

54877

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARBONTETRAKLORÜR İLE DENEYSEL SİROZ OLUŞTURULAN
TAVŞANLARDA SİYALİK ASİT, LİPİD-BAĞLI SİYALİK ASİT, TOTAL PROTEİN
VE BAZI SPESİFİK KARACİĞER ENZİMLERİNİN AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

(DOKTORA TEZİ)

Veteriner Hekim Ali ERTEKİN

Biyokimya Anabilim Dalı

**Danışman
Yrd.Doç.Dr. Ayşegül BİLDİK**

Van - 1996

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KARBONTETRAKLORÜR İLE DENEYSSEL SİROZ OLUŞTURULAN
TAVŞANLARDA SİALİK ASİT, LİPID-BAĞLI SİALİK ASİT, TOTAL PROTEİN VE
BAZI SPESİFİK KARACİĞER ENZİMLERİNİN AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

(DOKTORA TEZİ)

Veteriner Hekim Ali ERTEKİN

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN

Prof. Dr. Hayati ÇAMAŞ



ÜYE


Yrd. Doç. Dr. Aytegin

Bildirir



ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Fatmaşenel Dur



TEZ KABÜL TARİHİ

25.10.1996

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. ÖZ	4
2. ABSTRACT	6
3. ÖNSÖZ	8
4. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER:	9
4.1 Karaciğer	9
4.1.1 Karaciğerin Biyotransformasyonu ve Toksinlerin Zararsız Hale Getirilmesi	9
4.2 Sirozun Tanımı ve Oluşumu	10
4.3 Karbontetraklorür İntoksikasyonu	11
4.4 Enzimler ve Sınıflandırılmaları	13
4.4.1 Klinik Tanıda Enzimlerin Kullanılmaları	15
4.4.2 SGPT Metabolizması	15
4.4.3 SGOT Metabolizması	16
4.4.4 Serum GOT ve GPT' nin Organizmadaki Biyokimyasal Önemi	17
4.4.5 SGPT ve SGOT Miktarında Artışa Neden Olan Durumlar	17
4.5 Serumda Total Protein Miktarı Değişikliklerinin Klinik Önemi	18
4.6 Sialik Asit	20
4.6.1 Sialik Asitin Tarihi	20
4.6.2 Sialik Asitin İsimlendirilmesi	20
4.6.3 Sialik Asitin Türevleri	21
4.6.4 Sialik Asitin Sentezi	22
4.6.5 Sialik Asitin Anabolizması	26
4.6.6 Sialik Asitin Dağılımı	28
4.6.7 Sialik Asitin Önemi	29
5. MATERYAL VE METOT	34
5.1 Hayvan Materyali	34
5.2 Araç ve Gereçler	34

5.3 Solüsyonların Hazırlanışı	35
5.4 Gruplara Uygulanan İşlemler	36
5.4.1 Akut Siroz Oluşturulan Grup	36
5.4.1.1 LSA' nın Ölçüm Metodu	36
5.4.1.2 Sialik Asitin Ölçüm Metodu	37
5.4.1.3 Serum Total Protein Miktar Tayini	37
5.4.1.4 Serum GPT Aktivite Tayini	38
5.4.1.5 Serum GOT Aktivite Tayini	39
5.4.2 Kronik Siroz Oluşturulan Grup	40
5.4.3 Kontrol Grubu	40
6. BULGULAR	41
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	57
8. ÖZET	64
9. SUMMARY	66
10.KAYNAKLAR	68
11. ÖZGEÇMİŞ	77

Tablolar

Tablo.1 Akut - Kronik ve Kontrol gruplarının canlı ağırlıkları ve ortalamaları

Tablo.2 Akut - Kronik ve Kontrol grubu total karaciğer ağırlıkları

Tablo.3 Akut - Kronik ve Kontrol gruplarının canlı ağırlıklarının total karaciğer ağırlıklarına oranları

Tablo.4 Akut - Kronik ve Kontrol gruplarında serum GOT düzeyleri

Tablo.5 Akut - Kronik ve Kontrol gruplarında serum GPT düzeyleri

Tablo.6 Akut - Kronik ve Kontrol gruplarında Sialik asit düzeyleri

Tablo.7 Akut - Kronik ve Kontrol gruplarında LSA düzeyleri

Tablo.8 Akut - Kronik ve Kontrol gruplarında Total protein düzeyleri

Tablo.9 Akut ve Kontrol gruplarına ait parametrelerin gruplar arası istatistikî önem analizleri

Tablo.10 Kronik ve Kontrol gruplarına ait parametrelerin gruplar arası istatistikî önem analizleri

Kısaltmalar

LSA	Lipid - Bağlı Sialik Asit
SA	Sialik Asit
NANA	N - Asetilnöraminik Asit
SGOT	serum Glutamat Oksaloasetat Transaminaz
SGPT	serum Glutamat Pirüvat Transaminaz
CMP	Sitidin Mono Fosfat
CTP	Sitidin Tri Fosfat
P.Pi	Piro Fosfat
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
CCL₄	Karbontetraklorür

1. ÖZ

Bu çalışmada, sirozun klinik semptomatik teşhisini desteklemek amacıyla sialik asitin ve LSA' nın önemi araştırılmıştır.

Çalışmada, CCL4 ile deneysel siroz oluşturulan tavşanların (*Lepus europous*) serumlarında SA, LSA, Total protein ile karaciğer enzimlerinden serum GOT ve GPT miktarları tayin edildi.

Araştırmada, biri kontrol diğerleri akut ve kronik deneme grubu olmak üzere üç grup kullanıldı. Akut deneme grubuna verilen CCL4 bir defada intraperitoneal olarak 2.00 cc / kg. dozunda ve 1:1 (v / v) oranında zeytinyağı süspansiyonu içerisinde uygulandı. Kronik deneme grubuna ise 45 gün süreyle subkutan olarak uygulanan CCL4 , 0.5 cc / kg. dozunda ve 1:1 (v / v) oranında zeytinyağı süspansiyonu içerisinde verildi. Kontrol grubuna ise herhangi bir toksik madde verilmedi.

Akut deneme grubunda CCL4 uygulamasını takiben 3. ve 24. saatlerde alınan kan örneklerinde ölçümler yapıldı. 3. saatteki ölçümler sonucunda SGOT, SGPT, SA, LSA ve Total protein sırasıyla 2705 ± 51 U/ L, 2380 ± 42 U/ L, 8.34 ± 0.88 mg/ dl, 30.1 ± 2.6 mg/ dl, 7.6 ± 0.16 % gr olarak, 24. saatte yapılan ölçümlerde ise bu değerler yine sırasıyla 1164 ± 87 U/ L, 1332 ± 116 U/ L, 44.6 ± 9.3 mg/ dl, 109.1 ± 16 mg/ dl, 6.3 ± 0.24 % gr olarak bulundu. Kontrol grubu ölçümlerinde bu değerler sırasıyla 44 ± 4.9 U/ L, 56.4 ± 6.2 U/ L, 6.26 ± 0.52 mg/ dl, 30 ± 3.7 mg / dl, 8.8 ± 0.23 % gr olarak tesbit edildi.

Kronik deneme grubunda ise uygulamayı takiben 2., 4. ve 6. haftalarda kan örnekleri alındı. 2. haftada yapılan ölçümler sonucunda deneme grubundaki değerler yukarıdaki sıraya göre 357.9 ± 6.1 U/ L, 332.57 ± 3.8 U/ L, 3.23 ± 0.34 mg/ dl, 18.43 ± 0.69 mg/ dl, 6.52 ± 0.25 % gr olarak, 4. haftada yapılan ölçümlerde ise bu değerler yine sırasıyla 455.3 ± 11 U/ L, 425.67 ± 3.4 U/ L, 4.31 ± 0.30 mg/ dl, 23.68 ± 0.87 mg/ dl, 8.28 ± 0.12 % gr olarak tayin edildi. 6. haftada yapılan ölçümlerdeki değerlerde sırasıyla 456.7 ± 8.7 U/ L, 470 ± 3.7 U/ L, 5.36 ± 0.19 mg/ dl, 22.96 ± 0.68 mg/ dl, 9.45 ± 0.09 % gr olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde ise bu miktarlar 2. haftada yine sırasıyla 37.29 ± 1.0 U/ L, 37.43 ± 0.95 U/ L, 1.52 ± 0.09 mg/ dl, 8.43 ± 0.46 mg/ dl, 9.03 ± 0.27 % gr olarak, 4. haftada sırasıyla 37.5 ± 1.2 U/ L, 38.17 ± 0.79 U/ L, 1.69 ± 0.05 mg/ dl, 6.98 ± 0.27 mg/ dl, 11.08 ± 0.12 % gr olarak ve 6. haftada ise miktarlar yine sırasıyla 43.67 ± 1.3 U/ L,

37.50 ± 2.7 U/ L, 1.65 ± 0.12 mg/ dl, 7.95 ± 0.27 mg/ dl ve 12.21 ± 0.09 % gr olarak tesbit edildi.

Akut, kronik ve kontrol gruplarındaki serum GOT ve GPT enzimleri analizlerinde, deneme gruplarındaki enzim miktarlarının kontrol gruplarına göre bir yükseklik arzettiği gözlemlendi. Total protein ölçümlerinde ise, deneme gruplarındaki miktarlarda kontrol gruplarına göre bir düşme olduğu görüldü. SA ve LSA analizlerinde akut ve kronik deneme gruplarındaki miktarların kontrol gruplarına göre yüksek olduğu gözlemlendi. SGOT, SGPT, SA ve LSA düzeylerinin akut ve kronik gruplarda, kontrol gruplarına göre istatistiki açıdan önemli derecede arttığı ($P < 0.001$), Total protein miktarının ise azaldığı ($P < 0.05$) bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Tavşan, *Lepus europous*, CCL4, Oliveoil, Siroz, SGOT, SGPT, Sialik asit, LSA, Total protein

2. ABSTRACT

In this study, importance of Lipid-bound Sialic Acid (LSA) and Sialic Acid (SA) on supporting the clinic-symptomatic diagnosis of cirrhosis was investigated. The SA, LSA, Total protein and some liver enzymes such as, SGOT and SGPT were analyzed in the serum of experimentally cirrhosis-produced rabbits by using CCL4.

Three treatments, control, acut and chronic groups were used. Two cc/ b.w CCL4 was given (intraperiotenal IP) in an oliveoil süspension (1:1 v/ v) in acut experimental group. In chronic experimental group, 0.5 cc/ b.w CCL4 was given (subcutan SC) in an oliveoil süspension (1:1 v/ v) for 45 days. Nothing was given in control group.

In acut experimental group, analyses was done in blood samples obtained 3 and 24 hours after CCL4 administration. Three hours after the administration, SGOT, SGPT, SA, LSA and Total protein levels were 2705 ± 51 U/ L, 2380 ± 42 U/ L, 8.34 ± 0.88 mg/ dl., 30.1 ± 2.6 mg/ dl., 7.6 ± 0.16 % gr., respectively. Twentyfour hours after the administration these levels were 1164 ± 87 U/ L, 1332 ± 116 U/ L, 44.6 ± 9.3 mg/ dl., 109.1 ± 16 mg. / dl., 6.3 ± 0.24 % gr., respectively. These levels in control group were 44 ± 4.9 U/ L, 56.4 ± 6.2 U/ L, 6.26 ± 0.52 mg. / dl., 30 ± 3.7 mg. / dl., 8.8 ± 0.23 % gr., respectively.

On the other hand, in chronic experimental group, measurements were done in blood samples obtained 2., 4. and 6. weeks after the administration. Two week after the administration these levels were 357.9 ± 6.1 U/ L, 332.57 ± 3.8 U/ L, 3.23 ± 0.34 mg/ dl., 18.43 ± 0.69 mg/ dl., 6.52 ± 0.25 % gr., respectively. Four week after the administration these levels were 455.3 ± 11 U/ L, 425.67 ± 3.4 U/ L, 4.31 ± 0.30 mg/ dl., 23.68 ± 0.87 mg/ dl., 8.28 ± 0.12 % gr., respectively. Six week after the administration these levels were 456.7 ± 8.7 U/ L, 470 ± 3.7 U/ L, 5.36 ± 0.19 mg/ dl., 22.96 ± 0.68 mg/ dl., 9.45 ± 0.09 % gr., respectively.

In control group, these levels two weeks after the begining of the experiment were 37.29 ± 1.0 U/ L, 37.43 ± 0.95 U/ L, 1.52 ± 0.09 mg/ dl., 8.43 ± 0.46 mg/ dl., 9.03 ± 0.27 % gr., four weeks later these levels were 37.5 ± 1.2 U/ L, 38.17 ± 0.79 U/ L, 1.69 ± 0.05 mg/ dl., 6.98 ± 0.27 mg/ dl., 11.08 ± 0.12 % gr. and six weeks later 43.67 ± 1.3 U/ L, 37.50 ± 2.7 U/ L, 1.65 ± 0.12 mg/ dl., 7.95 ± 0.27 mg/ dl. ve 12.21 ± 0.09 % gr., respectively.

The SGOT, SGPT, SA and LSA levels in acut and chronic groups were significantly ($P < 0.001$) higher and total protein levels was significantly lower ($P < 0.05$) than the levels in control group.

Key words : Rabbit, Lepus europous, CCL4, Oliveoil, Cirrhosis, SGOT, SGPT, Sialic Acid, LSA, Total protein.



3. ÖNSÖZ

Karaciğer salgılama, depolama, sentezleme, detoksifikasyon gibi pek çok fizyolojik ve metabolik göreve sahip bir organdır. Karaciğer dokusunun yangısına genel olarak hepatitis adı verilmektedir.

