

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELLAJİK ASİTİN MİYOKART İNFARKTÜSÜ OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA SİYALİK ASİT DÜZEYLERİ VE LİPİT PROFİLİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Biyolog Ergin TAŞKIN
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Yeter DEĞER

VAN-2017

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELLAJİK ASİTİN MİYOKART İNFARKTÜSÜ OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA SİALİK ASİT DÜZEYLERİ VE LİPİT PROFİLİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Biyolog Ergin TAŞKIN
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Yeter DEĞER

VAN-2017

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı
tarafında 2015-SBE-YL 230 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ELLAJİK ASİTİN MİYOKART İNFARKTÜSÜ OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA SİALİK ASİT DÜZEYLERİ VE LİPİT PROFİLİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Biyolog Ergin TAŞKIN
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Yeter DEĞER

Üye

Doc. Dr. Devrim SARIPINAR AKSU

Üye

Yrd. Doc. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN

TEZ KABUL TARİHİ

/ / 2017

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sırasında yol gösteren, tezin yapılmasında büyük katkıları olan ve desteğini esirgemeyen, Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Yeter DEğER'e, değerli katkılarından dolayı Anabilim Dalımızın ğretim yeleri Sayın Prof. Dr. Nihat MERT'e, Prof. Dr. Semiha DEDE'ye ve Prof. Dr. Handan MERT'e, tezin deneme ve laboratuvar aőamasındaki yardımlarından dolayı, Öğr. Gör. Uğur ÖZDEK'e, istatistik analizlerini yapan Yrd. Doç. Dr. Ahmet Ufuk KMROğLU'na ve beni bu günlere getiren aileme teőekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Akut Miyokart İnfarktüsü	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Etiyoloji	3
2.1.3. Tanı.....	3
2.2. İsopteranol (ISO)	5
2.3. Sialik Asit.....	6
2.3.1. Sialik asitin yapısı.....	6
2.3.2. Sialik asitin metabolizması.....	7
2.3.3. Sialik asitin fonksiyonu	10
2.3.4. Sialik asit ve miyokart infarktüsü.....	11
2.4. Lipitler.....	12
2.4.1. Lipoproteinler ve ateroskleroz.....	12
2.5. Fenolik Bileşikler	13

2.5.1. Ellajik asit.....	14
2.5.2. Ellajik asitin biyosentezi.....	14
2.5.3. Ellajik asitin kimyasal özellikleri.....	15
2.5.4. Ellajik asitin biyolojik aktivitesi.....	15
2.5.5. Ellajik asitin bulunduğu yerler.....	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Gereç.....	17
3.1.1. Hayvan materyali.....	17
3.1.2. Analizlerde kullanılan cihaz ve malzemeler.....	17
3.1.3. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler.....	18
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması.....	18
3.2.2 Serum ve doku total sialik asit (TSA) analizi.....	20
3.2.3. Serum ve doku lipide bağlı sialik asit (LSA) analizi.....	22
3.2.4. Doku total protein analizi.....	24
3.2.5. Doku örneklerinin histopatolojik analizi.....	24
3.3. İstatistik Analiz.....	25
4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	39
ÖZET.....	48
SUMMARY.....	49
KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	57

EKLER.....	58
Ek. 1. YYU YUHADEK Sonuç Onay Belgesi	58
Ek. 2. Tez Orjinallik Belgesi.....	59



SİMGELER VE KISALTMALAR

cAMP:	Siklik adenozin monofosfat
CK-MB:	Kreatin kinaz
CM:	Şilomikron
cTnI:	Kardiyak troponin I
cTnT:	Kardiyak troponin T
CuSO₄:	Bakır (II) sülfat
EKG:	Elektrokardiyografi
HCl:	Hidroklorük asit
HDL:	Yüksek dansiteli lipoprotein
HE:	Hematoksilen eozin
HHDP:	Hegzahidroksidifenik
ISO:	İsoproterenol
LDH:	Laktat dehidrojenaz
LDL:	Düşük dansiteli lipoprotein
LSA:	Lipide bağlı sialik asit
MI:	Miyokart infarktüsü
NANA:	N-Asetil-nöraminik asit
PSA:	Proteine bağlı sialik asit
SA:	Sialik asit
TSA:	Total sialik asit
VLDL:	Çok düşük dansiteli lipoprotein

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Serum kardiyak belirteçleri.....	5
Tablo 2. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum kardiyak markır düzeyler.....	26
Tablo 3. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum lipit ve lipoprotein düzeyler.....	28
Tablo 4. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum / doku total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri.....	31
Tablo 5. ISO uygulanan gruplarda serum TSA, LSA ve CK-MB, cTnI, LDH arasındaki korelasyon analiz sonuçları.....	34

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Sialik asitin yapısı	7
Şekil 2. Sialik asit ve glikoprotein sentezi.....	9
Şekil 3. Ellajik asitin oluşumu	14
Şekil 4. Ellajik asitin açık formülü	15
Şekil 5. Total sialik asit (TSA) standart grafiği.....	22
Şekil 6. Lipide bağlı sialik asit (LSA) standart grafiği.....	24
Şekil 7. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum CK-MB aktivitesi	26
Şekil 8. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum cTnI seviyesi.....	27
Şekil 9. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum LDH aktivitesi	27
Şekil 10. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum kolesterol seviyesi	28
Şekil 11. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum trigliserid seviyesi.....	29
Şekil 12. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum LDL seviyesi	29
Şekil 13. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum VLDL seviyesi.....	30
Şekil 14. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum HDL seviyesi	31
Şekil 15. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum TSA seviyesi.....	32
Şekil 16. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum LSA seviyesi.....	32
Şekil 17. Kontrol ve deneme gruplarına ait doku TSA seviyesi	33
Şekil 18. Kontrol ve deneme gruplarına ait doku LSA seviyesi	33
Şekil 19. ISO grubu kalp kası histopatolojik yapısı	35
Şekil 20. EA + ISO grubu kalp kası histopatolojik yapısı.....	36
Şekil 21. Kontrol grubu kalp kası histopatolojik yapısı	37
Şekil 22. Ellajik asit grubu kalp kası histopatolojik yapısı.....	38

1. GİRİŞ

Miyokart infarktüsü (MI), genellikle ateroskleroz nedeni ile daralmış koroner atar damarlardan birinin yada birden fazlasının, trombotik tıkanması sonucu, kan akımının ani kesilmesine bağlı olarak gelişen geri dönüşümsüz kalp kasının (miyokart) nekrozudur. Kalp krizi olarakta adlandırılan miyokart infarktüsünün şiddeti, miyokartın oksijen gereksinimi ile koroner kan sağlanması arasındaki dengesizliğin derecesi ve süresi ile ilişkilidir (Şentürk, 2008; Kazezoğlu ve ark., 2009).

Kan akımının kesilmesine bağlı olarak gelişen hücre hasarı sonucunda, bazı hücre içerikleri ve membran bileşenleri dolaşıma geçer (Elliot ve Braunwald, 2004). Bunlardan kardiyak troponin 1 (cTn1), kardiyak troponin T (cTnT) ve kreatin kinaz-MB (CK-MB) miyokart infarktüsünün tanısında klinik olarak kullanılan önemli biyokimyasal parametrelerdir (McCord ve ark., 2003).

Doku ve hücrelerin, çözünebilir ve çözünemez komponentlerinin yapısal bileşenleri olan sialik asitler, proteine ve lipide bağlı oligosakkaridlerde terminal olarak bulunan, dokuz karbonlu şeker nöraminik asitin asetillenmiş türevleridirler. Total sialik asit (TSA), lipide bağlı sialik asit (LSA) ve proteine bağlı sialik asit (PSA) olmak üzere başlıca iki fraksiyondan oluşur (Kazezoğlu ve ark., 2009).

Lipide bağlı fraksiyonu başlıca, çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), lipoprotein (a) (Lp (a)) oluşturur. Sialik asitin proteine bağlı fraksiyonunun önemli bir kısmını ise, fibrinojen, C-reaktif protein (CRP), haptogloblin, serüloplazmin ve ferritin gibi akut faz proteinleri oluşturur (Schauer ve Kamerling, 1997).

Koroner kalp hastalığında, serum sialik asit düzeylerinde bir yükselmenin olduğu ve yüksek sialik asit düzeylerinin, artmış kardiyovasküler mortalite ve serebrovasküler hastalıkla ilişkili bir risk faktörü olabileceğinin gösterilmesi, sialik asite olan ilginin artmasına neden olmuştur (Knuiman ve ark., 2004).

Miyokart infarktüslü hastalarda, serum sialik asit düzeylerinde bir artış olduğu ve bu artıştan oligosakkarid yan zincirlerinin terminal pozisyonunda sialik asit kalıntısı içeren akut faz proteinlerinin karaciğerden dolaşıma artmış atılımlarının etkili olabileceği ileri sürülmüştür. Bununla birlikte MI sonrası, serumda yükselmiş sialik asit

düzeylelerinden, hasara uğramış miyokardial hücre ve/veya hücre membranından sialik asit kalıntılarının salınmasında etkili olabileceği belirtilmiştir (Haq ve ark., 1993; Crook ve ark., 1994). Hücre membranında sialik asit kalıntılarının salınması spontan olarak gelişebilir yada sialoglikokonjugatların terminal ucundan, sialik asit kalıntılarını koparan sialidaz aktivitesi artışına bağlı olabilir. Miyokardial iskemideki doku zedelenmesine eşlik eden oksidatif stres de akut miyokart sonrası artmış serum sialik asit düzeylerinden sorumlu olabilir (Şentürk, 2008).

Günümüzde kalp rahatsızlıklarından korunmak için, diyetin ve doğal fenolik antioksidanların tüketilmesinin etkili olduğu bilinmesine rağmen, bu bilginin uygulanması sınırlıdır. Ellajik asit (EA), ahududu, çilek, böğürtlen, kırmızı üzüm, nar, kiraz, vişne, kızılcık gibi farklı meyvelerde ve ceviz gibi kuruyemişlerde doğal olarak bulunan polifenolik bir bileşiktir. Ellajik asit, fenolik yapısından dolayı, in vitro olarak hidroksi ve süper oksit anyonlarına karşı koruyucu potansiyele sahip güçlü bir antioksidandır (Erenoğlu, 2012). Ellajik asitin bu özelliklerinden dolayı, anti-inflamatuar, antiöstrojenik, antimutajenik, antikanserojenik etkiler gösterdiği bildirilmektedir (Aviram ve ark., 2000; Gil ve ark., 2000; Papoutsis ve ark., 2005).

Bu çalışmanın amacı, birçok meyvede doğal olarak bulunan fenolik bir antioksidan olan ellajik asitin, deneysel miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda serum / doku total ve lipide bağlı sialik asit (TSA, LSA), serum lipit (kolesterol, trigliserid) ve lipoprotein (LDL, VLDL, HDL) düzeyleri üzerine etkisini araştırmak, ayrıca miyokart infarktüsü sonrası görülen serum sialik asit artışında hücre hasarının rolünü değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Miyokart İnfarktüsü

2.1.1. Tanım

Akut miyokart infarktüsü (MI), daha önceden ateroskleroz nedeni ile daralmış koroner arterlerin, trombotik tıkanması sonucu, kan akımının ani kesilmesine bağlı olarak meydana gelen geri dönüşümsüz kalp kası (miyokart) nekrozudur (Kazeroğlu ve ark., 2009).

2.1.2. Etiyoloji

Akut miyokart infarktüsünün % 85'den fazlası ateroskleroz daralmış bir koroner arteri tıkayan akut trombus ile oluşur (Ross ve Glomset, 1973). Akut miyokart infarktüsü; belirgin koroner ateroskleroz, plak fissürü, rüptürü veya plak içi hemorajiye eklenen trombus, trombosit aktivasyonu ile agregasyonu ve vazospazm gibi bazı etkenlerin ilişkisi sonucunda gelişmektedir (Falk ve Fuster, 2002). Rüptüre olmuş ya da üzerindeki endotelde fonksiyon bozukluğu gelişmiş olan aterom plağına yerleşen trombus, koroner damarlarda tıkanmaya ve iskemik nekroza neden olur (Demiroğlu, 2000).

Ateroskleroz dışında, miyokart infarktüsünde, koroner spazm, koroner emboli, koroner arter diseksiyonu, kan vizkosite artışı, aort darlığı, miyokart oksijen talebinde aşırı artış gibi faktörlerde rol oynar. Özellikle gençlerde veya koroner risk faktörü bulunamayan kişilerde görülen akut miyokart infarktüsünde ateroskleroz dışı diğer nedenler akla getirilmelidir (Pick ve ark., 1982).

2.1.3. Tanı

Akut miyokart infarktüsünün teşhisi, klinik tanı, elektrokardiyografi (EKG) deki değişiklikler ve spesifik serum enzim seviyelerinin yükselişleri temeline dayandırılarak yapılmaktadır (Gök, 1996; Öngen, 1997; Apple ve Henderson, 1999).

Kardiyak belirteçler, akut miyokart infarktüsünün veya minör miyokardial hasarın saptanmasında kullanılan klinik laboratuvar testleridir. Hücre yıkımına neden

olan miyokart nekrozu, hücrede mevcut bazı proteinlerin genel dolaşıma katılmasına neden olur. Bu proteinler arasında enzimler önemli yer tutmaktadır (Gök, 1996; Apple ve Henderson, 1999).

Kreatin kinaz (CK), özellikle çizgili kaslarda, kalp kasında ve beyinde bulunur ve üç izoenzimi vardır. İzoenzim BB tüm dokularda mevcuttur. Fakat daha çok beyinde yoğundur. İzoenzim MM özellikle iskelet kasında görülür. İzoenzim MB (CK-MB) kalp kasında yoğundur (Mayes ve ark., 1988; Karagül ve ark., 2000).

Laktat dehidrojenaz (LDH), kalpte, karaciğerde, kaslarda yoğundur. 5 izoenzimi vardır. Miyokart infarktüsü sırasında serum LDH toplam düzeyi 10'ncü saate doğru yükselir. En üst düzeye 72 saatte erişir, çok yavaş bir şekilde normale döner. Serum toplam LDH'nın yaklaşık %50'sini teşkil eder. Bu önemli bir biyolojik belirtidir (Karagül ve ark., 2000).

Bir infarktüsün oluşum zamanının saptanması serum enzim değerlerindeki değişikliklerin saatlendirilmesiyle mümkündür. Miyokart infarktüsünden sonra zaman içinde, plazma enzim düzeyleri, başlangıç ile ilk üç saat içinde normal kalır. 18. ve 36.'ncü saatlerde en üst düzeydedir. Daha sonra enzimin plazmadaki yarı ömrüne göre değerler normale döner. CK-MB'nin kısa sürede hızlı yükselip düştüğü, LDH aktivitesinin uzun sürede azaldığı bildirilmiştir (Karagül ve ark., 2000).

Miyokart infarktüsünden sonra, tanıda önemli olan enzimler dışında, bazı proteinlerde hücreden plazmaya salınır. Bunlar kardiyak troponin-T (cTnT) ve kardiyak troponin-I (cTnI) dir. cTnT ve cTnI kalp kasının kasılmasını sağlayan komplekslerdendir ve çözünürlükleri olmamasına rağmen çözünebilir bir fraksiyonu vardır (Karagül ve ark., 2000; McCord ve ark., 2003).

Genellikle infarktüsten sonra kardiyak troponinler, CK ve CK-MB ile aynı zamanda yükselmeye başlamalarına rağmen bu yükselme troponinlerde daha uzun süre devam eder. Çünkü çözünmeyen protein enfarkte olmuş kasta geç salınır. İnfarktüsten sonra 12 saat içinde kardiyak troponin ölçümü miyokardial infarktüste önem taşır (Karagül ve ark., 2000).

Tablo 1. Serum kardiyak belirteçleri (Apple ve Henderson, 1999)

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

CK: Kreatin kinaz; **CK-MB:** Kreatin kinaz-MB; **LD:** Laktat dehidrogenaz; **LD-1:** Laktat dehidrogenaz-1; **cTnI:** Kardiyak Troponin I; **cTnT:** Kardiyak Troponin T.

2.2. İsoproterenol (ISO)

Sentetik bir katekolamin olan ISO'nun sistemik ismi 4-(1hidroksi-2-[(metiletil) amino]etil)-1,2-benzendiol hidroklorit olup, kapalı formülü $C_{11}H_{17}NO_3HCl$ 'dir ve molekül ağırlığı 242.72 g'dır (Şentürk, 2008).

ISO vazodilatör etkiye sahiptir, barsakta inaktive edildiği için oral olarak kullanılmaz. İskemik koroner hastalığı olanlarda kontrendikedir. İsoproterenol aerosol şeklinde inhalasyon yoluyla, astım tedavisinde ve kronik bronşit ve amfizem tedavisinde kullanılan bir ilaçtır (Şentürk, 2008).

ISO, ratlarda deneysel olarak miyokart infarktüsü oluşturmak için yaygın olarak kullanılır (Benjamin ve ark., 1989). ISO kalp kasının infarktüs benzeri nekrozuna neden olur. İsoproterenolün oluşturduğu bu nekroz membran geçirgenliğinin değişmesine yol açarak, miyokart membran bütünlüğünün ve fonksiyonunun kaybına neden olur. ISO tarafından oluşturulan miyokart infarktüsü sonrası sıçan kalbinde oluşan patofizyolojik değişiklikler, insanlarda miyokart infarktüsü sonrası oluşan değişikliklere benzerlik göstermektedir (Davies ve Woolf, 1993).

ISO ile uyarılmış miyokardial hasarın mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen, çeşitli faktörlerin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Bunlardan, sıklık

adenozinmonofosfat (cAMP) düzeylerindeki artış (Bhagat ve ark., 1976), intrasellüler kalsiyum artışı ve yüksek enerjili fosfatların tüketilmesi en önemli faktörlerdendir (Fleckenstein ve ark., 1974). Ayrıca ISO'nun oksidatif metabolizmasından kaynaklanan serbest radikallerin aşırı üretimi de muhtemel mekanizmalar arasında sayılmaktadır (Singal ve ark., 1983).

2.3. Sialik Asit

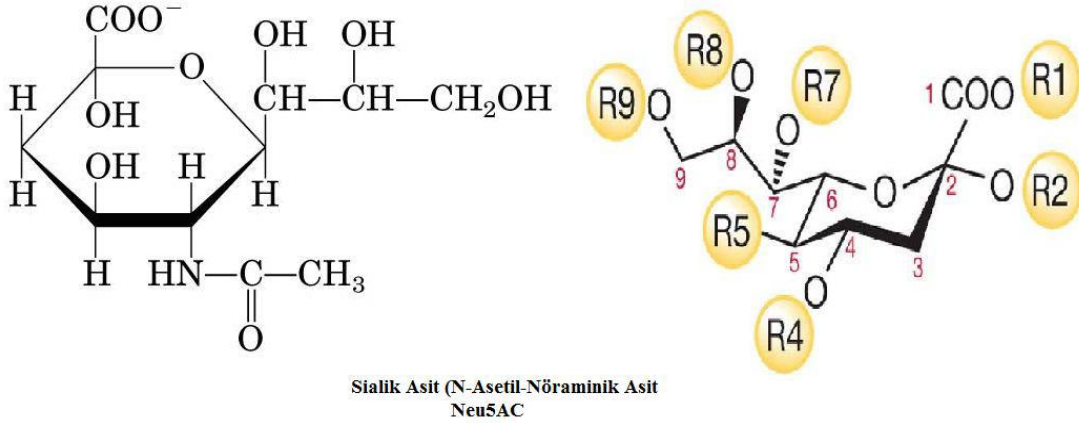
Nöraminik asit, mannozamin ve pürivattan oluşan 9 C'lu türev bir monosakkarittir. Nöraminik asitin beşinci karbondan asetilleşmiş şekline N-asetilnöraminik asit (sialik asit, NANA), ve glikolleşmiş şekline N-kolilnöraminik asit denir (Traving ve Schauer, 1998).

