiol 1996, 447-81. Troponine. Erişim Tarihi: 09.08.2008
<http://www.anaesthetist.com/icu/organs/heart/images/thinfil.gif>
76. Apple FS (Çeviri: G. Haklar) Kardiyak fonksiyon. Burtis CA, Ashwood ER (Editörler) Klinik Kimyada Temel İlkeler'de. 1. baskı Ankara: Palme Yayıncılık; 2005: p.682-97.
77. Ingram L. Cardiac function. In: McGrew L (Ed.). Clinical Chemistry Principles, Procedures, Correlations. 4th ed. Tokyo: Lippincott Williams&Wilkins; 2000: p.423-39.
78. Pincus MR, Zimmerman HJ, Henry JB. Clinical enzymology. In: Henry JB (Ed.). Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 19th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1996: p.268-95.
79. Lusher MS, Thygesen K, Ravkilde J, Heickendorff L. Applicability of cardiac troponin T and I for early risk stratification in unstable coronary artery disease. TRIM study group. Thrombin inhibition in myocardial ischemia. Circulation 1997; 96:2578-85.
80. Vickery J. Mesotherapy with Isoproterenol. . Erişim Tarihi: 09.08.2008
Isoproterenol. <http://www.en.wikipedia.org/wiki/Image:isoproterenol.png>
81. Tipnis UR, He GY, Li S, Campbell G, Boor PJ. Attenuation of isoproterenol-mediated myocardial injury in rat by an inhibitor of polyamine synthesis. Cardiovasc Pathol 2000; 9(5):273-80.
82. Halim NS. Adrenaline. Erişim Tarihi: 09.08.2008
<http://www.nyas.org/ebriefreps/ebrief/000367/images/kobilka1.jpg>
83. Temiz T. Sempatomimetik İlaçlar: İzoproterenol. Erişim Tarihi: 09.08.2008
<http://tip.cumhuriyet.edu.tr>
84. Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Co K, Weber KT, Clarc WA. Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. Circ Res 1989; 65:657-70.

85. Davies MJ. The pathology of myocardial ischaemia. *J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol)* 1977; 11: 45-52.
86. Bhagat B, Sullivan JM, Fischer VW, Nadel EM, Dhalla NS. cAMP activity and isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab* 1976; 12:465-70.
87. Fleckenstein A, Janke J, Doring HJ, Leder O. Myocardial fiber necrosis due to intracellular Ca overload-a new principle in cardiac pathophysiology. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab* 1974; 4:563-80.
88. Singal PK, Beamish RE, Dhalla NS. Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. *Adv Exp Med Biol* 1983; 161:391-401.
89. UPAC-IUBMB Joint Commission on Biochemical Nomenclature. "Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides. Erişim tarihi: 09.07.2008
Lysine. <http://en.wikipedia.org/wiki/Lysine>
90. Karl Harrison Molecule of the Month ;1996. Erişim tarihi: 09.07.2008
<http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=55>
91. Kazic T, Lysine. Erişim tarihi: 09.07.2007
http://www.biocheminfo.org/klotho/3D/D-lysine_3D.gif
92. Lizin Metabolizması. Altınışik M. [http:// www.mustafaaltinisik.org](http://www.mustafaaltinisik.org)
93. Fellows FCI and Lewis MHR. Lysine Metabolism in Mammals. *Biochem J* 1973; 136:329-334.
94. Dancis J, Hutzler J, Ampola MG, Shih VE, Van Gelderen HH, Kirby LT, et al. The Prognosis of Hyperlysinemia: An Interim Report. *Am Hum Genet* 1983; 35:438-442.
95. Dancis J, Hutzler J, Cox RP. Familial Hyperlysinemia: Enzym Studies, Diagnostic Methods, Comments On Terminology. *Am Hum Genet* 1979; 31:290-299.
96. Marchesi S, Lupattelli G, Siepi D, Roscini AR, Vaudo G, Sinzinger H, Mannarino E. Oral L-arginine administration attenuates postprandial endothelial dysfunction in young healthy males. *J Clin Pharm Ther* 2001;26(5):343-9.
97. Suessenbacher A, Lass A, Mayer B, Brunner F. Antioxidative and myocardial protective effects of L-arginine in oxygen radical-induced injury of isolated perfused rat hearts. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2002; 365(4):269-76.
98. Shiny KS, Kumar SH, Farvin KH, Anandan R, Devadasan K. Protective effect of taurine on myocardial antioxidant status in isoprenaline-induced myocardial infarction in rats. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57(10):1313-7.