Enzimler protein yapısında olan biyokatalizörlerdir. Katalizörler kimyasal reaksiyonları hızlandırırlar. Dokularda hücre harabiyeti olduğunda bazı enzimler plazma ve seruma sızar. Bu sızan enzimlerin aktivitelerinin ölçümü, tıbbi bozuklukların tanısında, seyrinde ve hastalığın tedaviye verdiği cevabın izlenmesinde önemli bir kısmı oluşturur.

Sialik asitin biyolojik rollerinin incelenmesine ilişkin çalışmalar, dünyanın çeşitli yerlerindeki araştırma laboratuvarlarında yoğun bir şekilde sürdürülmektedir. Sialik asitler doğada glikoproteinler, glikolipitler, oligosakkaritler ve polisakkaritlerin komponentleri olarak buldukları için çok az bir miktarı serbest halde bulunur. Hücredeki sialik asitler ise büyük oranda membran glikoprotein ve glikolipitlerine bağlı olarak bulunurlar. Sialik asit ölçümlerinin sadece tanıya yardımcı değil aynı zamanda hastalığın evrelendirme, prognoz ve erken nüksü belirleyici olduğuna dair bilgiler mevcuttur. Sialik asit gibi lipid-bağlı sialik asit de hastalığın yaygınlığı, seyri ve prognozuyla pozitif bir korelasyon göstermektedir. Bu nedenle hastalığın tedaviye verdiği cevabın izlenmesinde önemli bir göstergedir. Özellikle diğer diagnostik testlerle beraber kullanıldığında yanlış negatif sonuçlar önemli ölçüde azalmaktadır.

Sirozun klinik, sitolojik ve patolojik teşhisine destek olarak sialik asit ve lipid- bağlı sialik asitin biyokimyasal analizinin kesin teşhisin konulmasında ve hastalığın seyrinin takip edilmesinde önemli bir marker olarak kullanılabileceği kanaatindeyiz.

Çalışmanın her aşamasında öneri ve fikirlerinden istifade ettiğim kıymetli danışman hocam Yrd.Doç.Dr. Ayşegül Bildik' e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

4. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

4.1 Karaciğer

Karaciğer vücudun en büyük organıdır ve vücut tarafından kullanılan endojen enerji kaynağının çoğu burada üretilir. Tavşan karaciğeri beş loba bölünmüştür ve diyaframın altında abdominal boşlukta yerleşmiştir. Karaciğerin iki önemli hücresi hepatositler ve Kupfer hücreleridir. Paraneoplazm dokusunda yer alan hepatositler, metabolitleri venlere veya safra kanalcıklarına gönderirler, bunlar da boş safra kanallarına veya safra keselerine dağıtır. Karaciğerin metabolik fonksiyonlarından hepatositler sorumludur. Karaciğerin en önemli salgısı safradır. Salgılanan safra duodenuma dökülür. Yağların ve yağda eriyen vitaminlerin emilmesine yardımcı olur. Enterohepatik safra dolaşımı vasıtasıyla safra, barsaklardan emilip, vena porta yoluyla tekrar karaciğere gelir. Glikoz ve galaktoz barsaklardan emildikten sonra, vena porta yoluyla karaciğere gelip, glikojen olarak depo edilir. Ayrıca A, D, E, K ve B 12 vitaminleri ile iz elementlerin de depo yeri karaciğerdir. Glikoneojenezis; kolesterol, nükleoprotein ve aminoasitlerden protein sentezi, antikor teşekkülü ve glikojenin dengeli bir şekilde kana verilmesi karaciğerin en önemli metabolik görevlerindedir. Kanın pıhtılaşmasında görevli olan protrombin, fibrinojen, faktör V, VII, VIII, X ve heparin ayrıca albümin, safra tuzları, üre ve C vitamini karaciğerde sentezlenir. Karaciğer aynı zamanda karbonhidratların, proteinlerin, lipidlerin, porfirinlerin ve safra asitlerinin metabolizması için de özel bir organdır. Karaciğer vücut proteinlerinin çoğunu sentezleyebilecek yetenektedir (1,2,3).

4.1.1 Karaciğerin Biyotransformasyonu ve Toksinlerin Zararsız Hale Getirilmesi

Karaciğerde, vücuda özgü ve yabancı maddeler çeşitli reaksiyonlara uğrarlar ki buna kısaca biyotransformasyon adı verilir. Bu reaksiyonlar çoğu kez yabancı maddelerin zehir etkisinin giderilmesini sağlarlar. Biyotransformasyonun amacı, bu yabancı maddelerin ve toksinlerin suda çözünen, idrarla atılabilen türevlerinin oluşturulmasıdır (4).

Karaciğere vena porta yoluyla istenmeyen birçok maddenin gelmesi halinde, bunların bir kısmı kimyasal değişikliğe uğrayarak tekrar kana verilir ve böbreklerden dışarı atılır. Böylece fazla nitrojenli maddeler üreye, ürik aside, oksitlenerek allantoin maddesine, benzoik asit ise glisinle konjuge olarak hippürik asite dönüşür. Yine birçok yabancı maddeler veya metabolizma artıkları, karaciğere gelir ve oradan da safra salgısıyla birlikte

barsaklara geçerek dışarı atılırlar. Bunların en önemlileri hemoglobin, miyoglobin ve sitokrom gibi maddelerdir. Bunların parçalanması sonucu açığa çıkan maddeler karaciğer hücreleri tarafından ve kısmen Kupfer hücreleri tarafından bilirübine çevrilir. Bilirubin karaciğerin paransim hücreleri tarafından konjuge edilerek bilirubin diğlukuronid' e dönüşür ve safra kanallarında toplanarak safra salgısının karakteristik rengini verir. Karaciğerdeki toksikasyon fonksiyonlarının bozulması halinde kandaki amonyak düzeyi yükselir, primer aminlerin sinirsel fonksiyonlarının ortaya çıkmasına ve phyloeritrin maddesinin hücre dışı sıvılarında birikmesine neden olur (1,3).

4.2 Sirozun Tanımı ve Oluşumu

Siroz, karaciğer interstitiumunun (destek dokusunun) süregen ve proliferatif yangısıdır. Karaciğer paransiminin gözden kaybolması ve bunun yerini giderek yaygın bir biçimde üreyen interstitiel dokunun alması halidir (5).

Karaciğer paransim kitesinin azalması siroz gibi kronik karaciğer hastalıklarında sık olarak görülür. Bu hastalıkta karaciğer hücrelerinin proliferasyonu normal paransim kitesindeki azalmayı bir süre telafi edebilir. Paransima azalması akut karaciğer nekrozu yapan zehirlenmelerde de olur. Karaciğer kan akımı siroz ve diğer karaciğer hastalıklarında belirgin derecede azalır (6).

Sirozun sebepleri genellikle aşağıdaki gibi sıralanabilir (5),

1- Toksik maddeler: Alkol, Fosfor, Kloroform, Manganez, Arsenik, Karbontetraklorür, Kömür katranı, Bazı zehirli bitkiler ile kokuşmuş fermente olmuş yem ve insan yiyecek artıkları...vb. gibi maddeler sayılabilir,

2-Enfeksiyöz-toksik etkenler,

3-Parazitler veya larvaları,

4-Safra yollarında oluşan ve giderek bu kanalların çevresine aşılana ve buradan da bütün karaciğer çevresine yayılan yangı olayları,

5-Eritrositlerin kitle halinde yıkımıyla ilgili olarak karaciğerde biriken çok miktardaki hemosiderinin oluşturduğu Hemosiderosis hepatis hali,

6-Kalp hataları sonucu oluşan pasif hiperemi hali.

Karaciğerde oluşan sirozlar yukarıdaki sebeblere göre şöyle sınıflandırılırlar (5),

1. Toksik sirozlar

2. Enfeksiyöz-toksik sirozlar
3. Paraziter sirozlar
4. Bilier veya portal sirozlar
5. Pigmentlerle ilgili sirozlar
6. Kardiak veya sentral sirozlar

Genel olarak nedeni ne olursa olsun sirozlar birbirini izleyen ayrı nitelikteki iki olay sonucu oluşurlar. Bu olaylarda;

1- Karaciğer parانشim hücrelerinin değişik biçimlerde dejenere, nekroze veya atrofiye olması ve gözden kaybolması olayı ile,

2-Gözden kaybolan karaciğer hücrelerinin yerini doldurmak ve onarımını sağlamak üzere interstitiel bağ dokunun yaygın olarak üremesi olayıdır.

Karaciğer hücrelerine etkileyen toksinlerin az miktarda ve uzun süre alınması ile karaciğerin parانشimi giderek yıkıma uğrar. Kaybolan bu karaciğer hücrelerinin yerini doldurmak üzere interstitiel bağ doku hızla ürer ve sirozu oluşturur (5).

4.3 Karbontetraklorür İntoksikasyonu

Çeşitli nedenlerle karaciğerde lipid birikebilir. Karaciğerde lipid birikimi kronik hale gelince, siroz ve karaciğer fonksiyon bozukluğuna doğru ilerleyen hücreler içinde fibrotik değişimler olur. Bir antibiyotik olan Puromisin sıçanlarda protein sentezini inhibe ederek yağlı karaciğere yol açar. Benzer etkiler gösteren diğer maddeler arasında; etiyonin, karbontetraklorür, kloroform, fosfor, kurşun ve arsenik yer alır. Kolin organizmayı bu maddelere karşı koruyamaz, ancak iyileşmeye yardımcı olduğu görülmektedir. Karbontetraklorürün aynı zamanda salgı mekanizmasının kendisini veya lipidin apolipoprotein ile birleşmesini de etkilemesi büyük olasılıktır. Etkisi doğrudan değildir, ancak molekülün daha fazla şekil değiştirmesine bağlıdır. Buna bağlı olarak, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan serbest radikallerin, endoplazmik retikulumdaki lipid membranlarını parçaladığı düşünülmektedir (7,8).

Doi ve ark. (9) tarafından yapılan bir çalışmada, 15 adet rata 2.00 ml./ kg. karbontetraklorür, 2.00 ml. zeytinyağı süspansiyonu içerisinde haftada iki defa peros (oral) olarak verildikten sonra, 4. haftadan itibaren karaciğer hücrelerinde dejenerasyonların başladığı ve 12. haftada tamamen sirozun olduğu gözlenmiştir. Sirozun oluşumu, 4., 8., ve

12. haftalarda öldürülen ratların karaciğerlerinden yapılan kesitlerle histolojik olarak kanıtlanmıştır. Yine bu çalışmada karbontetraklorür metabolizmasında oluşan radikallerin lipid peroksidasyonunu bozarak sirozun oluşumunda en önemli rolü oynadığı bildirilmiştir.

Fischer-Nielsen ve ark. (10) , karbontetraklorürü findık yağıyla süspansiyon haline getirerek sonda ile ratlara vermişlerdir. 0.04 ml./ kg. ' dan başlayıp 0.32 ml./ kg. ' ma kadar yükseltelen dozlar halinde karbontetraklorür verilmesinden yaklaşık 12 hafta sonra ratlarda sirozun oluştuğunu gözlemişlerdir. Bu oluşan siroz, karaciğer enzim testleri, karaciğer doku ölçümleri ve karaciğerden yapılan kesitlerle desteklenmiştir.

Trivedi ve Mowat (11) ' in yaptıkları bir çalışmada, ratlara 0.25 ml./ kg. ' dan başlayan dozlar halinde ve her enjeksiyonda 0.05 ml./ kg. artırarak 0.5 ml./ kg. dozuna kadar subkutan (derialtı) olarak karbontetraklorür verilmiştir. Karbontetraklorür Arachis yağıyla dilüe edilerek süspansiyon haline getirilmiştir. 38. ve 75. günler arasında sirozun geliştiği tesbit edilmiş ve yapılan kesitlerde karaciğer hücrelerinde fibrozis, nekrozis, yağ infiltrasyonu ve dolayısıyla sirozun oluştuğu gözlenmiştir.

Literatürde (12) , ratlara 0.2 ml./ kg. dozunda subkutan olarak karbontetraklorür enjeksiyonundan yaklaşık 10 saat sonra karaciğerde hasarın şekillenmeye başladığı ve yağ dejenerasyonlarının görüldüğü bildirilmektedir.

Harvey ve Klaassen (13) , karbontetraklorürün lipid peroksidasyonuna ve bunun sonucunda karaciğer harabiyetine kesin yol açtığını bildirmişlerdir. Ratlara 0.1, 0.3, 0.5, ve 1.0 ml./ kg. artan dozlar halinde intraperitoneal olarak findık yağıyla süspansiyon edilen karbontetraklorür enjekte etmişlerdir. Karaciğer hasarında esas etkili faktörün karbontetraklorürün organik bir radikali olan karbontriklorürün (CCL_3) neden olduğunu bildirmişlerdir.

Hasumura ve ark. (14) , Ratlara etanol verilmesinden sonra karbontetraklorürün hepatotoksitesinin derecesi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Ratlara etanol ihtiva eden diyet verilmiştir. Etanolün tamamen emilimi için 15 saat kadar beklenilmiş ve ardından 0.5 ml./ kg. hesabıyla ratlara intragastrik olarak 1:1 (v / v) mineral yağ süspansiyonu içerisinde karbontetraklorür verilmiştir. Etanolün verilmesinden sonra emilimi için yeterli süre sonunda karbontetraklorürün verilmesi, karbontetraklorürün hepatotoksik potansiyelini artırmıştır. Karbontetraklorür alkol varlığında toksisitesini hissedilir derecede artırmaktadır. Bu artışın sebebi, etanolün karbontetraklorürün emilimini maksimum düzeye çıkarması ve etanolün

karbontetraklorür ile sinerjik bir etkiye sahip olmasıdır. Karaciğer hücrelerindeki hasara irreverzibl olarak oluşan karbontetraklorür metabolitlerinin neden olduğunu bildirmişlerdir.

4.4 Enzimler ve Sınıflandırılmaları

Enzimler tüm canlı organizmalar tarafından sentezlenebilen ve yaşam için esansiyel olan biyokatalizörlerdir (15,16,17,18).