Total sialik asit (TSA), başlıca 2 fraksiyondan oluşur: lipide bağlı fraksiyon (lipide bağlı sialik asit, LSA) ve proteine bağlı fraksiyon (proteine bağlı sialik asit, PSA). Lipide bağlı fraksiyonu başlıca, çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL), düşük dansiteli lipoprotein (LDL), yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ve lipoprotein (a) [Lp (a)] oluşturur. Sialik asidin proteine bağlı fraksiyonunu ise, oligosakkarit yan zincirlerinin terminal pozisyonunda sialik asit kalıntıları bulunduran fibrinojen, C-reaktif protein (CRP), haptoglobin, serüloplazmin ve ferritin gibi akut faz proteinleri oluşturur (Schauer ve Kamerling, 1997; Byrne ve ark., 2007).

2.3.1. Sialik asitin yapısı

Doğada birçok canlı türünde yirmiden fazla sialik asit türü bulunmaktadır. Moleküler formülü $C_{11}H_{19}NO_9$ olan, NANA'nın molekül ağırlığı 309 dur. Asidik yapıya sahip olan sialik asidin 5. karbon atomunda bir amino grubu, 1. karbon atomunda karboksil grubu bulunur. Yapısındaki karboksil grubu sialik aside negatif yük kazandırır (Münster-Kühnel ve ark., 2004; Byrne ve ark., 2007).

Sialik asit, yapısındaki 4, 7, 8 ve 9 no'lu karbon atomlarındaki asetatlar, sülfatlar, fosfatlar ve metil esterleriyle hidroksillenmiş gruplar içerir. Sialik asit omurgasındaki bu grupların yer değiştirmesi sonucu meydana gelen modifikasyonlar sonucu sialik asit türevleri oluşur. Sialik asit'in 50'den fazla türevi bulunmaktadır (Münster-Kühnel ve ark., 2004; Byrne ve ark., 2007).



Şekil 1. Sialik asitin yapısı (Münster-Kühnel ve ark., 2004)

2.3.2. Sialik asitin metabolizması

Sialik asitin sentezi, sitozolde glukoz ile başlar. Hekzokinaz enziminin katalizlediği reaksiyonla glukozdan, glukoz-6-fosfat oluşur ve glukoz-6-fosfattan fosfohekzoizomeraz enziminin katalizlediği reaksiyonla fruktoz-6-fosfat oluşur. Fruktoz-6-fosfat, fruktoz-6-fosfat aminotransferaz enziminin katalizlediği reaksiyonla glutaminden amino grubu alarak glikozamin-6-fosfat'a dönüşür. Asetilaz enziminin katalizlediği reaksiyonla, glukozamin-6-fosfat, asetil-CoA ile asetillenerek N-asetil glukozamin-6-fosfat oluşur (Galeano ve ark., 2007).

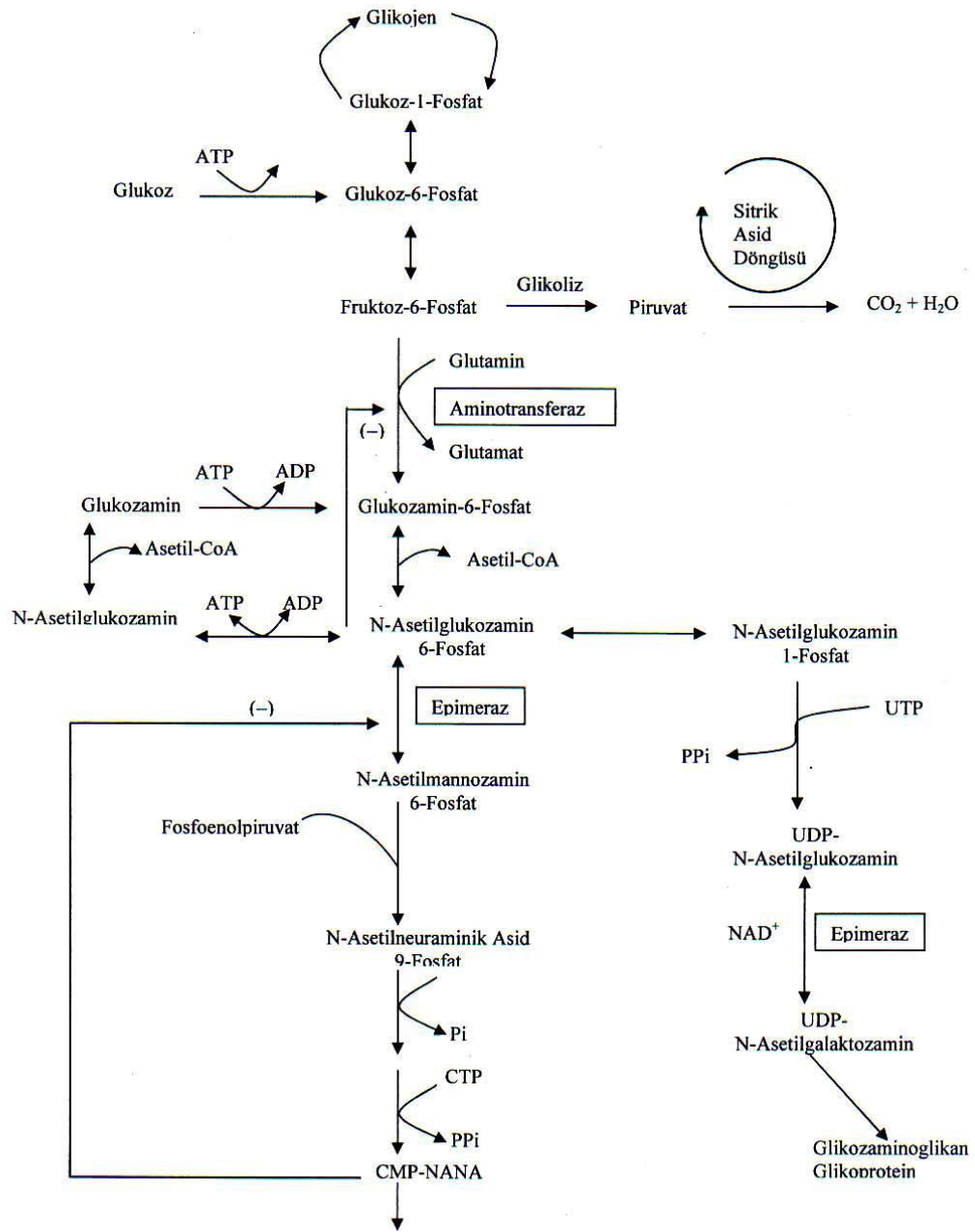
N-asetilglukozamin-6-fosfat iki farklı yola girer. Bunlardan biri mutaz enziminin katalizlediği reaksiyonla oluşan N-asetilglukozamin-1-fosfat, diğeri ise epimeraz enziminin katalizlediği reaksiyonla oluşan N-asetilmannozamin-6-fosfat'tır. N-asetilglukozamin-1-fosfat, üridindifosfat N-asetil glukozaminfosforilaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyonla üridindifosfat N-asetilglukozamine çevrilir (Galeano ve ark., 2007; Du ve ark., 2009).

N-asetilmannozamin-6-fosfat, fosfoenolpirüvat ile aldol kondenzasyonuna katılır ve reaksiyona girerek, N-asetilnöraminik asit-9-fosfat oluşur. Reaksiyonu sialik asit fosfataz enzimi katalizler. N-asetilnöraminik asit-9-fosfat'ın hidroliziyle NANA ve inorganik fosfat (Pi) oluşur. NANA nükleus da sitidin trifostat (CTP) ile aktiflenerek sitidinmonofosfat sialik asit (CMP-NANA) meydana gelir. Bu reaksiyon N-asetilnöraminik asit CMP pirofosforilaz tarafından katalizlenir. CMP sialik asitler

nukleusta sentezlenir ve golgi kompleksinde sialo-oligosakkaritlerin biyosentezinde substrat olarak kullanılırlar (Galeano ve ark., 2007; Du ve ark., 2009).

CMP-sialik asit kompleksindeki sialik asit kalıntılarının, asialoglikoproteinlere transferinden sorumlu enzimler glikoziltransferazlar grubuna dahil olan sialiltransferazlardır (E.C.2.4.99.1). Bu enzimler, monosakkaridleri glikoprotein veya glikolipid kalıntlarına eklerler (Kelm ve Schauer, 1997).

Memeli hücrelerinde, glukokonjugatların terminal ucunda bulunan sialik asit kalıntılarının hidrolizi sialidaz (nöraminidaz, EC.3.2.1.18) enzimiyle gerçekleşir, bu olaya desialilasyon denir (Fingerhut ve ark., 1992). Sialidaz, sialik asit katabolizmasında anahtar enzimdir ve memeliler gibi yüksek organizmaların yanı sıra basit organizmalarda da bulunur (Traving ve Schauer, 1998). Sialidaz ile sialik asit kalıntılarının uzaklaştırılması, sialoglikokonjugatın dolaşımdaki ömrünü, antijenik ekspresyon ve reseptör tarafından tanınma gibi önemli biyolojik süreçleri etkiler (Schauer, 1982; Miyagi ve Tsuiki, 1985; Fingerhut ve ark., 1992).



Şekil 2. Sialik asit ve glikoprotein sentezi (Mayes, 1993).

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

2.3.3. Sialik asitin fonksiyonu

Canlı hücre ve organizmalardaki moleküler ve hücrel etkileşimlerin kontrolünde sialik asitler önemli görevlere sahiptir. Sialik asitlerin %98-99'u glikoproteinlere, ufak bir bölümü lipidlere bağlıdır (Schauer, 1982).

Sialik asitin fonksiyonlarını;

1. Sialik asitlerin negatif yüklerinden dolayı fonksiyonları: Terminal durumdaki sialik asitlerin hücre adhezyonuna katıldığı kabul edilir (Schauer, 1982). Nöraminik asitin birinci pozisyonundaki karboksil grubu, fizyolojik pH'da moleküle güçlü bir organik asit kadar negatif bir yük kazandırır (NANA için $pK_a=2,6$) (Traving ve Schauer, 1998). Sialik asitin negatif yükünün itici elektrostatik gücü; hücre membranının yapısal bütünlüğünün korunmasında etkilidir. Sialik asitlerinin, elektrostatik itmeden dolayı trombositler, eritrositler ve kanser hücrelerinde hücre agregasyonunu önlediği bildirilmiştir (Ng ve Dain, 1976). Sialik asitlerin negatif yüklü karboksil grupları, hücre membranında Ca^{+2} 'un bağlanma yerlerinden biridir. Kas hücresinin deasilasyona uğraması sonucunda kalsiyumun membrana bağlanması azalır, hücreye girişi artar ve membran polaritesi azalır. Miyokart hücrelerinin yüzeyinde bol miktarda sialik asit vardır ve bu sialik asitler miyokardial kastaki Ca^{+2} alışverişini kontrol ederler (Schauer, 1982).

2. Reseptör bileşeni olarak sialik asitler: Sialik asitler, kan grubu maddeleri, hormonlar ve sitokinler gibi birçok endojen maddeler için reseptörlerinin gerekli bir bileşenidir. Bununla birlikte toksinler, virüs, bakteri ve protozoalar gibi birçok patojenik ajanlar sialik asit içeren reseptörler yoluyla konakçı hücrelere bağlanırlar (Traving ve Schauer, 1998).

3. Makromoleküler yapılarda sialik asitlerin etkileri: Sialik asit bölgeleri tüm glikoproteinlerin intrinsik akışkanlığını artırır. Bu nedenle solunum, sindirim, ürogenital sistem, göz içi sıvısı ve eklem sıvısı gibi müsin yapıdaki sekresyonların akışkanlığı üzerine önemli bir etkisi vardır (Schauer, 1982).

4. Sialik asitlerin maskeleyme etkisi: Maskeleyme özelliği sialik asitlerin en önemli görevlerinden birisidir. Sialik asitler, maskeleyme etkisiyle oligosakkarid zincirlerinin ve glukokonjugat moleküllerinin protein ve lipid kısımlarının

antijenikliğini azaltırlar. Sialik asitler maskeleyen etkisi ile eritrosit, lenfosit ve trombositlerin yaşam süreleri, immunglobulinlerin aktiviteleri, LDL'nin metabolik klirensi gibi birçok biyolojik olayı kontrol ederler (Traving ve Schauer, 1998).

5. Sialik asitlerin belirteç olarak önemi: Hücre membranları, hücrenin büyümesi ve neoplastik hareketleri için sialik asite ihtiyaç duyarlar. Glikoprotein ve gangliozidlerde yer alan sialik asit kalıntılarının, inflamatuvar hastalıklar ve kanser ile ilişkili hücre sel tanıma ve immünolojik reaksiyonlarda önemli rolü olduğu bildirilmiştir (Schauer, 1982). Kanserde ve renal hastalıklarda da sialik asit düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Özben, 1991; Kazezoğlu ve ark., 2007).

2.3.4. Sialik asit ve miyokart infarktüsü

Koroner kalp hastalığındanda serum sialik asit düzeylerinde bir yükselmenin olduğu ve yüksek sialik asit düzeylerinin, artmış kardiyovasküler mortalite ve serebrovasküler hastalık ile ilişkili bir kardiyovasküler risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Koroner lezyonların şiddeti ile, artmış TSA ve LSA arasında pozitif bir korelasyonun bulunduğu gösterilmiştir (Allain ve ark., 1996; Gökmen ve ark., 2002).

Miyokart infarktüsünden sonra da serum sialik asit düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. İnfarktüs sonrası gözlenen bu yükselmeden, oligosakkarid yan zincirlerinin terminal pozisyonunda sialik asit kalıntıları içeren, akut faz proteinlerinin, akut faz reaksiyonu sonucu karaciğerden artmış atılımlarının sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Haq ve ark., 1993; Crook ve ark., 1994).

Diğer yandan hasara uğramış miyokart hücre veya hücre membranından sialik asit kalıntılarının spontan ya da sialidaz aracılığı ile salıverilmesinin de bu yükselmede rolü olabileceği ileri sürülmüştür (Gökmen ve ark., 2000; Gökmen ve ark., 2006).

Miyokart infarktüslü hastaların, serum total ve/veya lipide bağlı sialik asit düzeylerindeki artıştan, karaciğer tarafından akut faz proteinlerinin dolaşıma atılımındaki artışın (Haq ve ark., 1993; Crook ve ark., 1994) ya da hücre hasarına bağlı olarak hücreden veya hücre membranından sialik asitin dolaşıma salıverilmesinin sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (Gökmen ve ark., 2000; Gökmen ve ark., 2006).

2.4. Lipitler

Lipitler, enerji deposu olarak rol oynarlar ve hücrenin önemli yapısal bileşenleridirler. Bazıları özelleşmiş fonksiyonlarada sahiptirler. Bu fonksiyonları yerine getirebilmek için bunlar plazmada proteinlere bağlı halde dokulara taşınırlar. Klinik açıdan plazma lipitleri ile iskemik damar hastalıkları arasında sıkı bir ilişki vardır (Karagül ve ark., 2000).

Kolesterol, steroid bir alkoldür, 3 nolu karbondaki OH ile alkol, 17. karbona bağlı hidrokarbon yan zinciriyle de lipit özelliği gösterir (Karagül ve ark., 2000). Kolesterol: dokularda serbest (1/3) ve ester (2/3) form olmak üzere iki şekilde bulunur. Tüm hücre membranlarının bileşeni olan serbest kolesterol, birçok dokuda bulunmaktadır. Prokaryot hücrelerin membranlarında bulunmayan kolesterol membrana sertlik verir (Karagül ve ark., 2000).

Trigliseridler, diyetin başlıca lipit bileşeni olup yağ asitlerinin gliserol esterleridir. Trigliseridler bitki ve hayvan hücrelerinde en fazla depo edilen ve en sık rastlanan lipitlerdir. Trigliseridler hücre membranlarında bulunmazlar. Trigliseridler metabolik enerjinin yoğun depolarıdır (Karagül ve ark., 2000).

Plazma lipoproteinleri, apolipoproteinler adı verilen özgün proteinler ve lipitlerin moleküler kompleksleridir. Lipoproteinler, lipitleri plazmada taşıırken çözünür tutmak ve kendi lipit içeriklerini dokulara verebilmek için etkili bir mekanizma olarak çalışırlar (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

Lipoprotein partiküllerini şilomikronlar (CM), çok düşük yoğunluklu lipoproteinler (VLDL), düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) oluşturur. Lipoprotein partikülleri tarafından taşınan başlıca lipitler, beslenme veya de novo sentezle elde edilen trigliseridler ile serbest veya esterleşmiş kolesteroldür (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).

2.4.1. Lipoproteinler ve ateroskleroz

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), aterosklerotik hastalığın gelişimi için bağımsız bir risk faktörüdür. VLDL'nin katabolizması sonucunda oluşan LDL, yüksek oranda serbest kolesterol, kolesterol esterleri ve fosfolipitleri taşırlar (Rajadurai ve

Prince, 2006). Düşük yoğunluklu lipoproteinler glikozillenme, oksidasyon, deasialasyon gibi çeşitli modifikasyonlara uğrayabilirler ve modifiye olan bu lipoproteinler ateroskleroz patogenezinde önemli rol oynar. Bu patogeneze üzerinde en çok çalışılan modifiye lipoprotein okside LDL dir. Okside LDL sitotoksik etkisi ile vasküler endotelde hasara yol açabilir, T lenfositler ve monositler için kemotaktik etki gösterebilir, köpük hücre oluşumunu arttırabilir. Özellikle son yıllarda, üzerinde önemle durulan diğer modifikasyon, LDL de sialik asit düzeyinin azalması ile meydana gelir. Deasile LDL olarak adlandırılan bu modifiye LDL düzeyinin koroner arter hastalarında yüksek olduğu saptanmıştır. Köpük hücre oluşumunu arttırarak ateroskleroz patogenezinde önemli rol oynar (Rajadurai ve Prince, 2006).

Oksidatif olarak modifiye olmuş LDL, okside olmamış LDL den daha fazla aterogenez oluşumuna katkıda bulunur. Okside LDL, çeşitli sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımını uyarır. Buna ek olarak arteriyel duvar kalınlaşmasına ve lezyonlara neden olan platelet agregasyonunu arttırmaları (Rajadurai ve Prince, 2006).

Artan LDL düzeyi kardiovasküler hastalıklar ile pozitif bir korelasyon gösterirken, HDL negatif korelasyon göstermektedir. HDL, kolesterolün ve trigliseridlerin periferik damarlardan alınarak karaciğere taşınması ve orada katabolize edilmesini sağlarlar. Böylece kanı kolesterol ve trigliseridden arındırırlar. Bu nedenle antiaterojenik etki gösterirler (Sheela ve Devi, 2001).

2.5. Fenolik Bileşikler

Benzen halkası içeren organik maddeler, genel olarak 'fenolik bileşikler' olarak bilinir. Bir adet hidroksil grubu içeren hidroksibenzen (fenol), fenolik bileşiklerin en basit şeklidir. Diğer fenolik bileşiklerin hepsi hidroksibenzenden köken alır (Cemeroğlu ve Acar, 1986).

Fenolik bileşiklere, antioksidatif ve antimikrobiyal etkileri nedeniyle "biyoflavonoid" adı da verilmektedir. Bazı kaynaklarda P vitamini olarak da adlandırılırlar (Cemeroğlu, 2004; Saldamlı, 2007).