99. Sathish V, Ebenezar KK, Devaki T. Biochemical changes on the cardioprotective effect of nicorandil and amlodipine during experimental myocardial infarction in rats. *Pharmacol Res* 2003; 48(6):565-70.
100. Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J Biol Chem* 1959; 234(8):1971-5.
101. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1):265-75.
102. Rona G, Chappel CI, Balazs T, Gaudry R. An infarct-like myocardial lesion and other toxic manifestations produced by isoproterenol in the rat. *AMA Arch Pathol* 1959; 67:443-55.
103. Li Z, Tran TT, Ma JY, O'Young G, Kapoun AM, Chakravarty S et al. p38 alpha mitogen-activated protein kinase inhibition improves cardiac function and reduces myocardial damage in isoproterenol-induced acute myocardial injury in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 44(4):486-92.
104. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995; 75(4):725-48.
105. Singal PK, Kapur N, Dhillon KS, Beamish RE, Dhalla NS. Role of free radicals in catecholamine-induced cardiomyopathy. *Can J Physiol Pharmacol* 1982; 60(11):1390-7.
106. Bors W, Michel C, Saran M, Lengfelder E. The involvement of oxygen radicals during the autoxidation of adrenalin. *Biochim Biophys Acta* 1978; 540(1):162-72.
107. Dhalla NS, Yates JC, Lee SL, Singh A. Functional and subcellular changes in the isolated rat heart perfused with oxidized isoproterenol. *J Mol Cell Cardiol* 1978; 10(1):31-41.
108. Nirmala C, Puvanakrishnan R. Isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: functional and biochemical alterations. *Med Sci Res* 1994; 22:575-77.
109. York M, Scudamore C, Brady S, Chen C, Wilson S, Curtis M, et al. Characterization of troponin responses in isoproterenol-induced cardiac injury in the Hanover Wistar rat. *Toxicol Pathol* 2007; 35(4):606-17.
110. Mathew S, Menon PVG, Kurup PA. Effect of administration of carnitine on the severity of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1986; 64(Pt1):79-87.

111. Gracheva EV, Samovilova NN, Golovanova NK, Il'inskaya OP, Tararak EM, Malyshev PP et al. Sialyltransferase activity of human plasma and aortic intima is enhanced in atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1586(1):123-8.
112. Tertov VV, Kaplun VV, Sobenin IA, Orekhov AN. Low-density lipoprotein modification occurring in human plasma possible mechanism of in vivo lipoprotein desialylation as a primary step of atherogenic modification. *Atherosclerosis* 1998; 138(1):183-95.
113. Banerjee SK, Sood S, Dinda AK, Das TK, Maulik SK. Chronic oral administration of raw garlic protects against isoproterenol-induced myocardial necrosis in rat. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003; 136(4):377-86.
114. Sharma M, Kishore K, Gupta SK, Joshi S, Arya DS. Cardioprotective potential of ocimum sanctum in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem* 2001; 225(1-):75-83.
115. Sushamakumari S, Jayadeep A, Kumar JS, Menon VP. Effect of carnitine on malondialdehyde, taurine and glutathione levels in heart of rats subjected to myocardial stress by isoproterenol. *Indian J Exp Biol* 1989; 27(2):134-7.
116. Sahna E, Parlakpınar H, Turkoz Y, Acet A. Protective effects of melatonin on myocardial ischemia/reperfusion induced infarct size and oxidative changes. *Physiol Res* 2005; 54(5):491-5.

RESİMLEMELER LİSTESİ

Şekiller

1. N-asetilnöraminik asit.....	3
2. Sialik asitin lineer ve piranoz formu.....	4
3. NANA'in oligosakkarid zincirinde $\alpha(2\rightarrow3)$ ve $\alpha(2\rightarrow6)$ bağ durumu.....	4
4. Sialik asit ve glikoprotein sentezi.....	7
5. Membran yapısındaki sialik asitler.....	10
6. Kardiyak belirleyicilerin salınma zamanları.....	14
7. Troponinin alt grupları.....	17
8. Adrenalin ve isoproterenolün yapısal benzerliği.....	18
9. Lizinin düz zincir yapısı	19
10. Lizin'in uzaysal görünümü.....	19
11. Memelilerde L-lizin metabolizması.....	20
12. L-Lizin tarafından arginaz'ın inhibisyonu	21
13. Total sialik asit standart grafiği.....	25
14. Albumin standard grafiği.....	26
15. ISO grubunun ve ISO+L-lizin grubunun serum troponin I (TnI) düzeylerinin karşılaştırılması.....	30
16. Kontrol grubu kalp kasında düzenli yapı.....	33
17. ISO+L-lizin grubunun akut miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda hafif dereceli atrofi bulguları gelişimi.....	34
18. ISO+L-lizin grubunun akut miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu.....	34
19. ISO grubunun akut miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda	

belirgin dereceli atrofi bulguları gelişimi.....	35
20. ISO grubunun akut miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda kalp kasları arasına giren bağ dokusu.....	35

Tablolar

1. Akut miyokart infarktüsü sırasında gelişen erken ve geç değişiklikler.....	13
2. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri.....	13
3. Genel olarak kullanılan miyokart hasarı belirteçlerinin özellikleri.....	15
4. Kontrol, ISO ve ISO L-lizin gruplarındaki ratların serum TSA düzeyleri....	28
5. Kontrol, ISO ve ISO L-lizin gruplarındaki ratların TnI düzeyleri.....	29
6. Kontrol, ISO ve ISO+L-lizin grubundaki sıçanların doku total sialik asit (TSA) düzeyleri.....	29
7. Kontrol, ISO ve ISO+L-Lizin grubundaki sıçanların serum ve doku total sialik asit (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması.....	31
8. ISO ve ISO+L-lizin grubunda serum TSA ve TnI arasındaki korelasyon.....	31

ÖZGEÇMİŞ

27.03.1983 yılı İstanbul doğumluyum. İlköğrenimimi Yeşilyuva İlkokulu, orta ve lise öğrenimimi Florya Tevfik Ercan Lisesi'nde tamamladım. Üniversite öğrenimimi Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde 2001-2005 yılları arasında tamamlayarak aynı yıl Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.B.D' da yüksek lisans öğrenimime başladım ve hala sürdürmekteyim.