

**T.C.**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KALP YETMEZLİĞİ OLAN HASTALARDA  
POLİAMİN SENTEZ YOLUNDAKİ ENZİM  
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

**YELİZ DEMİR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. ÖZLEM DEMİRPENÇE**

**SİVAS-2017**

**“Kalp yetmezliği olan hastalarda poliamin sentez yolundaki enzim düzeylerinin incelenmesi”** adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıp Fakültesi Biyokimya** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan \_\_\_\_\_

Üye \_\_\_\_\_

Üye \_\_\_\_\_

Üye \_\_\_\_\_

Üye \_\_\_\_\_

(Danışman)

#### ONAY

Bu tez çalışması, ..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ



Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca tecrübelerinden yararlandığım, her zaman hoşgörülü olan, Ana Bilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Sevtap BAKIR'a, danışman hocam sayın Doç. Dr. Özlem DEMİRPENÇE'ye ve Biyokimya Ana Bilim Dalı öğretim üyelerine sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezimin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar hocama sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Doç. Dr. Ali Şahin ve değerli eşi Mehtap Şahin'e teşekkürü bir borç bilirim.

Numunelerin toplanmasında her türlü yardımı sağlayan, iyi ki tanıdığım, Araş. Gör. Dr. Sefa Erdi Ömür ve Araş. Gör. Dr. Şule Ceyhan'a, desteklerini esirgemeyen, kendilerini tanımaktan onur duyduğum, Kardiyoloji Anabilim Dalı ve Acil Tıp öğretim üyelerinden sayın Doç. Dr. Gülaçan Tekin ve Yrd. Doç. Dr. Yusuf Kenan Tekin'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Her zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, CANIM AİLEME sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# ÖZET

## KALP YETMEZLİĞİ OLAN HASTALARDA POLİAMİN SENTEZ YOLUNDAKİ ENZİM DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

Yeliz DEMİR

Yüksek Lisans Tezi

Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Özlem DEMİRPENÇE

2017,87 sayfa

Kalp yetmezliği (KY) kalbin, yaşam fonksiyonları açısından insan vücudunun ihtiyaçlarına uygun kanı pompalayamadığı bir klinik sendromdur. Yeni geliştirilen tedaviler ile mortalitenin ve morbiditenin azalmasına rağmen, KY hala sık görülen ve ciddi seyreden kardiyovasküler hastalıklardan biridir. Bu nedenle KY'nin seyrinde biyokimyasal yolların incelenmesi önemini hala korumaktadır.

Poliaminler (PA) protein kinazların hücre döngüsündeki aktivitesinde, transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerinde, translasyon ve transkripsiyonda önemli rol oynarlar. Bu çalışmada KY olan hastalarda biyokimyasal belirteç olarak serumdaki PA konsantrasyonları değerlendirildi.

Bu çalışmada, kardiyoloji servisine başvuran toplam 60 birey değerlendirildi. Hasta grubunda 30 KY hastası, kontrol grubunda ise KY hastalığı olmayan 30 birey vardı. Her iki grupta arjinaz, ornitin, ornitin dekarboksilaz, arjinin dekarboksilaz ve agmatinazın serum düzeyleri değerlendirildi.

Kontrol grubundaki bireylerle karşılaştırıldığında, KY hastalarının serum arjinaz ( $P=0,001$ ), ornitin ( $P=0,001$ ), ornitin dekarboksilaz ( $P=0,019$ ) düzeyleri arasındaki fark anlamlı olarak bulundu ( $p<0,05$ ). Her iki gruptaki bireylerin arjinin dekarboksilaz ( $P=0,395$ ) ve agmatinaz ( $P=0,053$ ) düzeyleri karşılaştırıldığında ise, gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p >0,05$ ).

Sonuç olarak, elde edilen veriler, KY hastalarında serum arjinaz, ornitin ve ornitin dekarboksilaz düzeylerinde KY olmayan bireylere göre farklılık olduğunu göstermiştir. Bazı PA'lerin konsantrasyonundaki artışın KY progresyonuyla ilişkili

olabileceğine inanıyoruz ve bu nedenle, konuyla ilgili tüm PA'lerin ölçümlerini içeren daha kapsamlı çalışma yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

**Anahtar kelimeler:** Kalp yetmezliği, poliaminler, arjinaz, ornitin, arjinin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz, agmatinaz



## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF ENZYME LEVELS IN POLYAMINE SYNTHESIS WAYS IN THE PATIENTS WITH HEART FAILURE

**Yeliz DEMİR**

Master Thesis,

Department of Biochemistry

Supervisor: Doç. Dr. Özlem DEMİRPENÇE

2017,87 page

Heart failure (HF) is a clinical syndrome in which the heart can not pump blood to needs of the human body in terms of life functions. Heart failure (HF) is still one of the common and severe cardiovascular diseases, although mortality and morbidity are reduced by newly developed treatment methods. For this reason, the examination of biochemical pathways in the course of HF remains important.

Polyamines (PA) play an important role in the activity of protein kinases in cell cycle, activity of transcription factors, translation and transcription. In this study, it was evaluated concentration of PA in serum, in patient with HF as a biochemical marker.

In this study, a total of 60 individuals who had been admitted in cardiology service were evaluated. The patient group consisted of 30 HF patients and the control group consisted of 30 individuals without HF disease the serum levels of arginase, ornithine, ornithine decarboxylase, arginine decarboxylase, agmatinase were evaluated in both groups. Serum arginase ( $P = 0.001$ ), ornithine ( $P = 0.001$ ) and ornithine decarboxylase ( $P = 0.019$ ) levels were found to be significantly different in the HF patients ( $p < 0,05$ ). Arginine decarboxylase ( $P = 0,395$ ) and agmatinase ( $P = 0,053$ ) levels of the individuals in both groups were statistically insignificant ( $p > 0,05$ ).

In conclusion, these findings demonstrate that serum levels of arginase, ornithine and ornithine decarboxylase obtained during HF different in patient group than control group.

We believe that the increase in concentration of some PAs may be associated with the HF progression and therefore that comprehensive studies on the issue including measurements of all of PAs are required.

**Key Words:** Heart failure, polyamines, arginase, ornithine, arginine decarboxylase, ornithine decarboxylase, agmatinase





# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

<b>İÇ KAPAK</b> .....	i
<b>ONAY</b> .....	ii
<b>YÖNERGE</b> .....	iii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iv
<b>ÖZET</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	ix
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	xii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	xiii
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b> .....	xiv
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	xv
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xvi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Kalp Yetmezliği ve Poliaminlerin Önemi.....	1
1.2. Araştırmanın Amacı.....	2
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Kalp Yetmezliği Tanı ve Evreleri.....	3
2.2. Kalp Yetmezliği Epidemiyolojisi.....	4
2.3. Kalp Yetmezliği Etiyolojisi.....	5
2.4. Kalp Yetmezliği Patofizyolojisi.....	6
2.5. Poliaminler.....	7
2.6. Poliaminlerin Hücre Metabolizmasındaki Rolü.....	8
2.7. Poliaminlerin Biyosentezi ve Düzenlenmesi.....	9
2.8. Ornitin Dekarboksilaz Antizimi.....	11
2.9. Poliaminlerin Katabolizması.....	13
2.10. Poliaminlerin Taşınımı.....	14

2.11.ODC ve Protoonkogenler.....	16
2.12.Poliaminlerin Sinyal İletimindeki Rolü.....	16
2.13.Hypusine ve eIF-5A.....	18
2.14.Poliaminler ve Apoptoz.....	20
2.15.Poliaminler ve Hastalıklarla İlişkisi.....	21
2.15.1.Poliaminler ve Kanser.....	21
2.15.2.Poliaminler ve Diğer Hastalıklarla İlişkisi.....	23
2.15.3.Poliaminler ve Otofaji.....	24
2.16.Poliamin Biyosentezi Enzimleri.....	25
2.16.1.Agmatinaz.....	25
2.16.2.Arjinaz.....	25
2.16.3.Ornitin.....	26
2.16.4.Ornitin Dekarboksilaz.....	27
2.16.5.Arjinin Dekarboksilaz.....	27
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>28</b>
3.1. Araştırmanın Tipi.....	28
3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri.....	28
3.3. Araştırmanın Evreni.....	28
3.4. Araştırmanın Örneklemi.....	28
3.5. Bağımlı ve Bağımsız Değişkenler.....	28
3.6. Veri Toplama Araçları.....	29
3.7. Verilerin Toplaması.....	29
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi.....	29
3.9. Araştırmanın Etik Yönü.....	29
3.10. Kullanılan Gereçler.....	29
3.11. Yöntem.....	30
3.11.1.Hasta ve Kontrol Grubu.....	30
3.11.2.Kan Örneklerinin Toplanması.....	30
3.11.3.Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	30
3.11.4.Araştırmaya Dahil Edilmeme Kriterleri.....	30
3.11.5.Arjinin Dekarboksilaz Tayini.....	31

3.11.6.Ornitin Dekarboksilaz Tayini.....	32
3.11.7.Agmatinaz Tayini.....	33
3.11.8.Arjinin Aktivite Tayini.....	34
3.11.9.Ornitin Tayini.....	36
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>37</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>44</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>	<b>48</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>49</b>
EK 1. Bildirilmiş Olur Formu.....	63
EK 2. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı Kurul Kararı.....	67
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>70</b>

## TABLULAR

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Tablo 1: Kalp Yetmezliğinin (ACC/AHA)'ya göre klinik evrelemesi.....	3
Tablo 2: Kalp Yetmezliğini için risk faktörleri. ....	5
Tablo 3: Hasta ve Kontrol grubuna ait Biyokimyasal Test Sonuçları.....	41
Tablo 4: Hasta ve Kontrol Grubuna ait Ejeksiyon Fraksiyon Değerleri.....	42
Tablo 5: Ornitin ve Agmatinazın Korelasyon İlişkisi.....	42



## ÇİZELGELER

### Sayfa No

Çizelge 1: Kontrol ve Hasta Gruplarının Cinsiyetine ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi .....	37
Çizelge 2: Kontrol ve Hasta Gruplarının Yaş Aralığının Değerlendirilmesi.....	38
Çizelge 3: Hasta ve Kontrol Gruplarının Enzim Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	38



## GRAFİKLER

### Sayfa No

Grafik 1: Arjinin Dekarboksilaz standart eğri grafiği.....	32
Grafik 2: Ornitin Dekarboksilaz standart eğri grafiği.....	33
Grafik 3: Agmatinaz standart eğri grafiği.....	35
Grafik 4: Hasta ve kontrol grubunda ornitin düzeyi.....	38
Grafik 5: Hasta ve kontrol grubunda arjinaz düzeyi.....	39
Grafik 6: Hasta ve kontrol grubunda ADC düzeyi.....	39
Grafik 7: Hasta ve kontrol grubunda ODC düzeyi.....	40
Grafik 8: Hasta ve kontrol grubunda agmatinaz düzeyi.....	40

## ŞEKİLLER

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Şekil 1. Kalp Yetmezliği Patofizyolojisi .....	6
Şekil 2. Poliamin Türevlerinin Kimyasal Yapısı.....	7
Şekil 3. Poliamin Metabolizması.....	10
Şekil 4. ODC Antizimi(4a,4b,4c).....	13
Şekil 5. Memelilerde Poliaminlerin Taşınımı.....	15
Şekil 6. Hücre membranından çekirdeğe sinyal iletimi.....	17
Şekil 7. Spermidin (a) ve Putresinin (b) sinyal iletimindeki rolü.....	18
Şekil 8. eIF-5A'nın hipusinasyonu.....	19
Şekil 9. Poliaminlerin apoptoz yolağı.....	20

## KISALTMALAR

<b>KY</b>	Kalp yetmezliği
<b>PA</b>	Poliamin
<b>ACC/AHA</b>	Amerikan Kalp Birliği
<b>HAPPY</b>	Heart Failure Prevalence And Predictors in Turkey
<b>ESC</b>	Avrupa Kalp Birliği
<b>EF</b>	Ejeksiyon Fraksiyon
<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>RNA</b>	Ribonükleik asit
<b>mRNA</b>	Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>siRNA</b>	Small interfering RNA
<b>pH</b>	Hidrojen iyonu derişiminin - logaritması
<b>ODC</b>	Ornitin Dekarboksilaz
<b>PAO</b>	Poliamin Oksidaz
<b>MAT</b>	Metiyonil Adenozil Transferaz
<b>AdoMetDC</b>	Adenozil Metiyonin Dekarboksilaz
<b>DHPS</b>	Deosihipusin Sentaz
<b>DHH</b>	Deosihipusin Hidrolaz
<b>SSAT</b>	Spermidin Spermin Asetil Transferaz
<b>SS</b>	Spermidin Sentaz
<b>SMO</b>	Spermin Oksidaz
<b>ADC</b>	Arjinin Dekarboksilaz
<b>SAM</b>	S-Adenozil Metiyonin
<b>AcPAO</b>	Asetilpoliamin Oksidaz
<b>SAMDC</b>	S-Adenozilmetiyonin Dekarboksilaz
<b>DAO</b>	Diamin Oksidaz
<b>GTPaz</b>	Guanozin trifosfataz
<b>NF-KB</b>	Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells
<b>AZ</b>	Antizim



<b>AZi</b>	Antizim İnhibitörü
<b>ORF</b>	Open Reading Frames
<b>uORF</b>	Upstream open reading frames
<b>FAD</b>	Flavin Adenin Dinükleotid
<b>GABA</b>	Gama Amino Bütirik Asit
<b>Pc-Acro</b>	Proteine Konjuge Acrolein
<b>MAPK</b>	Mitojenle Aktive Protein Kinaz
<b>ERK</b>	Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz
<b>MEK</b>	MAP kinaz veya ERK kinaz
<b>cAMP</b>	siklik Adenozin Mono Fosfat
<b>DFMO</b>	D,L-alfa-difluorometilornithin
<b>eIF-5A</b>	Ökaryotik başlatma faktörü
<b>CREB</b>	Hüresel transkripsiyon faktörü
<b>His</b>	Histamin sinyal yolu
<b>TNF</b>	Tümör Nekroz Faktörü
<b>UGA</b>	Durdurma Kodonu
<b>UTR</b>	Çevrilmemiş Kodon
<b>KFSD</b>	Keratozis follicularis spinulosa decalvans
<b>NMDA</b>	N-methyl-D-aspartate
<b>AMPA</b>	$\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropiyonik asit
<b>DiAcSpm</b>	Diasetilspermin
<b>DiAcSpd</b>	Diasetilspermidin
<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
<b>CEA</b>	Karsino embriyonik antijen
<b>CA 19-9</b>	Kanser antijeni 19-9
<b>CA 15-3</b>	Kanser antijeni 15-3
<b>ROS</b>	Reactive Oxygen Species
<b>AMP</b>	Adenozin Mono Fosfat
<b>Da</b>	Dalton
<b>C</b>	Santigrat

# 1.GİRİŞ

## 1.1. Kalp Yetmezliği ve Poliaminlerin Önemi

KY, yapısal anomaliler, yetersiz kardiyak doluş ve nörohormonal aktivasyona bağı olarak, kalbin dokulara metabolik ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde oksijen gönderememesine neden olan ve buna bağı olarak nefes darlığı, çabuk yorulma ve ödemin oluştuğı kompleks bir sendromdur (1). KY'nin erken tanı ve tedavisi, bu hastalığa sahip hastaların mortalite ve morbidite yüzdelerinin azaltılmasında önemlidir. Türkiye batılı ülkelere göre daha genç bir nüfus ortalamasına sahiptir. Fakat buna rağmen, KY prevalansının bu ülkelere göre anlamlı derecede yüksek olması önemli bir noktadır (2).

KY herhangi bir yaşta gelişebilir, ancak ilerleyen yaşlarda görülme sıklığı artmaktadır. Toplumda, 65 yaştan küçük kişilerde görülme sıklığı giderek artmaktadır. KY, 65 yaş üstü bireylerde ise en sık hastaneye yatış nedenidir. KY, hastaneye yatışın sık olması nedeniyle tedavisi oldukça masraflı, iş gücü kaybına neden olan, hem hasta için hem de toplum için sıkıntı teşkil eden bir hastalıktır. Bu yüzden erken tanı ve tedavisi önem taşımaktadır (3).

PA'ler (putresin, spermidin ve spermin) amino asitlerden türeyen, prokaryotik ve ökaryotik yapıya sahip tüm hücrelerde esansiyel olan doğal alifatik polikasyonik aminlerdir. Hücre büyümesi, farklılaşması, apoptozis, otofaji, transkripsiyon, translasyon ve protein sentezinden sorumludurlar. Hücrelerde endojen üretilebilir ya da diyet yoluyla ekzojen olarak alınabilirler (4).

PA'ler bazik maddeler olduğundan, sulu ortamda kolayca çözünme özelliğine sahiptirler ve polianyonlar (DNA, RNA, Proteoglikanlar) ile kuvvetli bir şekilde etkileşirler. Bu etkileşime birçok iyonotropik, metabotropik reseptörler eşlik etmektedir. PA'ler DNA üzerindeki fosfat gruplarının negatif yüklerini kararlı hale getirirler (5). Ekzojen PA'ler, hücre çekirdeğinin kromatin yapısını stabilize ederken, PA eksikliği, DNA'nın onarım mekanizmalarını bozan farklı nükleazlar ile kromatinlerin bozulmasını tetikleyerek DNA ve kromatin hassasiyetini artırır. Hücre proliferasyonu, protein ve nükleik asitlerin sentezinde yer alırlar. RNA'nın sekonder yapısını etkileyerek protein sentezi üzerinde etkinlik gösterirler, ribozomların alt ünitelerinin biraraya gelmesini sağlarlar. Ökaryotlarda translasyonu artırır ve reseptör proteinlerle etkileşirler (6).

PA'lerin hızlı büyüyen hücre ve dokularda yüksek konsantrasyonlarda buldukları ve hücre büyümesi, farklılaşması, hücre-hücre etkileşimi için gerekli oldukları gösterilmiştir. Büyüme ile ilişkili genler olan c-fos ve c-myc protoonkogenleri hücrel çoğalma sürecinde PA'ler tarafından aktive edilmektedir. Mitojenik uyarıyı takiben PA sentezinde bir artışla beraber eş zamanlı c-fos protoonkogeninin transkripsiyonunun gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu nedenle karsinogenez süreci ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (7).

## **1.2. Araştırmanın Amacı**

Bu çalışmada KY tanısı almış hastaların serumlarında, PA sentez yolu enzimleri olan arjinaz, ornitin, ornitin dekarboksilaz, arjinin dekarboksilaz ve agmatinaz seviyelerinin KY üzerindeki rolü ve hastalığın seyrine olan etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Çalışma popülasyonunu Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma Hastanesi Kardiyoloji servisinde izlenen, KY tanısı almış, ejeksiyon fraksiyon (EF) değeri 40'ın altında olan 30 hasta ve Kardiyoloji servisine başvuran, EF değeri 40'ın üzerinde olan, KY olmayan 30 kontrol olgusu oluşturdu. Temel çalışma parametreleri için, seçilen laboratuvar analiz yöntemleri ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ve UV-VIS Spektrofotometri yöntemleridir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kalp Yetmezliği Tanı ve Evreleri

KY, çeşitli nedenlere bağlı olarak kalbin performansının azalmasıyla, doku ve organlara gerekli kanı pompalayamaması ile gelişir. Ülkemizde yaşla birlikte görülme sıklığı artmaktadır (1). Çoğunlukla kalp damar hastalıkları, kalp krizi, hipertansiyon, kalp kapak hastalığı gibi kalp performansını azaltan ya da kalbin iş yükünü arttıran durumlar sonucu gelişmektedir. Konjestif KY denen durumda ise akciğerlerde, ayaklarda, bacaklarda ve bazı vakalarda karaciğer ve karın boşluğunda sıvı birikmesi (ödem) ortaya çıkmaktadır (8). KY, klinik olarak değerlendirilmesi zor bir sendromdur. Altta yatan nedenler (kalbin yapısal, elektriksel ve mekanik fonksiyonu ile ilişkili) ortadan kaldırılmadıkça yaşam kalitesi bozulur, mortalite ve morbitide hızı artar, prognozu genellikle kötüdür (3,9).

2005 yılında yayınlanan Amerikan Kalp Birliği (ACC/AHA) 'nin KY kılavuzuna göre KY riskinin yüksek olduğunu gösteren faktörler tanımlanmıştır. ACC/AHA, KY'yi dört ayrı evrede sınıflandırmıştır (Tablo 1). Bu sınıflandırma ile koruyucu tedavinin KY gelişimini önlemedeki rolü vurgulanmıştır (10).