Fiziksel ve kimyasal nitelik olarak protein özelliği gösteren bu biyokatalizörlerin gerçektende protein yapısında oldukları hidrolize edildiklerinde amino asitlere parçalanmaları ile son yıllarda da amino asit birimlerinden başlayarak sentezlenebilmeleri ile kesin ve dolaysız bir biçimde kanıtlanmıştır (19,20).

Yeryüzünde yaşam enzimlerle olasıdır. Bu nedenle biyomedikal bilim dallarının pek çok alanını etkilerler. Bazı hastalıklar, (metabolizmanın doğmalık kusurları) enzimlerin sentezinde genetik yönden saptanmış mutasyonlara bağlanır. Hücre harabiyeti olduğunda bazı enzimler plazma ve seruma sızar. Bu tür enzim aktivitelerinin ölçümü tıbbi bozuklukların tanısında önemli bir kısmı oluşturur. Diagnostik enzimoloji, tıpta hastalıkların tanı ve kontrolünde yardımcı olarak kullanılan bir alandır. Enzimler ayrıca tedavide de kullanılabilir (7).

Değişik yazarlar serumda kökenleri ve işlevlerine göre iki grup enzim bulunabileceği görüşünde birleşmektedirler (21,22).

1-Plazmaya özgü enzimler

Kan plazmasının olağan bir ögesini oluşturan bu enzimlerin işlev yerleri yine plazmadır. Pıhtılaşma enzimleri, lipoprotein lipaz ve pseudokolinesteraz gibi enzimler bu grupta yer almaktadır. Karaciğer hücre hasarlarında bu enzimlerin aktiviteleri azalır (15,17,22,23).

2-Salgılanmış enzimler

Hücre içi ortamda sentezlenen ve olağan koşullarda aynı yerde görev yapan bu enzimler sentezlendikleri dokuların çeşitliliğine ve işlevlerin çok değişik olmasına rağmen iki alt grupta toplanarak incelenebilir.

A- Ara metabolizmanın temel tepkimelerini denetleyen ve dar anlamda doku spesifitesi göstermeyenler. Laktik malik α -dehidrojenazlar, α -gliserofosforik dehidrojenazlar, glutamik oksaloasetik ve glutamik pirüvik transaminazlar ve fruktoz 1,6 difosfataaldolaz gibi (15,17,23).

B- Tek bir organ ya da bir kaç organ için karakteristik bir metabolizma olayında görev alan ve oldukça dar bir doku spesifitesi gösterenler. Karbamil fosfat sentetaz, ornitin karbamil sentetaz, arjino süksinaz, arjinaz, sorbitol dehidrojenaz, alkalen fosfataz ve kreatin fosfokinaz gibi (24).

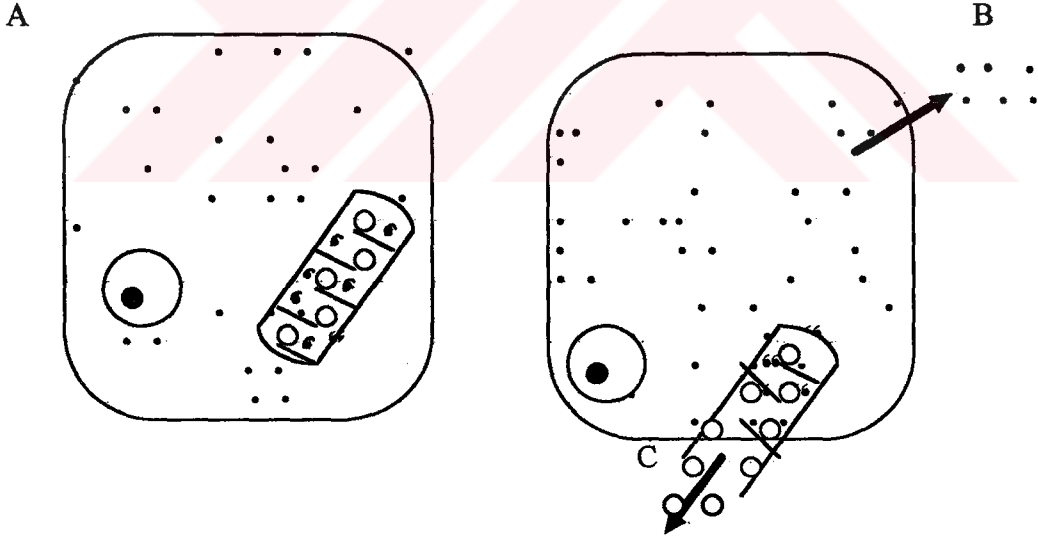
Enzimler hücrede buldukları yerler bakımından da özellikler gösterirler (15,23).

A-Stoplazmada bulunan enzimler. GOT, LDH, Aldolaz

B-Mitokondriyumda bulunan enzimler. GOT, GLDH, OCT, Arjinaz, Asit Fosfataz, GPT

C-Mikrozomal enzimler. Kolinesteraz, ALP

Belirli hastalıklarda yalnızca stoplazmik enzimlerin kan plazmasına geçmesine karşın, mitokondriyum enzimlerinin plazmada saptanabilmeleri için hücresel lezyonların mitokondriyumu parçalayacak kadar ağır olması gereklidir.



Şekil.1 Hücredeki bozukluk tiplerinin enzim diffüzyonu ile ilişkileri

(GPT : “ , GOT: • , GLDH : o) (19).

A- Normal hücrede yerleşim.

B- Zar geçirgenliğinin bozulması.

C- Ağır hücresel lezyon.

4.4.1 Klinik Tanıda Enzimlerin Kullanılmaları

Klinik tanıda enzimlerin kullanılmaları elli yıldan fazla bir geçmişe sahiptir. Bu asrın başında Diastaz (Amilaz) tayinleri ile başlayan gelişme, otuz yıl sonra karaciğer ve kemik hastalıklarında serum Alkalen fosfatızı ve prostat kanserlerinde Asit fosfatazların tayini ile ilerledi. Daha sonra Kolinesteraz ve pıhtılaşma enzimlerinin ve son yirmi yıl içinde de hücre enzimlerinin özellikle transaminazların tayini ile çok verimli olmuştur (17,18,23,25).

Enzim yardımı ile teşhis koymak veya bir hastalığın seyrini kontrol etmek için özel bir kimya bilgisine gerek yoktur. Plazmadaki enzim aktivitesi, hasara uğrayan organ veya hücre yapı elemanlarını tanımaya ve miktarca beyanda bulunmaya olanak sağlar. Enzim tayinlerinden faydalı bir sonuç çıkarmak için enzimlerin organlardaki ve hücre içindeki dağılışını bilmek, ayrıca serumdaki durumu hakkında da bilgi sahibi olmak gereklidir (23).

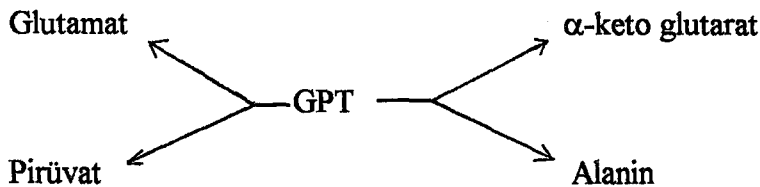
Enzimolojiden tıp ve veteriner hekimlik alanında gittikçe artan bir ölçüde yararlanılmaya başlanılmıştır. Hastalıkların kesin kontrolü ve tanısında kantitatif biyokimyasal kan analizleri ve enzimoloji zorunlu ve önemlidir (16,26,27).

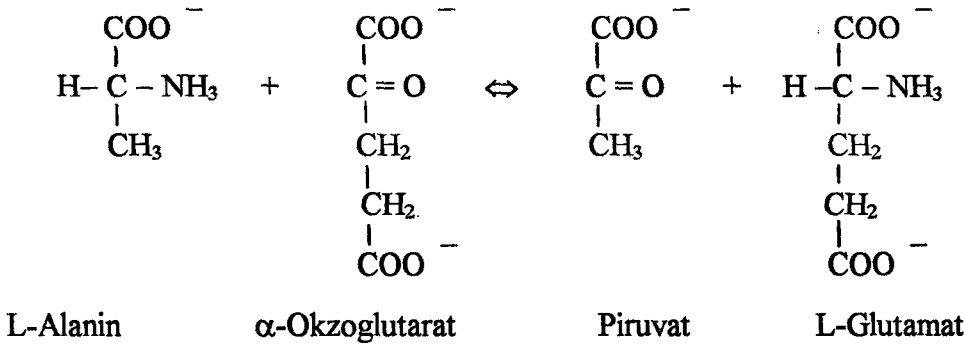
Hücrenin akut hasara uğraması halinde bir taraftan hücrede enzim sentezi azalırken diğer taraftan enzimleri hücre içerisinde saklayan hücre zarının geçirgenliği bozulur, mevcut enzimler hücreden dışarı çıkarlar ve plazmadaki miktarları artar. Kronik hasarlarda sentezin azalmış olduğu plazmadaki enzim aktivitesinin azalmasıyla kendini belli eder. Tıbbi amaçlar için kullanılabilen önemli enzimlerin ekserisi, ana metabolizma zincirine dahildir. Bu nedenle organizmanın her hücresinde bulunurlar (23).

4.4.2 Glutamat Piruvat Transaminaz (GPT)

Bu enzim karaciğer, kas ve beyinde yüksek konsantrasyonda bulunur (7).

GPT enzimi glutamik asitten bir amino grubunu, pirüvik asite transfer eder ve alanin amino asiti oluşurken yine α -keto glutarik asit ortaya çıkar.

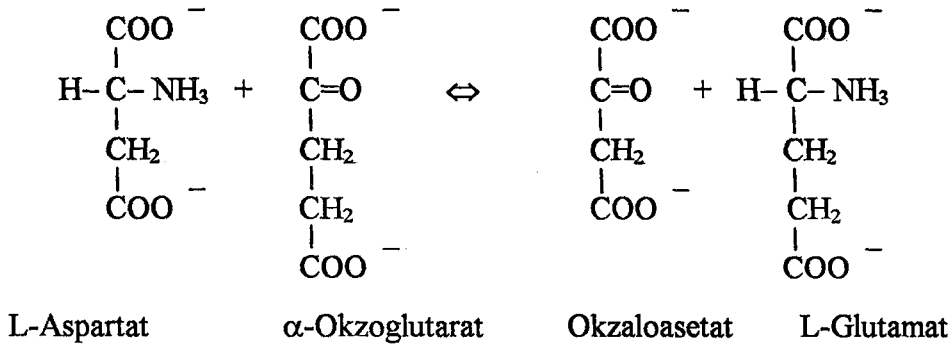




Şekil.2 GPT ' nin katalizlediği transaminasyon reaksiyonu (28).

4.4.3 Glutamat Okzaloasetat Transaminaz (GOT)

Transaminazlar bir amino asitin α -amino grubunun bir α -keto asite transferi ile yeni bir α -keto asidi ve yeni bir α -amino asiti meydana getiren reaksiyonu katalizlerler. Reaksiyona iştirak eden maddelerden her ikisi önce bir ara madde meydana getirirler. Bu ara madde de hidrolitik olarak yeni bir amino asite ve yeni bir keto asite parçalanır. Transaminasyon reaksiyonlarında pridoksal fosfat koenzim olarak görev yapmaktadır ve amino grupları için bir ara taşıyıcı olarak hizmet etmektedir.



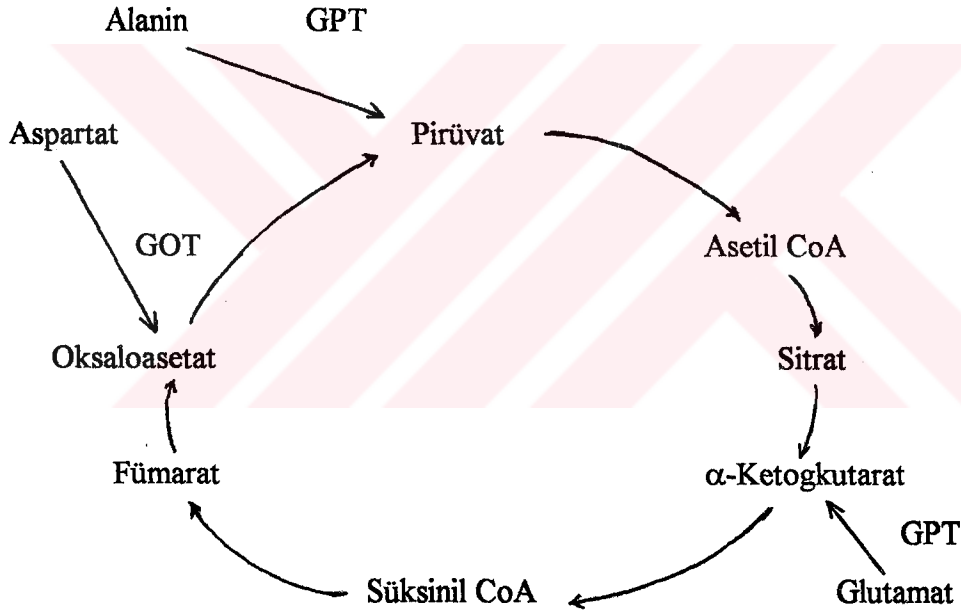
Şekil.3 GOT ' ın katalizlediği transaminasyon reaksiyonu.(28,29,30)

GOT normal olarak en çok kalp kası, iskelet kası, beyin, karaciğer ve böbrekte bulunur. Fakat bunlardan kalp, kas ve karaciğer hücreesindeki şiddetli travma ve nekrozlu durumlarda kısa bir zamanda serumdaki miktarı şiddetle artar. Kalp, karaciğer ve kasa dokunmayan infeksiyonlarda, neoplastik ve metabolizma hastalıklarında artma olmaz. Buna göre GOT incelenmesi ön sırada kalp kası infarktüsü saptanmasında ve daha sonra da

karaciğer hastalıklarının tanısında işe yarar. GOT öbür yandan karaciğer hastalıklarında (infeksiyöz ve toksik etkide) serumda artar. GPT karaciğerin akut hücre zedelenmesinde GOT ' a göre çok daha hassastır (31).