Fenolik bileşikler, taşıdıkları aromatik halka sayılarına ve hidroksil gruplarına göre: fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik

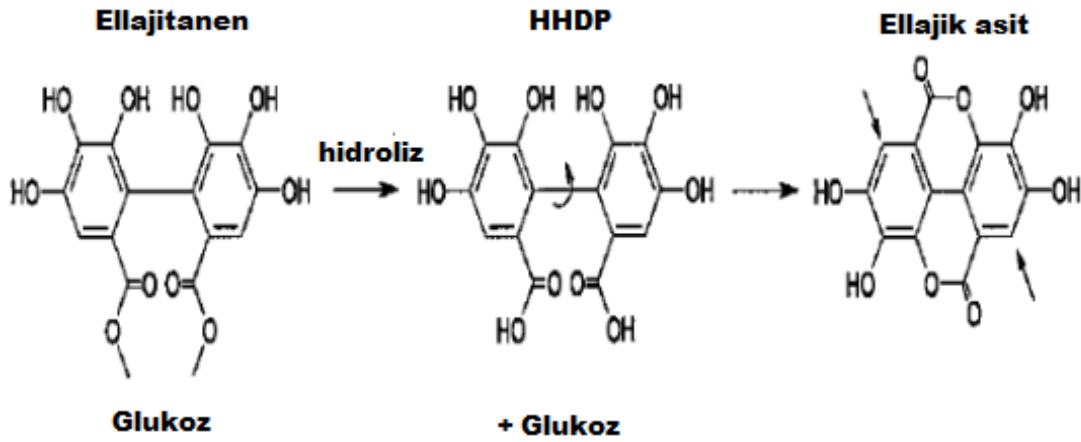
antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin ağızda acılık ve burukluk gibi tat unsurlarının oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, kırmızı gibi farklı tonlardaki renklerinin oluşmasında etkilidirler (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

2.5.1. Ellajik asit

Ellajik asit (EA) fenolik asit grubuna dahil olan bir polifenoldür (Manach ve ark., 2004).

2.5.2. Ellajik asitin biyosentezi

Hidrolitik koşullarda şeker ve bazı fenolik asitlere indirgenebilen kompleks fenollere, tanenler adı verilmektedir. Ellajitanenler, yüksek moleküler ağırlığa sahip suda çözünebilen fenolik bileşiklerdir. Ellajitanenlerin ester bağları hidrolize olduğunda heksahidroksidifenik (HHDP) ve glikoz ara ürünü oluşur. HHDP kendiliğinden laktonize olarak ellajik aside dönüşür (Hakkinen ve ark., 2000; Mullen ve ark., 2002). Ellajik asit, 4 hidroksil grubu ve 2 lakton grubu içerir. Hidroksil grubu antioksidan aktiviteyi artırır ve hücreleri oksidatif hasardan korur (Pari ve Sivasankari, 2008).

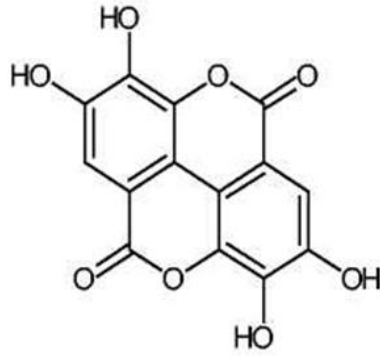


Şekil 3. Ellajik asitin oluşumu (Hakkinen ve ark., 2000)

2.5.3. Ellajik asitin kimyasal özellikleri

Ellajik asitin sistemik ismi, 2,3,7,8-tetrahidroksi (1) benzopirano (5,4,3-cde)(1) benzopiran-5,10 dion olup, kapalı formülü $C_{14}H_6O_8$ dir ve molekül ağırlığı 302,197 g/mol dür (Özgül, 2011).

Ellajik asit, doğada zayıf bir asit olup, 360°C üzerindeki yüksek erime noktası ile çok kararlı bir bileşiktir (Okeke, 2006). Ellajik asit, hidrofilik kısmı temsil eden dört fenolik ve iki lakton grupları ve lipofilik alanı temsil eden dört halka ile termodinamik olarak oldukça kararlı bir moleküldür. Dört fenolik grup, ellajik asite kalsiyum ve magnezyum gibi metal iyonları ile kompleks form oluşturmasını sağlamaktadır (Hurley, 1998). Ellajik asit; suda az çözüldüğü halde (Bala ve ark., 2006) metanolde, etanolde ve dimetilsülfoksitte iyi çözünmektedir (Aguilera-Carbo ve ark., 2007).



Şekil 4. Ellajik asitin açık formülü (Bala ve ark., 2006)

2.5.4. Ellajik asitin biyolojik aktivitesi

Ellajik asitin bir hücre tarafından algılanması ve kullanılabilmesi için uygun bir yapıda bulunması gereklidir. Bu form şeker molekülleri ile birleşmesi sonucunda oluşmaktadır (Erenoğlu, 2012).

Ellajik asidin serbest radikalleri süpürerek, oksidatif hasarlara ve bunların neden olduğu hastalıklara karşı organizmayı koruduğu belirtilmektedir. Ellajik asit lipit peroksidasyonunda E vitamininden daha fazla antioksidan etki göstermektedir. Ellajik asit suda çözünürlüğünün sınırlı olması, metanol ve dimetilsülfoksit gibi organik

çözücülerde daha iyi çözünmesinden dolayı iyi bir lipofilik antioksidan olarak etki gösterir (Priyadarsini ve ark., 2002).

Ellajik asit insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı önemli biyoaktif bileşenlerden biridir. Ellajik asidin antioksidan, antikanserojenik, antiöstrojenik ve antimutajenik etkilerinin bulunduğu bildirilmektedir (Seeram ve ark., 2006; Larrosa ve ark., 2006). Bununla birlikte ellajik asitin kardiyoprotektif etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Kannan ve Quine, 2013).

2.5.5. Ellajik asitin bulunduğu yerler

Doğada birçok bitkide bulunan ellajik asit havuç, domates, ahududu, kızılıcık, ceviz, nar, çilek ve yaban mersininde doğal olarak meydana gelen bir fenolik asittir (Saranya, 2012). Aynı zamanda ellajik asit birçok ağaçsı bitkide, ceviz ve fındık gibi kuruyemişlerde de bulunmaktadır (Lee ve Talcott, 2002).

Ellajik asit hidrolizasyondan önce, çilekte 17.7 µg/g, böğürtlende 87.6 µg/g, ahududu meyvesinde 5.84 µg/g (Amakura ve ark., 2000) ve hidrolizasyondan sonra, çilekte 630 µg/g, ahududunda 1500 µg/g, yaban mersininde 120 µg/g, cevizde 590 µg/g, fındıkta 330 µg/g olarak ölçmüştür (Bala ve ark., 2006).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan materyali

Çalışmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen, 32 adet 200–250 gr ağırlığında dişi Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar deneme süresince, 12 saat karanlık/aydınlatma uygulanmış, sıcaklığı $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ayarlanmış odalardaki kafeslerde barındırıldı. Hayvanlara ticari rat yemi (pellet yem) ve içme suyu *ad libitum* verildi.

Bu çalışma için Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 25.06.2015 tarih ve 2015/08 sayılı karar no ile onay alındı.

3.1.2. Analizlerde kullanılan cihaz ve malzemeler

Spektrofotometre (BOECO, Germany)

Homojenizatör (Yellowline)

Su banyosu (Nüve, BM 402)

Dijital pH metre (Inolab)

Hassas terazi (GeeAvery)

Soğutmalı santrüfuj (Universal 320R)

Derin dondurucu (Uğur)

Jelli vakumlu tüp

EDTA'lı tüp

Değişik hacimlerde otomatik pipet

Mikro ve makro spektroküveti

3.1.3. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler

İsoproterenol (Sigma, Aldrich)
Ellajik asit (Sigma, Aldrich, United Kingdom)
Perklorik asit (Merck)
P-dimetilaminobenzaldehit (Sigma, Aldrich)
Hidroklorik asit (Merck)
N-asetil nöraminik asit (Sigma, Germany)
Rezorsinol ayıracı (Sigma, Aldrich)
Bakır sülfat (Sigma, Aldrich)
Fosfotungistik asit (Sigma, Aldrich)
Sodyum dihidrojen fosfat (Merck)
Disodyum fosfat (Merck)
Kloroform (Meck)
Metanol (Merck)
Butil asetat (Sigma, Aldrich)
Butil alkol (Sigma, Aldrich)

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması

Çalışmada kullanılan ratlar rastgele seçilerek herbirinde sekiz rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (K): Bu gruptaki ratlara, 24 saat arayla toplam 2 kez, serum fizyolojik intraperitoneal uygulandı.

İsoproterenol (ISO) grubu: Bu gruptaki ratlara, 24 saat arayla iki kez, 150 mg/kg/gün isoproterenol (ISO) intraperitoneal olarak uygulandı (Şentürk, 2008).

Ellajik asit + ISO grubu (EA+ISO): Bu gruptaki ratlara, 14 gün boyunca 30 mg/kg/gün ellajik asit oral olarak uygulandı (Saranya, 2012). Ayrıca bu gruba 13. ve 14. günlerde 24 saat arayla iki kez 150 mg/kg/gün ISO intraperitoneal olarak uygulandı.

Ellajik asit grubu (EA) : Bu gruptaki ratlara, 14 gün boyunca 30 mg/kg/gün ellajik asit oral olarak uygulandı.

Uygulamaların hergün aynı saatte yapılmasına dikkat edildi.

Kan örneklerinin alınması

Miyokardial hücre hasarının belirteci olan kardiyak troponin I (cTnI)'nın, infarktüs sonrası ilk 24 saat içinde pik yapması nedeniyle, ISO'nun ikinci dozunun uygulanmasından 24 saat sonra intraperitoneal 75 mg/kg ketamin uygulanarak, anestezi altında periferik venöz kan örneği biyokimya tüplerine alındı. Alınan kan örnekleri, 1100 rpm de 10 dk santrifüj edilerek serumları çıkarıldı.

Doku örneklerinin alınması

Ratlar, ISO'nun ikinci dozundan sonra periferik kan örneklerinin alınmasını takiben, anestezi altında hemen sakrifiye edilerek, kalp dokuları çıkarıldı. Doku TSA, LSA ve protein analizi için alınan kalp dokusu soğuk serum fizyolojik ile iki kez yıkanarak, analiz gününe kadar -20 °C saklandı. Histopatolojik olarak incelenecek kalp dokuları ise formolle tespit edildi.

Akut miyokart infarktüsü sonrası, kalp dokusunda beklenen değişikliklerin histopatolojik olarak ortaya konulabilmesi için, en az iki haftalık bir süreye gerek olduğundan, ISO uygulanan gruplardaki ratlardan rastgele seçilen bir tanesi ISO'nun ikinci dozunun uygulanmasından sonra 15 gün daha yaşatıldı (Uzgun ve ark, 2011). Ardından anestezi altında sakrifiye edilerek kalp dokuları çıkartılıp formolle tespit edildi.

Serum örneklerinin analizi

Rat serumlarında, kreatin kinaz-MB (CK-MB), kardiyak troponin I (cTnI), laktat dehidrojenaz (LDH), serum lipid (trigliserit, kolesterol) ve lipoprotein (HDL, LDL ve

VLDL) ölçümleri otoanalizörde, total sialik asit (TSA) ve lipide bağlı sialik asit (LSA) ölçümleri spektrofotometrede yapıldı.

Doku homojenatının hazırlanması:

Kalp doku örnekleri üzerine 1/10 oranında soğuk 0.1 M fosfat tamponu (pH:7.4) ilave edilerek homojenize edildi. Doku homojenatları 4000x g'de ve +4°C'de 20 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi (Özçelik, 2012). Bu süpernatantlarda TSA ve LSA analizi yapıldı.

3.2.2 Serum ve doku total sialik asit (TSA) analizi

Prensip:

Serum ve doku örnekleri TSA düzeylerini belirlemek için Sydow (1985) tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Sialik asit, asit ile hidrolizde serbest hale geçer. Asidik ortamda ve periyodat varlığında okside edilir. Oksidasyon sonucu oluşan ürün, p-dimetilaminobenzaldehid varlığında pembe renkli bir ürün oluşmasına sebep olur. Absorbanslar 525 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür.

Çözeltiler:

%5'lik perklorik asit çözeltisi (V/V): 7,04 ml perklorik asit alınarak bir miktar distile su içinde çözüldü ve son hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

Ehrlich ayıracı: 5 gr p-dimetilaminobenzaldehid 50 ml yoğun HCl asit içerisinde çözüldü ve üzerine 50 ml distile su ilave edilerek hacmi 100 ml'ye tamamlandı. (Ehrlich Ayıracı, her ölçümden önce taze olarak hazırlandı).

N-asetil nöraminik asit (NANA) standart solüsyonunun hazırlanması: Fosfat tamponu (pH 7.4, 0.1 M) kullanılarak NANA (Sigma, Germany) standardından 100 mg/ml stok standart çözeltisi hazırlandı.

Deney prosedürü:

0.2 ml serum ve doku homojenizatı üzerine 1.5 ml % 5'lik perklorik asitten ilave edildi. 100°C'de 5 dakika kaynatıldı ve soğutuldu. Deney tüpleri 2500x g' de 4 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttan 1 ml alınarak temiz tüplere aktarıldı. Üzerine 0.2 ml Ehrlic ayıracı ilave edilerek 100°C'de 15 dakika kaynatıldı. Kaynatma işleminden sonra tüpler soğutuldu ve 1 ml distile su ilave edilerek 525 nm dalga boyunda absorbanları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

TSA düzeyinin hesaplanması:

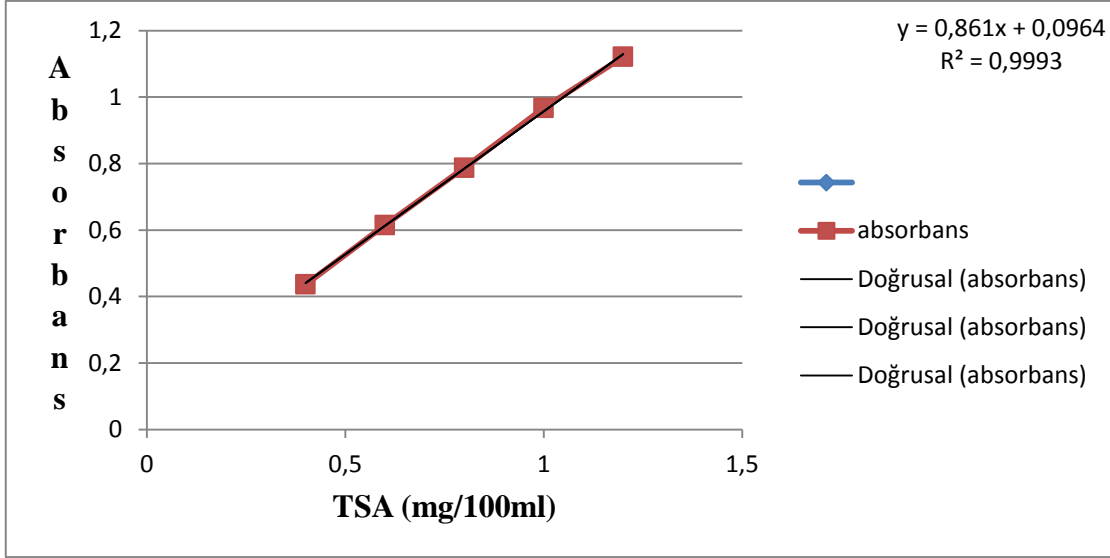
Örneklerin konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için NANA standardı 0,40, 0,60, 0,80 1,00 ve 1,20 mg/100ml'lik konsantrasyonlarında hazırlandı.

Standart tüplerine 1,5 ml perklorik asit, 0,2 ml Ehrlich reaktifi ve farklı konsantrasyonlardaki standartlardan 0,2 ml numaralandırılmış tüplere eklendi. Kör (distile su) ve örnek tüplerinde olduğu gibi işlemlerden geçirildi ve 525 nm'de absorbanları okundu.

Elde edilen absorbanlarla, konsantrasyon değerleri Microsoft Office Excel 2007 programı kullanılarak grafiğe geçirilerek standart grafiği elde edildi. Serum ve doku örneklerin konsantrasyonları, standart grafiği kullanılarak hesaplandı.

Doku sialik asit düzeylerinin hesabı için, doku homojenatlarında total protein seviyeleri ölçüldü ve örneklerin konsantrasyonları total proteinlerine oranlandı.

Doku TSA sonuçları, birim dönüştürülmesi yapılarak $\mu\text{g}/\text{mg}$ protein olarak verildi. Serum TSA sonuçları, mg/dL olarak verildi.



Şekil 5. Total sialik asit (TSA) standart grafiği

3.2.3. Serum ve doku lipide bağlı sialik asit (LSA) analizi

Prensip:

Serum ve doku örneklerinde LSA ölçümü, rezorsinolün sialik asitle oluşturduğu rengin 580 nm'de ölçülmesi prensibine dayanan (Katopodis ve ark., 1982; Katopodis ve Stock, 1980) yöntemine göre ölçüldü.

Çözeltiler:

Rezorsinolayracı: 0.2 gr rezorsinol tartıldı ve 10 ml distile suda çözüldü. Üzerine 80 ml HCl (% 36.5) ve 0.25 ml 0.1 M CuSO₄ ilave edilerek distile suyla hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Fosfotungistik asit: 10 gr fosfotungistik asit tartıldı ve 10 ml distile suda çözüldü.

Kloroform/metanol: 200 ml kloroform, 100 ml metanol alınarak son hacim 300 mL'ye tamamlandı.

Butilasetat/butilalkol: 85 ml butil asetat, 15 ml butil alkol alınarak son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Deney prosedürü

44.7 µL serum ve doku homojenizati üzerine 150 µL distile su katılarak vorteksle karıştırıldı. Buz üzerine bırakılan bu karışımın üzerine 3 ml kloroform-metanol (2:1 v/v) ilave edilerek tekrar vorteks ile karıştırıldı, üzerine 50 µl mL soğuk distile su ilave edildi. Karışım oda sıcaklığında 15 dk 2500 rpm'de santrifüj edildi. Üstteki süpernatantın 1 ml'si temiz bir tüpe aktarılarak üzerine 50 µl fosfotungistik asit eklendi ve 15 dakika 2500 rpm'de santrifüj edildi. Üstteki süpernatant kısmı uzaklaştırılarak 1 ml distile suyla dipte katı partikül kalmayınca kadar karıştırıldı. Üstüne rezorsinol ayırıcından 1ml ilave edildi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 15 dakika kaynar su banyosunda bekletilmesinin ardından 10 dakika buz banyosunda tutuldu. Soğumuş olan tüplere 2 ml butil asetat-butil alkol (85:15 v/v) eklenerek oda sıcaklığında tüpler vorteksledi. 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilen tüplerden süpernatant alınarak 580 nm'de spektrofotometrede absorbans değerleri okundu.