Tablo 1: Kalp yetmezliğinin ACC/AHA 'ya göre klinik evrelemesi

<b>EVRE A</b>	Kalp yetmezliği gelişme riski yüksek olan fakat henüz kalpte yapısal bozukluğun oluşmadığı hastalar
<b>EVRE B</b>	Kalpte yapısal bozukluğu olan ancak kalp yetmezliği semptomu olmayan hastalar
<b>EVRE C</b>	Yapısal kalp hastalığı zemininde semptomatik olan veya geçmişte kalp yetmezliği semptomu olan hastalar
<b>EVRE D</b>	Standart tedaviye refrakter son dönem hastalığı olan, mekanik dolaşım desteği, kalp transplantasyonu ihtiyacı olan hastalar

Aktoz M. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi (2010), 27.

## 2.2. Kalp Yetmezliği Epidemiyolojisi

KY, sıklığı dünyada giderek artan global bir sorundur. Amerikan Kalp Derneği (AHA)'nın çalışmaları sonucu, 2012'den 2030 yılına kadar KY'de yaklaşık %46'lık bir artış beklendiğini ve 2030'da ise sadece ABD'de 18 ve üzeri yaş grubunda 8 milyondan fazla kişide KY'nin görülebileceğini duyurmuştur (11). Ülkemizde ise KY'nin prevalansı yaşla birlikte artmakta olup, % 0,3-2 oranları arasında değişmekle birlikte; 65 yaş üzerinde bu oran %3-5 'lere, 75 yaş üzerinde ise %25'lere çıkmaktadır (12).

Türkiye'de yapılan HAPPY çalışmasına göre 35 yaş üzerinde olan bireylerde, KY prevalansının mutlak değerı %2,9 olarak saptanmıştır (13). Kadın ve erkekler arasında sırasıyla KY insidansı; 65 yaş altında %0.1 ve %0.04'dür. Framingham alışmasında KY insidansı kadın cinsiyette azalma gösterirken, erkek cinsiyette değişiklik göstermemiştir (14). Türkiye'de yapılan HAPPY çalışmasında ise kadın ve erkek cinsiyet arasında KY prevalansı benzer bulunmakla birlikte ejeksiyon fraksiyonu (EF) <%50 olan erkeklerin prevalansı, (EF) >%50 olan kadınların prevalansından daha yüksek olduğu saptanmıştır (15). Avrupa Kardiyoloji Cemiyeti (ESC) Kılavuzunda ise KY'nin erkeklerde daha fazla görülmesinin nedeninin, Koroner Arter Hastalığı (KAH)'nın erkeklerde daha erken yaşlarda gelişmesi olarak belirtilmektedir (11).

KY'nin, ilk olarak, sadece sol ventrikül sistolik fonksiyonlarının bozulmasıyla EF'nin azalması ile ortaya çıktığı düşünölmüşse de, son yıllarda en sık sebebin koroner arter hastalığı olduğu belirtilmiştir (16). Hipertansiyon, diabetes mellitus, obezite, kalp damar hastalığı, kronik akciğer hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, kalp kapak hastalığı, kalp ritim bozuklukları, kalp kası hastalığı veya doğumsal kalp hastalığı KY'ne zemin hazırlayan durumlardır. Kalp Kapak hastalıkları ise KY vakalarının %7-8' ini oluştur. Total kolesterolün tek başına risk faktörü olmadığı, fakat yüksek total kolesterol/HDL kolesterol oranının KY risk faktörlerinden olduğu belirtilmiştir (17). Framingham çalışmasının sonuçlarında, obezitenin hem kadın hem de erkeklerde KY gelişmesindeki risk faktörlerinden biri olduğu vurgulanmıştır (18).

### 2.3. Kalp Yetmezliği Etiyolojisi

KY etiyo lojisinde rol oynayan etmenlerin çoğu kalpte hasar oluşturarak miyokard hücrelerinin işlevinde, yapısında değişikliğe ve hatta kaybına yol açarak, KY tablosunun ortaya çıkmasına neden olmaktadır. KY'ne neden olan etiyo lojik faktörlerin başında perikardiyal, miyokardiyal, endokardiyal, valvüler, vasküler, konjenital hastalıklar gelmektedir, fakat KY'nin pek çok farklı etiyo lojik nedeni bulunmaktadır (Tablo 2) (19).

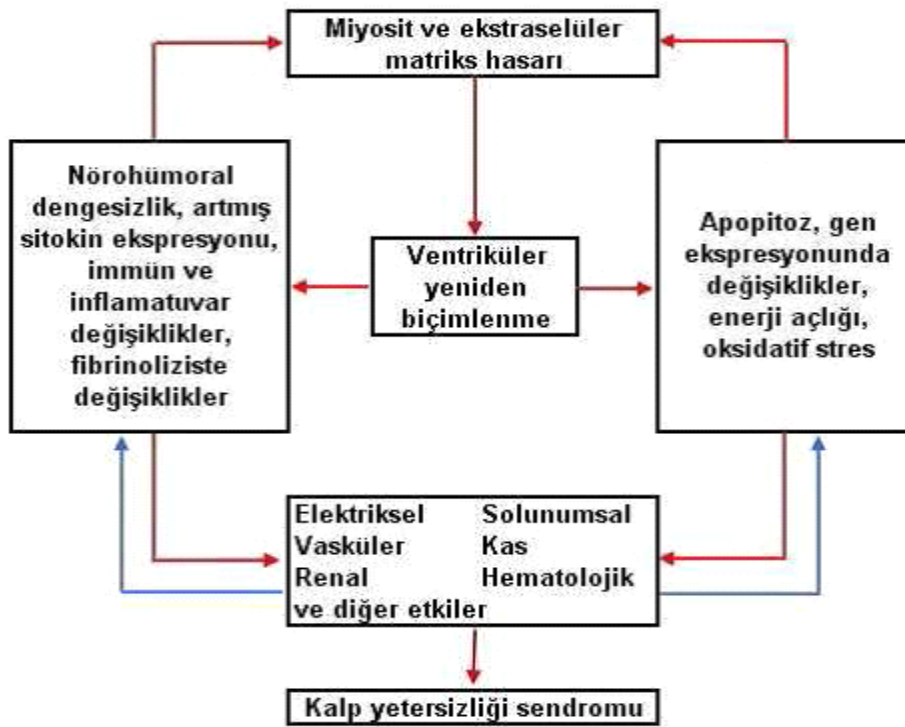
Tablo 2: Kalp yetmezliği için risk faktörleri

- Koroner arter hastalığı
- Hipertansiyon
- Aşırı kilo
- Sigara
- Diyabet
- Kapak hastalıkları
- Konjenital kalp hastalıkları
- Yüksek debili durumlar
- Pulmoner hastalıklar
- İdiyopatik
- Miyokardit
- İnfiltratif hastalıklar
- Otoimmün
- Obstrüktif uyku apne sendromu
- Peripartum
- Enfeksiyon
- Bağ dokusu hastalıkları
- Strese bağlı (Takotsubo) kardiyomiyopati
- Toksik ve ilaçlar (Doxorubin, antrasiklin)
- Kronik taşikardiler, aritmiler

Zoghi M. Klinik Gelişim (2011), 24.

#### 2.4. Kalp Yetmezliği Patofizyolojisi

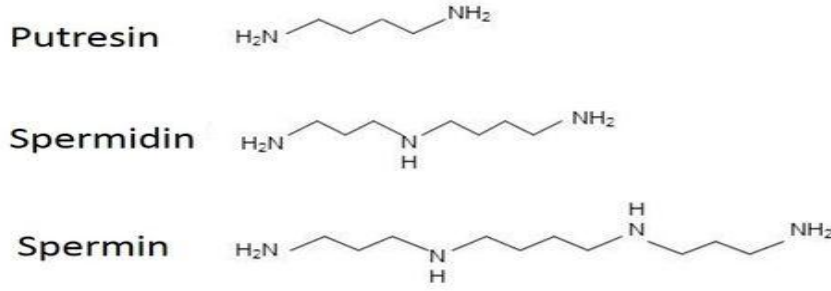
KY Patofizyolojisi çeşitli mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmış olsada, hala tam olarak anlaşılamamıştır. Hangi etiyolojik mekanizma ile meydana gelirse gelsin, hepsinde öncelikle kalbin kasılma yeteneğini azaltmaktadır. Kalp bu durumu savunma mekanizmaları (adrenerjik sinir sistemi, renin anjiotensin aldosteronsistemi) ile düzeltmeye çalışsa da, pompalanan kan miktarı arttıa kalp boşluklarında diyastolik basınçlar artacak, ventriküler boşalma zorlaşacak, dolayısıyla atım volümleri azalmaktadır (20). Nörohormonal sistemin de devreye girmesiyle miyokarda değişimler başlamakta ve sol ventrikül yeniden şekillenmesi (remodeling) gerçekleşmektedir. Böylece hasta semptomatik hale gelir (21). Sonuç olarak KY'nin gelişmesi, nörohormonal mekanizmalar ve sol ventrikül yeniden şekillenmesi modellerinin bir bileşkesidir (şekil 1).



şekil 1. Kalp Yetmezliği Patofizyolojisi (Cohn JN, Ferrari R, J Am Coll Cardio, 2010)

## 2.5. Poliaminler

İlk kez 1678 yılında Antonie Van Leeuwenhoek'in insan seminal sıvısında gösterdiği PA'ler, amino asitlerin dekarboksilasyonu sonucu oluşan organik alifatik katyonik aminlerdir. Doğada yaygın olarak bulunan PA'ler putresin, spermidin, ve spermindir (22).



Şekil 2. Poliamin türevlerinin kimyasal yapısı (Murray-Stewart T, et al, Biochem J, 2003, 373)

PA'ler hücre bölünmesi, protein-DNA etkileşimleri, hücre farklılaşması, embriyonik gelişim, immunolojik etkileşimler, sinyal iletimi, apoptoz, DNA ve RNA konformasyonel değişimleri ile karsinogenez gibi çok çeşitli alanlarda görevleri olan polikasyonik alifatik yapılardır (22). Hücrelerde değişen konsantrasyonlarda bulunan PA'lerin molekül ağırlığı düşüktür. pH'ı yaklaşık 10 düzeyindedir, suda çözünürler ve vücut içi pH'ında tamamen protonlanırlar (23).

PA'ler hücrede elektrostatik olarak DNA, RNA ve proteoglikanlar gibi negatif yüklü fosfolipidlerle etkileşim kurarlar (24). Pozitif yüklü PA, negatif yüklü hücrel makromoleküller ile proteinler, DNA ve RNA gibi membran yapıları ile elektrostatik olarak etkileşimde olup, bu etkileşimler PA'lerin hücre büyümesi, bölünmesi ve proliferasyonunda görev almasını sağlar (25). Ribozomları, nükleik asitleri ve membranları stabilize eden PA'ler hücreyi serbest radikallerden ve lipid peroksidasyonundan korurlar. Bunun dışında hücre membranından, nörotransmitter salınmasında ve bazı iyon kanallarından Ca<sup>2+</sup> akışının düzenlenmesinde görevleri vardır (26).



PA hücrelerde endojen olarak üretilebildikleri gibi, diyet yoluyla ekzojen olarak da alınırlar. Vücut PA havuzu, diyetle alınan, hücrede sentezlenen ve barsakta mikrobiyal sentez yoluyla üretilen PA'ler olmak üzere üç kaynaktan oluşur (27). PA'ler her tipte hücrenin büyümesi, proliferasyonu ve hayatın devamlılığı için çok önemlidir. PA konsantrasyonlarının fizyolojik ihtiyaca göre ayarlanması, de novo senteze, PA alınmasıyla ve katabolik reaksiyonlar arasındaki uyuma bağlıdır. De novo sentez hücre dışı ortamından PA alınması ile sağlanır. PA'lerin hücrede fazla birikmesi, bir feedback regülasyon sistemi ile kontrol edilir (28).

## **2.6. Poliaminlerin hücre metabolizmasındaki rolü**

Hücre içi PA miktarı azaldığı zaman p53 gen ekspresyonu artar ve hücre büyümesi baskılanmaktadır. PA baskılanması, p53 mRNA stabilitesini arttırmaktadır. PA'ler endotel hasarında ve vasküler hücre göçünde rol alırlar. Ayrıca transkripsiyonu ve translasyonunu stimüle ederler (28).

Hücrelerde PA eksikliğinde DNA modifikasyonları gözlenirken, PA fazlalığında ise; apoptoz meydana gelir ve poliamin oksidaz (PAO) katabolizmasında oluşan  $H_2O_2$ 'in de yan ürün olarak oluştuğu düşünülmektedir. Oluşan  $H_2O_2$  oksidatif stres aracılığıyla apoptoza neden olur (29).

İyon kanallarının düzenleyicisi olarak endojen PA'lerden spermin ve spermidin görev yapar. Spermin ve spermidin potasyum kanallarını ve glutamat reseptörlerini uyarır. Büyüme faktörlerinin reseptörlerle uyarılmasını düzenleyerek hücre içi sinyal iletiminde rol alırlar. Protein kinazları aktiflemesiyle protoonkogenleri aktive ederler ve G proteinleri ile etkileşime girerler. GTPaz'ın aktive olmasında rol oynarlar. NF-KB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) bağlanmasını stimüle ederler (30).

Yapılan bazı çalışmalarda PA'lerin immün hücrelerin farklılaşmasında da rol aldığı belirtilmiştir. İnflamasyonda ölü ya da hasarlı hücrelerden, spermin açığa çıktığı, bunun da hücre migrasyonunu ve gelişimini desteklediğini göstermişlerdir. PA'lerin yara iyileşmesinde rol alan c-fos ve c-myc protoonkogenleri üzerinde de baskılayıcı rolü vardır (31).

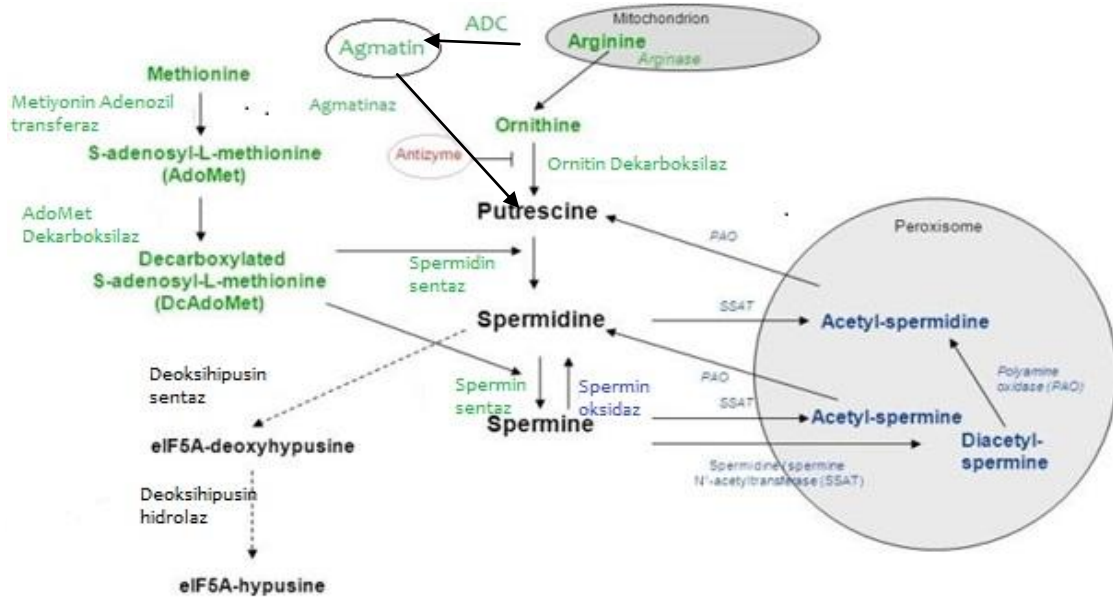
Hücre içi PA miktarının artması hücrelerdeki karsinogenik özelliğin arttığına, malign özellik gösteren hücrelerin sağlıklı hücrelere göre PA konsantrasyonunun yüksek olması, PA' in kanser gelişimi ile ilgili olası bağıntı ortaya koymaktadır. Bu nedenle pek çok anti-kanser ilacın etki mekanizması açısından, PA biyosentezinin inhibisyonu ve PA'lerin katabolik enzimlerinin aktive edilerek, hücre içi PA miktarının düşürülmesi önem taşımaktadır (32). PA analogları vasıtasıyla, PA biyosentez aktivitesinin azaltılması ile birçok kanser türünde apoptozisin oluştuğu gösterilmiştir (33).

## **2.7. Poliaminlerin Biyosentezi ve Düzenlenmesi**

Memelilerde PA'ler ekzojen olarak gıdalarla alınabildiği gibi, endojen olarak hücresel veya bağırsak mikroflorası tarafından sentezlenebilmektedir. Endojen PA'ler biyosentez ve katabolizmada yer alan enzimler sayesinde kompleks bir mekanizma ile birbirlerine dönüştürülebilirler (5).

PA'lerin primer öncülü metiyonin ve arjinin aminoasitleridir. Arjininden arjinaz enzimi aracılığıyla ornitin oluşmaktadır. Oluşan ornitin dekarboksilasyonu sonucu PA'nın en basiti olan putresin oluşmaktadır. PA biyosentezindeki ilk reaksiyon, ornitin, ornitin dekarboksilaz (ODC) tarafından putresini oluşturmasıdır.

Putresin sentezi için bitkiler ve bazı mikroorganizmalar agmatin yolunu kullanmaktadır. Agmatin yolu memelilerde de bulunmaktadır (6). Bu yolda arjinin, arjinin dekarboksilaz (ADC) enzimi ile agmatini oluşturur. Oluşan agmatin, agmatinaz enzimi ile putresini meydana getirirken, putresinden de spermidin sentez yardımcıyla spermidin oluşmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3. Poliamin metabolizması (Minois N, Carmona-Gutierrez D, Madeo F, Aging 2011)

İkinci bir aminopropil grubunun spermin sentaz aracılığıyla spermidine eklenmesiyle spermin oluşmaktadır. Hücre içi homeostatik koşullarda putresin spermidine, spermidinde spermine dönüşmektedir (34). Spermin ve spermidin, bir peroksizomal enzim olan PAO, spermin oksidaz (SMO) veya asetilpoliamin oksidaz (AcPAO) ile geri putresine dönüşebilmektedir (Şekil 3). SMO, spermini oksidatif olarak spermidine indirgemektedir.

Spermin veya spermidin aminopropil ucunda önemli bir düzenleyici enzim olan spermidin/spermin N1-asetiltransferaz (SSAT) ile asetile olur ve asetillenmiş spermin ve spermidin daha sonra 3.C atomu ve 4.N atomu arasında oksidatif bölünerek asetil spermin ve asetil spermidin oluşturmaktadır. Bir diğer yol ise diasetil spermini oluşturmak için monoasetil spermin diğer aminopropil uçtan asetillenebilir. Mono ve diasetil PA'ler hücrelerden atılabilir ve hücre kültürü ortamında, hayvan vücut sıvıları, idrar ve plazmada tespit edilebilir (35).

Hücre içi PA içeriği, anabolizma, katabolizma, alım ve taşınımın düzenlenmesiyle korunmaktadır. Bu metabolizmanın sınırlayıcı enzimlerin (ODC, SAMDC ve SSAT) posttranslasyonel düzenlemesi tarafından kontrol edilir (36). PA biyosentezini düzenleyen ODC ve S-adenozilmetiyonin dekarboksilaz (SAMDC) hız kısıtlayıcı enzimlerdir.

ODC iki alt üniteden meydana gelmekte ve aktivitesini yerine getirebilmek için piridoksal 5'fosfata ihtiyaç duymaktadır. ODC, antizim mekanizması ile düzenlenmektedir. Ayrıca ornitinin normal doku konsantrasyonu ODC'nin Km'sinden oldukça düşüktür, bu durum enzimin etkin şekilde çalıştığını göstermektedir. Böylece meydana gelebilecek herhangi bir konsantrasyon değişikliği, ornitinin hücre içi konsantrasyonu ve PA sentez akışını etkiler (37).

Agmatin'in metabolizmadaki rolü OAZ'nın indüksiyonu ve aynı zamanda ODC üzerinde direk inhibe edici bir etkisinin olmasıdır. ODC'nin, nitrik oksit (NO) üzerinde hem in vivo hem de in vitro rolü vardır (38).

Dekarboksile s-adenozilmetiyonin, spermin sentaz enzimi aracılığıyla spermin oluşturarak PA sentezine katılır (39). SAMDC, hem transkripsiyon hem de translasyon üzerine hareket eden mRNA'sını ve protein yarı ömrünü etkilemektedir (36).

SSAT tarafından PA'lerin asetillenmesi, PA'lerin yıkılmasına ve birbirleriyle dönüşümlerinde hız sınırlayıcı bir basamaktır. Hücre içi PA içeriğinin artışı SSAT'ın uyarılmasına neden olur. Bunun sonucunda PA'lerin asetillenmiş formda hücre dışına atılımı ve Diamin Oksidaz (DAO) tarafından putresine yıkılımı gerçekleşir. SSAT'ın aktivasyonu, aşırı PA birikimi sonucu oluşan zararlı etkileri önlemeye yardımcı olabilir (38,39).