4.4.4 Serum GOT ve GPT' nin Organizmadaki Biyokimyasal Önemi

Transaminasyon reaksiyonu için sabit olan denge, oldukça stabil olduğundan transaminasyon reaksiyonları serbestçe geri dönüşebilir bir olaydır. Bu, transaminazların hem amino asit katabolizmasında hem de biyosentezinde fonksiyon görmelerini sağlar. Transaminazlar protein ve karbonhidrat metabolizmaları arasında da önemli bir bağlantı aracıdır. Transaminazlar glikoneojenik etkidedir. Alanin ve aspartat glikojenik amino asitlerdir. Aspartat GOT ile oksaloasetata, alanin de GPT ile pirüvata dönüşerek sitrik asit siklusuna girerler. Böylece bu glikoneojenik yolla glikoz verirler.



Şekil.4 Transaminazlar ile sitrik asit siklusundaki ilişki (7,32,33).

4.4.5 Serum GOT ve GPT Miktarındaki Artışa Neden Olan Durumlar

Kanda bu enzimlerin yüksekliği özellikle yüksek konsantrasyonlarda buldukları dokulara özgü nekroz veya hastalığın işaretidir.

Myokard enfarktüsü sonrası (bilhassa SGOT), akut enfeksiyöz hepatit (genelde SGOT 'dan ziyade SGPT yükselir), karaciğer sirozu (SGOT genelde SGPT ' dan daha fazla yükselmiştir) ve metastazik veya primer karaciğer neoplazmasında gözlenir. Seröz

kavitelerin neoplastik olaylara katılışları ile ilişkili transudatlardaki yükselmelerde de bu enzimlerin miktarlarında artışlar olur. Ayrıca musküler distrofi, dermatomyozitis ve paroksizmal myoglobini 'de de SGOT ' ta miktar artışı olur (7,34).

4.5 Serumda Total Protein Miktarı Değişikliklerinin Klinik Önemi

Protein konsantrasyonu plazmanın kolloidal ozmotik basıncını belirler. Plazmadaki protein yoğunluğu beslenme durumu, karaciğer fonksiyonu, renal fonksiyon, multiple myelom gibi hastalıkların meydana gelişi ve metabolik kusurlar tarafından etkilenir. Plazma proteinlerindeki fraksiyonlar ile ilgili değişiklikler spesifik hastalığı belirleyebilir (7).

Dehidratasyon, şok, hemokonsantrasyon ve intravenöz olarak konsantre albuminin aşırı miktarlarının uygulanması durumlarında gözlenir (7).

Malnutrisyon, malabsorbsiyon sendromu, akut veya kronik glomerulonefrit, nefroz, akut veya kronik hepatopatilerde, neoplastik hastalık ve lösemide gözlenir. Karaciğer hastalıklarında belirli bir dereceye kadar total plazma proteini ile beraberlik gösteren albumin hastalığın teşhisinde indikatördür (7,35,36).

Ariosta ve ark. (37), deneysel siroz oluşturabilmek için karbontetraklorürün laboratuvar hayvanlarına subkutan, inhalasyon veya intragastrik olarak verilebileceğini bildirmektedirler. Enjeksiyondan yaklaşık sekiz-on hafta kadar sonra deney hayvanlarında sirozun oluştuğunu gözlemlemişler ve bu oluşumu desteklemek için biyokimyasal parametrelere de bakmışlardır. SGPT miktarı kontrol grubunda 33 mU/ ml olduğu halde bu değer deney grubunda 118 mU/ ml' ye çıkmıştır. Albumin miktarında ise 3.95 gr/ dl' den 3.3 gr/ dl' ye kadar bir düşüşün olduğunu bildirmişlerdir.

Dashti ve ark.(38) yaptıkları bir çalışmada, deneysel olarak siroz oluşturdukları laboratuvar hayvanlarında karaciğer enzimlerindeki artışa bakmışlar ve SGOT ' un kontrol grubunda 1.3 μ kat/ L bulunmasına karşın bu normal değerini sirozlu grupta 4.3 μ kat/ L ' ye çıktığını görmüşlerdir. SGPT miktarında ise 0.8 μ kat/ L bulunan normal kontrol grubu değeri sirozlu grupta 2.2 μ .kat/ L olarak bulunmuştur.

Krahenbühl ve ark.(39), sirozlu insanların ve deney hayvanlarının karaciğerlerinden izole ettikleri mitokondriyumların fonksiyonlarının bozulduğunu, bu bozukluğun daha çok solunum zinciri ve ATP metabolizmasında olduğunu bildirmişlerdir. Sirozlu karaciğerden izole edilmiş mitokondriyumların, fonksiyonel anormalliklerinin sirozdan dolayı oluşan

karaciğer mitokondriyumlarındaki morfolojik anormalliklerle paralellik gösterdiğini ifade etmişlerdir. Sirozlu deney hayvanlarında SGPT miktarlarının yapılan ölçümler sonucunda, normal kontrol grubu değeri olan 41 U/ L ' nin sirozlu grupta 53 U/ L ' ye kadar çıktığını bildirmişlerdir.

Masaki ve ark.(40) daha sonra da Fujiwara ve ark.(41) ' nin yaptıkları bir çalışmada, CCL₄ ün toksikasyonu neticesinde lipid peroksidasyonunun, yağlı karaciğerin ve bunların sonucunda da sirozun oluştuğunu bildirmişlerdir. Deney hayvanlarına toksik madde olan karbontetraklorür veriminin ardından serum GPT miktarında hissedilir bir derecede artış olduğunu bildirmişlerdir.

Trivedi ve Mowat (11) tarafından yapılan bir çalışmada, sirozlu deney hayvanlarından alınan serumları 36 saat içerisinde analiz etmişler ve analiz sonucunda serum GPT ve GOT miktarlarında hızlı bir artış olduğunu kaydetmişlerdir. Şöyle ki, serum GOT ve GPT miktarı enjeksiyondan 24 saat sonra yükselmeye başlamış ve bu yükseliş otuzuncu günde maksimum seviyeye ulaşmıştır. Otuzuncu günden sonra serum GOT ve GPT miktarlarında yavaş yavaş düşme olduğu gözlenmiştir. Enjeksiyonun yirminci gününde yağ infiltrasyonunun, genel bir fibröz halinin, lipid peroksidasyonunun ve bunların sonucunda siroz başlangıcının oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Comporti (8) toksik karaciğer hastalıkları ile ilgili yaptığı bir çalışmada, karbontetraklorür ile deneysel toksik karaciğer hastalığı oluşturulan deney hayvanlarının karaciğerlerinde nekroz oluşuktan sonra, serum GPT düzeyinde maksimum bir artış gözlemiştir. Karaciğerdeki bu nekrotik durumun gittikçe kaybolmasıyla, serum GPT miktarının da buna paralel olarak yavaş bir şekilde düşmeye başladığını göstermiştir.

Jones (42), serum GPT ' nin akut karaciğer hastalıklarında ve kronik toksik hepatopatilerde spesifik enzim olduğunu ve bunun GLDH ile desteklenebileceğini; serum GOT ' ın da akut karaciğer hastalıklarında, kronik toksik hepatopatilerde ve musküler distrofilerde spesifik enzim olduğunu ve bunun da serum GPT ve GLDH ile desteklenebileceğini bildirmektedir.

4.6 SİALİK ASİT

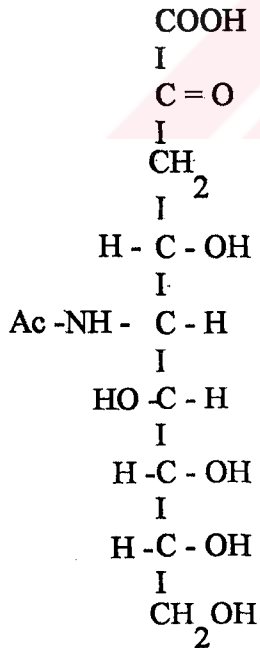
4.6.1 Tarihçesi

Literatürde sialik asit terimi ilk kez 1952 yılında, gangliositler ve tükrük bezi müsininde bulunan özel bir asidik amino şekeri tarif etmede kullanılmıştır. Bu madde daha önce 1936 yılında Blix tarafından kristal olarak izole edilmiştir. Blix ve arkadaşlarının teklif ettiği Nöraminik asit terimi ise 1957 yılında kabul edilmiştir (43).

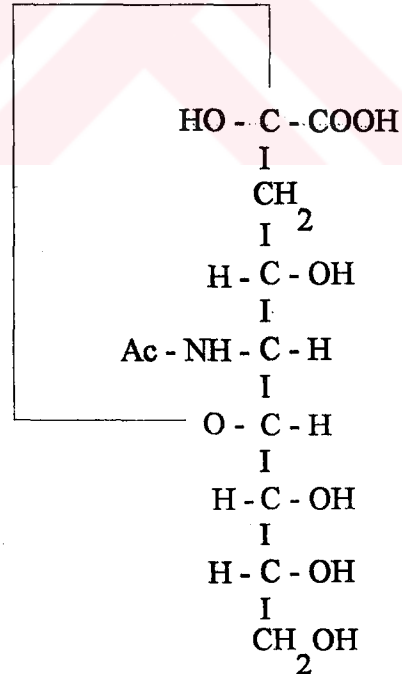
Sialik asit, pirüvik asitin mannozamin ile bir kondansasyon ürünü, dokuz karbonlu bir türev monosakkaridi olan nöraminik asitten türeyen bir bileşikler ailesidir. Nöraminik asitin asetilleşmiş bir şekli olan sialik asitin diğer adı N-Asetil-Nöraminik (NANA) Asit' dir (7,44,45,46).

4.6.2 Sialik Asitin İsimlendirilmesi

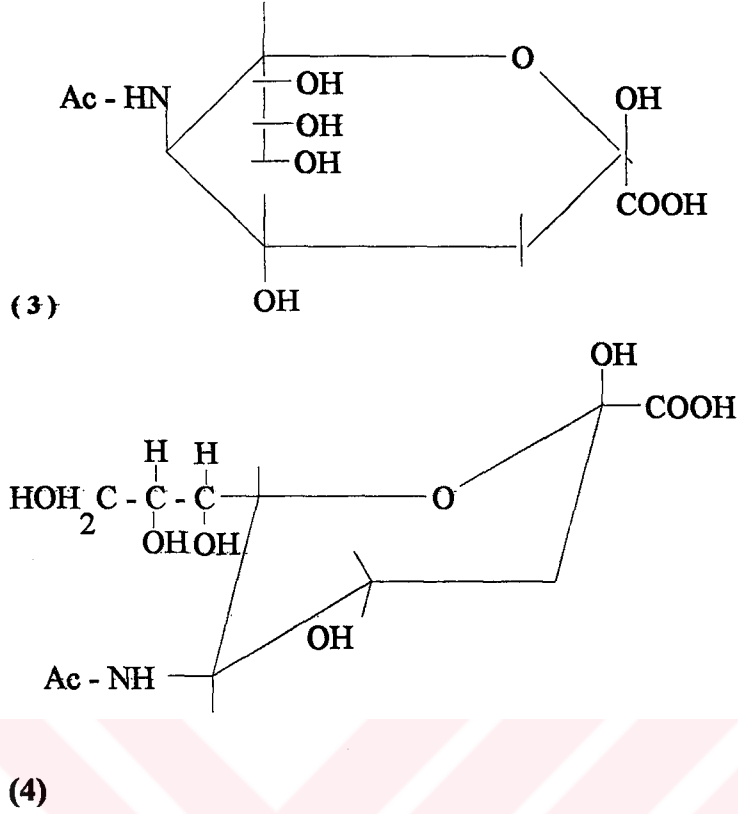
Sialik asit oldukça genel kapsamlıdır ve nöraminik asit denen deoksinonulosonik asitin açillenmiş türevlerinin grup ismidir. Sialik asitlerin en yaygın olanı N-Asetil-Nöraminik asit (NANA) ' dir. Açık zincir şeklinde isimlendirildiğinde 5-Asetamido-3-5-di-deoksi-D-glisero-D-galaktononulosonik asit sistematik ismine sahiptir. (47,48,49,50).



(1)



(2)



Şekil.5 Sialik asitin değişik şekillerde konformasyonları (45).