LSA düzeyinin hesaplanması:

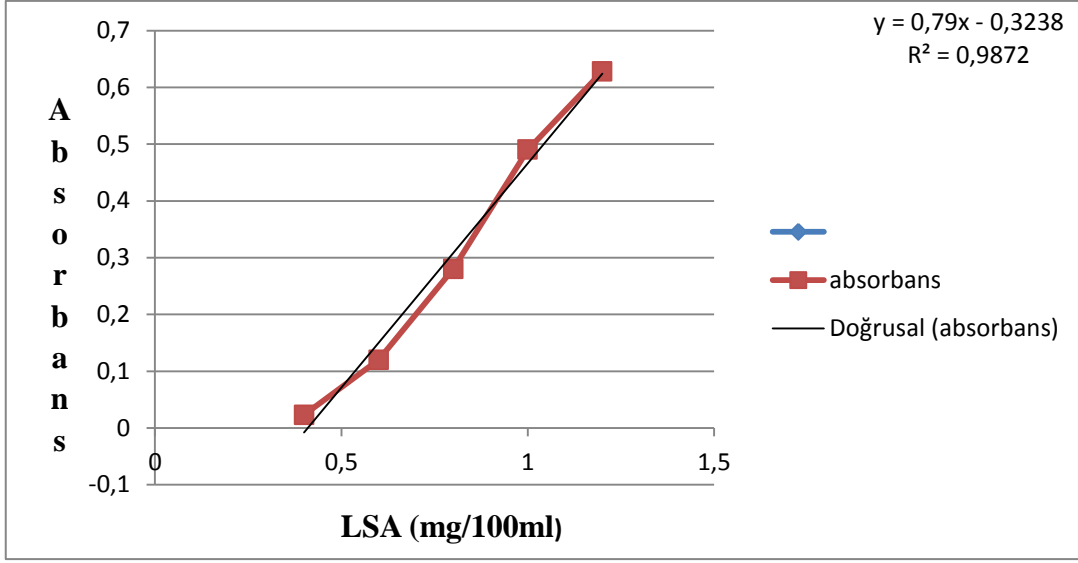
Örneklerin konsantrasyonlarını hesaplayabilmek için NANA standard 0,40, 0,60, 0,80 1,00 ve 1,20 mg/100'lik konsantrasyonlarında hazırlandı.

Standart tüplerine 3 ml Kloroform-Metanol, 50 µl fosfotungistik asit 1ml rezorsinol ayıracı ve 2 ml butil asetat-butil alkol eklendi ve farklı konsantrasyonlardaki standartlardan 44.7 µl numaralandırılmış tüplere eklendi. Kör (distile su) ve örnek tüplerinde olduğu gibi işlemlerden geçirildi ve 580 nm'de absorbansları okundu.

Elde edilen absorbanslarla, konsantrasyon değerleri Microsoft Office Excel 2007 programı kullanılarak grafiğe geçirilerek standart grafiği elde edildi. Serum ve doku örneklerin konsantrasyonları, standart grafiği kullanılarak hesaplandı.

Doku sialik asit düzeylerinin hesabı için, doku homojenatlarında total protein seviyeleri ölçüldü ve örneklerin konsantrasyonları total proteinlerine oranlandı.

Doku LSA sonuçları, µgr/mg protein olarak verildi. Serum LSA sonuçları, mg/dl olarak verildi.



Şekil 6. Lipide bağlı sialik asit (LSA) standart grafiği

3.2.4. Doku total protein analizi

Doku total protein analizi Lowry metodu kullanılarak yapıldı (Lowry ve ark., 1951). Analiz için 0.5 ml örnek (1/10 dilüe edilmiş) ile 0.5 ml alkali bakır ayırıcı bir deney tüpüne kondu ve 10 dk oda ısısında bekletildi. Üzerine 2ml folin ayırıcı kondu ve 30 dk 37 °C’de bekletildi. Absorbans köre karşı 660 nm’de okundu.

Standart eğrisinin hazırlanması için 4, 8, 12, 16 ve 20 mg/100ml konsantrasyonlarında albümin standart çözeltileri hazırlandı. Yukarıdaki yöntem, hazırlanan albümin standart çözeltilerine uygulandı. Absorbansları okunarak konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi. Bu grafik kullanılarak numunelerdeki protein düzeyleri hesaplandı.

3.2.5. Doku örneklerinin histopatolojik analizi

Yapılan nekropsi sonucu histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan dokular %10’luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildikten sonra, akan çeşme suyunda 10 saat yıkandı. Rutin doku takibinde alkol ve ksilol serilerinden geçtikten sonra parafinde bloklara gömüldü. Her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alınıp lam üzerinde preparatlar hazırlandı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ve adezyonda fibröz dokunun daha doğru bir şekilde

değerlendirilebilmesi için massontrikrom ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi (Luna,1968; Taylor ve Cote,1994)

3.3. İstatistik Analiz

Sürekli değişkenlerin normal dağılma uygunluğu Duncan testi ile analiz edildi. Normal dağılım gösteren değişkenler için grupları karşılaştırmada tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yapıldı. Korelasyon analizleri Pearson testi ile yapıldı. Sonuçlar ortalama standart sapma olarak ifade edildi. Anlamlılık $p<0.05$ düzeyinde değerlendirildi. Tüm analizler SPSS (20.0) paket programı kullanılarak yapıldı.



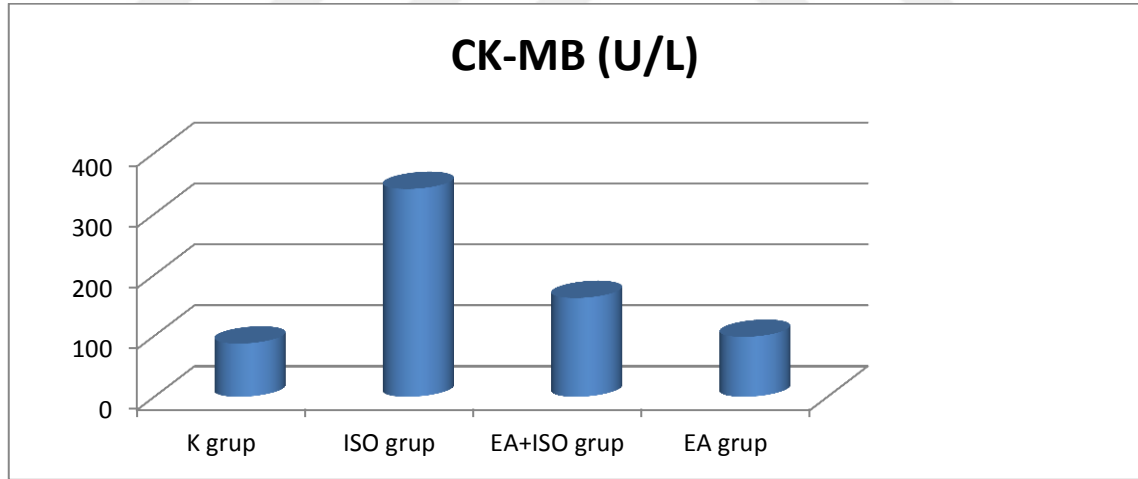
4. BULGULAR

Kontrol (K) grubu, İsopterenol (ISO) grubu, ellajik asit + ISO (EA+ISO) grubu ve ellajik asit (EA) grubuna ait serum kardiyak markır düzeyleri Tablo 2’de, lipit ve lipoprotein düzeyleri Tablo 3’de, serum / doku total ve lipide bağılı sialik asit düzeyleri Tablo 4’de ve ISO uygulanan gruplarda serum TSA, LSA ve CK-MB, cTnI, LDH arasındaki korelasyon analiz sonuçları Tablo 5’de verildi.

Tablo 2. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum kardiyak markır düzeyleri

Parametreler	K grup X ± SX	ISO grup X ± SX	EA+ISO grup X ± SX	EA grup X ± SX
CK-MB (U/L)	87,39±3,34 ^c	341,16±42,92 ^a	162,23±13,68 ^b	98,42±4,26 ^{b,c}
cTnI (ng/ml)	0,54±0,18 ^c	22,20±2,96 ^a	16,97±0,65 ^b	0,43±0,11 ^c
LDH (U/L)	196,67±22,58 ^b	321,50±0,43 ^a	281,71±30,33 ^a	187,86±7,96 ^b

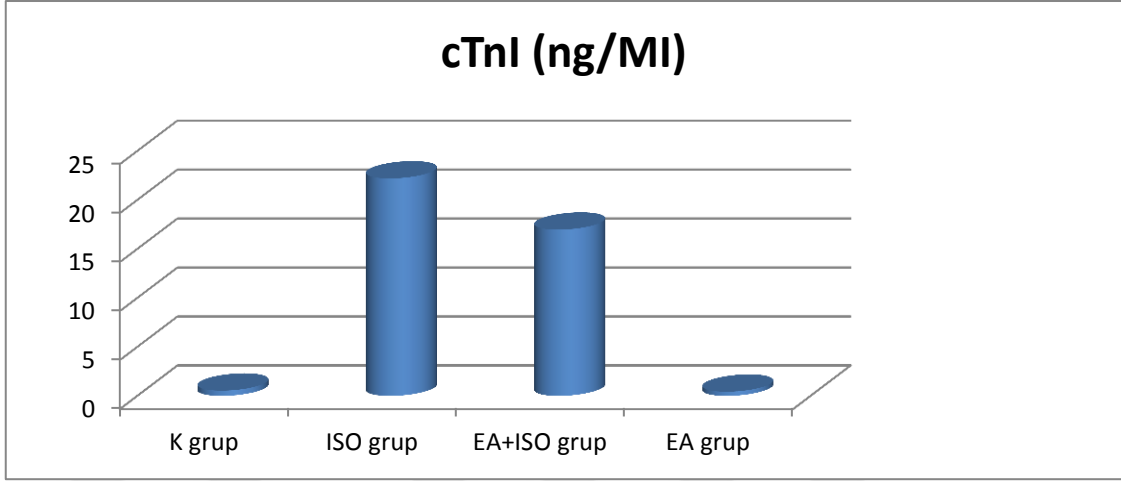
p<0.05; a, b, c: aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasında fark istatistik olarak önemlidir. **CK-MB:** kreatin kinaz-MB, **cTnI:** kardiyak troponin I, **LDH:** laktat dehidrojenaz



Şekil 7. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum CK-MB aktivitesi

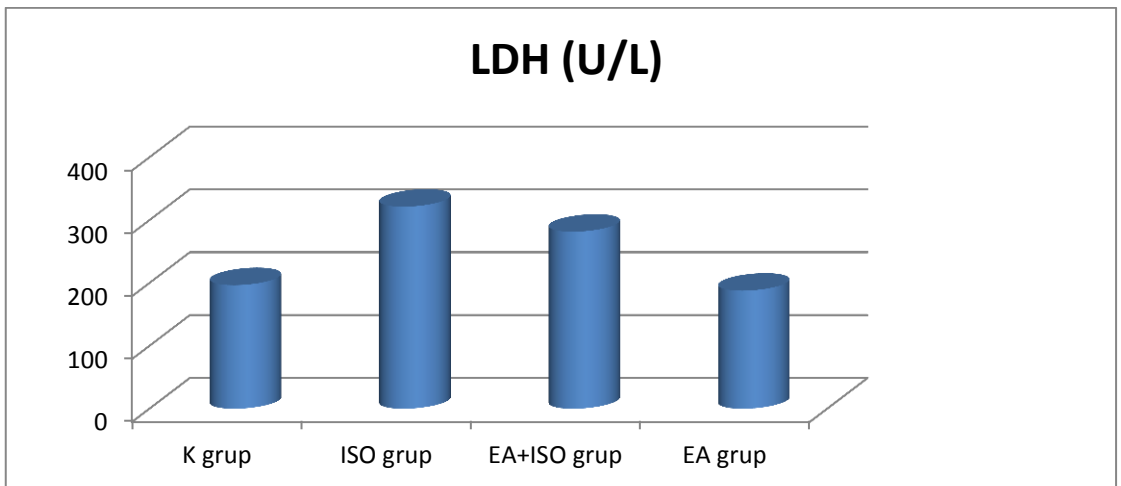
Kreatin kinaz MB (CK-MB) aktivitesinin, ISO grubunda, kontrol, EA + ISO ve EA gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği tespit edildi (P<0.05). ISO grubuna göre, EA+ISO grubunda, CK-MB aktivitesinin düştüğü, bununla birlikte kontrol grubundan yüksek olduğu belirlendi (P<0.05). CK-MB

aktivitesi açısından, EA grubu ile EA+ISO ve kontrol grupları arasında istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).



Şekil 8. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum cTnI seviyesi

Kardiyak troponin I (cTnI) seviyesinin, ISO grubunda, kontrol, EA+ISO ve EA ve gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği tespit edildi ($P<0.05$). ISO grubuna göre, EA+ISO grubunda cTnI seviyesinin düştüğü, bununla birlikte kontrol ve EA gruplarından yüksek olduğu belirlendi ($P<0.05$). EA ve kontrol grupları arasında cTnI seviyesi açısından istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).



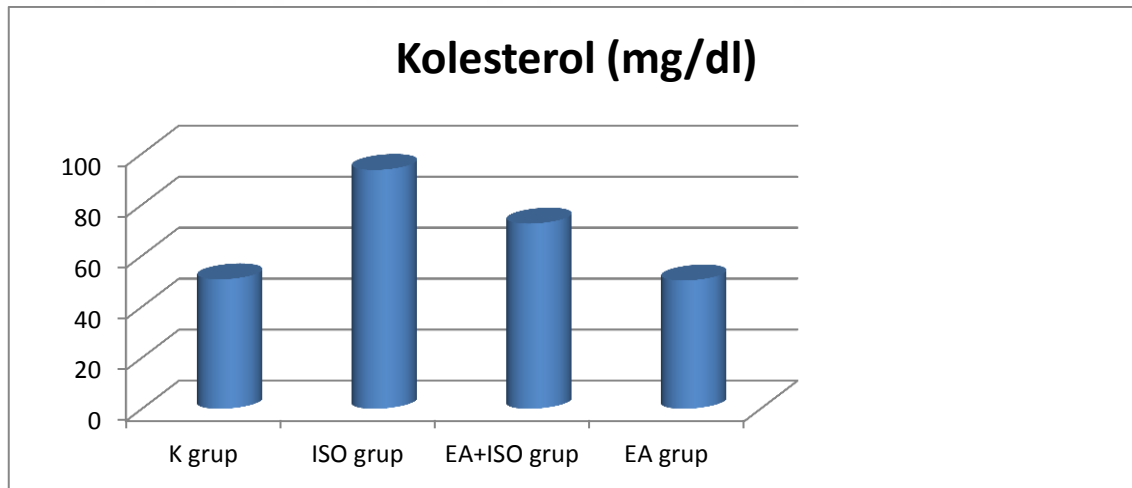
Şekil 9. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum LDH aktivitesi

Laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin, ISO grubunda, kontrol ve EA gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği ($P<0.05$), fakat EA+ISO grubu ile arasında istatistik olarak bir fark oluşmadığı tespit edildi ($P>0.05$). LDH aktivitesi açısından EA ve kontrol grupları arasında istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).

Tablo 3. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum lipit ve lipoprotein düzeyleri

Parametre	K grup X ± SX	ISO grup X ± SX	EA+ISO grup X ± SX	EA grup X ± SX
Kolesterol (mg/dl)	50,75±1,48 ^c	93,63±1,87 ^a	72,6±3,12 ^b	50,31±1,74 ^c
Trigliserid (mg/dl)	51,18±2,24 ^c	102,2±3,74 ^a	71,81±4,89 ^b	52,47±2,77 ^c
LDL (mg/dl)	56,83±7,47 ^b	118,03±17,09 ^a	101,78±11,01 ^a	58,37±7,32 ^b
VLDL (mg/dl)	11,83±0,60 ^c	31,33±1,68 ^a	20,29±0,80 ^b	16,86±1,61 ^b
HDL (mg/dl)	39,83±2,21 ^b	29,10±1,26 ^a	33,00±1,09 ^a	39,77±2,66 ^b

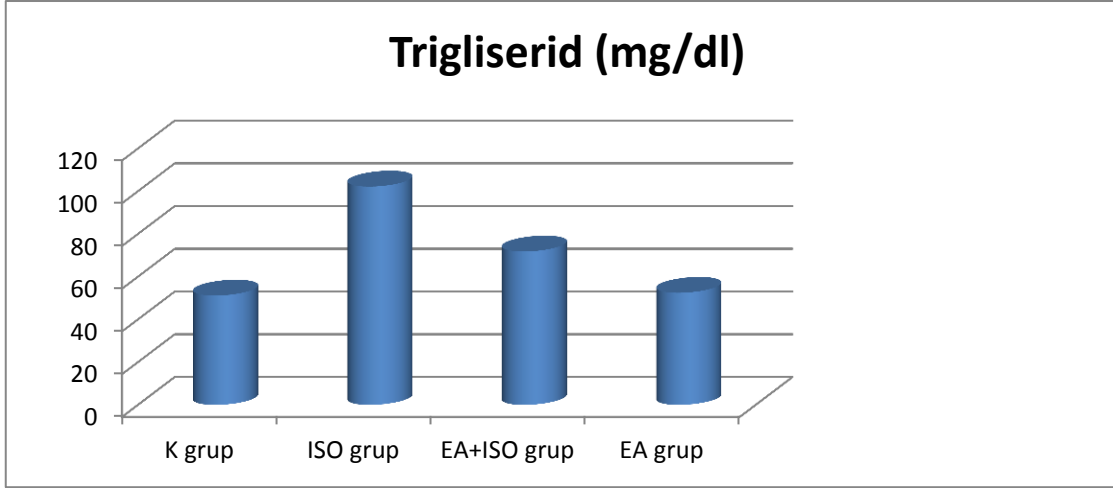
$p<0.05$; a, b,c: aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasında fark istatistik olarak önemlidir. **LDL**: düşük dansiteli lipoprotein, **VLDL**: çok düşük dansiteli lipoprotein, **HDL**: yüksek dansiteli lipoprotein.



Şekil 10. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum kolesterol seviyesi

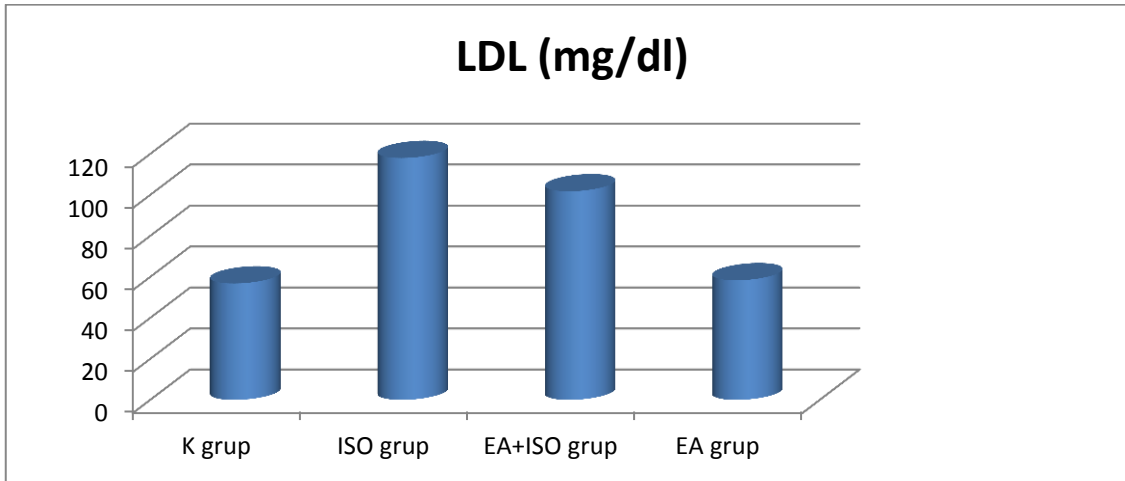
Kolesterol seviyesinin, ISO grubunda, kontrol, EA ve EA+ISO gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde arttığı tespit edildi ($P<0.05$). ISO grubuna göre, EA+ISO grubunda kolesterol seviyesinin düştüğü, ancak kontrol ve EA gruplarından

yüksek olduğu belirlendi ($P<0.05$). EA ve kontrol grupları arasında kolesterol seviyesi açısından istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).