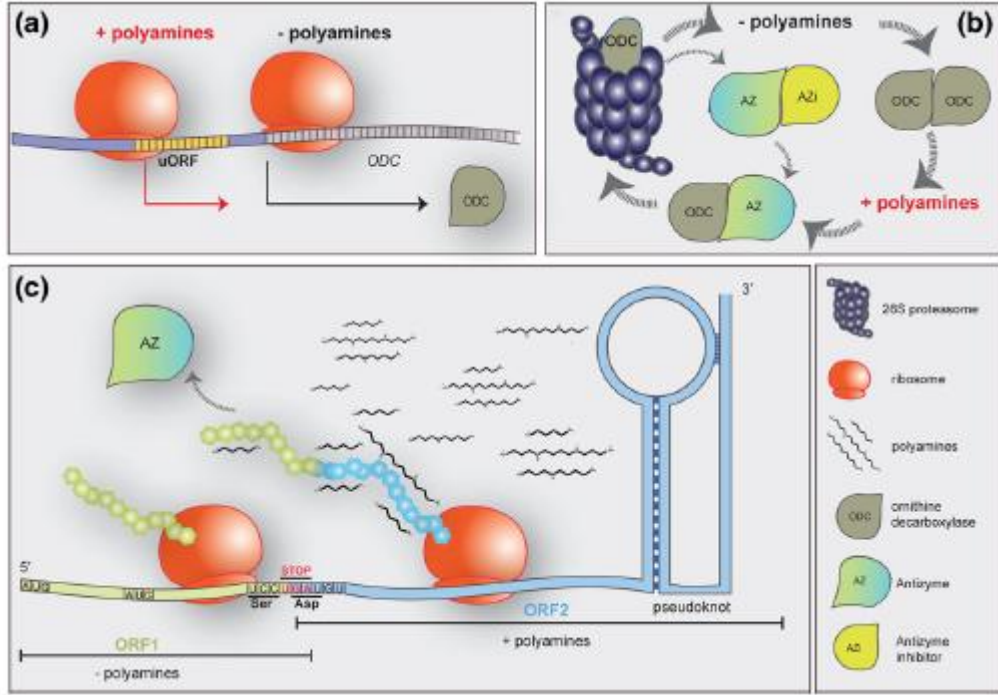
## **2.8. Ornitin Dekarboksilaz Antizimi**

Hücrelerde ODC enziminin aktivitesinin arttığı durumlarda, intraselüler PA havuzunda artış tespit edilmiştir. Küçük düzenleyici bir protein olan AZ (antizim), PA'lerin intraselüler konsantrasyonlarının artışı ile uyarılır (40).

AZ seviyeleri translasyonel mekanizmalar ile kontrol edilmektedir. AZ, ODC'ye bağlanarak AZ-ODC kompleksini oluşturmaktadır. Bu kompleks ise 26-S proteozomlar ile ubiquitinden bağımsız olarak parçalanarak ODC enzim aktivitesine bağlı hücre içi PA miktarının kontrol altında olmasını sağlamaktadır (Şekil 4b). PA seviyesi yükseldiğinde, ODC translasyon mekanizması tarafından baskılanmaktadır. Burada ODC mRNA'sının 5' UTR (çevrilmemiş kodon)'sinde bir uORF (open reading frames) aracılık etmektedir (Şekil 4a) (41).

AZ aynı zamanda PA'lerin taşınma sistemini de baskılamaktadır. Ayrıca, AZ varlığı, antizim inhibitörü (AZi) tarafından düzenlenir (Şekil 4b). AZi, ODC'ye benzer, ancak katalitik olarak aktif değildir. AZ, AZi'ye göre daha fazla afiniteye sahiptir. Böylece, ODC aktivitesi, ubiquitinasyon ile kontrol edilebilmektedir (42). AZ üç izoformda bulunur. AZ 1 hem ODC aktivitesini inhibe eder hem de enzim proteininin parçalanmasını sağlar, AZ 2 sadece ODC aktivitesini inhibe ederken, AZ 3 'de spermatogenezde rol almaktadır (43).

Ribozomal çerçeve kaydırmasının gerçekleşmesi ve işlevsel bir ürün oluşturmak için ORF 1 ve ORF 2'nin kodlanması gereklidir. Bu çerçeve kaydırma son kodonuna ulaşan ribozomlardan oluşmaktadır. İlk ORF (bir durdurma kodonu), bir nükleotid ve +1 çerçevesinde ikinci ORF'yi okumaya devam etmektedir. Bu yolla UGA durdurma kodonu aşırı okunmaktadır (Şekil 4c). +1 ribozomal çerçeve çizgisinde stop kodonu, ökaryotlarda birçok durumda oldukça iyi korunmuştur. PA'lerin yokluğunda ortaya çıkan AZ polipeptidinin kendi sentezini engellediği ve PA'ler mevcut olduğunda, PA'lerin yeni ortaya çıkan peptidle etkileşim kurduğu ve AZ sentez inhibisyonunu önlediği görülmüştür (Şekil 4c) (44).



Şekil 4. ODC Antizimi (a,b,c) (Miller-Fleming L , Olin-Sandoval V, Campbell K, Ralser M Remaining, J Mol Biol, 2015)

Çerçeve kaymasının mekanik olarak nasıl oluştuğu, nasıl indüklendiği ve AZ'yi kontrol edebilmek için neden bu kadar pahalı bir yolun tercih edildiği hala gizemini korumaktadır.

PA'ların seviyeleri ve AZ homeostatik feedback döngüsü tarafından ribozom çerçeve kaydırmasının etkinliği ile kontrol edilmektedir. PA seviyeleri yükseldiğinde, ribozomal çerçeve kaydırmanın etkinliği arttıkça AZ seviyeleri artmaktadır. Artan ODC bozulma hızı PA'ların biyosentezinde azalmayı getirmektedir. Memelilerde, bu feedback döngüsü hücre dışı ortamdan daha düşük bir PA alımını da beraberinde getirmektedir (44,45).

## 2.9. Poliaminlerin Katabolizması

Hücre içi PA miktarının kontrol altında tutulması için PA katabolik enzimleri görev almaktadır.

PA'lerin asetillenmesi ile hücre dışına atılması veya birbirine dönüştürülmesi ile hücre içi PA miktarının sabit tutulmaya çalışıldığı tespit edilmiştir (46). PA'ler hücrel aktivitesini veya konsantrasyonu korumak için oksitlenebilir veya asetillenebilirler (47).

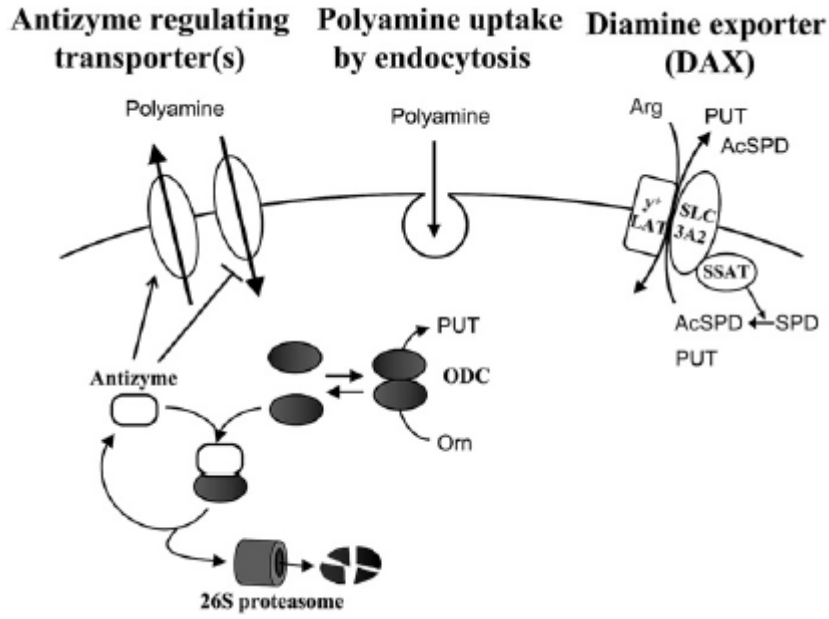
SSAT hücre içi PA katabolizmasının en önemli enzimidir. Sperminin aminopropil grubunun SSAT ile asetilasyonu sonucu N-asetilspermin oluşmaktadır (Şekil 3). Oluşan N-asetilspermin, PAO ile spermidine ve bir aldehit olan 3-asetamidopropanale dönüşmektedir (48). Asetillenmiş PA'ler, serbest pozitif yüklerini azaltıklarından histonlarla ve DNA-RNA afinitesini düşürerek hücre içi metabolik görevlerini yerine getirememektedirler. Bir diğer PA katabolik enzimi olan SMO, spermini spermidin'e dönüştüren ve spermini okside eden enzimidir (48,49).

PA konsantrasyonunun düzenlenmesine PAO ve kofaktör olarak FAD veya  $Cu^{2+}$  aracılık etmektedir. PAO ve AcPAO'nun substratları, asetillenmemiş veya asetillenmiş PA'ler, kısmen de  $O_2$  ve  $H_2O$  dir. Çoğu PAO'lar, reaksiyon sonucu bir amino aldehit ve  $H_2O_2$  açığa çıkarırlar. İstisna olarak DAO,  $H_2O_2$ 'ye ek olarak  $NH_3$  üretir. Elde edilen amino aldehitler,  $\beta$ -alanin ve gamaaminobütirik asit (GABA) gibi amino asitler için öncül olmaktadır (50).

Cerrada-Gimenez ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada PA katabolik yolağının aktivasyonu ile, artmış oksidatif stres, ayrıca hücrel kaynaklı yaşlanma ve hücre hasarının ilişkili olduğunu göstermişlerdir (51).

## **2.10. Poliaminlerin Taşınımı**

Memeli organizmada, PA'ler gastrointestinal sistemden alınır ve idrarla salınır. PA'lerin taşınması enerji gerektiren, sıcaklığa bağlı ve taşıyıcı aracılı bir mekanizma ile düzenlenmektedir. PA alınımı, insülin ya da büyüme faktörleri gibi etkin uyaranlarla veya PA'lerin hücre içi seviyeleri tarafından düzenlenmektedir (52).



Şekil 5. Memeli hücrelerde poliamin taşınımı (Igarashi K, Kashiwagi K, Plant Physiology and Biochemistry,2010, 48)

PA taşıyıcılarının bir AZ tarafından düzenlendiği varsayılmaktadır. 227 amino asit kalıntısından oluşan AZ, ODC'yi ve PA'lerin alımını inhibe etmede rol oynayan düzenleyici bir sistemdir (53). Ayrıca, AZ PA'lerin ve asetil PA'lerin atılımında görev almaktadır (Şekil 5). Böylece AZ, PA taşınımının düzenlenmesinde önemli rol oynadığı gibi ODC seviyesinin düzenlenmesinde de önemlidir (44).

Memeli hücrelerinde, PA alımına kısmen, glikopican-1 taşıyıcı molekülü ve fosforillenmiş Kaveolin-1 bağımlı endositik mekanizma aracılık etmektedir (Şekil 5) (54). Poulin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Floresan boya yardımıyla PA'lerin hücrede ilerlemesi izlenmiştir. PA'ler önce bir plazma zar taşıyıcısı tarafından hücreye taşındıktan sonra, mevcut PA sarmal veziküllere kenetlenerek veya doğrudan PA reseptörleri tarafından yakalanıp, endositoza gitmiştir. Böylece, memeli hücrelerinde PA taşıyıcılarının mevcut olduğu ispatlanmıştır (55).

Putresinin atılımı SLC3A2 ve  $\gamma^+$  LAT kompleksi ve bir arjinin / diamin değişirme mekanizması tarafından katalize edilmektedir (Şekil 5) (56). İlginç bir şekilde, SLC3A2, SSAT ile etkileşime girerek asetillenmiş PA'ler kompleks



tarafından hücre dışına atılmaktadır. Son zamanlarda, kolon epitel hücrelerinde bir diamin taşıyıcısı da belirlenmiştir (57).

### **2.11. Ornitin Dekarboksilaz ve protoonkogenler**

ODC, ökaryotlarda PA sentezinin ilk basamağıdır. PA'lerin hücre hareketliliğinde, hücre-hücre etkileşimlerinde, nükleik asit veya membranların stabilizasyonunda, iyon kanallarının düzenlenmesinde, kromatin yapısının düzenlenmesinde, protein kinazların hücre döngüsündeki aktivitesinde, transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerinde, translayon olayında ve transkripsiyon sürecince önemli rolleri vardır (58).

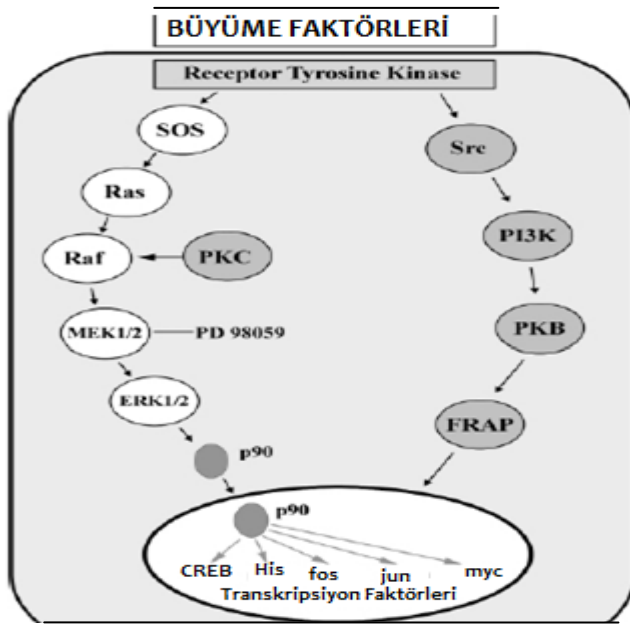
ODC aktivitesi ve PA düzeylerinin in vivo ve in vitro çalışmalarda farklı kanser hücre dizilerinde, G1 / S ve G2 fazı boyunca normal hücrelere kıyasla arttığını gösterilmiştir. Bu nedenle ODC, çeşitli kanser türlerinde anahtar rol oynamaktadır. Şu anda ODC, kanser koşullarının birçoğu için önemli bir hedef molekül olarak kabul edilebilir (59). Çeşitli kanserojenler, mitojen uyarılar, tümör promotörleri, aktive makrofajlar ve bağırsak mukoza hücreleri ODC'de geçici artışlara neden olabilmektedir (60).

c-fos, c-jun ve c-myc protoonkogen ailesinin önemli üyeleridir ve tümör oluşumunda, karsinogenezde, hücre çoğalması ve farklılaşmasında, apoptozda önemli bir rol oynamaktadır. ODC'nin seviyesinin artması c-myc, c-fos, c-jun, src, neu ve Ha-ras gibi onkogenlerin, uyarılmasına sebep olur. Benzer şekilde, c-myc, c-fos ve ODC geni transkripsiyonun azalması ile PA'lerin biyosentetik enzimlerinin inhibisyonu, kuvvetli bir şekilde ilişkilidir (61).

### **2.12. Poliaminlerin sinyal iletimdeki rolü**

Mitojenler veya büyüme faktörleri, membran üzerinde bulunan spesifik reseptörlere bağlıdır. Mitojen-reseptör kompleksleri daha sonra birkaç kaskadı stimüle etmektedirler. Bunlardan biriside Ras'ı aktive eden tirozin kinazlardır. Bu protoonkogenler Raf yoluyla MAPK, ERK ve MEK'leri aktive etmektedir (Şekil 6). ERK'ler sinyal iletiminde önemli roller oynarlar ve MEK tarafından fosforile edilirler (62).

Sinyaller çekirdeğe iletilerek, burada p90 ailesinden olan histon H3 (His) fosforile edilmekte ve böylece kromatin yapısını değiştirmektedir. Nükleer onkogenler, Transkripsiyon faktörleri olarak işlev görebilmekte, ayrıca fosforilasyonla aktive edilebilmektedir. Transkripsiyon faktörlerinden olan CREB, ODC bağlama bölgesi üzerinde bulunan bir cAMP genidir. Diğer bir protoonkogen Src ise mitojenler tarafından indüklenerek malignitede etkin yolların aktivasyonunu sağlamaktadır (62,63).

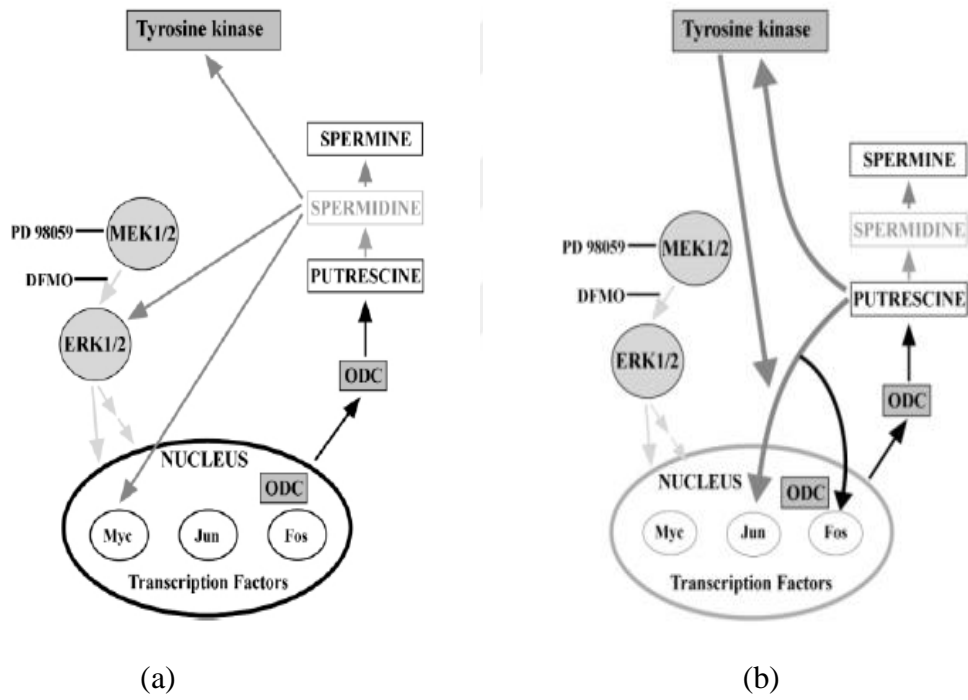


Şekil 6. Hücre membranından çekirdeğe sinyal iletimi (Bachrach U, Wang YC, Tabib A, News Physiol. Sci., 2001)

Ras / MAPK kaskadı, hücre çoğalması ile ilgili en iyi tanımlanmış yoldur. Bu yolda, p42 ve p44 proteinleri tarafından oynanan merkezi bir rol vardır. Çeşitli çalışmalar PA'lerin MAPK'ların ekspresyon ve aktivasyonuna katıldığını göstermiştir. Dolayısıyla ODC' yi aşırı üreten hücrelerde MAPK ve tirozin kinaz yolunun etkin olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda spermidinin tirozin kinazlar ve ERK1 / 2'nin p42 ve p44 fosforilasyonunu uyardığı belirtilmiştir (Şekil 7a). MAPK yolu büyüme sürecinde çok önemlidir. PD-98059 [2- (2-amino-3a-metoksifenil)-oksanaftalen-4-on] MAPK2'yi aktive eden enzimleri, yani MEK1/2'yi

inhibe eder. DFMO (Difluorometilornitin) inhibitörü de ERK fosforilasyonunu, c-fos ve c-myc ekspresyonunu inhibe etmektedir. Spermidin ayrıca protoonkogen c-myc'yi aktive eder ve bir transkripsiyon faktörü olarak düşünülebilir (64).

ODC'ın katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan diamin putresinin, tirozin kinazlar tarafından oluşturulan tirozin fosforilasyonunu ve protoonkogenlerden c-fos ve c-jun ifadesini uyardığı ifade edilmiştir. Öte yandan, c-fos ve c-jun'un ekspresyonunun uyarıldığı hücrelerde putresinin aktif olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 7b). Bu veriler PA'lerin her birinin protoonkogenlerin kontrolünde bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (64).