- 1) Keto formu
- 2, 3, 4) Zincir formu ve Piranoz formu
- 1, 2) NANA 'nın Fischer projeksiyon formülüyle sunulduğu
- 3) NANA 'nın Haworth 'un stereokimyasal formülü ile sunulduğu
- 4) IC konformasyonuna göre konformasyonel formülü

4.6.3 Sialik Asitin Türevleri

Bugüne kadar beş sialik asit tanımlanmış olup bunlar nöraminik asitin N- ve O- açıl türevleridirler. Bunlar (51,52,53),

N-Asetil nöraminik asit

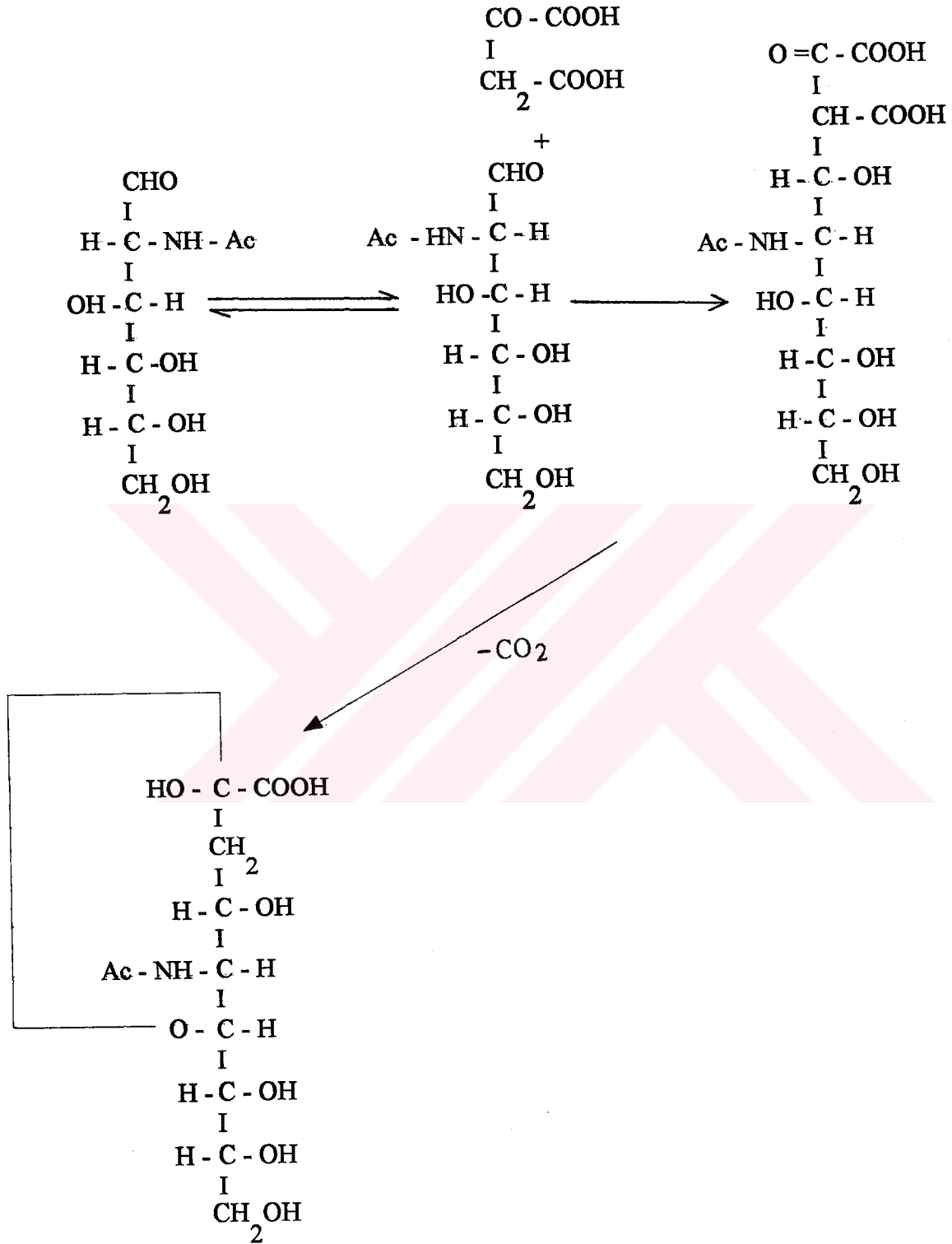
N-Glikolil nöraminik asit

4-O-Asetil-N-Asetil nöraminik asit

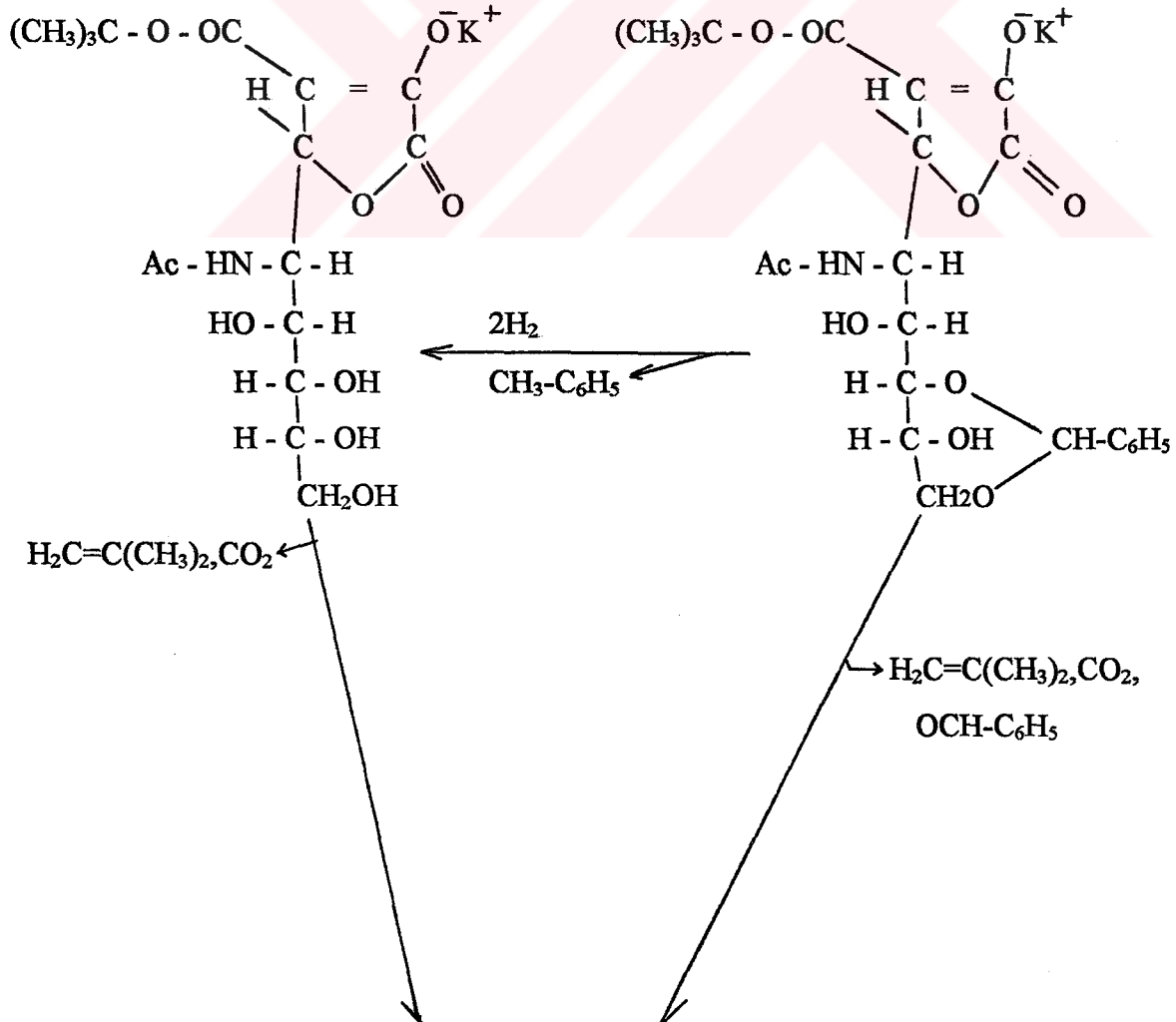
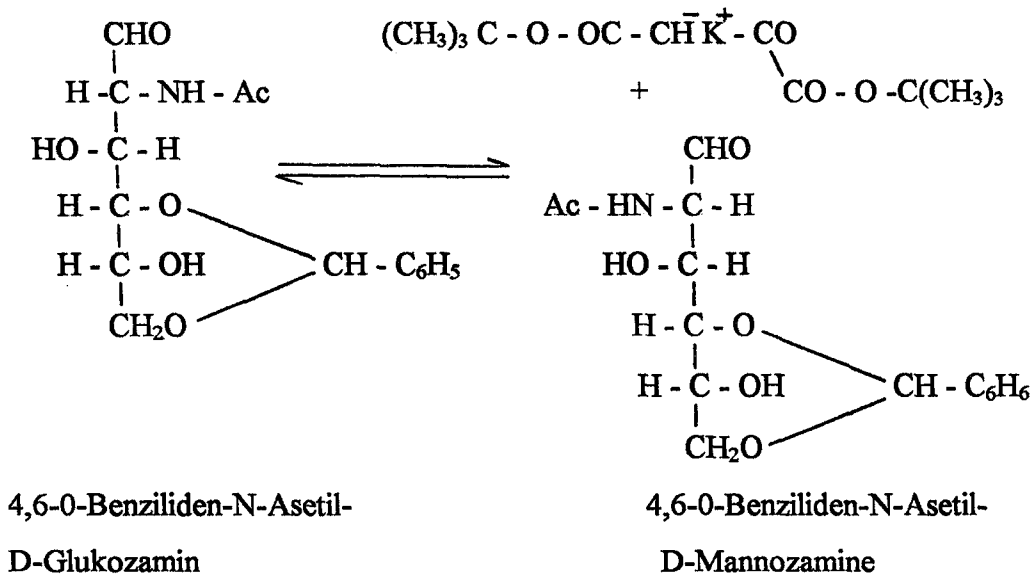
7-O-Asetil-N-Asetil nöraminik asit

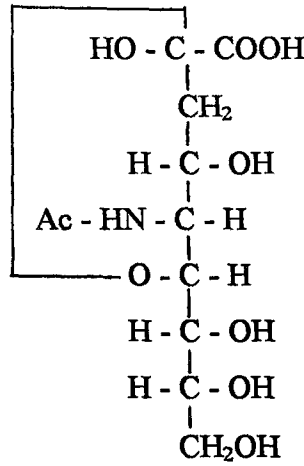
O-Diasetil-N-Asetil nöraminik asit ' dirler.

4.6.4 Sialik Asitin Sentezi



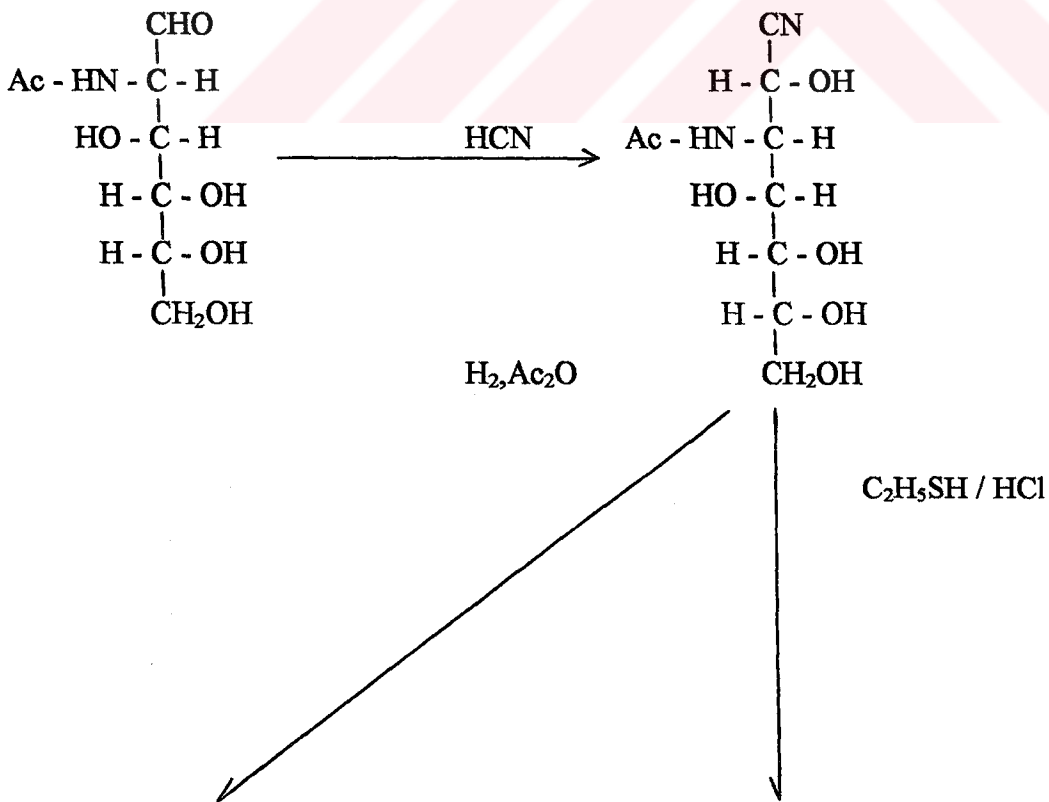
Şekil.6 N-asetil-D-mannozaminden veya N-asetil-D-glukozaminden N-asetil nöraminik asitin sentezi (45).