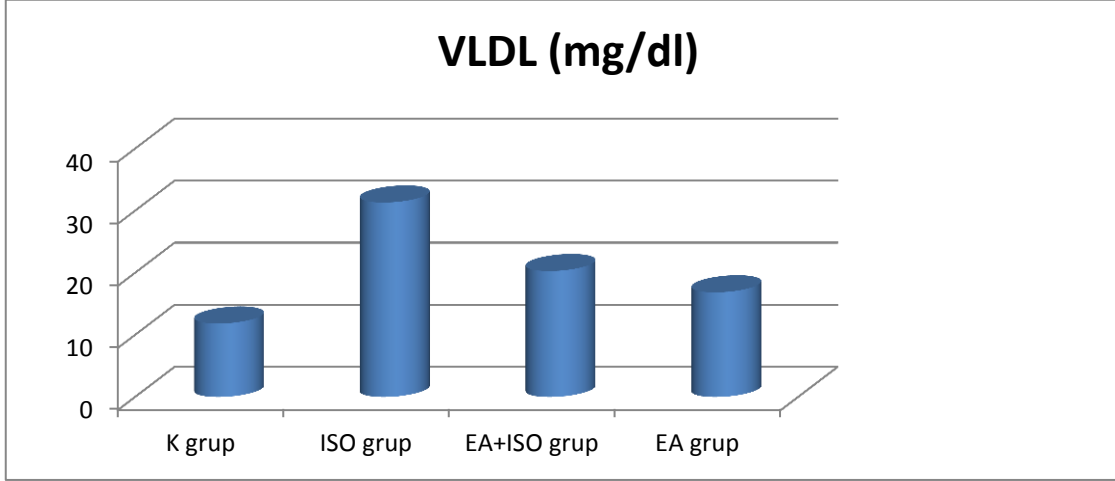
Şekil 11. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum trigliserid seviyesi

Trigliserid seviyesinin, ISO grubunda, kontrol, EA ve EA+ISO gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği tespit edildi ($P<0.05$). ISO grubuna göre, EA+ISO grubunda trigliserid seviyesinin düştüğü, ancak kontrol ve EA gruplarından yüksek olduğu belirlendi ($P<0.05$). EA ve kontrol grupları arasında trigliserid seviyesi açısından istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).



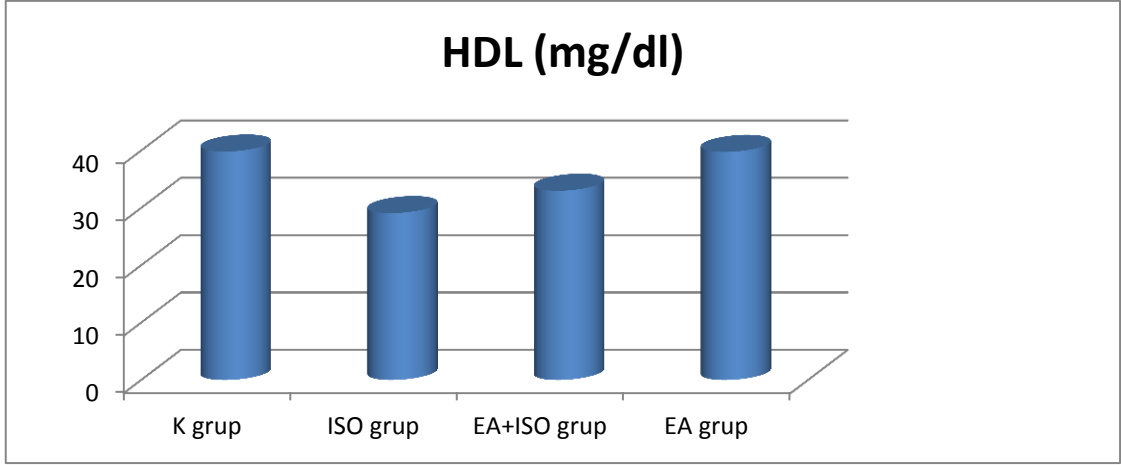
Şekil 12. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum LDL seviyesi

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyesinin, ISO grubunda, kontrol ve EA gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği ($P<0.05$), fakat EA + ISO grubu ile arasında bir fark oluşmadığı tespit edildi ($P>0.05$). LDL seviyesi açısından EA ve kontrol grupları arasında fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).



Şekil 13. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum VLDL seviyesi

Çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), seviyesinin ISO grubunda, kontrol, EA ve EA+ISO gruplarına göre, istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği tespit edildi ($P<0.05$). ISO grubuna göre, EA+ISO grubunda VLDL seviyesinin düştüğü, ancak kontrol grubundan yüksek olduğu belirlendi ($P<0.05$). VLDL seviyesi açısından, EA+ISO ve EA grupları arasında istatistik olarak fark olmadığı saptandı ($P>0.05$). EA grubunda, VLDL seviyesinin, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($P<0.05$).



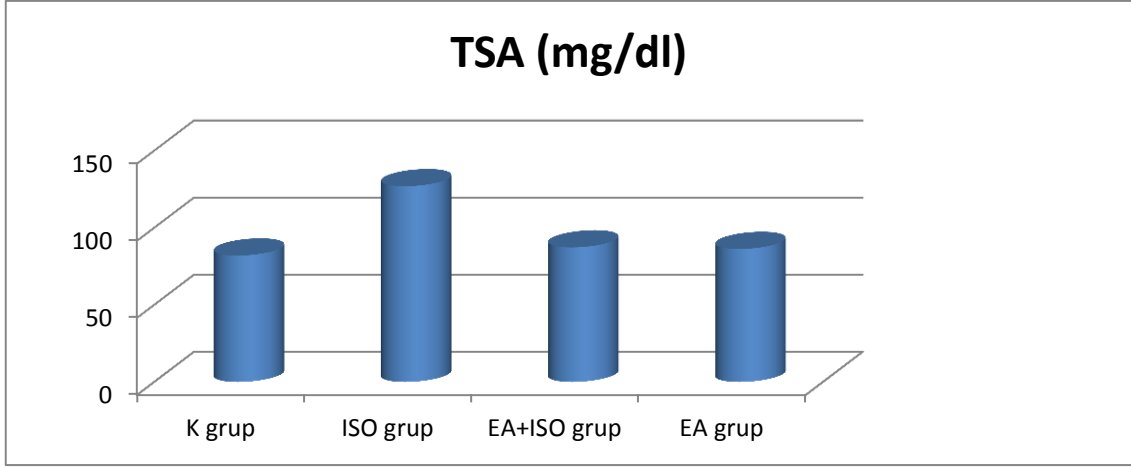
Şekil 14. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum HDL seviyesi

Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyesinin, ISO grubunda, kontrol ve EA gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde düştüğü ($P < 0.05$), fakat EA + ISO grubu ile arasında istatistik olarak bir fark oluşmadığı tespit edildi ($P > 0.05$). HDL seviyesi açısından EA ve kontrol grupları arasında istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P > 0.05$).

Tablo 4. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum / doku total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri

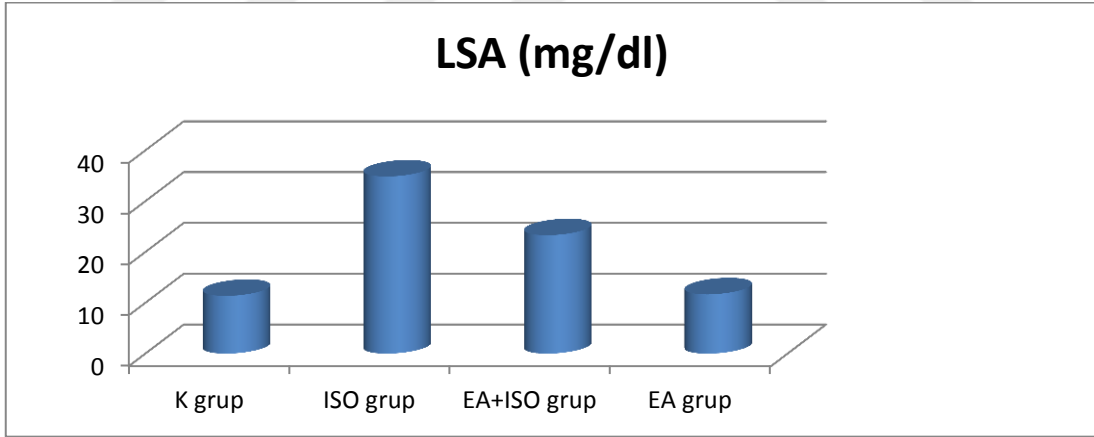
Parametre	K grup X ± SX	ISO grup X ± SX	EA+ISO grup X ± SX	EA grup X ± SX
Serum (mg/dl)				
TSA	82,03±4,99 ^b	126,98±10,64 ^a	87,32±9,52 ^b	86,28±5,04 ^b
LSA	11,37±2,51 ^c	34,87±1,29 ^a	23,31±1,99 ^b	11,67±1,33 ^c
Doku (µg/mg protein)				
TSA	9,41±0,21 ^b	11,14±0,39 ^a	9,56±0,42 ^b	8,69±0,50 ^b
LSA	4,76±0,14 ^b	6,82±0,52 ^a	4,89±0,30 ^b	4,92±0,20 ^b

$p < 0.05$; a, b, c: aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasında fark istatistik olarak önemlidir. **TSA:** total sialik asit, **LSA:** lipide bağlı sialik asit



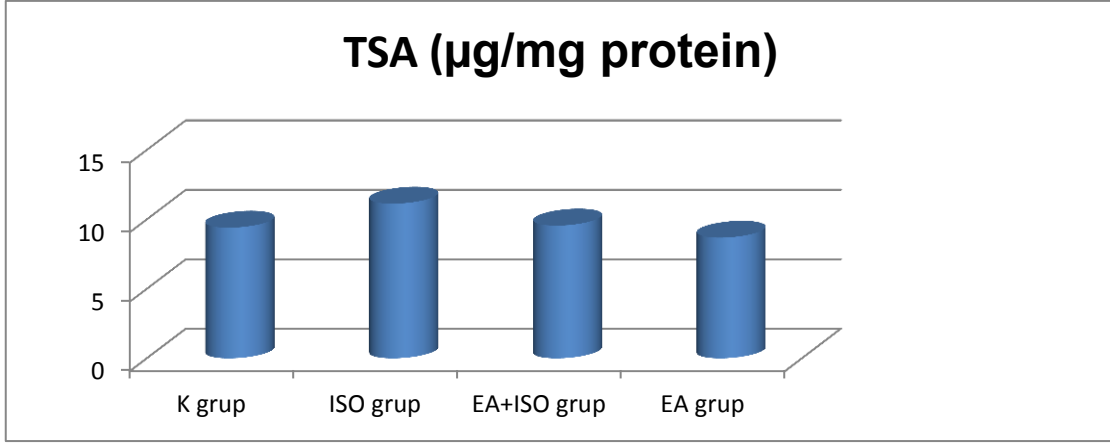
Şekil 15. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum TSA seviyesi

Serum total sialik asit (TSA) seviyesinin, ISO grubunda, kontrol, EA ve EA+ISO gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği tespit edildi ($P<0.05$). ISO grubuna göre, EA+ISO grubunda, TSA seviyesinin azaldığı belirlendi ($P<0.05$). Serum TSA seviyesi açısından kontrol, EA+ISO ve EA grupları arasında istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).



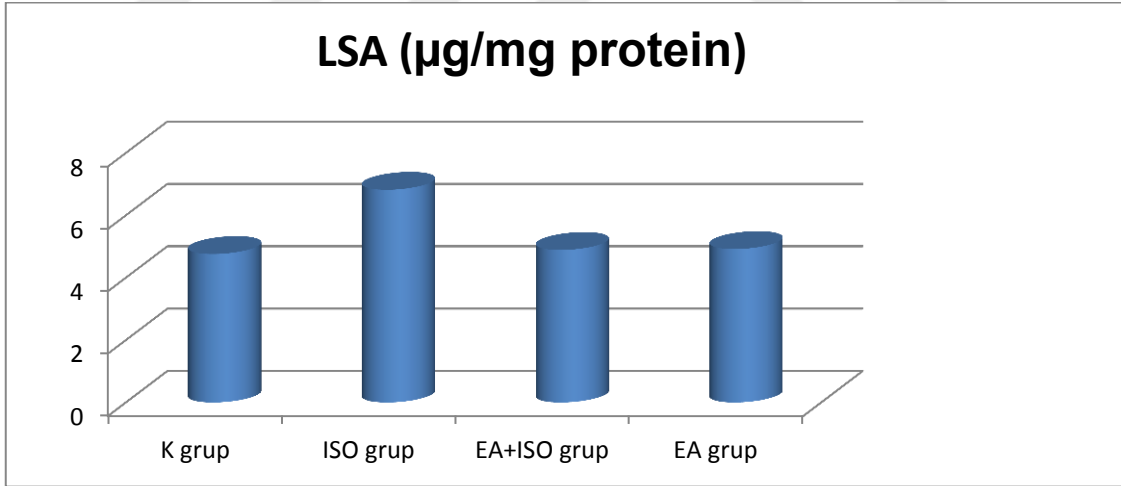
Şekil 16. Kontrol ve deneme gruplarına ait serum LSA seviyesi

Serum lipit bağlı sialik asit (LSA) seviyesinin, ISO grubunda, kontrol, EA ve EA+ISO gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği tespit edildi ($P<0.05$). ISO grubuna göre, EA+ISO grubunda LSA seviyesinin azaldığı, ancak kontrol ve EA gruplarından yüksek olduğu belirlendi ($P<0.05$). EA ve kontrol grupları arasında LSA seviyesi açısından istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).



Şekil 17. Kontrol ve deneme gruplarına ait doku TSA seviyesi

Doku total sialik asit (TSA) seviyesinin, ISO grubunda, kontrol, EA ve EA+ISO gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği tespit edildi ($P<0.05$). ISO grubuna göre, EA+ISO grubunda, doku TSA seviyesinin azaldığı belirlendi ($P<0.05$). Doku TSA seviyesi açısından kontrol, EA+ISO ve EA grupları arasında istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).



Şekil 18. Kontrol ve deneme gruplarına ait doku LSA seviyesi

Doku lipit bağlı sialik asit (LSA) seviyesinin, ISO grubunda, kontrol, EA ve EA+ISO gruplarına göre istatistik olarak anlamlı olacak şekilde yükseldiği tespit edildi ($P<0.05$). ISO grubuna göre, EA+ISO grubunda, doku LSA seviyesinin azaldığı

belirlendi ($P < 0.05$). Doku LSA seviyesi açısından kontrol, EA+ISO ve EA grupları arasında istatistik olarak bir fark olmadığı saptandı ($P > 0.05$).

Tablo 5. ISO uygulanan gruplarda serum TSA, LSA ve CK-MB, cTnI, LDH arasındaki korelasyon analiz sonuçları.

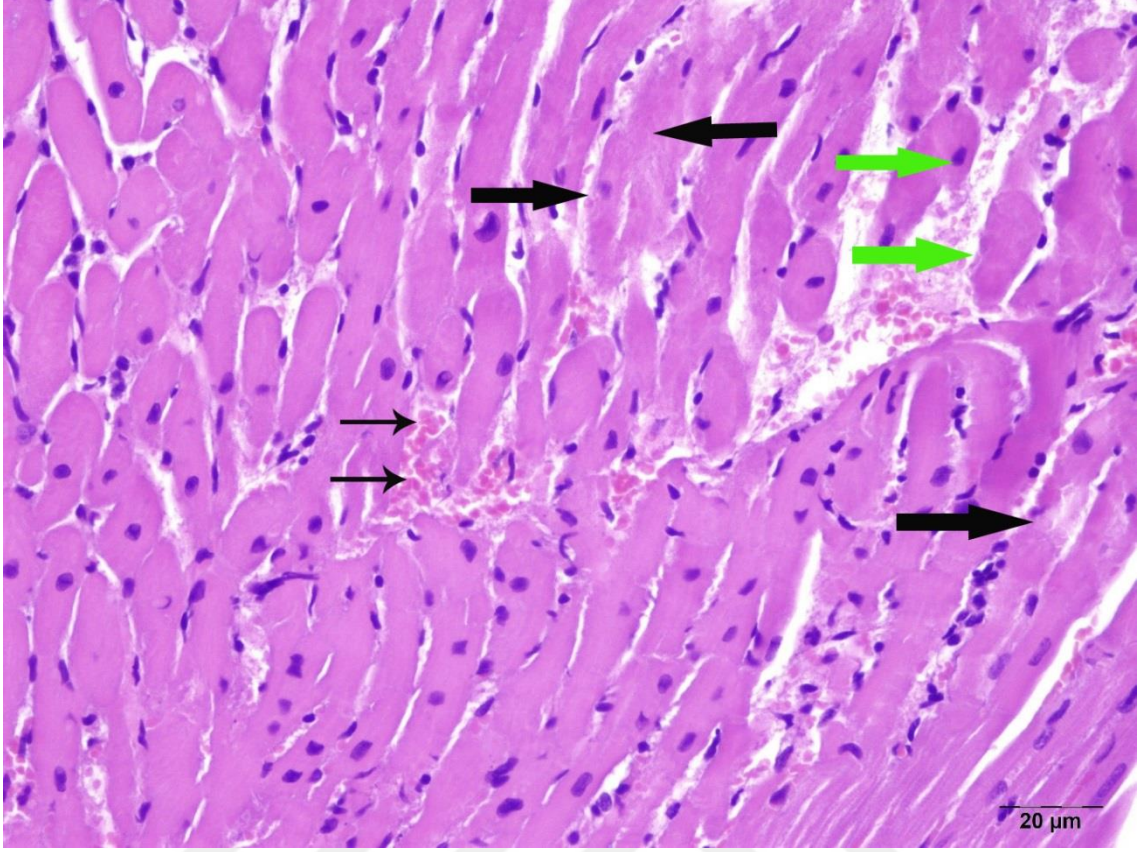
	ISO grup X ± SX		EA+ISO grup X ± SX	
	r	p	r	p
TSA/CK-MB	-0.853	0.066	0.592	0.293
TSA/cTnI	0.437	0.461	0.125	0.841
TSA/LDH	0.095	0.879	0.294	0.632
LSA/CK-MB	0.312	0.609	-0.067	0.900
LSA/cTnI	-0.752	0.142	-0.174	0.741
LSA/LDH	0.486	0.407	0.227	0.666

$p < 0.05$; a, b, c: aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasında fark istatistik olarak önemlidir.

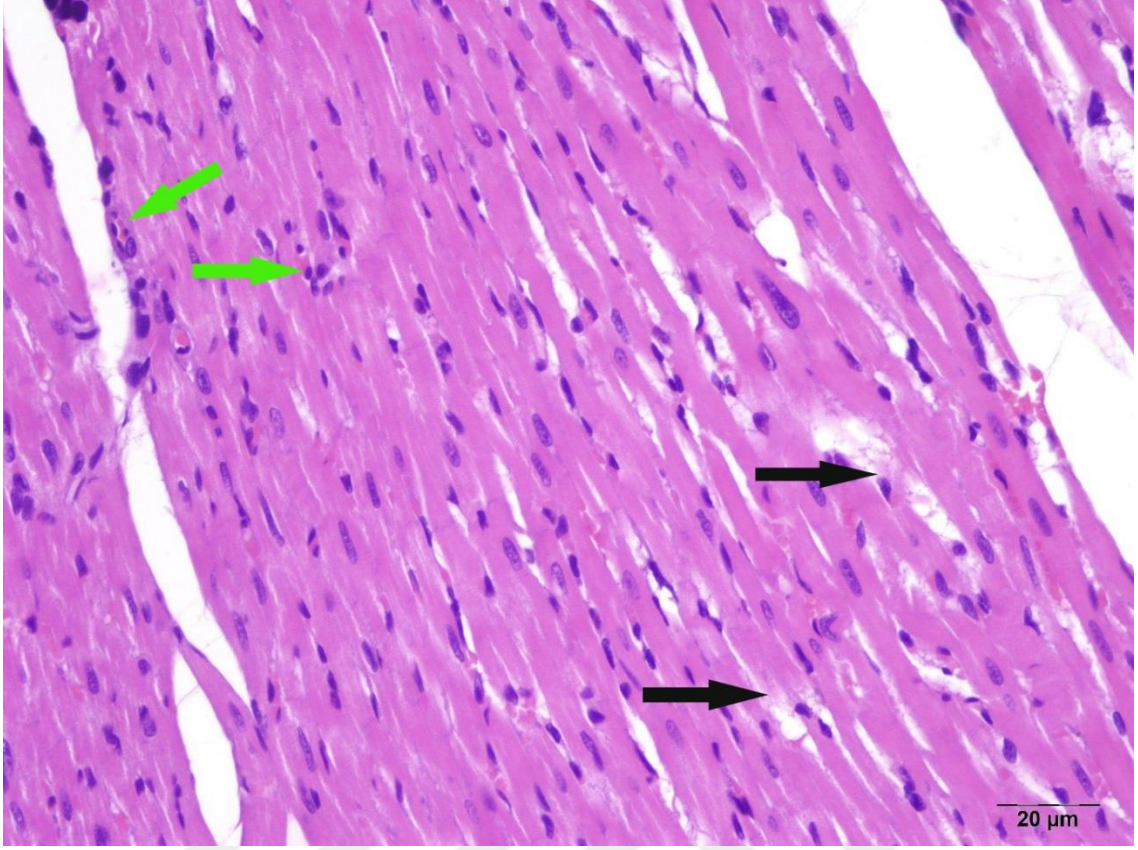
ISO grubunda ve EA + ISO grubunda yapılan Pearson korelasyon analizi sonucu, TSA ve LSA ile miyokart hasarın belirteçleri olan CK-MB, cTnI ve LDH arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkiye rastlanmadı ($p > 0.05$).