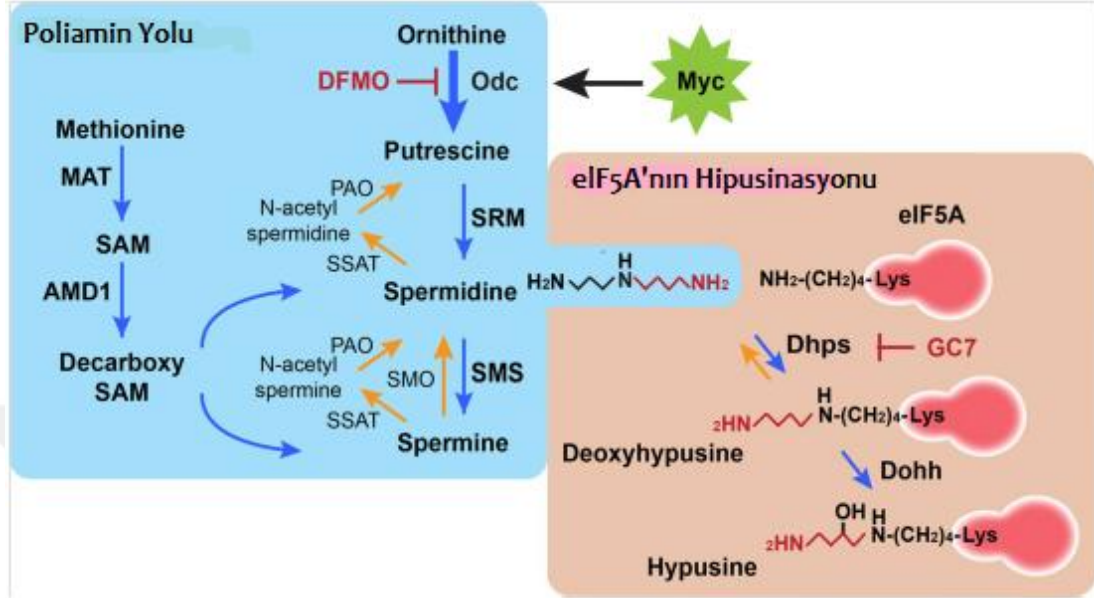


Şekil 7. Spermidin (a) ve Putresinin (b) sinyal iletimindeki rolü (Bachrach U, Wang YC, Tabib A, News Physiol. Sci.,2001)

### 2.13. Hipusin ve eIF-5A

PA'lerin hücre büyümesi ve farklılaşması için gerekli olduğu ifade edilmiştir. Büyümeyle ilişkili genlerden olan c-fos ve c-myc protoonkogenleri hücrel çoğalma sürecinde aktive edilerek, mitojenik uyarıyla PA sentezinde bir artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Böylece PA'lerin c-myc ve c-fos transkripsiyonunu artırdığı

belirtilmiştir. PA'ler bu nedenle hem büyüme süreci için gereklidir, hem de karsinogenezle ilişkilidir (7).



Şekil 8. eIF-5A'nın hipusinyasyonu (Nakanishi S, Cleveland JL, Amino Acids, 2016,48)

Hipusin ilk olarak 1971 yılında japon araştırmacılar tarafından sığır beyininden izole edilmiştir. Hipusin [ $N^{\epsilon}$ -(4-amino-2-hidroksibütil) lizin] tüm ökaryotlarda ve bazı tek hücreli prokaryotlarda (archaea) bulunan nadir bir amino asittir. Hipusin, eIF-5A'nın regüle edilmesinde önemli rol oynar ve hipusin olmadan aktive gösteremez. Bunun yanında hipusin hücre proliferasyonunda, hücrenin gelişmesi ve farklılaşmasında önemli rollere sahiptir (65). Eşsiz bir amino asit olan hipusin, post-translasyonel modifikasyon ile eIF-5A1 ve eIF-5A2 proteinlerinin lizin-50 kalıntısına kovalent olarak bağlanır. Bu benzersiz modifikasyonda rol alan esansiyel enzimler, deoksihipusin sentaz (DHPS) ve deoksihipusin hidrosilaz (DOHH) dir. Spermidin bir substrat olarak eIF-5A üretmek için kullanılır (Şekil 8).

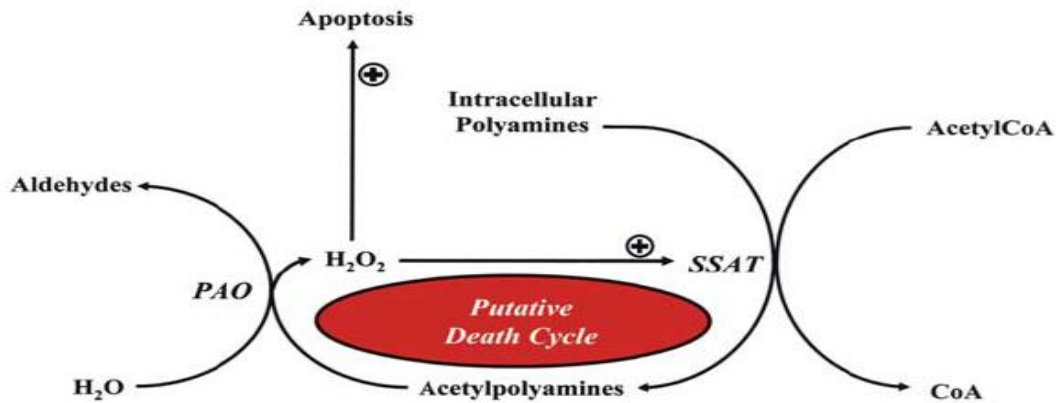
Özellikle, çoğu tümör türünde PA düzeylerinin yüksek seviyede olmasıyla birlikte kanser hastalarının kanında ve idrarında artan seviyelerde PA'ler olduğu tespit edilmiştir. Kanser hastalarının idrarı ve kanında eIF-5A1 ve eIF-5A2 proteinlerinin %84 oranında homolojiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu izoformlardan, eIF-5A2'nin beyin ve testis gibi belirli dokularda eksprese edildiği, eIF-5A1'in ise hemen hemen çoğu dokuda eksprese edildiği ifade edilmiştir. Hipusilleşmiş özelliklerin anlaşılması ve eIF-5A'ların tümörigenezdeki rolü terapötik hedefler niteliğindedir (66).

## 2.14. Poliaminler ve Apoptoz

PA'lerin hücre büyümesi ve çoğalmasında önemli rolü olduğu bilinmektedir. PA'lerin, mitokondride  $Ca^{2+}$  birikimini arttırdığı, mitokondriyal zar geçişini modüle ettiği ve apoptozu tetiklediği belirtilmiştir (67).

Hücrelerin normal hayat regulasyonunda, mitokondrilerin fonksiyonları çok önemli bir yer tutmaktadır. Spermin ve spermidin mitokondriye ulaşmalarının ardından iki spesifik bağlanma yoluyla mitokondriyal zar ile etkileşime girmektedir. PA'ler, apoptozun başlangıcı olan sitokrom c salımını doğrudan teşvik edebilmektedirler (68).

Spermin mitokondriyal membran potansiyelini düşürerek sitokromun hücre dışına doz bağımlı bir şekilde salınmasına izin vermektedir (69). Spermidin ve putresinin her ikisinde ayrılmayı ve sitokrom c nin serbest bırakılmasını indüklediği görülmektedir (Şekil 9).



Şekil 9. Poliaminlerin Apoptoz yolağı (Wallace MH, Fraser AV , Biochem., 2003, J.376)

PA'lerin kendilerinin değil de, oksidasyon ürünlerinin ayrışma ve sitokrom c salımından sorumlu olduğunu ileri sürülmüştür. Ayrıca, PA'ler nekroz olayını da düzenleyebilmektedir. Yapılan çalışmalarda spermidin'in, nekrotik hücre ölümünü azaltarak maya hücrelerinin ömrünü arttırdığı ve PA'leri sentezleyemeyen hücrelerin daha yüksek seviyelerde nekroz sergilediği gözlenmiştir. Yüksek seviyedeki PA'lerin birçok hücre tipinde apoptozu tetiklediği ancak azalmış seviyelerinin de apoptozu tetikleyebildiği gösterilmiştir (70).

DFMO ile tedavi edilen sıçan/fare T hücrelerinin duyarlılığının indüklenen apoptozla azaldığı, ekzojen spermin tarafından TNF (Tumor necrosis factor) ile hücre ölümünün inhibe edildiği gösterilmiştir. DFMO, putresin ve spermidin içerir, ancak spermin içeriğini artırabilir; spermin, apoptozun önemli düzenleyicisidir (71).

PA'ler AZ aracılığıyla ODC'yi baskımlarken; DFMO da ODC'yi inhibe eder, Bu nedenle ODC'nin baskılanmasının apoptozu engellediği görülmektedir belirtilmiştir (35).

Gözlenen koruyucu etkilerine rağmen, ekzojen PA'lerin yüksek konsantrasyonları toksik olabilir. Yapılan çalışmalarda Sperminin 2 mM miktarının bebek hamster böbrek hücrelerine toksik etki gösterdiği gözlenmiştir. Bir aminoksidaz inhibitörü olan Aminoguanidinin, gözlenen toksisitenin bir kısmını engellediği görülmüştür (35,71).

## **2.15. Poliaminler ve Hastalıklarla İlişkileri**

### **2.15.1. Poliaminler ve Kanser**

Hücrelerin büyüme ve gelişme sürecinde ayrıca tümör hücrelerinin yaşam döngüsünde metabolik PA ihtiyacının oldukça fazla olduğu bilinmektedir. Bu nedenle neonatal süreçte ve yaraların kapanması durumunda diyet yoluyla PA alımı önerilmektedir. Buna rağmen tümör oluşumunu hızlandırması nedeniyle, kanser hastalarının PA içeriği yüksek gıdalardan uzak durması önerilmektedir (72).

Tümör hücrelerinin bağırsak mikrobiyotasında üretilen ekstraselüler PA'leri alma yeteneğinin var olduğu belirtilmiştir. Kanser hastalarının hem kan hem de idrarında PA konsantrasyonu yüksek bulunmuştur (73). Yükselen PA seviyeleri tümörün ortadan kaldırılmasından sonra azalmakta ve nüks sonrası artmaktadır. Bu sonuç PA'lerin kanser dokuları tarafından da sentezlendiğini göstermektedir (74).

Kronik hipoksiye maruz kalan tümör hücrelerinde PA sentezi azalmaktadır. Bu nedenle dışarıdan PA alımında artış görülmektedir. Ekstraselüler spermin artışı hipoksi bağımlı adezyon molekülü olan CD44 ekspresyonunda azalmaya neden olmaktadır. Bu azalma tümör hücrelerinde migrasyonu beraberinde getirmektedir. Migrasyon sonucu dolaşıma katılan hücrelerde PA sentezinde bir artış başlar ve ODC'nin aşırı ekspresyonu gerçekleşir (75). Bu durum hücrelerdeki invazyon yeteneğinde artışa neden olmakta ve bununla birlikte birçok proteinaz ve enzimin aktivitesinde de bir artış olmakta, hücrede vasküler endotelial büyüme faktörü sentezi artmakta ve sonuçta anjiyogenez uyarılmaktadır (76).

PA biyosentezinde görev alan enzimlerin inhibisyonu, hücre proliferasyonunu veya ölümünü yavaşlatmaktadır (77). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, ODC inhibitörü olan DMFO kullanılan farelerde tümör büyümesinin baskılandığı tespit edilmiştir (78).

Kanser hastalarında kan PA seviyeleri ve üriner PA miktarı arasında yakın bir ilişki olduğu görülmüştür (79). Spermin ve spermidin, hücrelerde aşırı miktarda biriktiğinde, asetillenir ve daha sonra idrarla atılmaktadır. Bu nedenle, idrardaki Diasetilspermin (DiAcSpm) ve Diasetilspermidin (DiAcSpd) biyobelirteçleri ELISA yöntemi ile değerlendirilerek, kanser için güvenilir biyokimyasal belirteçler olup olmadığı test edilmiştir. Üriner DiAcSpm'de belirgin bir artış, kolorektal, prostat, testis, böbrek, pankreatik, hepatoselüler karsinom, göğüs, akciğer ve beyin kanserleri dahil olmak üzere incelenen tüm kanser türleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (79,80).

Kawakita ve Hiramatsu'nun yaptığı bir çalışmada idrar DiAcSpm düzeylerinin duyarlılığı, yaygın olarak kullanılan biyobelirteçler olan Carcinoembryonic antigen (CEA), Cancer Antigen (CA19-9) ve (CA15-3) düzeyleri ile kıyaslanarak incelenmiştir. İdrar DiAcSpm'nin kolon kanseri hastaları için duyarlılığı % 75.8, serum CEA (% 39.5) ve CA19-9 (% 14.1) duyarlılığından belirgin olarak yüksektir. Ayrıca DiAcSpm'nin meme kanseri için duyarlılığı % 60.2 olarak bulunmuş iken, CEA ve CA15-3'ün sırasıyla% 37.3 ve% 37.3 olarak izlenmiştir. Bu gözlemler üriner DiAcSpm'nin çeşitli insan kanserlerinde CEA, CA19-9 ve CA15-3'den daha hassas bir markır olduğunu ve kolorektal ve meme kanserlerinin erken safhalarında etkili bir şekilde tespit edilebileceğini

göstermektedir. DiAcSpm tekrarlama durumunda etkili olan ve hastaların klinik değişikliklerine duyarlı bir takip markırı olarak da yararlı olabilir (80).

Kanser hastalarının idrarında artmış DiAcSpm'nin moleküler temeli net değildir. Bu artış, idrarda veya plazmada asetilatlanmış PA'lerin artması, artmış selüler PA'lerin, artmış SSAT aktivitesinin, AcPAO tarafından oksidatif bozunmada azalmanın veya nekrotik tümör hücrelerinin lizisinden kaynaklanabilir. Göğüs tümörlerinde, SSAT artarken AcPAO'nun azaldığı bulunmuştur. Bu nedenle, her iki enzimin seviyeleri de idrarda atılan asetillenmiş PA'lerin artışına katkıda bulunabilir (81).

### **2.15.2. Poliaminler ve diğer hastalıklarla ilişkisi**

Glikasyon, diyabetik komplikasyonlarda sitokinlerin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle antiglikasyon ajanlar üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Son zamanlarda yapılan bir in vitro çalışmada, spermin ve spermidin fizyolojik olarak önemli bir antiglikasyon etki sergilediği görülmektedir. Bu umut verici çalışma, PA'lerin yeni bir rolü olan antiglikasyon ajanı olma yönünde önemli bir adım olmaktadır (82).

Bir genetik hastalık olan Snyder-Robinson sendromu (SRS), nadir görülen bir X bağlantılı mental retardasyon bozukluğudur. Bu hastalık zihinsel engellilik, iskelet anormallileri ve gelişme ile ilgili diğer problemlerle karakterize bir durumdur (83). Sadece erkeklerde görülen bu hastalık, PA biyosentez yolunda görülen kusur sonucu oluşmaktadır. SRS'de spermin sentazı kodlayan gendeki mutasyonlar neden olmaktadır. Bu enzimdeki mutasyonlar, lenfositler ve fibroblastlarda spermidin/spermin oranını düşürmektedir. SRS'de hastaların beyindeki sperminin azaltılması, NMDA ve AMPA reseptörleri dahil nörotransmitter reseptörlerinin ve iyon kanallarının aktivitesini etkileyerek nörolojik bir bozukluğa neden olmaktadır (84).

PA'lerle ilgili olan diğer bir klinik patoloji SSAT'm aşırı ekspresyonu sonucu oluşan, nadir bir X bağlantılı hastalık olan Keratosis follicularis spinulosa decalvans (KFSD) hastalığıdır. Bu hastalığı olan birey, SSAT'yi kodlayan bölgeyi içeren bir gen duplikasyonuna sahiptir (85). İntihara yatkın psikiyatri hastalarında düşük SSAT ekspresyonu gözlemlenmiştir (86).



PA katabolizmasının aktive olması böbrek bozukluğuna, felç ve inmeye, oksidatif stres ve doku hasarına neden olmaktadır. Ribozomlardan salınan spermin ve spermidin metabolizması sırasında, akrolein ( $CH_2 = CH-CHO$ ) ve  $H_2O_2$  gibi iki toksik bileşik üretilmektedir. Akroleinin  $H_2O_2$ 'den daha toksik olduğu belirlenmiştir (87). Plazmada proteine konjuge akrolein (PC-Acro) ve PAO'ların düzeyindeki artış ile inme şiddeti pozitif korelasyon sergilemektedir. Bu nedenle PA metabolitleri, kanserin, felç ve böbrek yetmezliğinin erken teşhisinde oldukça hassas, düşük maliyetli teşhisini sağlamaktadır. Şu anda inmenin erken teşhisi için güvenilir bir biyokimyasal belirteç bulunmamaktadır (86,87). Saiki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, farelerde fotokimyasal olarak indüklenen tromboz modeli kullanılarak beyin enfarktüsü ile PC-Acro arasındaki yakın ilişki teyit edilmiştir (88).

### **2.15.3. Poliaminler ve Otofaji**

Otofaji, hücre içi makromoleküllerin ve organellerin parçalanmasından sorumlu mekanizma olarak bilinmektedir. Otofaji stres, yaşlanma ya da hastalıklar sırasında ya da gelişimsel hasar görmüş moleküller gibi vücutta istenmeyen molekülleri yok edecek şekilde önemli bir işlevsel mekanizmadır. Otofaji birçok hastalığa neden olmaktadır (89).

Otofajinin indüklenmesinin muhtemelen spermidinin ömrü ve yaşam süresi üzerindeki etkilerini tetiklemedeki ana mekanizma olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, spermidinin maya, solucanlar, sinekler ve insan hücrelerinde otofajiyi tetiklediğini doğrulanmıştır (90).

Morselli ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada spermidinin hangi mekanizmalarla otofajiyi indüklediği araştırılmıştır. Spermidin insan kolon kanseri hücrelerinde otofajiyi uyarmaktadır. Spermidinin, mayada yaşla birlikte otofaji ve azalmış ROS üretimini indüklediği ifade edilmiştir. Spermidinin otofajiyi AMP'ye bağımlı kinaz / mTOR'dan bağımsız olan yollarla indüklediği belirtilmiştir. Asetilasyon ve otofajinin indüksiyonu arasındaki ilişki incelendiğinde, spermidinin 170 insan proteininde asetilasyona neden olduğu ve bunun sitoplazmada regüle edildiğini gösterilmiştir. Diğer PA'lerin otofajiye neden olup olamayacağı bilinmemekle birlikte; otofajinin, yaşlanma ve hastalıklar arasındaki ilişkiyi anlamada yardımcı olacağı düşünölmektedir (91).

## **2.16. Poliamin Biyosentezi Enzimleri**

### **2.16.1. Agmatinaz**

PA sentezindeki bir diğerk yolak ise L-arjininden Arjinin dekarboksilaz ile agmatin oluşması ve oluşan agmatinin agmatinaz ile PA'lere ve üreye; diammin oksidazla ise GABA'ya dönüşmesidir.

Karaciğerde ve böbreklerde agmatinaz düzeyinin yüksek olduğu ifade edilmiştir. Yapılan bir çalışmada ise agmatinazın, hepatit B ile enfekte olan karaciğerde belirgin şekilde yükseldiği gözlenmiştir (92).

Agmatinazın, inflamasyon süresince makrofaj aktivasyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı ve makrofajlardan da sentezlendiği belirtilmiştir. Beyin dokusundaki biyolojik inaktivasyonu; enerji bağımlı mekanizmalarla, tekrar sinaptozomlara içine alınarak, akson terminalerinden salınan ve mitokondriyal matriks içinde bulunan agmatinaz ile enzimatik degradasyonu sonucu oluşmaktadır. Bu enzimatik degradasyon ile PA sentezinin diammin prekürsörleri olan putresin ve üre'ye metabolize olmaktadır (93).

Agmatin çok sayıda reseptörle etkileşmektedir. İmidazolin reseptörlerinin alt tiplerine bağlandığı ve bu reseptörlerin endojen ligandı olduğu belirtilmiştir. Hafıza ile ilişkili beyin yapılarına bakıldığında ise L-arjinin metabolizmasında yaşla ilişkili farklılıklar olduğu gösterilmiştir ve yapılan çalışmalarda imidazolin-2 (I2) alt tipi reseptör ligandlarının iskemik-hipoksik beyin hasarına karşı in vitro ve in vivo güçlü nöron koruyucu etki gösterdiği, öğrenme ve bellek fonksiyonlarını düzeltici etkilerinin olduğu ifade edilmiştir (94).

### **2.16.2.Arjinaz**

1904 yılında Kossel ve Dakin tarafından dikkat çekilen arjinaz, mangan içeren bir enzim olup, arjinin+ H<sub>2</sub>O → ornitin + üre reaksiyonunu katalize etmektedir. Arjinaz üreohidrolaz enzim ailesinden olup üre döngüsünün beşinci ve son basamağını katalize etmektedir. Memelilerin çoğunda arjinaz I ve arjinaz II olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. Arjinaz I karaciğer hücrelerinde sitoplazmada lokalize olup, arjinaz II ise mitokondride lokalizedir.

Arjinaz düzeyinin hücredeki arjinin/ornitin konsantrasyonu ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (95).

Arjinaz enzimi bakımından en zengin organ karaciğer olmasına rağmen böbrek, beyin, tiroid bezi, tükürük bezi, eritrosit, trombosit, meme dokusu, iskelet kası, fibroblast, makrofaj, bağırsak, uterus, testis, bronş lavaj sıvısı gibi üre döngüsünün gerçekleşmediği ekstrahepatik dokularda da arjinaz saptanmıştır. Üre döngüsünün olmadığı dokularda, arjinazın görevi prolin, glutamat ve PA biyosentezi için gerekli olan ornitini sağlamaktır (96). Arjinazın katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan ornitin, ODC ile putresine dönüşmekte, putresin de spermin ve spermidini oluşturmaktadır.