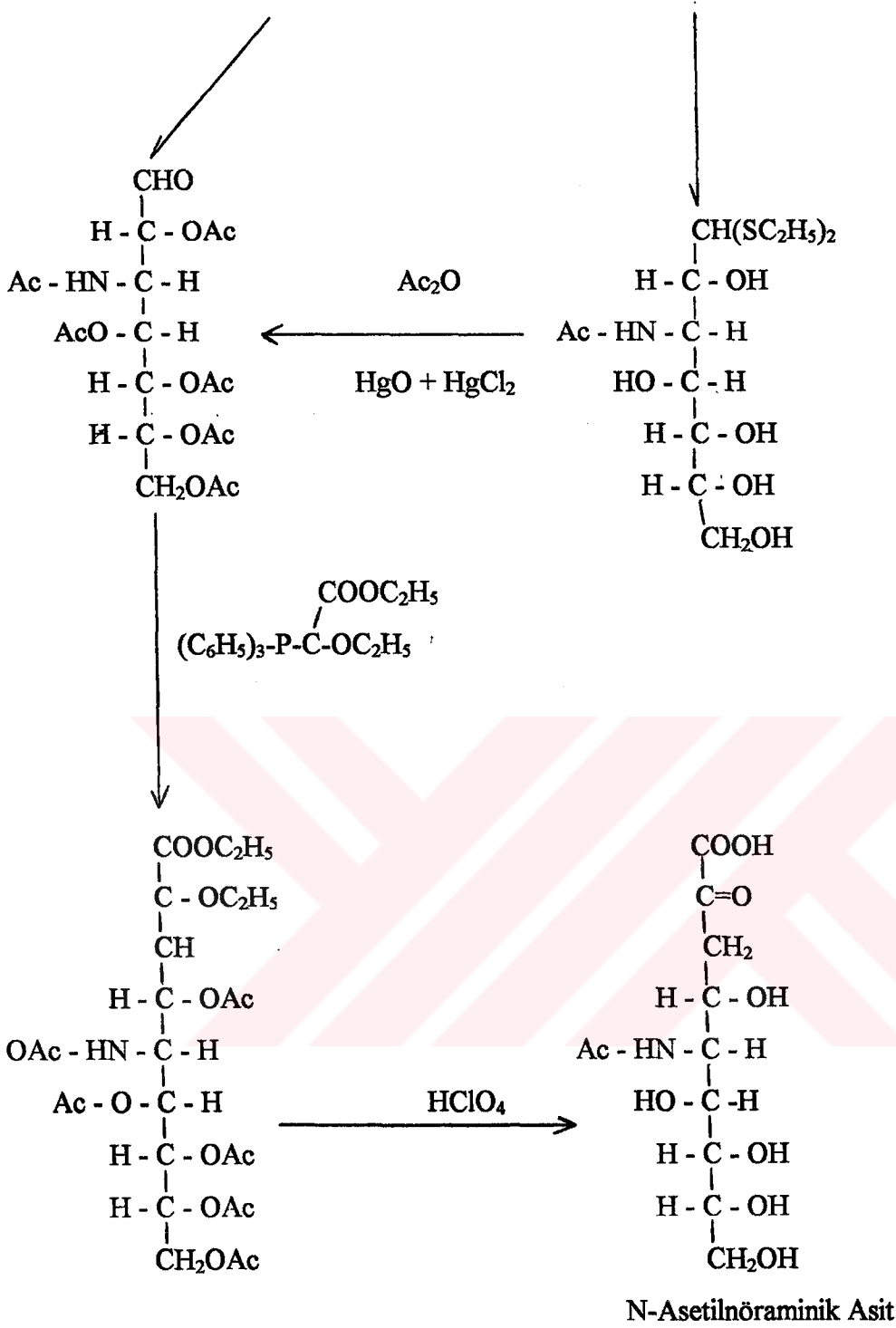




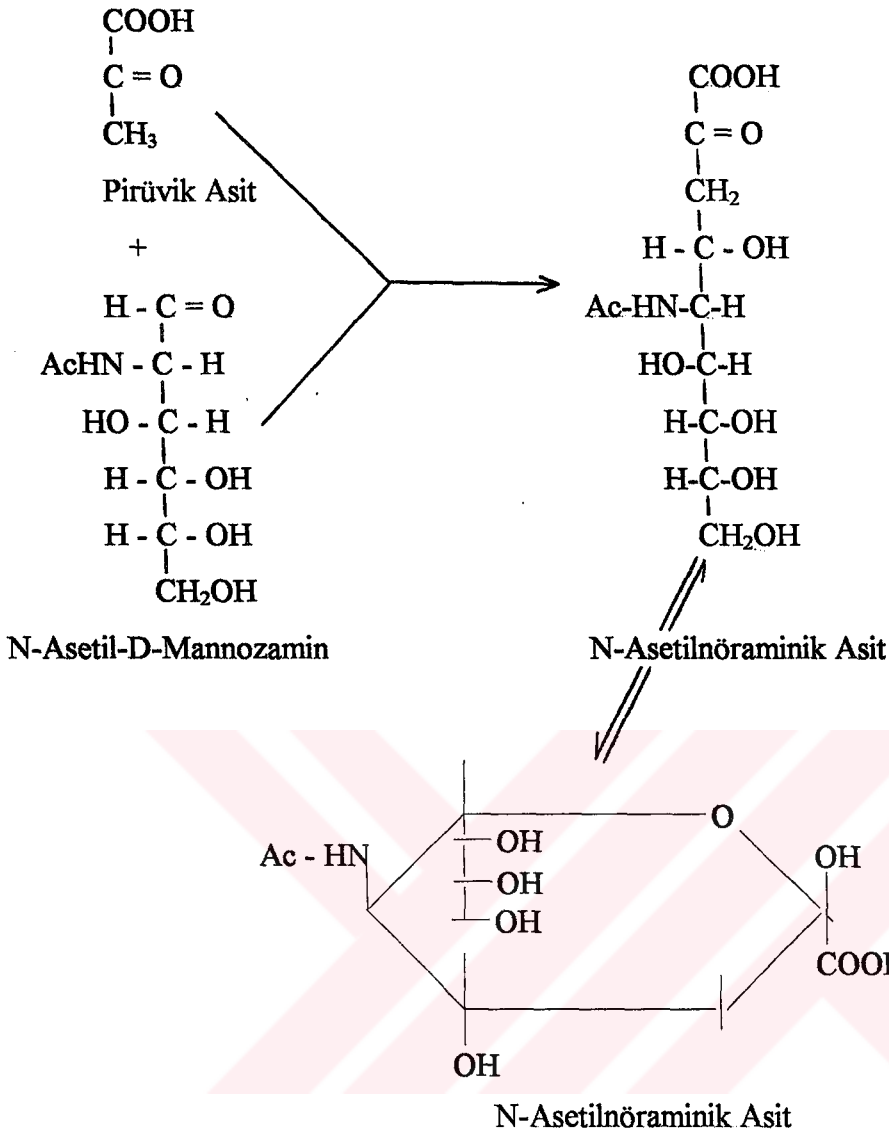
N-Asetilnöraminik Asit

Şekil.7 Sialik asitin 4,6-O-Benziliden-N-asetil-D-glukozamin ve 4,6-O-Benziliden-N-asetil-D-mannozamin' den sentezi (45).





Şekil.8 Sialik asitin 3-asetamido-3-deoksi-D-glisero-D-galaktoheptozun açillenmesiyle sentezi (45).



Şekil.9 N-Asetil-D-Mannozaminle Pirüvik Asitin aldol konumunda birleşmesiyle N-Asetil nöraminik Asitin şekillenmesi (45).

4.6.5 Sialik Asitin Anabolizması

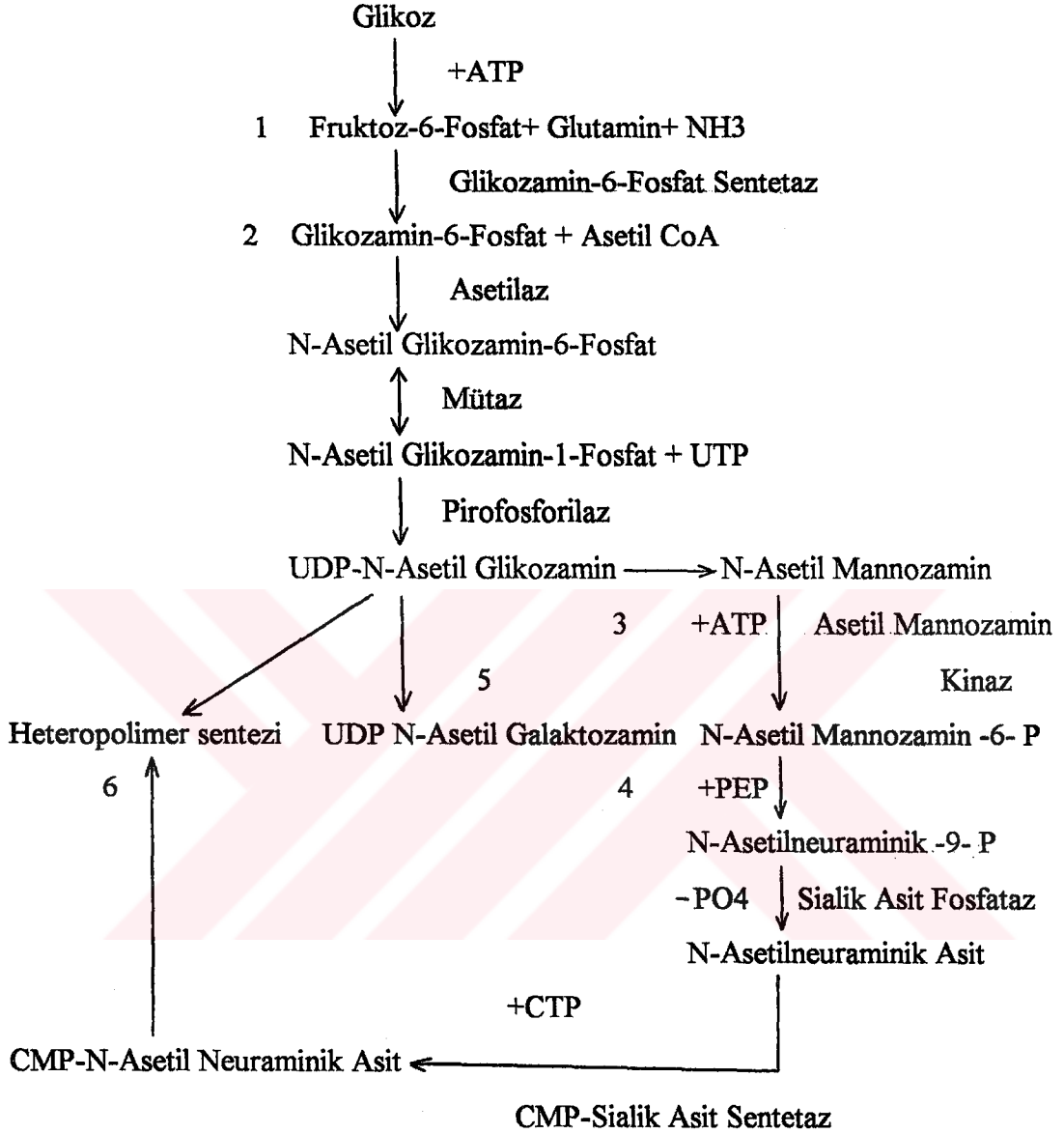
Sialik asitin anabolizması üç bölümde inceleyebilir (47),

A- Dokuz karbonlu nöraminik asitin oluşumunu sağlayan metabolik reaksiyonlar: Bunlar glukozdan, N-asetil nöraminik asit ve türevlerinin oluşumundaki enzimatik reaksiyonlardır.

B- N-asetil nöraminik asitin CMP - NANA ' e aktive edilmesi.



C- Aktive edilmiş sialik asitlerin oligosakkaritlere, glikoproteinlere, müsinlere ve bağ dokusu kökenli maddelere ketozidik bağlarla bağlanması



Şekil.10 Sialik Asitin Anabolizması (54,55).

Şekil 10 ' un önemli noktalarını maddeler halinde açıklarsak,

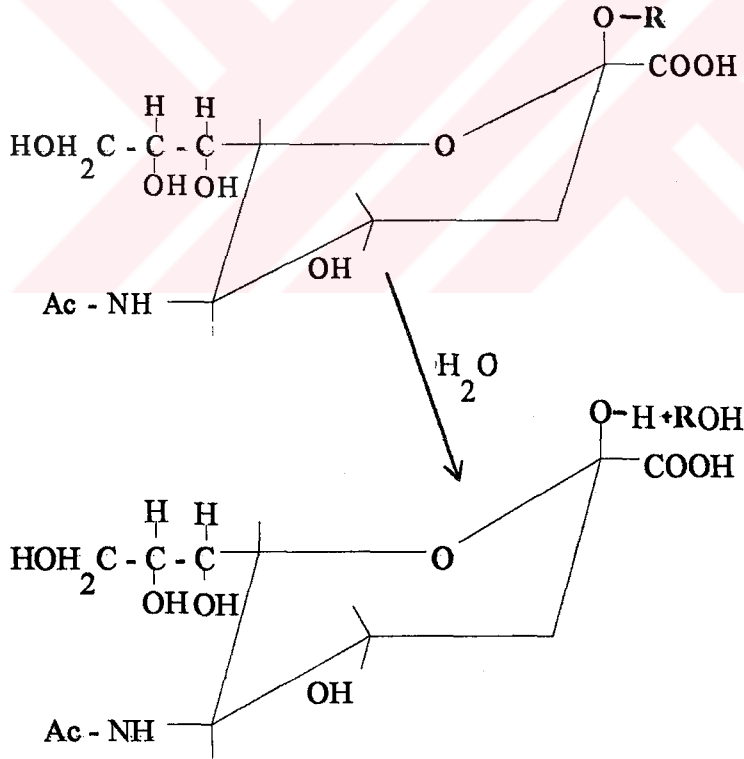
1. Glikozamin ana amino şekerlerden biridir. Amino grubunun vericisi olarak glutamini kullanarak fruktoz-6- fosfat şeklinde oluşur.
2. Amino şekerler, başlıca N-Asetillenmiş biçimde meydana gelir.Asetil vericisi Asetil CoA' dır.

3. N-Asetil Mannozaamin-6-Fosfat, Glikozaamin-6-Fosfatın epimerizasyonu ile oluşturulur.
4. Neuraminik Asit, Mannozaamin-6-Fosfatın fosfoenolpirüvat ile kondanzasyonundan meydana gelir.
5. Galaktozaamin, UDP-N-Asetil Glikozaaminin, UDP-N-Asetil Galaktozamine epimerizasyonu ile oluşturulur.
6. İçerdikleri aminoşekerler nedeniyle glikoproteinlerin ve diğer kompleks birleşiklerin sentezinde kullanılan birleşikler nükleotid şekerlerdir.

UDP-N-Asetil Glikozaamin, UDP-N-Asetil Galaktozaamin ve CMP-N-Asetil Neuraminik Asit amino şeker içeren en önemli nükleotid şekerlerdir.