Histopatolojik bulgular

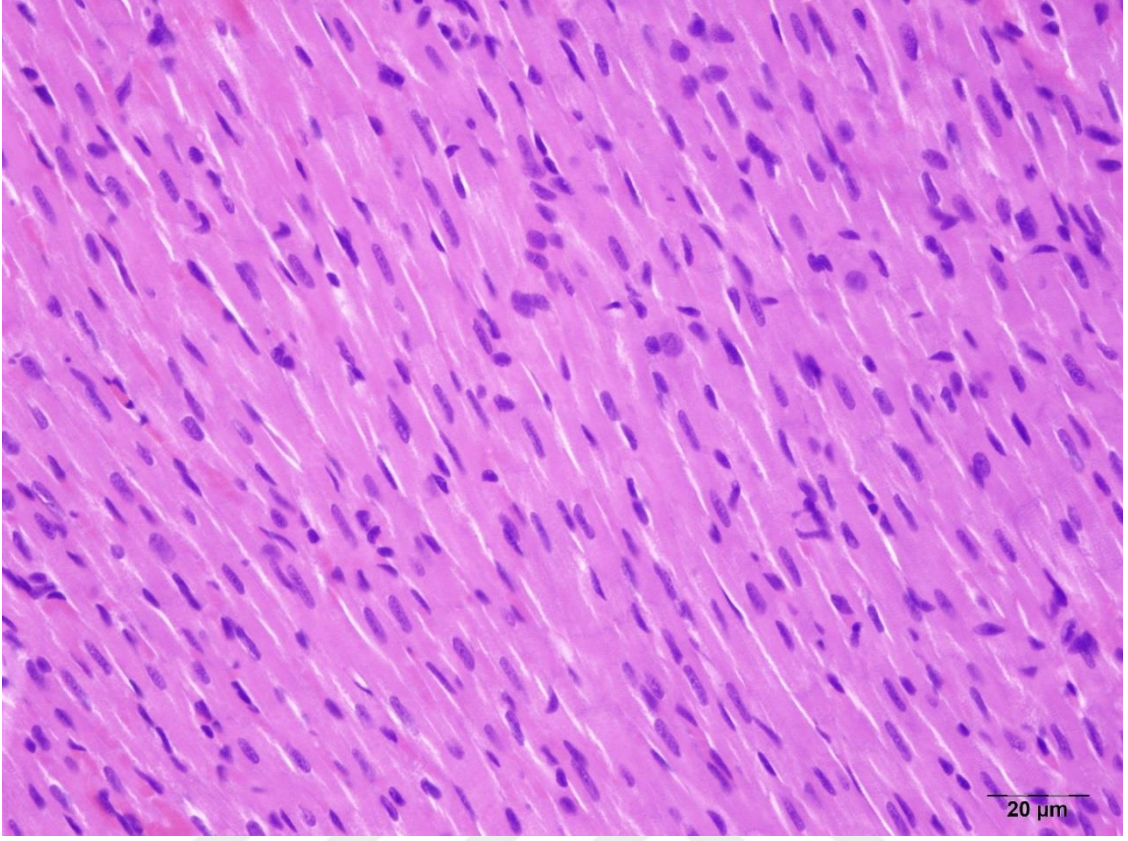
ISO grubundaki ratların 15. güne ait kalp dokusunda mikroskopik olarak, myokardiumda hemoraji, dejenerasyon, nekroz, intersitisyel aralıklarda ödem ve mononükleer hücre infiltrasyonu görüldü (Şekil. 19). EA + ISO grubundaki ratların kalp dokusunda ise, bu yangısal olayların belirgin bir şekilde azaldığı, myokardiumda hafif dejenerasyon az sayıda yağ hücresi ve damarlarda hiperemi belirlendi (Şekil. 20). Kontrol ve EA gruplarının kalp dokusunun normal histopatolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil. 21, 22).



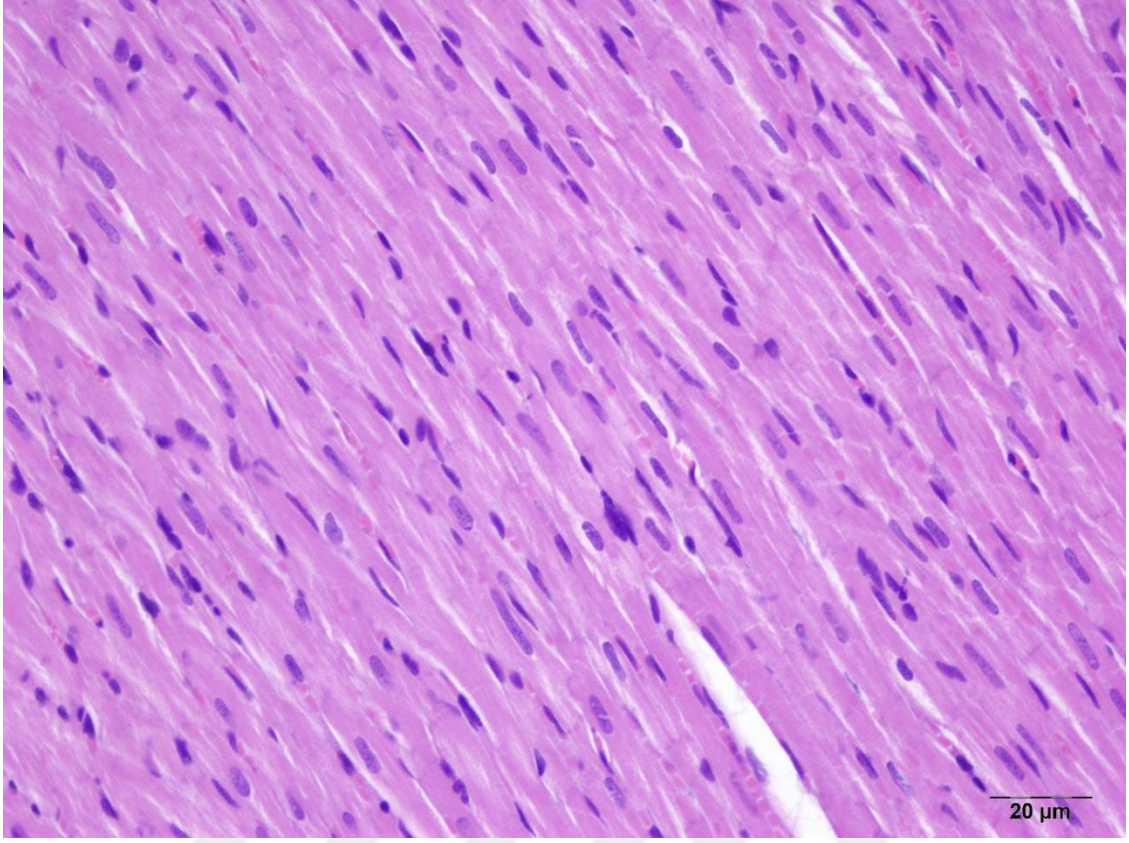
Şekil 19. ISO grubu kalp kası histopatolojik yapısı: miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda, hemoraji (ince siyah oklar), dejenerasyon (kalın siyah oklar), nekroz (yeşil oklar), intersitisyel aralıklarda ödem ve mononükleer hücre infiltrasyonu, Bar: 20 µm.



Şekil 20. EA + ISO grubu kalp kası histopatolojik yapısı: miyokart infarktüsünün 15. gününe ait kalp dokusunda myokardiumda dejenerasyon (siyah oklar), az sayıda yağ hücresi (yeşil oklar) ve damarlarda hiperemi, Bar: 20 µm.



Şekil 21. Kontrol grubu kalp kası histopatolojik yapısı: Kalp kasında düzenli yapı, Bar: 20 µm.



Şekil 22. Ellajik asit grubu kalp kası histopatolojik yapısı: Kalp kasında düzenli yapı,
Bar: 20 µm.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Miyokart infarktüsü (MI), son yıllarda tanı ve tedavide sağlanan gelişmelere rağmen morbidite ve mortaliteye neden olan önemli bir toplum sağlığı sorunudur (Padmanabhan ve Prince, 2006)

Miyokart infarktüsü genellikle, ateroskleroz nedeniyle daralmış bir koroner arteri tıkayan, akut trombus nedeniyle, kalbe giden damarlarda kan akımının ani azalması veya kesilmesine bağlı olarak gelişen, miyokart hücre hasarı ve nekrozudur (Mohanty ve ark., 2004; Padmanabhan ve ark., 2008; Kazezoğlu ve ark., 2009; Al-Numair Khalid ve ark., 2012).

Miyokart infarktüsü, kan lipit metabolizması ile de yakından ilişkilidir. HDL seviyesindeki azalma MI ile negatif bir korelasyona sahipken, LDL seviyesindeki yükselme pozitif bir korelasyon gösterir (Buring ve ark., 1992). Dolaşım kanında bulunan kolesterolün miktarı, LDL ve HDL olarak hangi oranda bulunacağına göre aterosklerotik lezyonların oluşumunu etkiler. Plazmada VLDL düzeyi yüksek, HDL çok düşükse ateroskleroz çok kolay bir şekilde ortaya çıkar. Bu durumda kolesterol ve kolesterol esterleri, kan damarlarının iç yüzeyine toplanarak damarların daralmasına neden olur. Kalp ve beyin damarlarının bu şekilde daralması sonucu, bu organlarda dolaşım zorluğu oluşturarak infarktüs'e neden olur (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008). Yapılan çalışmalarla, deneysel olarak oluşturulan MI'da serum total kolestrol, trigliserit (TG), serbest yağ asitleri (FFA), LDL ve VLDL düzeylerinin artarken, HDL düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir. Lipid seviyelerindeki bu değişikliklerin, kardiyak siklik adenosin monofosfat (cAMP) tarafından artırılmış lipit biyosentezinden ileri geldiği belirtilmiştir (Paritha ve Devi, 1997; Prince ve Karthick, 2007).

Ratlarda ISO kaynaklı oluşturulan miyokardial nekroz, kardiyoprotektif ilaçları değerlendirmek için ve iskemik bozuklukların miyokardial sonuçlarını çalışmak için kullanılmaktadır (Cao ve ark., 1994). ISO ile uyarılan miyokardial nekrozun patogenezi multifaktöriyel olmakla beraber, serbest radikal aracılı oksidatif stresin önemli bir rol oynadığı açıktır. Bu nedenle, antioksidan özellik gösteren maddeler ile terapötik müdahale, ISO uygulamasının bir sonucu olarak oluşan bu zararlı etkileri önlemede yararlı olabilir (Mohanty ve ark., 2004).

Bitkisel kökenli antioksidanlar olan flavonoidler, gıdalarda bol miktarda bulunan besleyici diyet bileşenleridir (Boyle ve ark., 2000). Fonksiyonel gıda materyalleri olarak flavonoidlerin potansiyel kullanımları, kanser ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi gibi sağlık üzerinde olumlu etkiye sahip olmalarından ileri gelmektedir (Prince ve Karthick, 2007; Al-Numair Khalid ve ark., 2012).

Kırmızı meyvelerde, kuru yemişlerde doğal olarak bulunan polifenolik bir bileşik olan ellajik asit (EA), fenolik yapısından dolayı, hidroksi ve süper oksit anyonlarına karşı koruyucu potansiyele sahip güçlü bir antioksidandır (Erenoğlu, 2012). Ellajik asitin bu özelliklerinden dolayı anti-inflamatuar, antiöstrojenik, antimutajenik, antikanserojenik etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Aviram ve ark., 2000; Gil ve ark., 2000; Papoutsis ve ark., 2005). Ellajik asitin kardiyoprotektif etkisi ve membrana bağlı adenozin trifosfataz (ATPaz) ve lizozomlar üzerinde membran düzenleyici etkisi daha önce yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Punithavathi ve Prince, 2010; Kannan ve Quine, 2011).

Hücre hasarına bağlı olarak kan dolaşımına salınan bazı enzim ve proteinler, infarktüsün tanısında ve oluşum zamanının saptanmasında klinik olarak önemlidirler. Miyokart infarktüsünden sonra zaman içinde, plazma enzim düzeyleri, başlangıç ile ilk üç saat içinde normal kalır. 18 ve 36'ncı saatlerde en üst düzeydedir. Daha sonra enzimin plazmadaki yarı ömrüne göre değerler normale döner. CK-MB'nin kısa sürede hızlı yükselip düştüğü, LDH aktivitesinin uzun sürede azaldığı bildirilmiştir (Karagül ve ark., 2000). Sadece miyokartta bulunması nedeniyle cTnI, TnT'ye göre daha kardiospesifiktir. cTnI, kalp kasında CK-MB'ye oranla daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve ilk 4 saat içinde yükselir. cTnI, infarktüs sonrası 4-6 saate yükselmeye başlar, 11. saatte pik yapar ve yaklaşık 5 günde normal seviyesine döner (Pincus ve ark., 1996; Lusher ve ark., 1997).

ISO kullanılarak deneysel miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratların, serum CK, CK-MB ve LDH (Nirmala ve Puvanakrishnan, 1994; Al-Nuamir Khalid ve ark., 2012), cTnI ve cTnT (Acikel ve ark., 2003; York ve ark., 2007), cTnI ve CK-MB (Kazezoğlu ve ark., 2009), cTnI (Şentürk, 2008), CK-MB (Padmanabhan ve ark., 2008) gibi kardiyak hasarın belirteçlerinde artış olduğu, kalp dokusunda ise miyokardial hasarla uyumlu histopatolojik bulguların ortaya çıktığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır

(Acikel ve ark., 2003; Shiny ve ark., 2005; Şentürk, 2008; Kazezoğlu ve ark., 2009). ISO ile uyarılan miyokardial nekrozun patogenezi multifaktöriyel olmakla beraber, oksidatif stres en önemli role sahiptir (Şentürk, 2008).

Deneysel miyokart infarktüsü oluşturulan ratlarda, lipitler ve lipoproteinlerin araştırıldığı çalışmalarda, serum kolesterol, trigliserid, yağ asitleri, VLDL ve LDL seviyesinin artarken, HDL seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir (Paritha ve Devi, 1997; Prince ve Karthick, 2007).

Miyokart infarktüsü sonucu, ratların kalp mitokondrial yapısında meydana gelen değişikliklere karşı, elajik asitin koruyucu bir etki gösterdiği, bunun serbest radikal giderici ve metal şelatlama özelliğinden ileri gelmiş olabileceği belirtilmiştir (Kannan ve ark., 2012).

Kannan ve Quine (2011), ISO ile oluşturulan oksidatif stres üzerine elajik asitin iyileştirici etkisini araştırdıkları çalışmada, ISO grubundaki ratların serum cTnI, CK, LDH, C-reaktif protein ve plazma homosistein düzeylerinde belirgin artış olduğunu, miyokart dokusunun histopatolojik bulgularının, ISO'nun miyokart hasarına neden olduğunu kanıtladığını, oral olarak verilen elajik asitin biyokimyasal markırların seviyelerini azalttığı, miyokardial nekrozu inhibe ettiğini göstermişlerdir. Sonuç olarak, ellajik asitin oral ön tedavisinin miyokart infarktüsünde, ISO uygulanan sıçanlarda oksidatif stresi önlediğini belirtmişlerdir.

Kannan ve Quine (2013), yaptıkları diğer çalışmada, ISO uygulanan ratların serumlarında CK-MB ve miyogloblin düzeylerinde belirgin bir artış olduğunu ve 10 günlük süre boyunca ellajik asit (7.5 ve 15mg / kg) uygulaması ile istatistik olarak önem gösterecek şekilde, serum kardiyak markır düzeylerinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında, ISO uygulanan ratların, serum total kolesterol, trigliserit, fosfolipit, serbest yağ asitleri, LDL ve VLDL düzeylerinde belirgin bir artış, buna karşın HDL düzeylerinde azalma olduğunu belirtmişlerdir. Elajik asit ile tedaviden sonra, ISO uygulanan ratların serum lipid profil seviyesinin düzeldiğini bulmuşlardır. Yukarıdaki bulguları destekleyecek şekilde, ISO uygulanan ratların kalp dokusunda miyokardial nekrozis meydana geldiğini, ellajik asitin ise bu histopatolojik değişiklikleri hafiflettiğini belirtmişlerdir.

Saranya ve ark. (2012), ISO kullanarak deneysel kalp infarktüsü oluşturdukları ratlarda, rutin ve ellajik asitin koruyucu etkisini arařtırdıkları çalıřmalarında, kontrol grubu ile karřılařtırdıklarında serum kolesterol, trigliserid, serbest yaę asitleri, VLDL ve LDL seviyelerinin artarken, HDL seviyesinin dūřtūęünü tespit etmiřlerdir. Kalp infarktüsünden 14 gūn önce rutin ve ellajik asitin ayrı ayrı ve birlikte kullanımlarının lipit ve lipoprotein seviyelerinde koruyucu etki gösterdięi, elde edilen sonuçlar doęrultusunda rutin ve ellajik asitin birlikte kullanımının kalp infarktüsünde daha gūl kardiyoprotektif etkiye sahip olduęunu belirtmiřlerdir

Yukarıdaki literatürleri destekleyecek řekilde, bu arařtırmada kontrol grubuna göre, ISO ve EA+ISO gruplarındaki ratların serum cTnI, CK-MB ve LDH düzeylerini miyokart infarktüsü ile uyumlu olarak yüksek bulundu. ISO grubuna göre, 14 gūn oral ellajik asit uygulamasının, EA + ISO grubundaki ratlarda CK-MB ve cTnI düzeylerini dūřürdūęü, fakat LDH ile fark oluřturmadıęı tespit edildi. ISO ile MI oluřturulmuř ratların 15. gūn kalp dokusunun histopatolojik olarak deęerlendirilmesinde miyocardiumda hemoraji, dejenerasyon, nekroz, intersitisyel aralıklarda dem ve mononükleer hücre infiltrasyonu gözlendi. Bununla birlikte EA + ISO grubundaki ratların kalp dokusunda MI ile uyumlu fakat daha hafif dereceli histopatolojik bulgular görüldü. EA + ISO grubunda, miyokardial hücre hasarının spesifik göstergeleri olan serum cTnI ve CK-MB düzeylerinin ISO grubuna göre daha dūřk bulunması, ellajik asit verilen grupta miyokardial hücre hasarının az olduęunu kanıtlamaktadır. Histopatolojik olarakta bu bulgu desteklenmiřtir.