Arjinazın hormonal durumlarda değişiklik gösterdiği görülmüştür. Kortizolün karaciğer amino asit alımını artırarak, amino asit aktive edici enzimlerin düzeylerinde artışa sebep olduğu görülmüştür (97).

Arjinaz enzimi güçlü bir immun inhibitördür ve kanser hücrelerinin sitoplazması içerisinde normal hücrelere göre çok daha büyük miktarda bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda arjinaz I'in artmasının tavşanlarda aterosklerotik plaklarda yangı ve makrofaj infiltrasyonunu önemli oranda azalttığı saptanmıştır. Arjinaz I'in antiinflamatuvar etkilerinin olduğu son yıllardaki çalışmalarla belirtilmiştir (98).

### **2.16.3. Ornitin**

İlk kez Hans Krebs ve Kurt Henseliet tarafından gözlemlenen ornitin, esansiyel olmayan fakat üre döngüsünde merkezi rol oynayan bir aminoasittir. Ornitin, 132.16 Da'lık bir molekül ağırlığına ve 140 °C erime noktasına sahiptir. Suda çözünür ve 25 °C'de pH'ı 4,22 ve pKa değeri 1,94'dür. Arjinin üzerinden arjinazın katalizlediği reaksiyon sonucu üretilmesiyle üre ve ornitin oluşmaktadır. Sitozolde sentezlenen ornitin zarın bağlı olduğu mitokondriye taşıyıcı proteinler aracılığıyla, ornitin taşıyıcı 1 (ORNT1) ile taşınmaktadır. Ornitini, ornitin transkarbomilaz (OTC), ornitin aminotransferaz (OAT) ve sitrullin, prolin ve PA sentezinde görevli ODC substrat olarak kullanılmaktadır (99).

#### **2.16.4. Ornitin Dekarboksilaz**

Hız sınırlayıcı bir enzim olan ODC'nin yarı ömrü yaklaşık 10 dakikadır. ODC'nin aktive gösterebilmesi için bir kofaktör olarak piridoksal fosfat ve tiyol gruplarını içermesi gerekmektedir. ODC'nin AZ ile düzenlenmesi mRNA translasyonunu kolaylaştırmaktadır. ODC, ornitinden PA sentezini başlatarak PA'lerin hücre proliferasyonu gibi ilgili biyolojik fonksiyonlarda, hücre-hücre etkileşiminde ve hücre döngüsüne katkıda bulunmasını sağlamaktadır (59).

Son yıllarda yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalara bakıldığında, ODC aktivitesinin ve PA düzeylerinin farklı kanser hücre dizilerinde G1 / S ve G2 fazı boyunca, normal hücrelere göre kıyaslandığında arttığı görülmektedir. Bu nedenle ODC, çeşitli kanser türlerinde anahtar rol oynamaktadır ve birçoğu için bir teröpatik hedef olarak kabul edilmektedir (100).

#### **2.16.5. Arjinin Dekarboksilaz**

Arjininden agmatine olan dönüşümü ADC katalizlemektedir. ADC, memelilerde hücre membranına bağlı olarak bulunmakla birlikte mitokondri membranında daha yoğundur. ADC beyinde ve böbrekte bulunmaktadır. Beyinde en fazla striatum ve beyin sapında bulunurken, en az ise kortekste bulunmaktadır.

Memelilerdeki ADC aktivitesi  $Mg^{2+}$  ile artarken,  $Ca^{2+}$  ile inhibe edilmektedir. Kan damarlarında, agmatinin endotel ve düz kas hücrelerinde depolandığı, ve yalnızca endotelde eksprese edildiği bilinmektedir. Sinaptozomlarda, ADC aktivitesine rastlanması, agmatinin büyük olasılıkla nöronlarda eksprese edildiğini göstermektedir. Agmatin sentezlendikten sonra nöronal ve glial havuzlar arasında transfer edilmektedir. Glia hücrelerinde de ADC aktivitesine rastlanmaktadır. Diğer nörotransmitterde olduğu gibi sinaptozomlardan depolarizasyonla,  $Ca^{2+}$  bağımlı olarak salınmaktadır (101).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Araştırmanın Tipi**

Araştırma, deney ve kontrol gruplarından oluşan prospektif analitik araştırma özelliğindedir.

#### **3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri**

Araştırma, Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Servisinde ve Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında yapılmıştır. Hasta grubunu KY tanısı almış 30 yatan hasta birey oluşturulmuş, kontrol grubunu ise KY hastalığı bulunmayan 30 birey oluşturmaktadır.

#### **3.3. Araştırmanın Evreni**

Araştırmanın evrenini, Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Anabilim Dalı servisinde KY ön tanısı alan 30 birey ile oluşturmuştur.

#### **3.4. Araştırmanın Örnekleme**

Bu çalışmada  $\alpha=0,05$   $\beta=0,20$   $(1-\beta) = 0,80$  olarak alındığında her bir gruba 30 birey alınmasına karar verildi. Testin gücü  $p=0,80941$  bulundu.

#### **3.5. Bağımlı ve Bağımsız Değişkenler**

##### **Bağımsız Değişkenler:**

Hasta ve kontroller yaş ve cinsiyet bakımından herhangi bir ayrıma tabi tutulmaksızın, rastgele belirlenmiştir. İki grup arasında yaş ve cinsiyet yönünden fark olmamasına dikkat edilmiştir.

##### **Bağımlı Değişken:**

EF bağımlı değişken olarak alınmıştır. Araştırmaya kabul edilen bireylerden, hasta grubunun EF değeri 40'ın altında iken, kontrol grubunun EF değeri 40'ın üzerindedir.

### **3.6. Veri Toplama Araçları**

Verilerin toplanmasında “Bilgilendirilmiş Olur Formu” (Ek 1) kullanılmıştır.

### **3.7. Verilerin Toplaması**

Veriler, Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında toplanıp, muhafaza edilmiştir.

### **3.8. Verilerin Değerlendirilmesi**

Hasta ve kontrol grubuna ait verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS (Ver: 22.0) bilgisayar programı kullanıldı. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği, Shapiro Wilk/Kolmogorov Smirnov testi ile belirlendi. Parametrik test varsayımları yerine getirildiğinde bağımsız gruplar arasında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi; parametrik test varsayımlar yerine getirilemediğinde, Mann Whitney U testi ve Ki-kare testi kullanılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemek için korelasyon analizi ve regresyon analizi uygulanmış ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

### **3.9. Araştırmanın Etik Yönü**

Araştırmanın her aşaması etik ilkelere uygun olarak yürütülmüştür. Uygulamaya geçmeden önce etik kuruldan (27.12.2016 tarihli, 2016-12/16 sayılı) (EK 2) ve çalışmanın yapılacağı kurumdan yazılı izin alınmıştır. Çalışmaya katılanlardan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

### **3.10. Kullanılan Gereçler**

- Derin dondurucu -20 °C (ARÇELİK)
- Vorteks (Nuvemix)
- Spektrofotometre (UV-VIS Double BEAM PC scanning LABOMED INC.)
- Otomatik Elisa (Chemwell GF-M3000 MICROPLATE READER )
- Santrifüj (Nüve NF 800 R)
- Ependorf tüp (2 ml)
- Falcon Tüp (15 ml ISOLAB)
- Kuvartz küvet

- Mikropipetler (Gilson)
- Çalkalamalı Su Banyosu (LABORMED L-080)
- İnkübatör (LAB. COMPANION OF-21E)

### **3.11. Yöntem**

#### **3.11.1.Hasta ve Kontrol Grubu**

27.02.2017 – 19.06.2017 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Servisinde yatan KY tanısı konmuş 30 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastalardan tanı konulduktan sonra kan alınmıştır. Kontrol grubu ise KY olmayan 30 gönüllü birey oluşturmuştur.

#### **3.11.2.Kan Örneklerinin Toplanması**

Kontrol olgularından ve KY tanısı konulan hastalardan, herhangi bir tedaviye başlanmadan önce, jelli biyokimya tüpüne (BD Vacutainer) 5 cc olacak şekilde kan örnekleri alındı. Kan örnekleri 4000 rpm’de 15 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar ependof tüplere konularak laboratuvar çalışma gününe kadar -20 °C’de muhafaza edildi.

#### **3.11.3. Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri**

- a-** Düşük ejeksiyon fraksiyonlu KY tanısı almış olmak ve EF<40 ‘ın altında olmak
- b-** KY tanısı dışında herhangi bir kronik sistemik hastalığı (diabetes mellius, kronik böbrek yetmezliği, malignensiler vb.) olmamak
- c-** 25-75 yaş grubunda olmak

#### **3.11.4. Araştırmaya Dahil Edilmeme Kriterleri**

- a-** KY tanısı kesinleşmemiş olmak ve EF>40 olmak
- b-** Değerlendirme için yeterli örneği kalmayan hastalar
- c-** Anti diabetikler, kemoterapi ilaçları, vitamin, mineral desteği kullanımı
- d-** Herhangi bir organ sisteminde, önceden tanısı konmuş bir maligniteye sahip olan hastalar

### **3.11.5. Arjinin Dekarboksilaz Tayini**

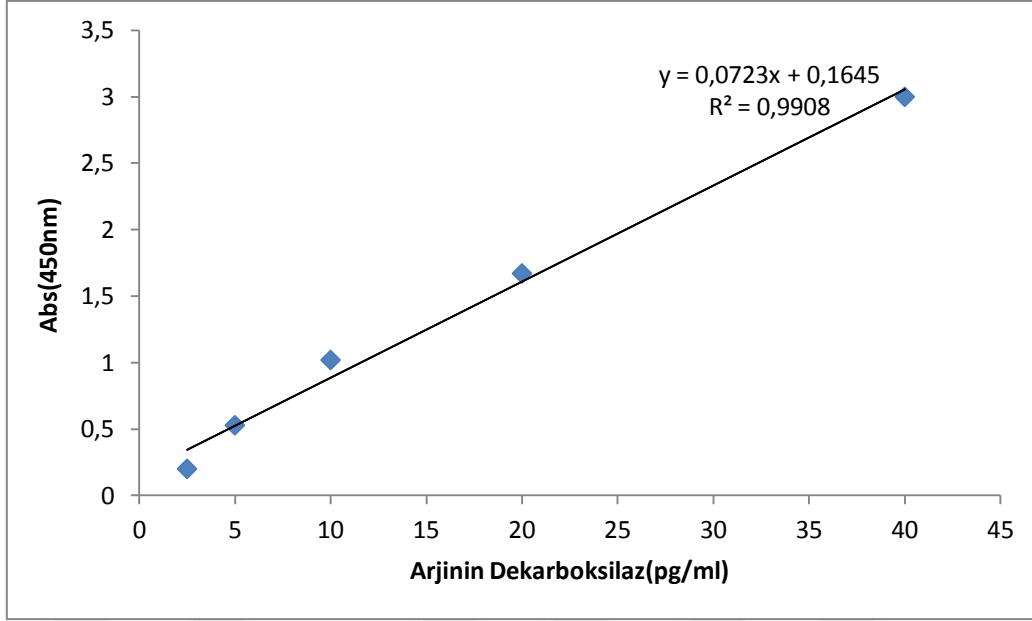
yLbiont marka manuel ELISA kiti kullanılarak ADC tayini yapıldı. Standart derişimlere karşı okunan absorbanlar ile standart eğri oluşturuldu. Eğri denkleminde her bir numunenin derişimi pg/ml olarak hesaplandı.

#### **Arjinin Dekarboksilaz çalışma prosedürü**

yLbiont marka manuel ELISA kiti, test kit mikropate formatında hazırlanmış bir kittir. Tayin yöntemi enzim bağı bağlayıcı protein (enzyme-linked binding protein assay) sandwich yöntemi olup, bu yöntemde spesifik olarak ADC tutan bağlayıcı protein ile kaplı mikrokuyucuklar kullanılır. -20 C'de ependoflar içerisinde saklanmış serumlar oda ısısında çözünmeye bırakılır. Blank water kuyucuğu hariç diğer mikrokuyucuklara olguların serumları konur ve ADC antibodies eklendikten sonra kuyucuklara eklenen horseradish peroxidase (HRP), kuyucuklara bağı ADC ile kompleks oluşturması için 60 dakika inkübe edilir. İnkübasyon sonrası yıkama yapılır. Yıkama basamağından sonra renk reaksiyonu meydana getirmek için kuyucuklara kromojenik substrat (one component substrate solution) eklenir 10 dakika inkübasyona bırakılır.

Daha sonra blank water kuyucuğu hariç diğer kuyucuklara stopping solusyon eklenerek enzimatik reaksiyonun durması sağlanır. Son aşamada çalışma sonucu materyalin spektrofotometrede 450 nm'deki optik dansitesi okutulur. ADC referans solusyonları (2.5, 5, 10, 20, 40 ng/ml) ve 0 ng/ml ADC içeren kuyucukların 450 nm deki optik dansitesinden faydalanarak referans grafik çizilir ve bu grafiğe göre ADC değerleri pg/ml olarak hesaplanır.





Grafik 1. Arjinin Dekarboksilaz standart eğri grafiği

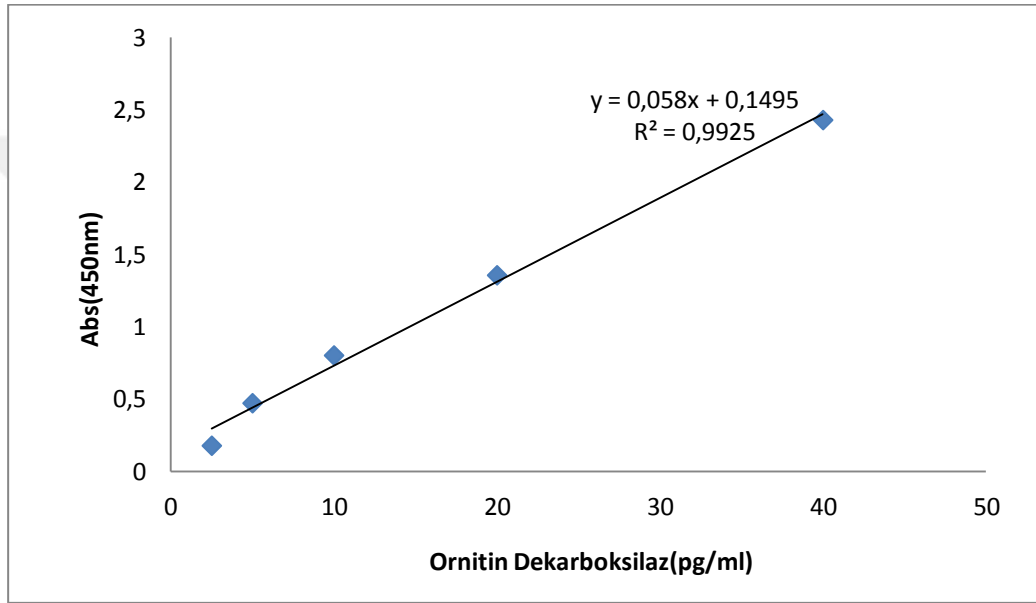
### 3.11.6. Ornitin Dekarboksilaz Tayini

yLbiont marka ELISA kiti kullanılarak ODC tayini yapıldı. Standart derişimlere karşı okunan absorbanslar ile standart eğri oluşturuldu. Eğri denkleminde her bir numunenin derişimi pg/ml olarak hesaplandı.

#### Ornitin Dekarboksilaz çalışma prosedürü

yLbiont marka manuel ELISA kiti, test kit mikropate formatında hazırlanmış bir kittir. Tayin yöntemi enzim bağılı bağlayıcı protein (enzyme-linked binding protein assay) sandwich yöntemi olup, bu yöntemde spesifik olarak ODC tutan bağlayıcı protein ile kaplı mikrokuyucuklar kullanılır. -20 C'de ependoflar içerisinde saklanmış serumlar oda ısısında çözünmeye bırakılır. Blank water kuyucuğu hariç diğer mikrokuyucuklara olguların serumları konur ve ODC antibodies eklendikten sonra kuyucuklara eklenen horseradish peroxidase (HRP), kuyucuklara bağılı ODC kompleks oluşturması için 60 dakika inkübe edilir. İnkübasyon sonrası yıkama yapılır. Yıkama basamağından sonra renk reaksiyonu meydana getirmek için kuyucuklara kromojenik substrat (one component substrate solution) eklenir 10 dakika inkübasyona bırakılır.

Daha sonra blank water kuyucuğu hariç diğer kuyucuklara stopping solusyon eklenecek enzimatik reaksiyonun durması sağlanır. Son aşamada çalışma sonucu materyalin spektrofotometrede 450 nm'deki optik dansitesi okutulur. ODC referans solusyonları (2.5, 5, 10, 20, 40 ng/ml) ve 0 ng/ml ODC içeren kuyucukların 450 nm'deki optik dansitesinden faydalanarak referans grafik çizilir ve bu grafiğe göre ODC değerleri pg/ml olarak hesaplanır.



Grafik 2. Ornithine Decarboxylase standart eğri grafiği

### 3.11. Agmatinaz Tayini

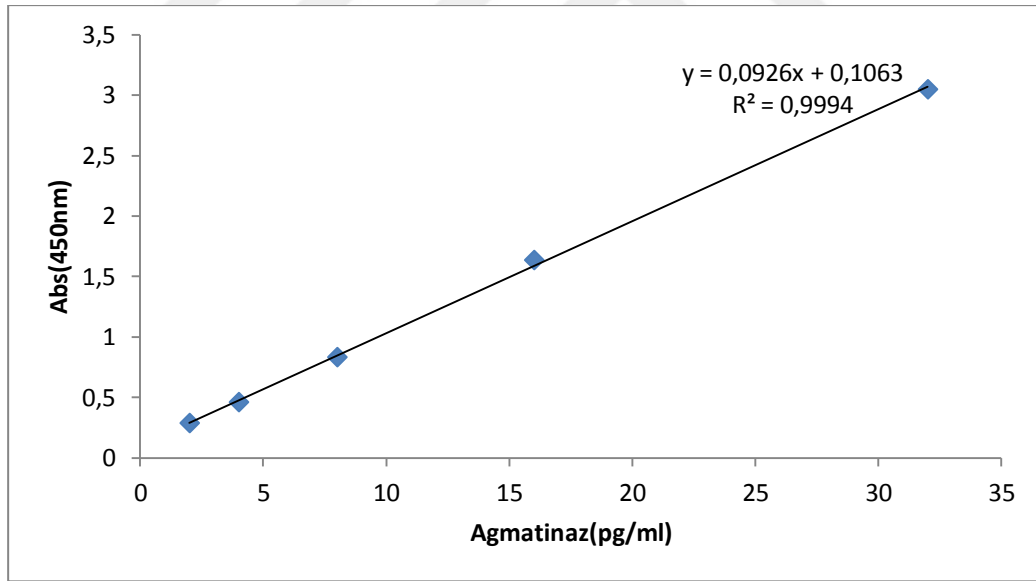
yLbiont marka ELISA kiti kullanılarak agmatinaz tayini yapıldı. Standart derişimlere karşı okunan absorbanslar ile standart eğri oluşturuldu. Eğri denkleminde her bir numunenin derişimi pg/ml olarak hesaplandı.

#### Agmatinaz çalışma prosedürü

yLbiont marka manuel ELISA kiti Test kit mikropate formatında hazırlanmış bir kittir. Tayin yöntemi enzim bağı bağlayıcı protein (enzyme-linked binding protein assay) sandwich yöntemi olup, bu yöntemde spesifik olarak agmatinaz tutan bağlayıcı protein ile kaplı mikrokuyucuklar kullanılır. -20 C'de endoflar içerisinde

saklanmış serumlar oda ısısında çözülmeye bırakılır. Blank water kuyucuğu hariç diğer mikrokuyucuklara olguların serumları konur ve agmatinaz antibodies eklendikten sonra kuyucuklara eklenen horseradish peroxidase (HRP), kuyucuklara bağlı agmatinaz ile kompleks oluşturması için 60 dakika inkübe edilir. İnkübasyon sonrası yıkama yapılır. Yıkama basamağından sonra renk reaksiyonu meydana getirmek için kuyucuklara kromojenik substrat (one component substrate solution) eklenir 10 dakika inkübasyona bırakılır.

Daha sonra blank water kuyucuğu hariç diğer kuyucuklara stopping solusyon eklenerek enzimatik reaksiyonun durması sağlanır. Son aşamada çalışma sonucu materyalin spektrofotometrede 450 nm'deki optik dansitesi okutulur. Agmatinaz referans solusyonları (2, 4, 8, 16, 32 ng/ml) ve 0 ng/ml agmatinaz içeren kuyucukların 450 nm deki optik dansitesinden faydalanarak referans grafik çizilir ve bu grafiğe göre agmatinaz değerleri pg/ml olarak hesaplanır.