4.6.6 Sialik Asitin Dağılımı

Sialik asitler tabiatta glikoproteinler, glikolipitler, oligosakkaritler ve polisakkaritlerin komponentleri olarak buldukları için çok küçük miktarı serbest halde bulunur (47,56,57).



Şekil.11 N-Asetilneuraminik Asit üzerine Nöraminidaz enziminin etkisi. Şekildeki R fonksiyonel grubuna monosakkaritler, oligosakkaritler, glikoproteinler, glikolipitler, alifatik veya aromatik alkoller bağlanabilir (58).

Sialik asitlerin bazı omurgasızlarda, omurgalıların ise bütün türlerinde ve bazı bakteri türlerinde mevcut olduğu bildirilmektedir (50,59,60).

Bir çok memelinin dokularında birden fazla sialik asit türüne rastlanılmıştır (47,48,61).

Memelilerin çoğunda sialik asitler N-asetil veya N-glikolil türevleri şeklindedir. Çeşitli türlerin değişik dokularında bu iki türevin oranları farklıdır. Örneğin; sığır ve koyunların tükürük mukoproteinleri en çok N-asetil türevi ihtiva ettiği halde aynı hayvanların eritrosit stromasında daha çok N-glikolil türevi bulunmaktadır (62,63,64).

Sialik asitin insan ve hayvan vücudunda glikoproteinlerin, gangliositlerin ve az miktarda da türev oligo- ve polisakaritlerin içinde yer aldığı, bunun dışında CMP-sialik asit ve serbest sialik asit halinde bulunduğu bildirilmiştir (44,49,50).

Hücredeki sialik asitler % 65 - 70 oranında membran glikoprotein ve glikolipitlerine bağlı olarak bulunurlar (47,52,65,66,67,68).

İç membran sistemi bulunmayan eritrositlerde sialik asitin hepsi yüzeyde toplanmış olup ancak bunlar nöyraminidaz ile serbest hale gelebilirler. Eritrosit membranından izole edilen glikoproteinler % 25 - 27. 8 oranlarında sialik asit içerirler (47,69,70,71).

Bütün sialobileşiklerinde sialik asitler ketozidik olarak ya da N-asetil-D-Galaktozamine bağlı olarak bulunurlar (45,58).

4.6.7 Sialik Asitin Önemi

Sialik asit glikoprotein ve glikolipitlerin terminal oligosakkarid zincirlerinin önemli bir komponentidir. Taşıdığı negatif yük nedeniyle hücre agregasyonunu önlerken, membran gerginliğini de sağlar. Plazma total sialik asit miktarının çeşitli kanser türlerinde artış gösterdiği saptanmıştır. Sialik asit bir kanser markeri olarak araştırılmıştır (56,72,73,74,75,76,77,78,79).

Son yıllarda Lipid-bağlı sialik asit düzeyleri ele alınmış ve total sialik asitten daha iyi ve daha spesifik bir marker olabileceği ileri sürülmüştür (80,81,82,83).

Bir çok hastalık gruplarında serum sialik asitlerinde meydana gelen değişiklikler ilgi ile izlenmekte ve hastalığın ya da bozukluğun tanı ve ayrımında veya prognozunda klinik olarak yararlanma yolları aranmaktadır (68,84,85).

Sialik asit ölçümlerinin sadece tanıya yardımcı değil aynı zamanda tümörün evrelendirme, prognoz ve erken nüksü belirleyici olarak yararlı olduğuna dair literatürler mevcuttur. Lipid-bağlı sialik asit düzeyi tümörün yaygınlığı ile korelasyon göstermektedir. Bu nedenle tümörün tedaviye verdiği cevabın izlenmesinde yararlı bir göstergedir. Özellikle diğer tümör tanımlayıcılar ile birlikte kullanıldığı takdirde yanlış negatif sonuçlar önemli ölçüde azalmaktadır (44,67,68,86).

Son yıllarda bir seri hastalıkta örneğin karaciğer sirozu, nefrotik sendrom, romatoid artrit, myeloma, lenfatik lösemi, kronik tüberküloz, amiloid gibi hastalıklarda serum sialik asit miktarının arttığı bildirilmiştir (68,83,87).

Serum glikoproteinlerinin yapısındaki sialik asit çıkarıldığı zaman sialik asiti ayrılmış glikoproteinler karaciğer tarafından bağlanır ve yıkılır. Bu nedenle sialik asitler serum glikoproteinleri döngüsünün düzenlenmesinde rol oynarlar. Vanlenten ve Ashwell (88) daha sonra da Morrel ve ark. (89) tarafından yapılan incelemelerde transferrin hariç bütün serum glikoproteinlerinin devamlı sirkülasyonu için sialik asit bağına ihtiyaç duydukları ileri sürülmüştür. Sialik asit bağı koparılmış serum glikoproteinlerinin paransimal hücre zarlarına bağlı oldukları gösterilmiştir. Halbuki benzer şartlar altında bozulmamış glikoproteinler normal sirkülasyonlarına devam ederler. Glikoproteinlerin hepatik alınımı, serum glikoproteinlerinin sialik asit içermemesi halinde ve karaciğer hücrelerinin yüzeyinde sialik asit artıklarının mevcudiyetinde söz konusu olmaktadır.

Siroz veya karın içi organlarının primer ya da metastazik neoplazileri gibi değişik nedenlerle oluşan asitlerin ayırıcı tanısı, prognozun belirlenmesi ve tedavi açısından son derece önemlidir. Asit sıvılarında yürütülen biyokimyasal incelemeler ayırıcı tanı açısından bazı aydınlatıcı bulguları ortaya çıkarmaktadır (68,90).

Plucinsky ve ark.(80) yaptıkları bir çalışmada, kötü huylu tümörlü, ovaryum kanserli, kolon kanserli ve sirozlu hastalarda serum sialik asit, serum lipid-bağlı sialik asit ve total protein miktarlarına bakmışlardır. Malignant hücrelerin teşhisinde sialik asit içeren sialoglikoproteinlerin ve sialoglikolipitlerin muhtemelen bir marker olabileceğini bildirmişlerdir. Bunların kanserin değişik tiplerinde ve sirozda, sensivite ve spesifite

bakımından güvenilir bir kullanım alanı olabileceğini rapor etmişlerdir. Yapılan analizler sonucunda, kontrol gruplarında sialik asit, lipid-bağlı sialik asit ve total protein miktarları sırasıyla 67.3 mg / dl , 18.6 mg / dl ve 7.5 g / dl seviyelerinde bulunmuştur. Hastalıklı grupta bu oranlar yine yukarıdaki sıraya göre 78.1 mg / dl , 20.4 mg / dl ve 6.4 g / dl olarak bulunmuştur. Ayrıca spesifik olarak malign hastalıklarda yapılan ölçümler sonucunda da analizler kontrol gruplarına göre anlamlı bir yükseklik arz etmiştir. Sadece total protein miktarlarında bir düşüş olduğu gözlenmiştir. Metastaz yapan karaciğer hastalıklarında bu oranlar kontrol gruplarına göre yine sırasıyla 105. 4 mg / dl , 24.6 mg / dl ve 6.8 g / dl olarak bulunmuştur. Sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit miktarlarında anlamlı bir yükseliş olurken total protein miktarında ise düşüş olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmada sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit seviyelerinde, kontrol gruplarına göre malign hastalıklı grupta anlamlı bir yükseliş olduğu bildirilmiştir.

Literatürde, sialik asitin neoplastik hastalıklarda, meme kanserlerinde ve karaciğer tümörlerinde yükselen bir seviyeye sahip olduğu bildirilmiştir. Periotenel karsinomlu, karaciğer metastazlı ve karaciğer sirozlu hastalarda yapılan ölçümlerde total sialik asit ve lipid-bağlı sialik asitin miktarlarında anlamlı bir yükselme olduğu ve bunların bu hastalıkların teşhisinde bir marker olarak kullanılabilceği bildirilmiştir. Bu hastalıkların teşhisinde total sialik asit ve lipid-bağlı sialik asitin spesifite olarak % 90 ' lara kadar çıkabileceği bildirilmektedir (91).

Çağlayan ve ark.(90) yaptıkları bir çalışmada, bilinmeyen asit şikayetiyle başvuran hastalarda tedaviye başlamadan önce bunun teşhisini koymak için klinik bulgulara destek olarak biyokimyasal, histopatolojik ve ultrasonografik incelemeler yapmışlardır. Bu hastaların yarısından fazlasına biyokimyasal ve histopatolojik bulgulara dayanarak siroz tanısını koymuşlardır. Sirozlu hastalarda total sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit seviyelerinde anlamlı bir yükselme olduğunu gözlemişler ve ayırırmda % 85 gibi tanısal bir doğruluk değerine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Erbil ve ark.(92) , neoplastik hastalıklarda sialik asit konsantrasyonlarının arttığını ve tümörlü hastalıkların diyagnozunda sialik asitin bir tümör markeri olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir. Bazı tümörlerde örneğin, kolon, meme, mide, akciğer, prostat tümörü gibi ayrıca deneysel karaciğer tümörlerinde sialik asit konsantrasyonunun yükseldiğini bildirmişlerdir. Kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak yapılan NANA

ölçümlerinde hastalıklı grupta gözle görülür bir artış olduğunu kaydetmişlerdir. Lipid-bağlı sialik asit düzeyi ile ilgili ölçümlerde de NANA gibi yükseklik görülmüştür. Lipid-bağlı sialik asit ve NANA miktarlarındaki bu yükselişler istatistiki olarak da önemli bulunmuştur. Hastalar tedavi edildikten sonra NANA ve lipid-bağlı sialik asit miktarlarındaki bu artışlar düşmüş ve zamanla normal seviyesine inmiştir. Çalışmanın sonucunda NANA ve lipid-bağlı sialik asitin diagnostik bir indeks olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Yine Erbil ve ark.(86) yaptıkları bir çalışmada, glikolipitler ve glikoproteinlerin karbonhidrat zincirlerinin sonlarında terminal bir komponent olan sialik asitin geniş bir aileye sahip olduğunu neoplastik hastalıklarda ve tümörlü hücre yüzeylerinde konsantrasyonlarının arttığını bildirmişlerdir. Sialik asit konsantrasyonunun sadece diyagnoz ile ilgili değil bunun yanında hastalığın derecesi, prognozu ve erken nüksün tanımında da önemli olduğunu bildirmişlerdir. Sialik asitin spesifite ve sensivite bakımından analitik metotlarla bir marker olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Riley ve ark.(74) , glikoprotein ve glikolipit gibi karbonhidrat ihtiva eden bir çok konjuge yapıların sialik asit ihtiva ettiğini bildirmişlerdir. Bu sialik asitin malign hücrelerin teşhisinde bir marker olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ciddi olarak yapılan çalışmalarda kanserli hastalarda total sialik asit miktarının anlamlı bir şekilde arttığını rapor etmişlerdir. Normal ve kanserli hastaların kan serumlarında yaptıkları ölçümlerde normal gruba göre hastalıklı grupta total sialik asitin anlamlı bir şekilde arttığını bildirmişlerdir. Yapılan istatistiki analizlerde total sialik asitin miktarındaki bu artış anlamlı olarak bulunmuştur. Total sialik asitin hastalığın seyri ve diyagnozu hakkında güvenilir bir indikatör olabileceği görüşünde olduklarını bildirmişlerdir.

Manohar ve ark.(93) , neoplastik hastalıkların gelişimi süresince, hücre yüzeyi glikoprotein ve glikolipitlerinin hücre yüzeyinde bulunan sialik asitin belirli bir düzeyde arttığını ayrıca tümörlü hücre yüzeylerinde de arttığını bildirmişlerdir. Sialik asitin bir tümör markeri olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir. Ethmoid karsinomlu sığırların serumlarında yaptıkları lipid-bağlı sialik asit ve sialik asit ölçümlerinde bir yükselme olduğunu bulmuşlar ve yaptıkları istatistiki analizlerin anlamlı olduğunu bildirmişlerdir.

Durand ve ark.(94) , karaciğerin fonksiyonlarından birinin de sirkülasyona katılan plazma proteinlerinin katabolizması ve onların dönüşümünü sağlamak olduğunu bildirmişlerdir. Sialoglikoproteinlerin hepatik plazma membranlarının reseptörlerine

bağlandıklarını, bu reseptörlerin glikoproteinlerden izole ve tanımlanmış olduklarını ve bunların sialik asit rezidülerinden ibaret olduklarını bildirmişlerdir. Hepatosit plazma membranları ve bunların bağ yapma kapasiteleri ile sialik asit miktarı arasında muhtemel bir korelasyon bulunabileceğini bildirmişlerdir.

Carter ve Martin (87), normal sialik asit miktarının romatoid artrit, siroz, gama myeloma ve makroglobulinemi hastalıklarında artarak normalin üstüne çıktığını bildirmişlerdir. Karaciğer sirozlu hastalarda yaptıkları çalışmalarda sialik asit miktarının 73. 3 mg / 100 ml 'den 107. 8 mg/100 ml ' ye kadar anlamlı bir yükselme olduğunu bildirmişlerdir.

Dnistrian ve ark.(95), neoplastik hastalıkların bazı tiplerinde serum plazma lipid-bağlı sialik asit miktarlarında bir yükselme olduğunu bildirmişlerdir. Lipid-bağlı sialik asidin klinik ve biyokimyasal kriterlerinin diyagnozda, hastalığın seyrinde, metastazın tanımlanmasında, hastalığın identifikasyonunda ve tedaviye verilen cevapta önemli bir indikatör olduğunu ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada sirozun biyokimyasal tanısında sensitivite, spesifite ve tanısal doğruluk değerleri bakımından diğerlerinden daha güvenli bir ayırım sağlayacak belirteçlerden yararlanabilmek için sialik asit ve lipid-bağlı sialik asidin bu amaç doğrultusunda yararlı olup olmayacağı araştırılacaktır.