Ayrıca kontrol grubuna göre, ISO uygulanan ratların serum, kolesterol, trigliserid, LDL ve VLDL seviyelerinin artarken, HDL seviyesinin azaldığı belirlendi. ISO grubuna göre, EA + ISO grubunda kolesterol, trigliserid ve VLDL seviyesinin önemli şekilde azaldığı, LDL ve HDL seviyelerindeki değişikliklerin anlamlı olmadığını tespit ettik. Bu sonuca göre, ellajik asit miyokart infarktüsünde etkili olan lipit ve lipoprotein metabolizmasında olumlu etkiler göstermiştir.

Glikoproteinlerin ve glikolipitlerin karbohidrat zincirlerinin indirgeyici olmayan uçlarının terminal bileşeni olan sialik asitler, nöraminik asitin asetillenmiş türevidir. Sialik asitlerin birçok biyolojik fonksiyonda önemli görevleri vardır. Sialik asitler negatif elektrik yükleri nedeniyle, pozitif yüklü moleküllerin bağlanması ve

transportunda olduğu kadar hücreler ve moleküller arası çekme ve itmede de önemli rol oynarlar. Total sialik asit (TSA), lipide bağlı sialik asit (LSA) ve proteine bağlı sialik asit (PSA) olmak üzere iki fraksiyondan oluşur (Lindberg ve ark., 1991; Schauer ve ark., 1995).

Yapılan çalışmalarda koroner kalp hastalıklarında meydana gelen ölümler ile serum sialik asit düzeyleri arasında pozitif bir ilişki olduğu belirtilerek, serum sialik asit seviyelerinin akut miyokart infarktüsü geçiren bireylerde önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Lindberg ve ark., 1991; Lindberg ve ark., 1992; Rastam ve ark., 1996; Knuiman ve ark., 2004).

Kardiyovasküler hastalıklarda, sialik asitin yükselmesinin nedeni, bu hastalıklarda sialik asit içeren immünglobulinlerin artmasından kaynaklanabilir. Serum sialik asitin yarattığı nisbi mortalite riskinin büyüklüğünün, serum kolesterol konsantrasyonuna ile aynı boyutta olduğu gösterilmiştir (Lindberg ve ark., 1991).

Wakabayashi ve ark. (1992), yaptıkları çalışmada 382 kişiyi lipit seviyelerine göre gruplara ayırmış, yüksek trigliserid veya total kolesterole sahip grupların sialik asit konsantrasyonlarının anlamlı derecede yüksek olduğunu, yüksek HDL konsantrasyonuna sahip grubun, sialik asit konsantrasyonunun ise düşük olduğunu bulmuşlardır.

Haq ve ark. (1993), sağlıklı bireylere göre, miyokart infarktüslü hastaların serum TSA ve LSA seviyelerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Miyokart infarktüsü geçiren hastalarda, kontrol grubuna göre infarktüs sonrası 1., 2. ve 5. günlerde TSA düzeylerinin artış gösterdiği, fakat LSA düzeylerinin değişmediği tespit edilerek, glikosfingolipit olan gangliositlerin sialik asit içeriği göz önüne alındığında, kardiyovasküler hastalıklarda LSA'nın araştırılmasının değerli bir bilgi olacağı belirtilmiştir (Crook ve ark., 1994).

Miyokart infarktüslü hastaların serum TSA ve LSA düzeylerinin, infarktüsün ilk gününden itibaren dereceli bir şekilde artış gösterdiği ve serum TSA ile kardiyak bir belirteç olan LDH arasında pozitif bir korelasyon olduğu belirlenmiş ve infarktüs sonrası sialik asit artışından, hasara bağlı olarak hücre veya hücre membranından sialik asitin salıverilmesinin sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (Gökmen ve ark., 2000).

Gökmen ve ark. (2002), serum total ve lipide bağlı sialik asit konsantrasyonu ile koroner aterosklerozun şiddeti arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, damar rahatsızlığı olmayanlara göre, tek damar ve çift / üç damar rahatsızlığı olan hastalarda ortalama serum total sialik asit düzeyinin, iki damar rahatsızlığı olan hastalarda ise, serum lipit bağlı sialik asit düzeyinin anlamlı şekilde yükseldiğini bulmuşlardır. Ayrıca serum lipoprotein seviyeleri incelendiğinde, yalnız çift / üç damar rahatsızlığı olan hastalarda HDL kolesterol seviyesinde bir azalma olduğunu belirlemişlerdir. Sonuç olarak total sialik asitin koroner arteriel hastalıklarda orantılı olarak artmasına rağmen, serum lipit bağlı sialik asit konsantrasyonunun koroner aterosklerozun şiddeti ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Aslan ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada TSA düzeylerinin, miyokart infarktüsünün 1. gün yükselmeye başladığını ve bu artışın 2. ve 3. günde devam ettiğini bulmuşlardır. Miyokart infarktüsünün 1. gününde, CK, CK-MB, trigliserit, kolesterol ve HDL düzeyleri ile TSA arasındaki korelasyon incelendiğinde, sadece HDL arasında istatistik olarak anlamlı bir korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak TSA ve HDL-kolesterol arasındaki negatif ilişkinin, kardiyovasküler hastalıklarda TSA'nın bir risk faktörü olabileceğini belirtmişlerdir.

Kronik kalp rahatsızlığı olan hastalarda, kontrol grubuna göre, önemli şekilde serum TSA ve LSA seviyelerinin arttığı, bununla birlikte HDL kolestrol düzeyinin düşük olduğu belirtilerek, sialik asit seviyesindeki yükselmeden, sialik asitin akut faz cevabı ve lipide bağlı bölümlerinin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (Topçuoğlu ve ark., 2010).

ISO ile deneysel miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratların, serum ve doku TSA seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (Mathew ve ark., 1986; Şentürk, 2008).

Kazozoğlu ve ark. (2009), seum TSA ve LSA seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, bununla birlikte korelasyon analizi sonucu serum TSA ve LSA ile miyokart hasarın belirteçleri olan serum cTnI ve CK-MB arasında anlamlı bir korelasyon olmadığını saptamışlardır. Miyokart infarktüsünde, ateroskleroz patogenezinin bağımsız bir mekanizma ile, serum TSA ve LSA seviyesinin yükseldiğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, akut miyokart infarktüsünde gözlenen serum total ve lipide bağlı sialik asit (TSA, LSA) artışında oksidatif hücre hasarının rolünü irdelemek amacıyla, oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip olan ellajik asitin ISO ile oluşturulan deneysel miyokart infarktüsünde serum / doku TSA ve LSA düzeylerine etkisini inceledi. Bu çalışmamızda kontrol grubuna göre, ISO grubundaki ratların serum / doku TSA ve LSA seviyelerini anlamlı olarak yüksek olduğunu tespit edildi ($P<0.05$). Bu bulgu, miyokart infarktüsünde, serum / doku sialik asit seviyelerinin arttığını belirten yukarıdaki çalışmaları desteklemektedir.

Miyokart infarktüsü sonrası, serum sialik asit seviyelerindeki artış için farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Oligosakkarit yan zincirlerinin terminal pozisyonunda sialik asit kalıntıları içeren akut faz proteinlerinin artmış atılımından kaynaklanabilir (Haq ve ark., 1993; Crook ve ark., 1994). Sialik asitin büyük bir çoğunluğu proteinlere, küçük bir kısmı ise lipide bağlı formdadır. Akut faz proteinlerinin yapısındaki sialik asit sadece proteine bağlı sialik asit fraksiyonunu temsil eder, miyokart infarktüsü sonrası akut faz proteinlerinin düzeyindeki artış yalnızca proteine bağlı sialik asit fraksiyonunu artırır, ancak lipide bağlı fraksiyonu değiştirmez (Şentürk, 2008).

Reaktif oksijen türlerinin miyokardial iskemi sonrası üretiminin arttığı (Lefer ve Granger, 2000) ve bunun da akut inflamatuvar yanıtta ve post iskemik doku nekrozunda önemli rol oynadığı bilinmektedir (McCord, 1989). Bu nedenle, miyokardial iskemide doku zedelenmesine eşlik eden oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip olan bir molekül, miyokart infarktüsü sonrası serum sialik asit düzeylerindeki artışı önleyebilir. ISO ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçanların serum ve kalp dokusu total sialik asit düzeylerinde bir artış olduğu ve antioksidan etkiye sahip olan karnitin (Mathew ve ark., 1986) ve S-allilsistein (Padmanabhan ve ark., 2008) verilmesi ile serum TSA düzeyindeki artışın önlenildiği gösterilmiştir. Miyokart infarktüsünde esansiyel bir amino asit olan L-lizin verilmesi ile serum TSA ve LSA (Uzgun ve ark., 2011) ve serum/doku TSA (Şentürk, 2008) artışını ve kalp dokusunda atrofi ve bağ dokusu gelişiminin önlenildiği, serum da görülen bu sialik asit artışlarından miyokardial hücre hasarının rolü olabileceği belirtilmiştir.

Birçok epidemiyolojik çalışmada antioksidan özellik gösteren flavonoidlerin kardiyovasküler hastalıkların oluşma riskini azalttığı gösterilmiştir. ISO ile oluşturulan

MI'da bir flavonoid olan morinin etkisinin araştırıldığı çalışmada, infarktüse bağlı olarak serum ve kalp dokusunda total sialik asit seviyesinin arttığını, morin uygulaması ile birlikte bu artışın azaldığı bildirilmiştir (Al-Numair Khalid ve ark., 2012).

Ellajik asit, ISO kaynaklı süperoksit radikallerini ve hidroksil radikallerini süpürerek miyokardial nekrozun patogeneğinde etkili olan oksidatif stresin önlenmesinde etkilidir (Saranya ve ark., 2012).

Bu çalışmada, EA + ISO grubundaki ratların kalp dokusunda miyokart infarktüsü ile uyumlu, ancak ISO grubuna göre daha hafif dereceli dejeneratif bulgular gözlemlendi. Bu bulgu, ellajik asit verilmesinin oksidatif hasara karşı miyokardı koruyucu bir etkiye sahip olduğu görüşünü desteklemektedir (Kannan ve Quine, 2013). Buna paralel olarak, EA + ISO grubunun serum / doku TSA ve LSA düzeyleri, ISO grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($P < 0.05$).

İnfarktüs sonrası serumda görülen total sialik asit artışı, sialik asit kalıntıları içeren akut faz proteinlerinin karaciğerden dolaşıma artmış atılımından kaynaklanmış olabilir (Haq ve ark., 1993; Crook ve ark., 1994). Diğer yandan serum LSA artışında, sialik asit içeren lipoprotein düzeylerindeki artışın katkısı olabilir (Kazezoğlu ve ark., 2009) nitekim ISO'nun özellikle LDL ve VLDL düzeylerinde artışa, HDL düzeylerinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Rajadurai ve ark., 2006; Prince ve Karthick, 2007).

ISO, rat kardiyomiyositlerinde sialidaz aktivitesinde de artışa yol açar, bundan dolayı miyokart infarktüsünde gözlenen serum TSA ve LSA artışına miyokart hücresi dışındaki hücrelerden sialik asitin salıverilmesinin de katkısı olabilir (Kazezoğlu ve ark., 2009).

Bu çalışmada, ISO ve EA + ISO gruplarında TSA, LSA ve kardiyak hücre hasarının göstergesi olan CK-MB, cTnI ve LDH arasında anlamlı bir korelasyon bulunamadı. Bu sonuç; ISO ile oluşturulan infarktüs modelinde TSA ve LSA ile CK-MB ve cTnI arasında (Kazezoğlu ve ark., 2009), kontrol ve ISO grupları arasında TSA, LSA ve cTnI arasında (Uzgun ve ark., 2011) korelasyon bulunmadığını gösteren, serum sialik asit düzeylerinde görülen artışta, hasara uğramış miyokart hücresinden veya hücre membranından sialik asit kalıntılarının dökülmesinin ya da salıverilmesinin tek

başına sorumlu olmayacağını, bu artışta birden fazla faktörün etkili olabileceğini belirten, yukarıdaki çalışmaları desteklemektedir.

Sonuç olarak, ISO ile uyarılan miyokart infarktüsünde ellajik asit, serum kardiyak markır, lipit, lipoprotein, serum / doku total ve lipide bağlı sialik asit düzeylerinde ve kalp dokusunda histopatolojik olarak pozitif etkiler gösterdi. Bu etki, ellajik asitin antioksidan ve serbest radikal süpürücü özelliklerinden kaynaklanmış olabilir. Bununla birlikte, serum total sialik asit ve lipide bağlı sialik asit ile kardiyak hasarın göstergesi olan CK-MB, cTnI ve LDH arasında anlamlı bir korelasyon bulunamadı. Bu sonuç, miyokardial infarktüste serumda görülen sialik asit seviyelerindeki artıştan, miyokardial hücre hasarından bağımsız faktörlerin etkili olabileceğini göstermektedir.

ÖZET

TAŞKIN E, Ellajik asitin miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda sialik asit düzeyleri ve lipit profili üzerine etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van, 2017. Bu çalışmada amaç, ellajik asitin isoproterenol ile oluşturulmuş miyokart infarktüsünde, serum /doku total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri ile lipit profili üzerine etkisini incelemek ve infarktüs sonrası gözlenen sialik asit artışında oksidatif hücre hasarını değerlendirmektir. Bu amaçla, 250-300 g ağırlığında 32 adet dişi Wistar-albino rat, her birinde sekiz adet olacak şekilde, kontrol (K), isoproterenol (ISO), ellajik asit + ISO (EA+ISO), ellajik asit (EA) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Miyokart infarktüsü, isoproterenolün intraperitoneal olarak 150 mg/kg 24 saat ara ile 2 kez verilmesi ile oluşturuldu. Ellajik asit, oral olarak 14 gün boyunca 30 mg/kg/gün verildi. Deneysel infarktüs oluşumu kreatin kinaz-MB (CK-MB), kardiyak troponin I (cTnI), laktat dehidrojenaz (LDH) düzeylerindeki yükselme ve histopatolojik değişikliklerle kanıtlandı. Total (TSA) ve lipide bağlı (LSA) sialik asit düzeylerini belirlemek için sırasıyla Sydow ve Katopodis yöntemleri kullanıldı. İsooproterenol, serum CK-MB, cTnI, LDH, LDL, VLDL, kolesterol, trigliserit, serum/doku TSA ve LSA seviyelerinde anlamlı bir artışa, HDL seviyesinde düşüşe ve kalp dokusunda miyokart infarktüsü ile uyumlu histopatolojik değişikliklere yol açtı. Ellajik asit önemli etkiler gösterdi ve bu parametreleri pozitif yönde değiştirdi. Bununla birlikte, total ve lipide bağlı sialik asit ile kardiyak hasarın belirteçleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu. Sonuç olarak, isoproterenol ile oluşturulan miyokart infarktüsü, miyokardial hücre hasarından bağımsız bir mekanizma ile serum sialik asit düzeylerinde artışa yol açabilir.

Anahtar sözcükler: Ellajik asit, total ve lipide bağlı sialik asit, deneysel infarktüs, lipit profili

SUMMARY

TAŞKIN E, The Effect of Ellagic Acid on Levels of Sialic Acid and Lipid Profile in Myocardial Infarction Induced Rats. Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Department of Biochemistry Master Thesis, Van, 2017. The purpose of this study was to investigate the effect of ellagic acid on serum / tissue total and lipid-bound sialic acid levels and serum lipid profile in isoproterenol-induced myocardial infarction and to evaluate the role of cell damage in the elevation of sialic acid post infarction. For this purpose, 32 female Wistar-albino rats weight 250-300 g were divided into four groups as control (K), isoproterenol (ISO), ellagic acid + ISO (EA+ISO), ellagic acid (EA) as eight rats in each group. Myocardial infarction was produced with 150 mg/kg of isoproterenol administered intraperitoneally twice at an interval of 24 hour. Existence of experimental infarction was confirmed by histopathological changes and the elevated levels of creatine kinase-MB (CK-MB), cardiac troponin I (cTnI) and lactate dehydrogenase (LDH). The levels of total (TSA) and lipid-bound (LSA) sialic acid were determined by the methods of Warren and Katopodis, respectively. Isoproterenol caused a significant increase in serum CK-MB, cTnI, LDH, LDL, VLDL, cholesterol, triglyceride, serum/tissue TSA and LSA levels, decrease in HDL level and histopathologic changes confirming myocardial infarction in heart tissue. Ellagic acid showed significant effects and positively changed these parameters. However, no significant correlation was found between total and lipid-bound sialic acid and the markers of cardiac damage. As a result, myocardial infarction induced by isoproterenol may lead to an increase in serum total and lipid-bound sialic acid levels by a different mechanism independent from the myocardial cell damage

Key words: Ellagic acid, total and lipid-bound sialic acid, experimental infarction, lipid profile

KAYNAKLAR

- Acikel M, Buyukokuroglu ME, Aksoy H, Erdogan F, Erol MK (2003). Protective effects of melatonin against myocardial injury induced by isoproterenol in rats. *J Pineal Res*, 35, 75-79.
- Aguilera-Carbo A, Augur C, Prado-Barragan LA, Faveal-Torres E, Aguilar CN (2007). Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Microb Biotechnol*, 1-11.
- Allain P, Olivier E, Le Bouil A, Benoit C, Geslin P, Tadei A (1996). Increase of sialic acid concentration in the plasma of patients with coronary disease. *Presse Med*, 25, 3, 96-98.
- Al-Numair Khalid S, Chandramohan G, Alsaif MA, (2012). Pretreatment with morin, a flavonoid, ameliorates adenosine triphosphatases and glycoproteins in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *J Nat Med*, 66, 95-101.
- Amakura Y, Okada M, Tsuji S, Tonogai Y (2000). High-performance liquid chromatographic determination with photodiode array detection of ellagic acid in fresh and processed fruits. *J Chromatogr A*, 896, 87-93.
- Apple FS, Henderson AR (1999). Cardiac Function. In: Burtis CA, Ashwood ER (Eds.). *Tietz Text Book of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 630-637.
- Aslan B, Yücel N, Eren N, Karman F, Çiğerli Ş, Turgay F (2004). Miyokart infarktüsünde akut faz reaktanı olarak serum sialik asit düzeylerinin değerlendirilmesi. *J Kartal Tr*, 15, 3, 140-143.
- Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, Hayek T, Presser D, Fuhrman B (2000). Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic 76 apolipoprotein E-deficient mice: *Am J Clin Nutr*, 71, 5, 1062-1076.
- Bala I, Bhardwaj V, Hariharan S, Kumar MNVR (2006). Analytical methods for assay of ellagic acid and its solubility studies. *J Pharm Biomed Anal*, 40, 206-210.
- Bayşu Sözbilir N, Bayşu N (2008). *Biyokimya, Güneş Tıp Kitapevleri*, Ankara, 145-147.
- Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Co K, Weber KT, Clarc WA (1989). Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ Res*, 65, 657-670.
- Bhagat B, Sullivan JM, Fischer VW, Nadel EM, Dhalla NS (1976). cAMP activity and isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab*, 12, 465-470.
- Boyle SP, Dobson VL, Duthie SJ, Hinselwood DC, Kyle JA, Collins AR (2000). Bioavailability and efficiency of rutin as antioxidant: a human supplementation study. *Eur J Clin Nutr*, 54, 774-782.