Grafik 3. Agmatinaz standart eğri grafiği

### 3.11.8. Arjinaz Aktivite Tayini

Arjinaz aktivite ölçümü yapılırken, arjininin arjinazla hidrolizi sonucu oluşan üre miktarının spektrofotometrik bir yöntem olan Tiyosemikarbazid Diasetil Monoksim Üre (TMDU) yöntemiyle ölçülmesi esassından faydalanılır (102).

Arginaz enzimi, aktivasyon için  $Mn^{2+}$  katyonuna ihtiyaç duymaktadır.  $Mn^{2+}$  katyonuna bağlanmasıyla enzim ısıya daha dayanıklı hale gelmekte ve inhibitörlere karşı dayanıklılığı artmaktadır. Ancak enzimin asitle muamelesi sırasında  $Mn^{2+}$  iyonlarının enzim için inhibisyona ve denatürasyona karşı direnç göstermediği görülmüştür (102,103). Arjinaz aktivitesi ölçülürken izlenen basamaklar şu şekildedir;

1. 30 adet hasta ve kontrol grubu serumlarından her biri numaralandırılmış falcon tüplerine 0.1 ml alınarak üzerine 9.9 ml 2.5 mM  $MnCl_2$  eklendi ve  $55^{\circ}C$ 'ta 10 dk inkübasyona bırakıldı.
2. İki ayrı gruplama yapıldı. Birinci grupta hasta grubuna ait deney tüpleri ve sıfır zaman (zero time blank) tüpleri yer alırken, ikinci grupta kontrol grubuna ait deney tüpleri ve sıfır zaman tüpleri yer aldı. Her iki grupta bulunan tüplerin her birine 0.4 ml 50 mM arjinin çözeltisi ve 0,4 ml 100mM karbonat tamponu (pH 9.7) konuldu.
3. Kör (blank) tüpüne 1 ml distile su eklenirken, Standart tüpüne ise 0,1  $\mu$ mol/ml'lik üre standardından 1 ml konuldu.
4. Sıfır zaman tüplerine ise 3 ml asit karışımı (%56.7'lik  $H_3PO_4$  içinde 0.12 M  $FeCl_3$  ve %20'lik (V/V)  $H_2SO_4$  karışımı) konulduktan sonra 0.2 ml enzim kaynağından ilave edilip vortekslendi. Standart ve kör tüplerine de 3 ml asit karışımı konuldu.
5. Tüpler ve enzim kaynağı  $37^{\circ}C$ 'lik su banyosunda 3 dk bekletilerek aynı ısıya gelmeleri sağlandı.
6. Sonrasında deney tüplerine 0.2 ml enzim kaynağından konuldu, vortekslendi ve sallantılı su banyosunda  $37^{\circ}C$ 'de 15 dk inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda bütün deney tüplerine 3 ml asit karışımı ilave edilerek reaksiyon durduruldu.
7. Tüm tüplere 2 ml renk ayırıcı olan 0.0036 M tiyosemikarbazid ve 0.0617 M diasetilmonoksim ilave edildi ve vortekslendi. Tüplerin ağızları kapatılarak 10 dk kaynar su banyosunda tutuldu sonra soğutularak 520 nm dalga boyunda köre karşı absorbansları okundu.
8. Hesaplama yapılırken, her deney tüpünün absorbansından, kendi sıfır zaman (zero time blank) absorbansı çıkartılarak net absorbans elde edildi.
9. Standart absorbansı, standarttaki üre miktarı ve seyreltme katsayıları kullanılarak faktör hesabı yapıldı:

$$\text{Faktör} = \frac{(0,1 \mu\text{mol üre/ml}) \times 100 \times 5 \times 4}{0,1 \mu\text{mol üre/ml}'\text{nin absorbans}}$$

100 : Süpernatantın MnCl<sub>2</sub> seyreltme katsayısı  
5 : Süpernatantın inkübasyon ortamındaki seyreltme katsayısı  
4 : İnkübasyon süresinin 1 saate tamamlanma katsayısı

**10.** Enzim aktivitesi hesaplanırken net örnek absorbansları faktör ile çarpılarak enzim aktivitesi  $\mu\text{mol üre/ml/saat}$  birimiyle ifade edildi.

### 3.11.9. Ornitin Tayini

Bu yöntem ornitin ninhidrin ile oluşturduğu mor renkli kompleksin spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanmaktadır (104). Ornitin aktivitesi ölçülürken izlenen basamaklar şu şekildedir;

1. Çalışılacak hasta ve kontrol grubu serum örnekleri %10'luk TCA ile 1/1 oranında muamele edilir. Daha sonra tüplerin ağzı kapatılarak 3000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi ve süpernatant alınır.
2. Kör tüpüne 1 ml distile su ve standart tüpüne de 1 ml 0.18  $\mu\text{mol/ml}$ 'lik ornitin çözeltisi konulur.
3. Deney tüplerine 1 ml süpernatant eklendikten sonra, bütün tüplere sırayla 2.5 ml glasiyel asetik asit ve 0.25 ml ninhidrin ayıracı konulur.. Tüm tüpler vortekslelendikten sonra 30 dakika kaynar su banyosunda tutulur.
4. Su banyosundan çıkarılan tüpler hızla soğuduktan sonra spektrofotometrede 515 nm'de absorbansları ölçülür.
5. Hesaplama yapılırken aşağıdaki formül kullanıldı.

$$\text{Ornitin } (\mu\text{mol/ml}) = \frac{\text{Deney absorbansı} \times 2 \times (0.18 \mu\text{mol ornitin/ml})}{\text{Standart ornitin absorbans değeri}}$$

2: Homojenatin TCA ile seyreltme katsayısı

0.18  $\mu\text{mol/ml}$ : Standart ornitin konsantrasyonu

#### 4.BULGULAR

Çalışma popülasyonunu tanımlayıcı veriler ve laboratuvar verileri Çizelge 2 ve Çizelge 3’de belirtildi.

Çizelge 1. Kontrol ve Hasta Gruplarının Cinsiyetine Ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi

<b>Cinsiyet</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Hasta</b>
Erkek N (%)	16 (%53.3)	16 (%53.3)
Kadın N (%)	14 (%46.7)	14 (%46.7)
<b>Toplam N (%)</b>	<b>30 (% 100)</b>	<b>30 (% 100)</b>

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin 14’ünü %46.7’sini kadın bireyler oluştururken, 16’sını % 53.3’ünü erkek bireyler oluşturmaktadır.

Çizelge 2. Kontrol ve Hasta Gruplarının Yaş Aralıklarının Değerlendirilmesi

	<b>Yaş Aralıkları</b>			<b>Toplam</b>
	<b>35-54</b>	<b>55-74</b>	<b>75-95</b>	<b>N</b>
<b>Hasta</b>	1 (%3.3)	17(%56.7)	12(%40.0)	30(%100)
<b>Kontrol</b>	3 (%10.0)	18(%60.0)	9(%30.0)	30(%100)
<b>Toplam</b>	4 (%6.7)	35(%58.3)	21(%35.0)	60(%100)

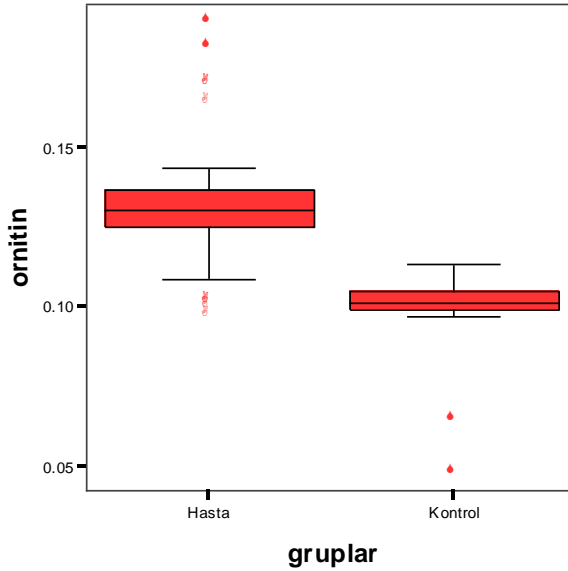
( $X^2=1,45$ ;  $p=0,483$ ;  $p>0,05$  anlamsız)

Hasta grubunda bulunan bireylerin %3.3’ü 35-45 , %56.7’si 55-74, %40’ı ise 75-95 yaş aralığında, kontrol grubunda bulunan bireylerin %10’u 35-54, %60’ı 55-74, %30’u ise 75-95 yaş aralığında bulunmaktadır. Yaş yönünden gruplar arası farklılık önemsizdir ( $p=0,483$ ).

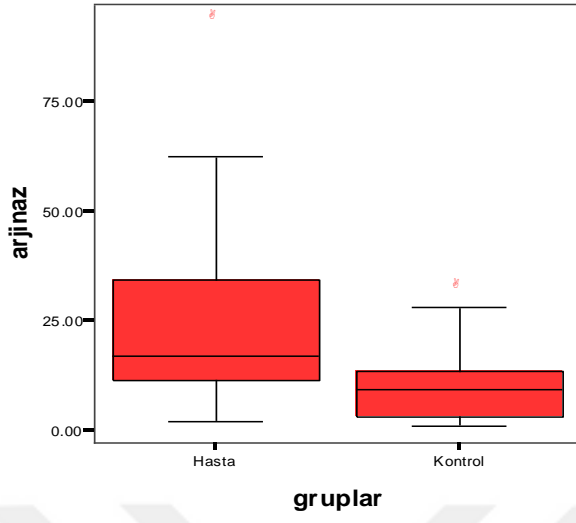
Çizelge 3. Hasta ve Kontrol Gruplarının Enzim Düzeylerinin Değerlendirilmesi

( $\bar{X} \pm SD$ )	Hasta	<u>Median</u>	Kontrol	<u>Median</u>	Sonuç
<b>Ornitin</b> ( $\mu\text{mol/ml}$ )	0,13 $\pm$ 0,02	0,13	0,9 $\pm$ 0,10	0,10	P=0,001*
<b>Arjinaz</b> ( $\mu\text{mol/öre/ml/saat}$ )	23,74 $\pm$ 18,64	17,16	10,57 $\pm$ 8,71	9,36	P=0,001*
<b>Ornitin</b> <b>Dekarboksilaz</b> (pg/ml)	239,08 $\pm$ 26,17	243,88	219,71 $\pm$ 36,24	233,14	P=0,019*
<b>Arjinin</b> <b>Dekarboksilaz</b> (pg/ml)	163,93 $\pm$ 46,02	184,02	164,87 $\pm$ 31,46	172,82	P=0,395
<b>Agmatinaz</b> (pg/ml)	117,56 $\pm$ 30,96	115,34	130,15 $\pm$ 31,81	140,21	P=0,053

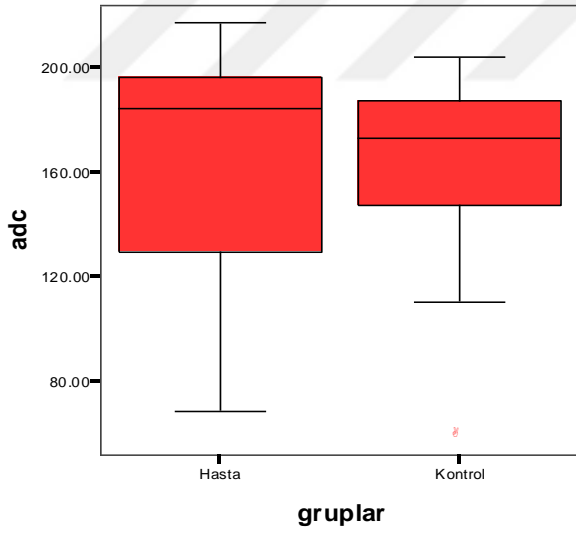
\*P<0,05 anlamlı



Grafik 4: Hasta ve kontrol grubunda ornitin düzeyi

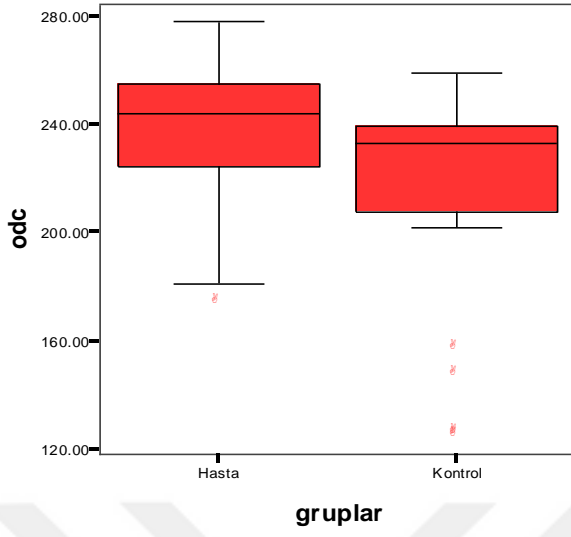


Grafik 5: Hasta ve kontrol grubunda arjinaz düzeyi

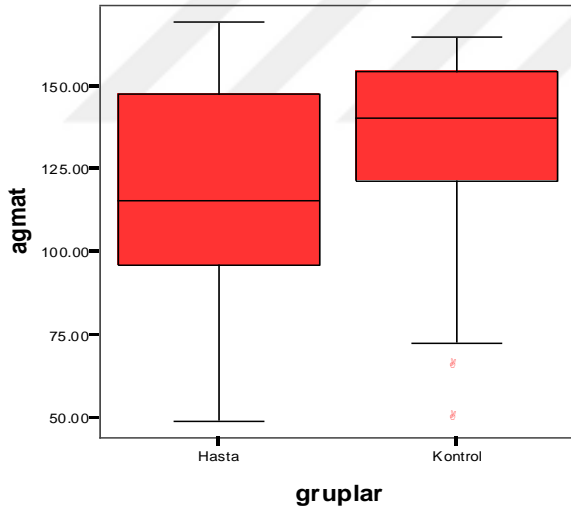


Grafik 6: Hasta ve kontrol grubunda ADC düzeyi





Grafik 7: Hasta ve kontrol grubunda ODC düzeyi



Grafik 7: Hasta ve kontrol grubunda agmatinaz düzeyi

Tablo 3: Hasta ve kontrol grubuna ait rutin biyokimyasal test sonuçları

	Gruplar	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum	P
RBC	Hasta	4.33	0.88	3,89	3.24	6.01	0,510
	Kontrol	4.20	0.61	4,11	2.88	5.18	
HB	Hasta	12.24	2.36	11,90	9.00	16.60	0,511
	Kontrol	12.93	5.19	12,25	9.40	38.50	
TROMBOSİT	Hasta	269.16	71.37	273,50	115.00	374.00	0,027*
	Kontrol	225.82	76.89	232,00	10.60	445.00	
WBC	Hasta	10.43	8.02	8,88	4.54	48.22	0,714
	Kontrol	9.74	6.43	7,47	2.89	37.66	
MCV	Hasta	85.40	5.23	85,50	69.70	96.00	0,770
	Kontrol	84.49	16.04	87,85	9.50	103.70	
CRP	Hasta	18.81	23.84	10,30	2.21	106.00	0,164
	Kontrol	33.41	51.47	17,85	1.10	270.00	
NT-BNP	Hasta	5564.00	3738.77	5794,50	107.10	12618.00	0,096
	Kontrol	3172.25	6776.52	990,80	292.10	35000.00	
TROPONİN	Hasta	5.60	30.10	0,02	.01	165.00	0,316
	Kontrol	0.04	0.07	0,01	.00	.35	
ALT	Hasta	24.76	21.55	20,50	6.00	110.00	0,383
	Kontrol	51.40	164.54	14,00	3.00	910.00	
ALP	Hasta	168.06	167.24	117,00	63.00	857.00	0,022
	Kontrol	93.96	42.63	80,50	36.00	251.00	
AST	Hasta	24.46	19.55	19,00	10.00	112.00	0,318
	Kontrol	60.63	195.67	19,50	8.00	1093.00	
CK	Hasta	92.40	67.03	65,50	31.00	306.00	0,082
	Kontrol	145.56	150.15	85,00	13.00	749.00	
Na	Hasta	139.77	3.96	141,00	131.00	146.00	0,660
	Kontrol	139.33	3.67	138,50	131.00	146.00	
K	Hasta	4.73	0.78	4,71	3.19	7.81	0,741
	Kontrol	4.66	0.82	4,44	3.45	6.90	
Ca	Hasta	9.19	0.62	9,38	7.20	9.91	0,333
	Kontrol	13.39	23.53	9,23	7.66	138.00	
BUN	Hasta	34.85	15.61	34,52	14.01	81.02	0,858
	Kontrol	36.06	33.50	25,84	10.24	183.42	
KREATİNİN	Hasta	1.33	0.43	1,28	0.54	2.36	0,467
	Kontrol	1.49	1.16	1,28	0.56	6.61	
LDL	Hasta	80.50	21.26	77,00	52.00	134.00	0,010*
	Kontrol	98.20	29.39	90,00	61.00	201.00	
TRİGLİSERİT	Hasta	130.50	50.34	127,50	48.00	288.00	0,546
	Kontrol	138.86	56.17	159,50	42.00	279.00	
HDL	Hasta	51.30	14.96	46,00	34.00	89.00	0,006*
	Kontrol	41.20	12.44	37,00	25.00	74.00	
KOLESTEROL	Hasta	141.93	17.52	144,00	87.00	168.00	0,006*
	Kontrol	163.26	36.54	159,50	99.00	278.00	
AKŞ	Hasta	126.76	59.05	107,50	51.00	354.00	0,497*
	Kontrol	117.23	48.38	96,50	71.00	269.00	
INR	Hasta	1.60	0.73	1,35	0.92	3.96	0,721
	Kontrol	1.69	1.27	1,19	0.62	5.77	
PT	Hasta	19.78	8.06	17,15	11.60	47.80	0,498
	Kontrol	17.77	13.96	12,75	10.80	67.50	
APTT	Hasta	36.90	4.77	37,60	25.30	44.40	0,001*
	Kontrol	29.65	7.77	28,75	18.80	50.50	
ALBUMİN	Hasta	4.00	0.40	4,01	2.70	4.90	0,339
	Kontrol	4.12	0.59	4,29	2.51	4.81	
T.PROTEİN	Hasta	6.80	0.55	6,90	5.27	7.82	0,044*
	Kontrol	6.51	0.53	6,47	5.02	7.61	

\*P<0,05 anlamlı

Tablo 4. Hasta ve kontrol grubuna ait ejeksiyon fraksiyon değerleri

		En Düşük	En Yüksek	Ortalama	Standart Sapma	P Değeri
HASTA	EF	15.00	40.00	33.70	6.46	0,001*
KONTROL	EF	45.00	60.00	52.50	3.90	0,001*

\*P<0,05 anlamlı

Tablo 5: Ornitin ile agmatinazın korelasyon ilişkisi

	Ornitin	Agmatinaz
HDL	r= -0.41	-
LDL	r= 0.37	r= 0.51
EF	-	r= 0.43
NT-proBNP	-	r= 0.38

Ornitin ile HDL arasında zayıf negatif korelasyon (r= -0.41) vardı. Bu ilişki istatistiksel olarak önemliydi (p<0,05).

Ornitin ile LDL arasında zayıf pozitif korelasyon (r=0.37) vardı. Bu ilişki istatistiksel olarak önemliydi (p<0,05).

Agmatinaz ile EF arasında zayıf pozitif korelasyon (r= 0.43) vardı. Bu ilişki istatistiksel olarak önemliydi (p<0,05).

Agmatinaz ile NT-proBNP arasında zayıf pozitif korelasyon (r=0.38) vardı. Bu ilişki istatistiksel olarak önemliydi (p<0,05).

Agmatinaz ile LDL arasında zayıf pozitif korelasyon (r=0.51) vardı. Bu ilişki istatistiksel olarak önemliydi (p<0,05).

Yapılan analizler sonucunda, çizelge 3'de görüldüğü gibi ornitin düzeyi ortalamaları hasta grubunda 0,13±0,02 µmol/ml, kontrol grubunda ise 0,09±0,01 µmol/ml olarak bulundu. Arjinaz düzeyi ise hasta grubunda 23,74±18,64 µmolüre/ml/saat, kontrol grubunda ise 10,57±8,71 µmolüre/ml/saat olarak bulundu.

ODC düzeyi ortalamaları hasta grubunda  $239,08 \pm 26,17$  pg/ml kontrol grubunda ise  $219,71 \pm 36,24$  pg/ml olarak bulundu. Agmatinaz düzeyi ortalamaları hasta grubunda  $117,56 \pm 30,96$  pg/ml kontrol grubunda ise  $130,15 \pm 31,81$  pg/ml olarak bulundu, ADC düzeyi ortalamaları hasta grubunda  $163,93 \pm 46,02$  pg/ml kontrol grubunda ise  $164,87 \pm 31,46$  pg/ml olarak bulundu.