- Buring JE, O'Connor GT, Goldhaber SZ, Rosner B, Herbert PN, Blum CB (1992). Decreased HDL-2 and HDL-3 cholesterol, APO A-I and APO A-II and increased risk of myocardial infarction. *Circulation*, 85, 22-29.
- Byrne B, Donohoe GG, O'Kennedy R (2007). Sialic acids: carbohydrate moieties that influence the biological and physical properties of biopharmaceutical proteins and living cells. *Drug Discov Today*, 12, 7-8, 319-326.
- Cao AP, Loyzaga PG, Peter AM, Iamargo J (1994). Effect of oxidipine and pitredipine on the size of experimental myocardial infarction in the rats. *Pharmacol Toxicol*, 74, 321- 329.
- Cemeroğlu B (2004). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. *Gıda Tekn Derneği Yayınları*, No: 35, Ankara, 77-88.
- Cemeroğlu R, Acar J (1986). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. *Gıda Tekn Derneği Yayınları*, No: 6, 513.
- Crook M, Haq M, Haq S, Tutt P (1994). Plasma sialic acid and acute phase proteins in patients with myocardial infarction. *Angiology*, 45, 709-715.
- Davies MJ, Woolf N (1993). Atherosclerosis: what is it and why does it occur? *Br Heart J*, 69, 3-11.
- Demiroğlu C (2000). Kalb Hastalıklarının Tıbbi Tedavisi'nde. 4. baskı. İstanbul: Florence Nighthingale Hastanesi, 59-151.
- Du J, Meledeo MA, Wang Z, Khanna HS, Paruchuri VD, Yarema KJ (2009). Metabolic glycoengineering: sialic acid and beyond. *Glycobiology*, 19, 12, 1382-1401.
- Elliot MA, Braunwald E (Çeviri: Birand A) (2004). Akut Miyokart İnfarktüsü. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (Editörler). Harrison İç Hastalıkları Prensipleri'nde. 15. baskı. 1.Cilt. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 1386-1387.
- Erenoğlu N (2012). Farklı insan meme kanseri hücrelerinde ellajik asitin sitotoksik etkisi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Falk E, Fuster V, (Çeviri: Güneş Y) (2002). Aterogenez ve Belirleyicileri. İstanbul ve Danışmanlık Yayıncılık, 65-93.
- Fingerhut R, Van Der Horst GT, Verheijen FW, Conzelmann E (1992). Degradation of gangliosides by the lysosomal sialidase requires an activator protein. *Eur J Biochem*, 208, 3, 623-629.
- Fleckenstein A, Janke J, Doring HJ, Leder O (1974). Myocardial fiber necrosis due to intracellular Ca overload-a new principle in cardiac pathophysiology. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab*, 4, 563-580.
- Galeano B, Klootwijk R, Manoli I, Sun M, Ciccone C, Darvish D, Starost MF, Zervas PM, Hoffmann VJ, Hoogstraten-Miller S, Krasnewich DM, Gahl WA, Huizing M (2007). Mutation in the key enzyme of sialic acid biosynthesis causes severe glomerular proteinuria and is rescued by N-acetylmannosamine. *J Clin Invest*, 117, 6, 1585-1594.

- Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem*, 48, 10, 4581-4589.
- Gök H (1996). Klinik Kardiyoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 97-171.
- Gökmen SS, Kazezoğlu C, Sunar B, Özçelik F, Güngör Ö, Yorulmaz F, Gülen Ş (2006). Relationship between serum sialic acids, sialic acid-rich inflammation-sensitive proteins and cell damage in patients with acute myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med*, 44, 199-206.
- Gökmen SS, Kılıçlı G, Özçelik F, Birsin A, Gülen Ş (2002). Koroner kalp hastalarında damar tıkanıklığı ile serum total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri arasındaki ilişki. *Trakya Uni Tıp Fak Derg*, 19, 1, 24-29.
- Gökmen SS, Kılıçlı G, Özçelik F, Gülen Ş (2000). Serum total and lipid-bound sialic acid levels following acute myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med*, 38, 1249-1255.
- Hakkinen SH, Karenlampi SO, Mykkanen HM, Heinonen IM, Torronen AR (2000). Ellagic acid content in berries: Influence of domestic processing and storage. *Eur Food Res Technol*, 212, 75-80.
- Haq M, Haq S, Tutt P, Crook M (1993). Serum total sialic acid and lipid-associated sialic acid in normal individuals and patients with myocardial infarction and their relationship to acute phase proteins. *Ann Clin Biochem*, 30, 383-386.
- Hurley RE (1998). Interactions of N-methyl-N-nitrosourea and ellagic acid in developmental toxicology, Doctor of Philosophy Thesis, Colorado State University, Colorado, 156.
- Kannan MM, Quine SD (2011). Ellagic acid ameliorates isoproterenol induced oxidative stress: evidence from electrocardiological, biochemical and histological study. *Eur J Pharmacol*, 659, 45-52.
- Kannan MM, Quine SD (2013). Ellagic acid inhibits cardiac arrhythmias, hypertrophy and hyperlipidaemia during myocardial infarction in rats. *Metab Clin Exp*, 62, 52-61.
- Kannan MM, Quine SD, Sangeetha T (2012). Protective efficacy of ellagic acid on glycoproteins, hematological parameters, biochemical changes, and electrolytes in myocardial infarcted rats. *Biochem Mol Toxicol*, 26, 270-275.
- Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T (2000). Klinik Biyokimya, Medisan Yayınları, Ankara, 45.
- Katopodis N, Hirshaut Y, Geller NL, Stock CC (1982). Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer Res*, 42, 12, 5270-5275.
- Katopodis N, Stock CC (1980). Improved method to determine lipid bound sialic acid in plasma or serum. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 30, 1, 171-180.
- Kazezoğlu C, Süer Gökmen S, Sunar B, Aygıt C, Çakır B (2007). Benin ve melanom dışı malin deri tümörlü hastalarda serum total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri. *Tr Biyokim Derg*, 32, 1, 17-21.
- Kazezoğlu C, Usta U, Süer Gökmen S (2009). Deneysel miyokart infarktüsünde total ve lipide bağlı sialik asit düzeyleri. *Tr Biyokim Derg*, 7, 1, 7-15.

- Kelm S, Schauer R (1997). Sialic acids in molecular and cellular interactions. *Int Rev Cytol*, 175, 137–240.
- Knuiman MW, Watts GF, Divitini ML (2004). Is sialic acid an independent risk factor for cardiovascular disease? A 17-year follow-up study in Busselton, Western Australia. *Ann Epidemiol*, 14, 9, 627-632.
- Larrosa M, Gonzalez-Sarrias A, Garcia-Conesa MT, Tomas-Barberan FA, Espin JC (2006). Urolithins, ellagic acid-derived metabolites produced by human colonic microflora, exhibit estrogenic and antiestrogenic activities. *J Agric Food Chem*, 54, 1611-1620.
- Lee J, Talcott ST (2002). Ellagic acid and ellagitannins affect on sedimentation in muscadine juice and wine. *J Agric Food Chem*, 50, 14, 3971-3976.
- Lefer DJ, Granger DN (2000). Oxidative stress and cardiac disease. *Am J Med*, 109, 4, 315-323.
- Lindberg G, Rastam L, Gullberg B, Eklund GA (1992). Serum sialic acid concentration predicts both coronary heart disease and stroke mortality: multivariate analysis including 54,385 men and women during 20.5 years follow-up. *Int J Epidemiol*, 21, 2, 253-257.
- Lindberg G, Eklund GA, Gullberg B, Rastam L (1991). Serum sialic acid concentration and cardiovascular mortality. *BMJ*, 302,143-146.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193, 1, 265-275.
- Luna L (1968). Manual of Hstologic Staining Methods: of the Armed forces Institute of Patology.
- Lusher MS, Thygesen K, Ravkilde J, Heickendorff L (1997). Applicability of cardiac troponin T and I for early risk stratification in unstable coronary artery disease. TRIM study group. Thrombin inhibition in myocardial ischemia. *Circulation*, 96, 2578-2585.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, 79, 727-747.
- Mathew S, Menon PVG, Kurup PA (1986). Effect of administration of carnitine on the severity of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *Aust J Exp Biol Med Sci*, 64, 79-87.
- Mayes PA (1988). Bioenergetics. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (Eds.). Harper's Biochemistry. 21st ed. California: Appleton and Lange, 93-9.
- Mayes PA (Çeviri: Menteş G.) (1993). Pentoz Fosfat Yolu Ve Heksoz Metabolizmasının Diğer Yolları. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodvell VW (Editörler). Harper'in Biyokimyası'nda. İstanbul: Barış Kitabevi, 237–248.
- McCord J, Nowak RM, Hudson MP, McCullough PA, Tomlanovich MC, Jacobsen G, Tokarski G, Khoury N, Weaver WD (2003). The prognostic significance of serial myoglobin, troponin I, and creatine kinase- MB measurements in patients evaluated in the emergency department for acute coronary syndrome. *Ann Emerg Med*, 42, 3, 343-350.

- McCord JM (1989). Free radicals and heart disease. *Bibl Nutr Dieta*, 43, 327–337.
- Miyagi T, Tsuiki S (1985). Purification and characterization of cytosolic sialidase from rat liver. *J Biol Chem*, 26, 6710–6716.
- Mohanty I, Arya DS, Dinda A, Talwar KK, Joshi S, Gupta SK (2004). Mechanism of cardioprotective effect of *Withania somnifera* in experimentally induced myocardial infarction. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 94, 184–190.
- Mullen W, McGinn J, Lean MEJ, MacLean MR, Gardner P, Duthie GG, Crozier A. (2002). Ellagitannins, flavonoids and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *J Agric Food Chem*, 50, 5191-5196.
- Münster-Kühnel AK, Tiralongo J, Krapp S, Weinhold B, Ritz-Sedlacek V, Jacob U, Gerardy-Schahn R (2004). Structure and function of vertebrate CMP-sialic acid synthetases. *Glycobiology*, 14, 10, 43-51.
- Ng SS, Dain JJ (1976). Biological Roles Of Sialic Acid. In: Rosenberg A, Schengrund CL (Eds.). *Biochemistry*. New York, *Plenum Press*, 59-102.
- Nirmala C, Puvanakrishnan R (1994). Isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: functional and biochemical alterations. *Med Sci Res*, 22, 575-577.
- Nizamlıoğlu NM, Nas S (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5, 1, 20-35.
- Okeke JC (2006). The Effects of ellagic acid on insulin-like growth factor binding protein-2 in human prostate cancer cells. Master of Science Thesis, Bowling Green State University, 66.
- Öngen Z (1997). Akut Miyokart İnfarktüsülü Hastaya İlk Yaklaşım. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Acil Hekimlik Sempozyumu, İstanbul, Türkiye, 175-185.
- Özben T (1991). Elevated serum and urine sialic acid levels in renal diseases. *Ann Clin Biochem*, 28, 44–48.
- Özçelik E (2012). Kitosan ve blueberry'nin asetaminofen aracılı karaciğer toksisitesi üzerine etkileri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Özgül L (2011). Türkiye'deki ceviz ağaçlarında bulunan ellajik asit ve gallik asidin hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ile izolasyonu ve miktar tayini. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Padmanabhan M, Rajadurai M, Prince PSM (2008). Preventive effect of S-allylcysteine on membrane-bound enzymes and glycoproteins in normal and isoproterenol-induced cardiac toxicity in male Wistar rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 103, 507-513.
- Padmanabhan M, Prince PSM (2006). Effects of pharmacological amounts of S-allylcysteine on lipids in normal and isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *J Sci Food Agric*, 86, 772–777.

- Papoutsis Z, Kassi E, Tsiapara A, Fokialakis N, Chrousos GP, Moutsatsou P (2005). Evaluation of estrogenic/antiestrogenic activity of ellagic acid via the estrogen receptor subtypes ER α and ER β . *J Agric Food Chem*, 53, 20, 7715-7720.
- Pari L, Sivasankari R (2008). Effect of ellagic acid on cyclosporine A-induced-oxidative damage in the liver of rats. *Fundam Clin Pharmacol*, 22, 395-401.
- Paritha IA, Devi CS (1997). Effect of α -tocopherol on isoproterenol-induced changes in lipids and lipoprotein profile in rats. *Indian J Pharmacol*, 29, 399-404.
- Pick RA, Glover MU, Vieweg WV (1982). Myocardial infarction in a young woman with isolated coronary arteritis. *Chest*, 82, 378-80.
- Pincus MR, Zimmerman HJ, Henry JB (1996). Clinical Enzymology. In: Henry JB (Ed.). Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 19th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 268-269.
- Prince PSM, Karthick M (2007). Preventive effect of rutin on lipids, lipoproteins, and ATPases in normal and isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 21, 1, 1-6.
- Priyadarsini KI, Khopde SM, Kumar SS, Mohan HJ (2002). Free radical studies of ellagic acid, a natural phenolic antioxidant. *J Agric Food Chem*, 50, 2200-2206.
- Punithavathi VR, Prince PSM (2010). Pretreatment with a combination of quercetin and α -tocopherol ameliorates adenosine triphosphatases and lysosomal enzymes in myocardial infarcted rats. *Life Sci*, 86, 178-184.
- Rajadurai, M, Prince PSM (2006). Preventive effect of naringin on lipids, lipoproteins and lipid metabolic enzymes in isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 20, 191-197.
- Rastam L, Lindberg G, Folsom AR, Burke GL, Nilsson-Ehle P, Lundblad A (1996). Association between serum sialic acid concentration and carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound. The ARIC Investigators. Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Int J Epidemiol*, 25, 5, 953-958.
- Ross R, Glomset JA (1973). Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science*, 180, 1332-1339.
- Saldamlı İ (2007). Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları Ankara, 463-492.
- Saranya P, Rajesh Kumar R, Rajadurai M (2012). Protective effect of rutin and ellagic acid on isoproterenol-induced myocardial infarction in wistar rats. *JEAB*, 1, 12-18.
- Schauer R (1982). Chemistry, Metabolism And Biological Functions Of Sialic Acids. In: Stuart T, Horton D (Eds.). Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. Vol. 40. New York: Academic Press Inc, 131-234.
- Schauer R, Kamerling JP (1997). Chemistry and Biochemistry of Sialic Acids. In: Montreuil J, Vliegenhart JFG, Schacter H, editors. Glycoproteins II. Amsterdam: Elsevier, 243-402.

- Schauer R, Kelm S, Reuter G, Roggentin P, Shaw L (1995). Biochemistry and Role of Sialic Acid. In: Rsebberg A, Editor. *Biology Of Sialic Acids*. New York: *Plenum Publishing Corp*.
- Seeram NP, Henning SM, Zhang Y, Suchard M, Li Z, Heber D (2006). Pomegranate juice ellagitannin metabolites are present in human plasma and some persist in urine for up to 48 hours. *J Nutr*, 136, 2481-2485.
- Sheela SC, Devi CS (2001). Effect of abana pretreatment on isoproterenol-induced hyperlipidaemia in rats. *Indian J Pharmacol*, 63, 101-104.
- Shiny KS, Kumar SH, Farvin KH, Anandan R, Devadasan K (2005). Protective effect of taurine on myocardial antioxidant status in isoprenalineinduced myocardial infarction in rats. *J Pharm Pharmacol*, 57, 1313-1317.
- Singal PK, Beamish RE, Dhalla NS (1983). Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. *Adv Exp Med Biol*, 161, 391-401.
- Sydow G (1985). A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomed Biochem Acta*, 44, 11-12, 1721-1723.
- Şentürk S (2008). Isoproterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda l-lizin'in total sialik asit düzeylerine etkisinin incelenmesi. Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Taylor CR, Cote AJ (1994). *Immunomicroscopy: A diagnostic tool for the Surgical Pathologist*. 2nd ED, Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Topçuoğlu C, Yılmaz FM, Şahin D, Aydoğdu S, Yılmaz G, Saydam G, Yücel D (2010). Total and lipid-associated sialic acid in serum and thrombocytes in patients with chronic heart failure. *Clin Biochem*, 43, 447-449.
- Traving C, Schauer R (1998). Structure, function and metabolism of sialic acids. *Cell Mol Life Sci*, 54, 1330-1349.
- Uzgur S, Usta U, Gökmen SS (2011). İsooproterenol ile miyokart infarktüsü oluşturulmuş sıçanlarda L-lizinin serum sialik düzeylerine etkisi. *Turk J Biochem*, 36, 3, 248-254.
- Wakabayashi I, Sakamoto K, Yoshimoto S, Masui H (1992). Relation of serum sialic acid to lipid concentrations. *BMJ*, 305, 562-563.
- York M, Scudamore C, Brady S, Chen C, Wilson S, Curtis M (2007). Characterization of troponin responses in isoproterenol-induced cardiac injury in the Hanover Wistar rat. *Toxicol Pathol*, 35, 4, 606-617.

ÖZGEÇMİŞ

Van'ın Tuşba ilçesi Alabayır Köyünde 1987 yılında doğdu. İlk öğrenimi Alabayır Köyünde ve orta öğrenimi İsmail Hakkı Tonguç Orta Okulu'nda tamamladı. 2009-2013 yılları arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümünü bitirdi. 2014 yılında, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Öğrenimi görmeye hak kazandı.



EKLER


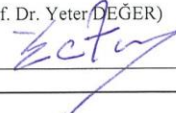
Ek. 1. YYU Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgesi



T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ
YUZUNCUYILUNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmanın Adı	Miyokart infarktüsü oluşturulmuş ratlarda Ellajik Asitin Sialik Asit Düzeyleri ve Lipit Profili Üzerine Etkisi.	
Title of the Research	The Effect of Ellagic Acid on Sialic Acid Levels and Lipid Profile in Rats Induced Myocardial Infarction.	
Araştırmacı(lar)	Yürütücü / Chief investigator : Prof. Dr. Yeter DEĞER	
Investigator(s)	Yardımcı Araştırmacı(lar) / Co-investigator(s): Ergin TAŞKIN	
Araştırmanın Başlama Tarihi / Research Starting Date:	25.06.2015	
Araştırmanın Bitiş Tarihi / Research Completion Date:	24.12.2016	
Proje Süresi / Total Time of Project:	18 ay	
Proje No / Project Number:	2015-SBE-Y1.230	
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / Funding institution(s) (if available):	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı	
Destek Şekli ve Miktarı / Type and amount of funding:	10000 TL	
Karar:	Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27 / 10 / 2016 tarih ve 2016/10 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.	
Decision:	Final report of the research project detailed above was approved by Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 27 / 10 / 2016 (decision number 2016/10).	
	 BASKAN/CHAIR Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Prof. Dr. Fazıl ŞEN	Prof. Dr. Süddik KESKİN	Prof. Dr. Suphi DENİZ
ÜYE	ÜYE	ÜYE
 Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	 Doç. Dr. Atilla DÜRMÜŞ	Doç. Dr. Abdülbaki AKSAKAL
ÜYE	ÜYE	ÜYE
 Doç. Dr. Nalan ÖZDAL	 Yrd. Doç. Dr. Özer ALKAN	Yrd. Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Yrd. Doç. Dr. Canser Yılmaz DEMİR	Yrd. Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN	Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU
 Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET		

Ek. 2. Tez Orjinallik Raporu

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU	
Tarih: 12/01/2017	
Tez Başlığı / Konusu: 'Miyokart İnfarktüsü Oluşturulmuş Ratlarda Ellajik Asitin Sialik Asit Düzeyleri ve Lipit Profili Üzerine Etkisi'	
Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 51 sayfalık kısmına ilişkin, 11/01/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orjinallik raporuna göre, tezim benzerlik oranı % 13'dür. Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir: - Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç, - 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)	
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.	
Gereğini bilgilerinize arz ederim.	
Tarih: 12/01/2017	imza: 
Adı Soyadı: Ergin TAŞKIN Öğrenci No: 139301055 Anabilim Dalı: Biyokimya AD Programı: Tezli Yüksek Lisans Statüsü: Y.Lisans <input type="checkbox"/> Doktora <input type="checkbox"/>	
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR
(Prof. Dr. Yeter DEĞER) 	(Unvan, Ad Soyad, İmza)