ODC, ornitin ve arjinaz düzeyleri iki grup arasında karşılaştırıldığında aradaki fark, istatistiksel olarak anlamlı iken ( $P < 0,05$ ), agmatinaz ve ADC düzeyleri iki grup arasında istatistiksel olarak farklı değildi ( $P > 0,05$ ).



## 5.TARTIŞMA

Arjinin sağlıklı erişkinlerde esansiyel olarak değerlendirilmemektedir, fakat çocukluk ve gençlik çağında vücudun bu aminoaside gereksinimi arttığı için hayatın bu dönemlerinde esansiyel olarak kabul edilir. L- Arjinin birçok metabolik yolda önemli roller oynar. Arjininin nitrik oksit (NO) sentezinde öncül olması, bu amino asidin vücut için önemini vurgulayan bir durumdur. Pek çok hastalık, özellikle sepsisteki olumlu etkileri arjinine koşullu esansiyel amino asit olma niteliği kazandırmaktadır. Vücutta arjinin, sitrullin, glutamat ve proteinlerin yıkımından sentezlenir; arjinaz aracılığıyla ornitin ve üreye katabolize olur.

Arjininin protein sentezi, glukoz oluşumu, NO sentezi, ornitin ve üre sentezi, kreatin, agmatin ve PA sentezi gibi biyosentezlere katılan bir aminoasittir. Ek olarak bağışıklıkta önemli bir oligopeptid olan tuftsin ve antidiüretik (ADH) hormonunun yapısında yer alır. L-arjinin suplementasyonunun başta kardiyovasküler sistem olmak üzere immün, ürogenital, endokrin, kas iskelet sistemleri üzerine olumlu etkileri vardır. Kardiyovasküler hastalıklarda, pulmoner hipertansiyonda, erkek infertilitesinin tedavisinde, yanıkların tedavisinde ve yara iyileşmesinin hızlandırılmasında, sepsiste arjinin suplementasyonu umut verici bir tedavi stratejisi olarak görülmektedir (105).

Arjinazın artmış aktivitesi, pulmoner arteriyel hipertansiyon, ateroskleroz, miyokardiyal iskemi, konjestif KY ve diabetes mellitustaki vasküler disfonksiyon gibi çeşitli patolojik kardiyovasküler klinik durumlarda ortaya konmuştur (106). Quitter ve arkadaşları yaptığı klinik bir çalışmada, plazma arjinaz I düzeyini KY olan hastalarda kontrollerden çok daha yüksek olarak izlemişlerdir. Ağır KY olan hastalarda hafif KY olan hastalara kıyasla anlamlı derecede yüksek arjinaz düzeyleri tespit edilmiştir (107). Literatürdeki veriler ve bizim bulgularımız kardiyovasküler hastalıkların seyrinde artmış arjinaz aktivitesinin önem taşıyan bir biyobelirteç çalışması olabileceğini düşündürmektedir.

Watt ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, pulmoner hipertansiyon varlığının, artmış arjinaz aktivitesi ile ilişkili olduğu ve ek olarak, plazma arjinaz I seviyesinin hasta grupta, kontrol grubundaki farelere göre artmış olduğu

belirtmiştir. Tedavide bir arjinaz inhibitörü kullanılmış ve L-arjinin korunmuş ve pulmoner direncin azaldığı bulunmuştur (108).

Yüksel ve arkadaşları Obstrüktif Uyku Apnesi Sendromu olan hastalarda arjinaz ve NO seviyelerini değerlendirmek üzere yaptıkları bir araştırmada; arjinin aktivitesinin, kardiyovasküler hastalığı olmayan obstrüktif uyku apne sendromlu hastalarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır. Kardiyovasküler hastalığı bulunan obstrüktif uyku apne sendromlu hastalarda ise kontrol grubundan daha yüksek düzeyde arjinaz aktivitesi saptanmıştır ve sonuçta artan arjinaz aktivitesinin NO 'in azalmasına neden olduğu görülmüştür (109).

Arjinaz aktivitesi artmış olduğunda, ortak substrat olan L-arjinin için nitrik oksit sentaz (NOS) ile arjinaz rekabet edebilir. NO üretimi için gerekli olan L-arjinin yetersiz olduğunda, daha az NO üretilecek ve süperoksit oluşturmak için daha fazla moleküler oksijen kullanacaktır. Bu durumun vasküler fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanması beklenebilir. Kubo ve arkadaşların fareler üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada yağlı diyetle beslenen obez farelerin karaciğerlerindeki arjinaz I 'in mRNA ve protein ekspresyon seviyesinin, kontrol diyetle beslenen farelere göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durumun vasküler endotel disfonksiyonuna neden olduğu belirtilmiştir (110).

Endotelden salınan NO damarlarda gevşemeye (vazodilatasyon) neden olurken, KY'de artmış arjinaz aktivitesi sonucu, NO sentezi azalır; bu durum damarlarda sertleşmeye (ateroskleroz) ve vasküler endotel disfonksiyonuna neden olur (111). Bizim çalışmamızda da hasta grupta vasküler endotel disfonksiyon gelişmiş olabileceği için arjinaz aktivitesini yüksek bulduğumuzu düşünmekteyiz. Berkowitz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, vasküler endotelyal disfonksiyon ile artmış arjinaz aktivitesi ve ekspresyon düzeyleri birbirleriyle ilişkili olarak bulunmuştur (112). Literatür verileriyle çalışmamızın verilerinin uyumluluk göstermesi, KY'de PA yolağı enzimi olan arjinazın artan aktivitesi ile vasküler disfonksiyon arasındaki ilişkiye işaret etmektedir.

Arjininin ornitine dönüşümünü katalizleyen arjinaz aktivitesinin iki ana homeostatik amacı vardır: birincisi, üre sentezi yoluyla amonyağı vücuttan atmaktır. ikincisi ise üre sentezinin gerçekleşmediği dokularda prolin, glutamat ve PA biyosentezi için gerekli ornitini üretmektir. Ornitin, büyüme hormonun

ürettilmesinde, karaciğerin metabolik işlevlerinde ve immün sistemin çalışmasında önemli roller oynar (59).

Durante arjinazın damar duvarı üzerindeki rolünü incelemek için yaptığı bir çalışmada; artmış arjinaz aktivitesinden kaynaklanan artmış ornitin seviyelerinin, vasküler hipertrofiye, fibrozise ve sertliğe yol açtığını ileri sürmüştür (113). Bu durumun başta kalp olmak üzere böbrekleri ve birçok organı etkilerken, kanser hücrelerinin büyümesine neden olduğuda belirtilmiştir (114).

ODC, kardiyovasküler homeostazı modüle ettiği bilinen PA'lerin yanı sıra diğer bileşiklerin de bulunduğu karmaşık bir sinyalleme kaskadının parçasıdır. ODC seviyesinin artması PA sentezindeki artışı beraberinde getirmektedir. PA seviyesindeki artış hücre proliferasyonunun uyarılmasına, c-fos, c-myc, c-jun gibi transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu artırarak büyüme faktörlerin uyarılmasına neden olmakta apoptozu ve karsinogenezi indüklemektedir (7). Bu nedenle kanser türlerinin yanı sıra KY ve astım gibi kronik dejeneratif hastalıklarda da serum ODC seviyesinin yüksek olduğu belirtilmiştir (115,116). Kardiyomiyositlerin apoptotik hücre ölümü, iske mi, hipertrofi ve KY'de dahil olmak üzere birçok kardiyovasküler hastalık sürecinde rol oynamaktadır. Tantini ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, iske miye maruz bırakılan H9c2 kardiyomiyoblastlarda ODC aktivitesinin arttığı ve buna bağlı olarak PA sentezininin arttığı görülmüştür (117).

Giordano ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, ODC'yi ifade eden transgenik farelerin, transgenik olmayan kontrollere kıyasla  $\beta$ -adrenerjik uyarıya bir yanıt olarak, sol ventrikül hipertrofisi yaşadıklarını, buna bağlı olarak miyositlerde apoptozun gözlemlendiğini ve KY geliştiğini belirlemişlerdir (118). Literatürde bulgularımızı destekleyici benzer bir çalışmada da Meana ve arkadaşları, KY olan hastaların kalp dokusunda PA düzeyleri incelenmişler ve ODC düzeyinde artma olduğunu tespit etmişlerdir (115).

ODC ile ilgili yapılan bir diğer çalışmada, Hardbower ve arkadaşları ODC'nin bakteri enfeksiyonlarında makrofaj fonksiyonunun düzenlenmesindeki rolünü araştırmışlardır. Makrofajdan türeyen ODC'nin *Helicobacter pylori* ve *Citrobacter rodentium* enfeksiyonu sırasında histon modifikasyonları yoluyla M1 makrofaj aktivasyonunu artırdığını, gastrik ve kolonik inflamasyonu artırdığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada, ODC'nin putresine eklenmesi, artmış makrofaj aktivasyonunu tersine

çevirerek, ODC ve putresinin makrofaj fonksiyon düzenleyicileri olduğunu belirtmişlerdir (119). KY'de makrofaj aktivasyonunun artması, miyosit ve endotel hücrelerinde apoptozu meydana getirerek, septik şoka ve inflamasyon görülmesine neden olur (120).

ODC ile oluşan putresin ve spermidin tirozin kinazlar ve MAPK aracılığıyla c-fos, c-jun, c-myc protoonkogenlerinin transkripsiyonunu artırır. eIF-5A'nın hipusinasyonunu uyararak hücre proliferasyonunu uyarır. eIF-5A'nın hipusinasyonu spermidine bağlı olduğundan spermidin yokluğunda bu hipusinasyon inhibe olmakta ve hücrenin büyümesi durmakta nihayetinde karsinogenez stimüle edilmektedir. ODC aktivitesi kanserli dokularda normal dokulara göre daha yüksek seviyede bulunmuştur (121). Dai ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ekstraselüler PA'lerin ODC ve SSAT ekspresyonunu Akt-1 yolağı aracılığıyla indükleyerek kanser hücresi proliferasyonunu ve migrasyonunu indüklediği gözlemlenmiştir (122).

Bokara ve arkadaşları arjininden agmatin oluşumunu katalizleyen ADC enzimi üzerine in vitro bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, retrovirüs ile verilen insan ADC genlerinin farelerin nöralprogenitör hücrelerinde oksidatif hasara karşı hücre sağkalımını gerçekleştirdiğini göstermiştir. ADC enziminin anti-tümör rolü olduğu ve nörogenesis ile ilgili olduğu üzerine yapılan çalışmalar da önem arz etmektedir (123). Literatürde tiroid, böbrek, kalp ve aortadaki L-Arjinin metabolizmasına ilişkin araştırmalar yapılmıştır. Hipotiroidi ve hipertiroidi olan sıçanlarda ADC'nin renal ve kardiyovasküler dokulardaki seviyesinin yüksek olması, enzimin tiroid hormonun tarafından pozitif olarak modüle edildiğini destekler. Yine aynı çalışmada çarpıcı diğer bir unsur da depresyon, alkol ve madde bağımlılığı, öğrenme ve stresde önemli rolü olan agmatinin kalsiyum homeostazı üzerine etki ederek kalp ve vasküler fonksiyonları modüle ettiği konusudur (124).



## 6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Literatürdeki çoğu çalışmada KY olan hastalarda serum Arjinaz düzeyinin artmış olduğu belirtilmektedir. Arjinaz'la ilgili olarak, bu çalışmanın bulguları ile literatür bulguları eşleşmektedir. Bu durum arjinazın KY gelişim süreci ve patogenezinde kullanılabilir yararlı biyolojik belirteç olması ihtimalini sergilemektedir. Son yıllarda Arjinaz inhibitörleri ile ilgili olarak yapılan çalışmalar artmaktadır. Koroner arter hastalığı, hipertansiyon ve kardiyak arrest sonrası resüsitasyon sırasında arjinin replasmanının umut verici sonuçları olduğu bildirilmiştir (125). Bu gözlemler arjinaz aktivitesini inhibe etmenin, başta KY olmak üzere kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Fakat KY hastalarında arjinaz aktivitesini uzun süreli inhibe eden bir tedavinin güvenilirliğini göstermek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.

Artmış ornitin düzeyinin KY üzerine rolünün incelenmesinde literatürde fazla sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle arjinaz/ornitin yolağının inhibitör ajanlarının KY tedavisinde kullanılabilirliği ve ornitin biyobelirteç olabilme özelliği hakkında daha fazla klinik çalışma yapılmasının önü açıktır. ODC'nin KY'de ve birçok hastalıkta düzeyinin yüksek olması aklımıza tanı ve takipte bir biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini getirmektedir.

Sonuç olarak bazı PA'lerin konsantrasyonundaki değişikliklerin KY progresyonuyla ilişkili olabileceğine inanıyoruz. Bu nedenle, PA yolağı ile ilgili tüm PA'lerin ve reaksiyonlara eşlik eden enzim düzeylerinin ölçümlerini içeren, daha geniş serileri barındıran çalışmaların yapılması gerektiğini düşünüyoruz.

## 7.KAYNAKLAR

- [1] Braunwald E (2001). Congestive Heart Failure: A Half Century Perspective  
*Europian Heart Journal* 22:825-836.
- [2] Değertekin M, Erol Ç, Ergene O, et al.( 2012). Heart failure prevalence and predictors in Turkey: HAPPY study. *Arch Turk Soc Cardiol*;40: 298-308 2.
- [3] Cowie MR, Wood DA, Coats AJ, Thompson SG, Suresh V, Poole-Wilson PA, et al.(2000). Survival of patients with a new diagnosis of heart failure: a population based study. *Heart* , 83:505-10.
- [4] Wayne EC (2003). A review of polyamines and cancer. *Turk J Med Sci.* 33: 195-205.
- [5] Yatin M (2002). Polyamines in living organisms , *Journal of Cell and Molecular Biology* 1: 57-67.
- [6] Buyukuslu N ( 2014). Besinlerin poliamin icerikleri. *MUSBED*, 4(2): 105-110.
- [7] Erbaş H, Erten O, Dağlar A, İrfanoğlu ME (2006). Meme Kist Sıvısı Arjinaz Aktivitesi,Ornitin ve Üre Düzeyleri. *Türk Biyokimya Dergisi*, 31(3);129-134.
- [8] Bouvy ML, Heerdink ER, Leufkens HG, Hoes AW (2003). Predicting mortality in patiens with heart failure: a pragmatic approach. *Heart*, 89:605-9.
- [9] Sanderson JE (2005). Heart failure with a normal ejection fraction. *Heart*, 1:1110-1121.
- [10] Aktoz M. (2010), Poliklinikte Kalp Yetersizliği Hastası Takibi ve Tedavisi  
*Trakya Universitesi Tıp Fakültesi Dergisi* ;27 Suppl 1:57-62
- [11] Heidenreich PA, Albert NM, Allen LA et al.( 2013). Forecasting the impact of heart failure in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circ Heart Fail*;6:606–19 3.
- [12] Sanderson JE, Tse TF (2003).Heart Failure: a global disease requiring a global response.*Heart* 2003 ;89:585-6.

- [13] Çavuşoğlu Y, Kozan O, Temizhan A, Küçükoğlu S ( 2014). Clinical characteristics of the Turkish population with heart failure and treatment modalities used in daily practice: Reality HF data. *Anatolian J Cardiol*, 14 (Suppl.1):20.
- [14] Lev D, Kenchaiah S, Larson MG, et al. (2002). Long term trends in the incidence of and survival with heart failure. *N Eng J Med*,347:1397.
- [15] Seferovic PM, Stoerk S, Filippatos G, et al. (2013). Organization of heart failure management in European Society of Cardiology member countries: survey of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology in collaboration with the Heart Failure National Societies/Working Groups. *Eur J Heart Fail* 15:947-59.
- [16] Maggioni AP, Dahlström U, Flippatos G, et al.( 2013). EURObservational Research Programme: regional differences and 1-year follow-up results of the Heart Failure Pilot Survey (ESC-HF Pilot). *Eur J Heart Fail*,15:808-17.
- [17] Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, et al.( 2002). Obesity and the risk of heart failure. *N Eng J Med*,347:305.
- [18] Tavazzi L( 2001). Towards a more precise definition of heart failure aetiology. *Eur Heart J*; 22:192-195.
- [19] Zoghi M (2011). Kalp Yetersizliğinin Tanısı, Evreleri ve Sınıflandırması. *Klinik Gelişim Dergisi*, 24:1-5.
- [20] Haulica I, Petrescu G, Slatineanu SM, et al.( 2004) New bioactive angiotensins formation pathways and functional involvements.*Rom J Intern Med.*,42:27.
- [21] Mann DL, Bristow MR (2005). Mechanisms and models in heart failure: The biomechanical model and beyond. *Circulation* ,111:2837.
- [22] Moinard C, Cynober L, Bandt JP ( 2005). Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clin Nutr*, 24(2): p. 184-97.

- [23] Reis DJ, Regunathan S (2000). Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends Pharmacol Sci.* 21:187-193.
- [24] Igarashi K, Kashiwagi K.( 2010). Modulation of cellular function by polyamines. *Int J Biochem Cell Biol*, 42(1): 39-51.
- [25] Mound MÖ , Olsen ME , Vignuzzi M , Connor JH (2017). Polyamines and Their Role in Virus Infection. *Microbiol Mol Biol Rev.* Sep 13;81(4)
- [26] Bagn, N, Tassoni A (2001). Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plant. *Amino Acids.*;20(3);301-317.
- [27] Eliassen KA, Reistad R, Risoen U, Ronning HF (2002).Dietary polyamines. *Food Chem*,78(3):273-280.
- [28] Coffino P (2001). Antizyme, a mediator of ubiquitin-independent proteasomal degradation, *Biochimie*, 83: 319-323.
- [29] Gerner EW, Meyskens Jr FL,( 2000 ). Polyamines and cancer: old molecules, new understanding. *Nat Rev Cancer*, 4(10): p. 781-92.
- [30] Pfeffer LM, et al (2001). Polyamine depletion induces rapid NF-kappa B activation in IEC-6 cells. *J Biol Chem*, 276(49): p. 45909-13.
- [31] Ferioli ME, Pirona L, Pinotti O (2000). Prolactin and polyamine catabolism: specific effect on polyamine oxidase activity in rat thymus. *Mol Cell Endocrinol*, 165(1-2): p. 51-6.
- [32] Nitta T, Igarashi K, Yamamoto N (2002). Polyamine depletion induces apoptosis through mitochondria-mediated pathway. *Exp Cell Res*,276:120–8.

- [33] Casero RA, Pegg AE (2009). Polyamine catabolism and disease. *Biochem J*, 421(3): p. 323-38.
- [34] Wu F, Christen P, Gehring H (2011). A novel approach to inhibit intracellular vitamin B6-dependent enzymes: proof of principle with human and plasmodium ornithine decarboxylase and human histidine decarboxylase. *Faseb J* 25(7):2109-22.
- [35] Sawhney RK, Tiburcio AF, Altabella T, Galston A(2003). Polyamines in plants: An overview. *Journal of Cell and Molecular Biology*;2:1-12.
- [36] Coffino P (2000). Polyamines in spermiogenesis: not now, darling. *Proc Natl Acad Sci USA* 97(9):4421–3.
- [37] Satriano J, Isome M, Casero Jr RA, Thomson SC, Blantz RC (2001). Polyamine transport system mediates agmatine transport in mammalian cells. *Am J Physiol Cell Physiol* ,281(1):C329–34.
- [38] Hillary RA, Pegg AE (2003). Decarboxylases involved in polyamine biosynthesis and their inactivation by nitric oxide. *Biochim Biophys Acta*,1647(1–2):161–6.
- [39] Pegg AE (2008). Spermidine/spermine-N1-acetyltransferase: a key metabolic regulator. *Am J Physiol Endocrinol Metab* ,294:E995–E1010.
- [40] Alhonen L, Parkkinen JJ, Keinanen T, Sinervirta R, Herzig KH, Janne J, (2000) Activation of polyamine catabolism in transgenic rats induces acute pancreatitis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 8290-5829.
- [41] Sakata K, Kashiwagi K, Igarashi K,( 2000). Properties of a polyamine transporter regulated by antizyme, *Biochem. J.*, 347: 297-303.

- [42] Gandre S, Bercovich Z, Kahana C (2003). Mitochondrial localization of antizyme is determined by context-dependent alternative utilization of two AUG initiation codons, *Mitochondrion* 2 ,245–256.
- [43] Janne J, Alhonen L, Pietila M, Keinanen TA (2004). Genetic approaches to the cellular functions of polyamines in mammals. *Eur J Biochem* ,271(5):877–94.
- [44] Miller-Fleming L , Olin-Sandoval V, Campbell K, Ralser M (2015). Remaining Mysteries of Molecular Biology: The Role of Polyamines in the Cell *J Mol Biol* Oct 23;427(21):3389-406.
- [45] Palanimurugan R, Scheel H, Hofmann K, Dohmen JR(2004). Polyamines regulate their synthesis by inducing expression and blocking degradation of ODC antizyme, *EMBO J.* 23 ,4857–4867.
- [46] Hanfrey C, Elliott KA, Franceschetti M, Mayer MJ, Illingworth C, Michael AJ (2005) .A dual upstream open reading framebased autoregulatory circuit controlling polyamine-responsive translation, *J. Biol. Chem*, 280 39229 39237.
- [47] Yerlikaya A, Stanley BA (2004). S-Adenosylmethionine decarboxylase degradation by the 26S proteasome is accelerated by substrate-mediated transamination, *J. Biol. Chem*, 279 12469–12478.
- [48] Seiler N (2004). Catabolism of polyamines, *Amino Acids*,26: 217–233.
- [49] Murray-Stewart T, Wang Y, Devereux W, Casero RA(2002). Cloning and characterization of multiple human polyamine oxidase splice variants that code for isoenzymes with different biochemical characteristics, *Biochem. J.* 368, 673–677.

- [50] Perez-Leal O, Barrero CA, Clarkson AB, Casero RA, Merali S (2012). Polyamine-regulated translation of spermidine/spermine-N1-acetyltransferase, *Mol. Cell. Biol.*, 32 1453–1467.
- [51] Cerrada-Gimenez M, Pietila M et al (2011). Continuous oxidative stress due to activation of polyamine catabolism accelerates aging and protects against hepatotoxic insults. *Transgenic Res.* 20, 387-396.
- [52] Karabulut Bulan Ö, Bolkent Ş (2011). The role of insulin-like growth factor-I and polyamines in developing rat small intestine, *IUFS J Biol*, 70(2):13-24
- [53] Uemura T, Tachihara K, Tomitori H, Kashiwagi K, Igarashi K(2005). Characteristics of the polyamine transporter TPO1 and regulation of its activity and cellular localization by phosphorylation. *J.Biol.Chem*, 2809646e9652.
- [54] Roy UK, Rial NS, Kachel KL, Gerner EW (2008). Activated K-RAS increases polyamine uptake in human colon cancer cells through modulation of caveolar endocytosis. *Mol.Carcinog*, 47-538e553.
- [55] Soulet D, Gagnon B, Rivest S, Audette M, Poulin R (2004). A fluorescent probe of polyamine transport accumulates into intracellular acidic vesicles via a two- step mechanism. *J.Biol.Chem*, 279-355e366.
- [56] Uemura T, Yerushalmi HF, Tsapralis G, Stringer DE, Pastorian KE, Hawel L, Byus CV, Gerner EW (2008). Identification and characterization of a diamine exporter in colon epithelial cells. *J.Biol.Chem*, 283-26428e26435.
- [57] Uemura T, Stringer DE, Blohm-Mangone KA, Gerner EW (2010). Polyamine transport is mediated by both endocytic and solute carrier transport mechanisms in the gastrointestinal tract. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 299: G517–G522.

- [58] Gödderz D, Schäfer E, Palanimurugan R, Dohmen RJ (2011). The N-terminal unstructured domain of yeast ODC functions as a transplantable and replaceable ubiquitin-independent degron, *J. Mol. Biol.* 407 (2011) 354–367.
- [59] Sivashanmugam M, Jaideva J, Umashankara M, Sulochanab KN (2017). Ornithine and its role in metabolic diseases: An appraisal. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 86-185–194.
- [60] Zhang M, Pickart CM, Coffino P (2003). Determinants of proteasome recognition of ornithine decarboxylase, a ubiquitin-independent substrate, *EMBO J.* 22,1488–1496.
- [61] Randi AS, Hernandez S et al (2003). Hexachlorobenzene-induced early changes in ornithine decarboxylase and protein tyrosine kinase activities, polyamines and c-Myc, c-Fos and c-Jun proto-oncogenes in rat liver. *Toxicol Sci.*,Dec;76(2):291-8. Epub 2003 Nov 4.
- [62] Bauer PM, Buga GM, Ignarro LJ (2001). Role of p42/p44 mitogen-activated-protein kinase and p21WAF1/CIP1 in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation by nitric oxide, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 98: 12802-7.
- [63] Gartel AL, Tyner AL (2002). The role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in apoptosis, *Mol. Cancer Ther.*, 1: 639-649.
- [64] Bachrach U, Yong-Chun W, Tabib A (2001). Polyamines: New Cues in Cellular Signal Transduction *News Physiol. Sci.* Volume 16 June.



- [65] Caragliai M, Marra M, et al (2003). The Eukaryotic Initiation Factor 5A Is Involved in the Regulation of Proliferation and Apoptosis Induced by Interferon-*f* and EGF in Human Cancer Cells *J Biochem.* 133, 757-765.
- [66] Nakanishi S, Cleveland JL (2016). Targeting the polyamine -hypusine circuit for the prevention and treatment of cancer, *Amino Acids*,48:2353–2362.
- [67] Wallace MH, Fraser AV, Hugnes A (2003). A perspective of polyamine metabolism. *Biochem. J.* 376, 1–14.
- [68] Wallstrom L, Takao EK, Wendt A, Vargiu C, Yin H, Persson L (2001). Importance of the 3' untranslated region of ornithine decarboxylase mRNA in the translational regulation of the enzyme. *Biochem. J.* 356, 627–634.
- [69] Wallace HM, Hughes A, Thompson K, (2001). The potential chemotherapeutic and chemopreventative benefits of modulated polyamine biosynthesis. *In Biogenically Active Amines in Food* vol. 4, pp. 29–36.
- [70] Thomas T, Thomas TJ, (2001). Polyamines in cell growth and cell death: molecular mechanisms and therapeutic applications. *Cell. Mol. Life Sci.* 58, 244–258.
- [71] Flamigni F, Stanic I, et al(2007).Polyamine biosynthesis as a target to inhibit apoptosis of non-tumoral cells. *Amino Acids.* Aug;33(2):197-202.
- [72] Cipolla BG, Havouis R, Moulinoux JP (2010). Polyamine reduced diet (PRD) nutrition therapy in hormone refractory prostate cancer patients. *Biomed Pharmacother* ,64: 363-368.
- [73] Weiss TS, Bernhardt G, Buschauer A, Thasler WE, Dolgner D, Zirngibl H, Jauch KW (2002). Polyamine levels of human colorectal adenocarcinomas are correlated with tumor stage and grade. *Int J Colorectal Dis*,17:381-387.

- [74] Childs AC, Mehta DJ, Gerner EW (2003). Polyamine-dependent gene expression. *Cell Mol Life Sci*, 60:1394-1406.
- [75] Linsalata M, Caruso MG, Leo S, Guerra V, Attoma B, Leo A (2002). Prognostic value of tissue polyamine levels in human colorectal carcinoma. *Anticancer Res*, 22: 2465-2469.
- [76] Soda K (2011). The mechanisms by which polyamines accelerate tumor spread. *J Exp Clin Cancer Res*, 11: 30-95.
- [77] Gerner EW (2010). Cancer chemoprevention locks onto a new polyamine metabolic target. *Cancer Prev Res*, 3(2): 125-127.
- [78] Muth A, Madan M, Archer JJ, Ocampo N, Prdriguez L, Phanstiel O (2014). Polyamine inhibitors: design, synthesis, and combination therapies with difluoromethylornithine. *J Med Chem*, 57(2): 348-363.
- [79] Hobbs CA, Paul BA, Gilmour SK (2002). Deregulation of polyamine biosynthesis alters intrinsic histone acetyltransferase and deacetylase activities in murine skin and tumors. *Cancer Res*. 62, 67-74.
- [80] Kawakita M, and Hiramatsu K (2006). Diacetylated derivatives of spermine and spermidine as novel promising tumor markers. *J. Biochem*. 139, 315-322.
- [81] Wallace HM, Duthie J, Evans DM, Lamond S, Nicoll K M, Heys SD (2000). Alterations in polyamine catabolic enzymes in human breast cancer tissue. *Clin. Cancer Res*. 6, 3657-3661.
- [82] Gugliucci A, Menini T (2003). The polyamines spermine and spermidine protect proteins from structural and functional damage by AGE precursors: a new role for old molecules? *Life Sci* ,72(23):2603–16.

- [83] Becerra-Solano LE, et al (2009). A missense mutation, p.V132G, in the X-linked spermine synthase gene (SMS) causes Snyder-Robinson syndrome. *Am J Med Genet A*. Mar;149A(3):328-35.
- [84] Cason AC, Ikeguchi Y, Skinner C, Wood TC, Holden KR, Lubs HA, et al. (2003). X-linked spermine synthase gene(SMS) defect: the first polyamine deficiency syndrome, *Eur.J. Hum. Genet.* 11 937–944.
- [85] Gimelli G, et al (2002). Gene dosage of the spermidine/spermine N(1)-acetyltransferase (SSAT) gene with putrescine accumulation in a patient with a Xp21.1p22.12
- [86] Sequeira A, Gwadry FG et al (2006) Implication of SSAT by gene expression and genetic variation in suicide and major depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 63, 35-48.
- [87] Sharmin S, Sakata K, et al (2001). Polyamine cytotoxicity in the presence of bovine serum amine oxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 282, 228-235.
- [88] Igarashi K, Ueda S, Yoshida K, Kashiwagi K, (2006). Polyamines in renal failure. *Amino Acids* 31, 477-483.
- [89] Fleming A, Noda T, Yoshimori T, Rubinsztein DC (2011). Chemical modulators of autophagy as biological probes and potential therapeutics. *Nat Chem Biol*, 7: 9-17.
- [90] Madeo F, Eisenberg T, Büttner S, Ruckenstuhl C, Kroemer G (2010). Spermidine: a novel autophagy inducer and longevity elixir. *Autophagy*, 6: 160-162.

- [91] Morselli E, et al. (2011). Spermidine and resveratrol induce autophagy by distinct pathways converging on the acetylproteome. *J Cell Biol*,192: 615-629.
- [92] Arıcıoğlu F (2009). Agmatinin Nöropsikiyatrideki Yeri ve Önemi *RCHP* 3:1--2 2009.
- [93] Wiesinger H (2001). Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Progress in Neurobiology*, 64:365-391.
- [94] Uzbay T (2012). The pharmacological importance of agmatine in the brain. *Neurosci Biobehav Rev*,36:502–519.
- [95] Ishikawa T, Harada T, Koi H, Kubota T, Azuma H, Aso T (2006). Identification of Arginase in Human Placental Villi. *Placenta*. 1-6.
- [96] Ash DE (2004). Structure and Function of Arginase. American Society for *Nutritional Sciences*,22: 2760-2764.
- [97] Marik PE, Flemmer M (2012). Immunonutrition in the surgical patient. *Minerva Anesthesiol. Mar*;78(3):336-4.
- [98] Schmok E, Abad Dar M, et al (2017). Suppressor of Cytokine Signaling 3 in Macrophages Prevents Exacerbated Interleukin-6-Dependent Arginase-1 Activity and Early Permissiveness to Experimental Tuberculosis. *Front Immunol. Nov* 10;8:1537.
- [99] Janne J, Alhonen L, Pietila M, Keinanen TA (2004). Genetic approaches to the cellular functions of polyamines in mammals. *Eur J Biochem*, 271(5):877–94.

- [100] Dufe VT, Ingner D, et al (2007). A structural insight into the inhibition of human and *Leishmania donovani* ornithine decarboxylases by 1-amino-oxy-3-aminopropane *Biochem. J.* 405 261–268.
- [101] Arıcıoğlu F (2008). Sinir Sisteminin Fonksiyonlarını Modüle edebilen yeni bir madde : Agmatin. *RCHP Dergisi*, yıl:2 sayı:3-4.
- [102] Erisir M, Ercel E, Yılmaz S, Ozan S (2005). Evaluation of Optimal Conditions for Arginase Activity in Streptozotosin İnduced Diabetic Rats. *Vet. Med.-Czech.* 50, 2: 69-76.
- [103] Geyer JW, Dabich D, (1986). Rapid Method for Determination of Arginase Activity in Tissue Homogenates, *Analitic Biochem.*, 39, 412-17.
- [104] Chinard FP (1952). Photometric Estimation of Proline and Ornithine, *J. Bil. Chem.*, 199, 91-95.
- [105] Barış N, Turgan N, Ersöz B (2004) .The Significance of Arginine in Medical Biochemistry, *Türk Klinik Biyokimya Derg2(2)*: 83-90.
- [106] Pernow J, Jung C (2013). Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? *CardiovascRes.*, Jun 1;98(3):334-43.
- [107] Quitter F, Figulla HR, Ferrari M, Pernow J, Jung C (2012). Increased arginase levels in heart failure represent a therapeutic target to rescue microvascular perfusion. *Clin Hemorheol Microcirc* Advance Access published October 17, doi: 10.3233/CH-2012-1617.
- [108] Watts JA, et al. (2012). Arginase depletes plasma l-arginine and decreases pulmonary vascular reserve during experimental pulmonary embolism. *PulmPharmacol Ther*,25:48–54.

- [109] Yüksel M, Okur KH, Pelin Z, Ögünç VA, Öztürk L (2014). Arginase activity and nitric oxide levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome *CLINICS* 69(4):247-252.
- [110] Kubo M, Ito T, et al (2017). Early obesity leads to increases in hepatic arginase I and related systemic changes in nitric oxide and L-arginine metabolism in mice. *J Physiol Biochem*. Nov 3.
- [111] Maupoint J, Besnier M, et al (2016). Selective Vascular Endothelial Protection Reduces Cardiac Dysfunction in Chronic Heart Failure. *Circ Heart Fail*. Apr;9(4):e002895.
- [112] Berkowitz DE, et al (2003). Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation*, 108:2000–2006.
- [113] Durante W (2013). Role of arginase in vessel wall remodeling. *Front Immunol*. ;4:111.
- [114] Popovic PJ, et al (2007). Arginine and immunity. *J Nutr*. ;137:1681S–1686S.
- [115] Meana C, Rubín JM, Bordallo C, Suarez L, Bordallo J, Sanchez M (2016). Correlation between endogenous polyamines in human cardiac tissues and clinical parameters in patients with heart failure. *J Cell Mol Med*, Feb;20(2):302-12.
- [116] North ML, Grasmann H, Khanna N, Inman MD, Gauvreau GM, Scott JA (2013). Increased ornithine-derived polyamines cause airway hyperresponsiveness in a mouse model of asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. Jun;48(6):694-702.

- [117] Tantini B, Fiumana E, et al (2006). Involvement of polyamines in apoptosis of cardiac myoblasts in a model of simulated ischemia. *J Mol Cell Cardiol.* Jun;40(6):775-82.
- [118] Giordano E, Hillary RA, et al (2004). Overexpression of ornithine decarboxylase decreases ventricular systolic function during induction of cardiac hypertrophy. *Amino Acids.* Feb;42(2-3):507-518.
- [119] Hardbower DM, Asim M, et al (2017). Ornithine decarboxylase regulates M1 macrophage activation and mucosal inflammation via histone modifications. *PLoS Pathog.* Oct 26;12(10).
- [120] Berköz M, Yalın S. (2008) Yağ Dokusunun İmmünolojik ve İnflamatuvar Fonksiyonları, *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* cilt:1 sayı :1.
- [121] Kuniyasu S (2011). The mechanisms by which polyamines accelerate tumor spread. *Soda Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 30:95.
- [122] Dai F, Yu W, Song J, Li Q, Wang C, Xie S. Extracellular polyamines-induced proliferation and migration of cancer cells by ODC, SSAT, and Akt1-mediated pathway. *Anticancer Drugs.* 2017 Apr;28(4):457-464.
- [123] Bokara KK, Kim JH, Kim JY, Lee JE (2016). Transfection of arginine decarboxylase gene increases the neuronal differentiation of neural progenitor cells *Stem Cell Res.* Sep;17(2):256-265.
- [124] Rodríguez-Gómez I et al (2016). L-Arginine metabolism in cardiovascular and renal tissue from hyper- and hypo thyroid rats. *Exp Biol Med (Maywood).* Mar; 241(5): 550–556.
- [125] Jung C, et al. (2014). Increased arginase levels contribute to impaired perfusion after cardio pulmonary resuscitation. *Eur J Clin Invest*, 44:965–971.

## EK 1: Bilgilendirilmiş Olur Formu



### C. Ü. KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Sayın....

Bu katılacağınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “**Kalp Yetmezliği Olan Hastalarda Poliamin Sentez Yolundaki Enzim Düzeylerinin İncelenmesi**”.

Bu araştırmanın amacı, Kalp yetmezliği olan hastalarda ve kontrol grubunda Poliamin sentez yolundaki enzim düzeylerini belirlemektir. Ayrıca ölçülen parametreleri birbiri ile karşılaştırarak Kalp Yetmezliği ile arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Bu çalışma kalp yetmezliği hastalığının oluşumu ile seyrinin aydınlatılmasına ve uzun vadede hastalıkların tedavisine katkı sağlayabilir. Çalışmamıza katılmanız halinde sağlıklı birey olmanıza veya hasta birey olmanıza göre bu 2 gruptan birinde yer alacaksınız. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırmada yer almanız için bir defa gelmeniz yeterli olup, araştırmada yer alacak sizin gibi gönüllülerin sayısı 30’dur. Çalışma 1 yıl sürecektir.

Bu araştırmayı yapmak istememizin nedeni, Kalp yetmezliğinin altında yatan sebepleri biyokimyasal yönden incelemek ve uluslararası literatüre katkıda bulunmaktır. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama



Hastanesi Kardiyoloji AD, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp AD ve Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD tarafından gerçekleştirilecek bu çalışmaya katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Bu araştırma ile ilgili olarak sizden beklenen, istenen tahlilleri yaptırmak, araştırmacının sorularına uygun ve doğru cevap vermek ve sonuçlarını zamanında araştırmacıya ulaştırmaktır. Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve zarar söz konusu değildir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Doç. Dr. Özlem Demirpençe veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular kaydedilecektir. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu çalışmaya alınacaksınız. Yine izniniz doğrultusunda bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 5 ml (1-2 tüp) kadar kan almamız gerekmektedir. Alınan kanda biyokimyasal parametrelerin (Poliamin) gibi maddelerin miktarı ölçülecektir. Ayrıca yaş, cinsiyet, kilo, doğum tarihi gibi bilgilerinizde kayıt altına alınacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: 1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 05057753657 numaralı telefonda araştırmacı doktorunuz Doç.Dr.Gülaçan Tekin'e başvurabilirsiniz.

Ayrıca bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununuzun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahale sizden ücret talep edilmeden ve sosyal güvenceniz kullanılmadan sağlanacaktır.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının

gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır, çalışmadan çekilmeniz ya da araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

### **Çalışmaya Katılma Onayı:**

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyorum ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

### **Gönüllünün,**

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

### **Açıklamaları yapan araştırmacının,**

Adı-Soyadı: Yeliz Demir

Görevi: Yüksek Lisans Öğrencisi

Adresi: Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya A.D.

Tel.-Faks: 03462191010/ 1059

Tarih ve İmza:

**Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,**

Adı-Soyadı: Özlem Demirpençe

Görevi: Doçent Doktor

Adresi: Cumhuriyet Üniversitesi Tıbbi Biyokimya A.D.

Tel.-Faks: 03462191010/1059

Tarih ve İmza:



## EK 2 : Etik Kurul Karar Formu

### KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kalp yetmezliği olan hastalarda Poliamin sentez yolundaki enzim düzeylerinin incelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 219 10 10 / Dahili: 2092
	FAKS	-
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Özlem Demirpençe			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	--			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	<input type="checkbox"/>				
İlaç dışı klinik araştırma	<input checked="" type="checkbox"/>				
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kalp yetmezliği olan hastalarda Poliamin sentez yolundaki enzim düzeylerinin incelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
	DİĞER	<input type="checkbox"/>				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2016-12/16	Tarih: 27.12.2016				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					
İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Emin Yener Gültekin

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişkisi		Katkım *		İmza
Prof. Dr. Emin Yener Gültekin	Öroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Kürşat Karadayı	Genel Cerrahi	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hülya Toker	Periodontoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayşe Demirkazık	Biyofizik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Aynur Engin	Enfeksiyon Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ali Şahin	Romatoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Zeynep Çınar	Biyostatistik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Altun	Tıbbi Farmakoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

### KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kalp yetmezliği olan hastalarda Poliamin sentez yolundaki enzim düzeylerinin incelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Yrd. Doç. Dr. Mahmut Ekici	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Aile Hekimi	Sivas Halk Sağlığı Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Hüseyin Saygın	Çiroloji	Sivas Numune Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Araş. Gör. Emine Özdamar	Avukat	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Melih Arslan	Sınıf Öğretmeni	Emekli	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

*Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.*

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Yeliz Demir
Doğum Yeri ve Tarihi	Ankara/1988
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümü, 58140-Sivas
E-posta Adresi	yelizdemirr@gmail.com

### Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Ankara Keçiören Lisesi, 2005
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2008
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2017
Ünvan	Kimyager