5. MATERYAL VE METOT

5.1 Hayvan Materyali:

Çalışmamızda *Lepus europous* ırkı aynı yaş ve yaşam koşullarına sahip, sağlıklı yirmibir adet tavşan kullanıldı. Tavşanlar yöredeki tavşan üretim çiftliklerinden temin edildiler ve laboratuvarında kurduğumuz kafeslere yerleştirilerek oda sıcaklığında barındırıldılar. Yirmibir adet tavşan yedişerli olarak üç gruba bölündüler. Gruplardan biri akut siroz oluşturmak için, diğeri kronik siroz oluşturmak için ve üçüncü grup da kontrol grubu olarak değerlendirildi.

Tavşanların beslenmesinde ham protein oranı % 18 olan rasyon kullanıldı. Çünkü protein bakımından zengin olan yemlerle beslenen hayvanların karbontetraklorüre karşı, fakir proteinle beslenenlere nazaran daha fazla duyarlı oldukları bilinmektedir. Şöyle ki % 6 düzeyinde protein ihtiva eden diyetle beslenen hayvanlarda karbontetraklorürün karaciğerde yaptığı harabiyet az olduğu halde, aynı hayvanların yemindeki protein oranı % 15.5 ' in üzerine çıkarıldığında buna paralel olarak karaciğerdeki harabiyette önemli ölçüde artış olmaktadır (96).

METOT:

5.2 Araç ve Gereçler:

Perkin-Elmer Lambda 1A UV/VIS Spektrofotometre.

Boehringer-Mannheim 4010 Fotometre.

Boehringer-Mannheim 4010 Pompa.

Boehringer-Mannheim Precitherm PFV otomatik su ısıtıcı.

Heraeus Sepatech Minifuge RF soğutmalı santrifüj.

Nüvefuj 615 mini santrifüj.

Millipore Vakum Pompası.

Gerhaedt Çalkalayıcı.

Bosch S 2000 Hassas terazi.

Nüve NM 110 Vorteks.

Su banyosu.

5.3 Solüsyonların Hazırlanışı

Fosfotungstik asit solüsyonu:

1:1 (v / v) oranında fosfotungstik asit distile suda hazırlandı.

Kloroform-Metanol solüsyonu:

2:1 (v / v) oranında kloroform-metanol solüsyonu hazırlandı.

Rezorsinol ayıracı:

0.2 gr rezorsinol alındı ve 10 ml distile suda eritildi. Üzerine 80 ml konsantre Hidroklorik asit ilavesini takiben 0.2 ml 0.1 M Bakır sülfat eklendi ve hacim distile su ile 100 ml ' ye tamamlandı. Bu ayıraç kullanımdan dört saat önce hazırlanır ve 0 ° C ' da bir hafta dayanıklıdır.

Bütil asetat-n Bütil alkol solüsyonu:

85:15 (v / v) oranında hazırlandı.

Standart NANA çözeltisi:

10 mg olarak tartılan sentetik NANA 5 ml distile su içerisinde eritildi. Stok solüsyon olarak hazırlanan bu solüsyondan 0.4 ml alınarak 2ml' ye yine distile su ile tamamlandı. Böylece litresinde 400 mg. NANA olan standart solüsyon hazırlanmış oldu.

Biüret ayıracı:

2.5 gr Bakır Sülfat ile 10 gr Sodyum Potasyum Tartarat bir miktar distile suda çözüldürüldü. Ve üzerine 2.5 N Sodyum Hidroksit ' ten 350 ml ilave edildi ve bu karışım distile su ile litreye tamamlandı.

Fizyolojik tuzlu su:

9 gr Sodyum klorür bir miktar distile suda çözüldürüldü ve distile su ile 1 lt ' ye tamamlandı.

BSA Standartı :

6 gr Bovin Serum Albümin alındı ve 100 ml distile su içerisinde eritildi.

Ehrlich Ayıracı :

5 gr p- Dimetilaminobenzaldehyt 50 ml konsantre HCL asit içerisinde eritildi ve üzerine 50 ml distile su ilave edildi. Ayıraç her kullanımdan önce taze olarak hazırlandı.

Sodyum Sülfat Çözeltisi :

20 gr Sodyum Sülfat alındı ve bir miktar distile suda eritildi ve çözelti yine distile su ile 100 ml ' ye tamamlandı.

5.4 Gruplara Uygulanan İşlemler

5.4.1 Akut Siroz Oluşturulan Grup

Akut grupta bulunan yedi adet tavşana intraperiotenal olarak tek doz halinde 2 ml / kg karbontetraklorür enjekte edildi. Karbontetraklorür 1 : 1 oranında zeytinyağı ile süspanse edildi. Enjeksiyondan sonra üçüncü ve yirmidördüncü saatlerde tavşanlardan kan örnekleri alındı, alınan kanların serumları çıkartıldı. Enjeksiyonu takiben kırksekiz saat sonra tavşanlar öldürülerek otopsileri yapıldı. Otopside total olarak karaciğerleri çıkartıldı ve bu karaciğerlerden histolojik boyamalar için kesitler alındı.

Histolojik incelemeler için, karbontetraklorür uygulanmasından kırksekiz saat sonra otopsi yapılarak karaciğerden doku örnekleri alındı. Alınan bu örnekler yirmidört saat nötral formolde tesbit edildi. Daha sonra rutin histolojik yöntemlerle parafinle bloklandılar. Hazırlanan bu bloklardan 7 µm kalınlığında kesitler alındı. Daha sonra Mallory ' s Trikrom boyama yöntemiyle boyanılarak Nikon Optiphot - 2 araştırma mikroskopuyla incelendi ve uygun bölgelerin fotoğrafları çekildi (97).

Akut sirozlu gruptan elde edilen serum örneklerinde Lipid-bağlı sialik asit, sialik asit, total protein, glutamat oksaloasetat transaminaz, glutamat pürivat transaminaz enzim aktiviteleri ölçüldü.

5.4.1.1 Katapodis ve Stock'un Metoduyla LSA'nın Tayini (98).

Bu metot için gerekli olan kimyasal malzemeler; NANA, Fosfotungstik asit, Kloroform, Metanol, Rezorsinol, Bütil Asetat, n- Bütanol, Hidroklorik asit ve Bakır Sülfat' dır.

Ölçüm için 44.7 µl serum alındı ve üzerine 150 µl distile su ilave edildi. Karışım 5 sn vortekslendi. Takiben tüpler buzun üzerine transfer edildi. Üzerlerine 3 ml 4-5 °C ' daki kloroform-metanol solüsyonundan eklendi ve karışım 30 sn süreyle vortekslendi. Bu karışıma 0.5 ml distile su eklendi ve tüplere kapak geçirilerek 30 sn alt üst edildi. Oda sıcaklığında 5 dk 2500 rpm ' de santrifüj edildi. Üstteki süpernatantın 1ml ' si alınarak başka bir tüpe aktarıldı. Sonra bu süpernatantın üzerine 50 µl fosfotungstik asit ilave edildi. Karışım oda sıcaklığında 5 dk bekletildi. Ardından yine oda sıcaklığında 5 dk 2000 rpm ' de tekrar santrifüj edildi ve üstteki süpernatantın sıvı kısmı emdirilerek uzaklaştırıldı. Dipteki katı partikül üzerine 1 ml distile su eklendi ve katı partikül kalmayınca kadar vortekslendi. Bu karışımın üzerine 1 ml Rezorsinol ayıracından eklendi. Tüpler karıştırıldı ve 15 dk kaynar

su banyosunda tutuldu, hemen ardından da 10 dk boyunca su ve buz banyosunda tutuldu ve tüpler kaldırıldı. Eldeki buzlu soğuk tüplere oda sıcaklığında 2 ml Bütil asetat-n Bütil alkol karışımı ilave edildi. Ve tüpler vortekslendi. 5 dk 2500 rpm ' de santrifüj edildi. Mavi renkli ekstrakt 580 nm ' de okundu.

Standart olarak % 40 mg' lık NANA (Sigma) kullanıldı.

5.4.1.2 Sydow'un Metoduyla Sialik Asit Miktarının Tayini (75).

Bu metot için gerekli olan kimyasal malzemeler; NANA, Perklorik asit, Paradimetilaminobenzaldehit ve Hidroklorik asit' dir.

Ölçüm için 0.2 ml serum alındı, üzerine % 5 ' lik Perklorik Asitten 1.5 ml ilave edildi. 100 °C ' de 5 dk inkübasyona tabi tutuldu. Hemen ardından soğutuldu ve 2500 rpm ' de 4 dk santrifüj edildi. Santrifüj edilen tüpteki temiz süpernatantın 1ml ' si alınarak başka bir tüpe transfer edildi. Üzerine 0.2 ml Ehrlich Ayırıcı ilave edildi. Ardından 100 °C ' da 15 dk ısıtıldı. Isıtmanın ardından tüpler soğutuldu ve soğutulan bu tüplere 1ml. distile su ilave edildi. Karışımın 525 nm ' de optik dansitesi okundu. Standart olarak % 40 mg' lık NANA kullanıldı.

5.4.1.3 Biüret Metoduyla Serum Total Protein Miktar Tayini (99).

Bu metotda kullanılan kimyasal malzemeler; Sodyum sülfat, Bakır sülfat, Sodyum potasyum tartarat ve Sodyum hidroksit' tir.

Ölçüm için üç tane deney tüpü alındı, bunlar sıra ile Blank, Standart ve Test tüpü olarak işaretlendi. Daha sonra tablodaki şu işlemler uygulandı.

	Blank	Standart	Test
Sodyum Sülfat	1ml	1ml	1ml
Distile Su	50 µl	-	-
Standart	-	50 µl	-
Nümunne	-	-	50 µl
Karıştırıldı ve üzerine			
Biüret Ayırıcı	1ml	1ml	1ml

Karıştırıldı, 5 dk beklendikten sonra 505 nm' de blanka karşı standart ve testin optik dansitesi okundu.

$$\text{Hesaplanması ;} \quad \text{Test O. D} \\ \text{Total Protein (\% gr)} = \frac{\text{Test O. D}}{\text{Std O. D}} \times \% 300 \text{ mg BSA}$$

5.4.1.4 Serum Glutamik Pürivik Transaminaz Aktivitesinin Tayini (100) :

Kullanılan ayıraçlar :

Enzim - Koenzim Ayıracı :

NADH 0.20 mmol / L

Laktat Dehidrojenaz 1320 U / L

Buffer Ayıracı :

TRİS pH 7.5 110 mmol / L

L- Alanin 550 mmol / L

α - Ketoglutarat 16.5 mmol / L

Koruyucu :

Sodyum Azid 1 gr / L

Deneyin Prensibi :



Pirüvat LDH L - Laktat

+ \Leftrightarrow

NADH + H⁺ + NAD⁺

340 nm ' de ölçülen NADH' ın konsantrasyonundaki azalışın oranı örnekteki GPT aktivitesiyle direkt olarak orantılıdır.

Deneyin Yapılışı :

Enzim koenzim buffer substratı içerisinde tam olarak eritildi ve 37 °C ' lık su banyosuna konuldu, tam olarak 37 °C ' lık ısıya ulaşana kadar beklendi. Bu ayıraçtan 1ml alınıp üzerine 100 μ lt. serum ilave edildi, karıştırıldı ve tam olarak iki dakika beklendikten sonra 340 nm ' de ilk okuma yapıldı bunu takip eden her iki dakikada bir diğer okumalar yapıldı.

5.4.1.5 Glutamat Okzaloasetat Transaminaz Aktivitesi Tayini (101) :

Kullanılan Ayıraçlar :

Enzim Koenzim ayıracı :

NADH	0.20 mmol / L
Malat Dehidrojenaz	660 mmol / l
Laktat Dehidrojenaz	990 mmol / L

Buffer Substratı :

TRİS pH 7.8	0.20 mmol / L
L- Aspartat	220 mmol / L
α - Ketoglutarat	13.2 mmol / L

Koruyucu :

Sodyum Azid	1 gr / L
-------------	----------

Deneyin Prensibi :



340 nm' de ölçülen NADH ' ın konsantrasyonundaki azalışın oranı örnekteki GOT aktivitesiyle direkt olarak orantılıdır.

Deneyin Yapılışı :

Enzim Koenzim buffer substratı içerisinde tam olarak eritildi ve 37 °C ' lık su banyosunda tutuldu, tam olarak 37 °C ' lık ısıya ulaşana kadar beklendi. Bu ayıraçtan 1 ml alınıp üzerine 100 μ l serum ilave edildi, karıştırıldı ve tam olarak iki dakika beklenerek 340 nm' de ilk okuması yapıldı ve bunu takip eden her iki dakikada bir diğer okumalar yapıldı.

5.4.2 Kronik siroz oluşturulan grup:

Bu gruptaki tavşanlara pazartesi ve perşembe günleri olmak üzere haftada iki defa 0.5 cc / kg karbontetraklorür - zeytinyağı (1 : 1) süspansiyonu (102) subkutan (derialtı) olarak enjekte edildi. Enjeksiyonlara 45 gün devam edildi. 45 gün boyunca iki haftada bir olmak üzere toplam üç defa kan örnekleri alındı. Son kan örneğinin alımından sonra deneme grubundaki kronik sirozlu tavşanlar öldürüldüler ve bunların da akut sirozlu gruptaki gibi otopsileri yapıldı. Otopsi sonucunda karaciğerden alınan kesitlere histopatolojik boyama yapıldı. Bu gruptan alınan kanların da akut sirozlu gruptaki gibi serumları çıkartıldı ve bu serumlarda lipid-bağlı sialik asit, sialik asit, total protein, glutamat okzaloasetat transaminaz ve glutamat pürivat transaminaz miktarları ölçüldü.

Histopatolojik incelemeler için karaciğerden alınan kesitlere Hemotoksilen-Eosin boyaması yapıldı. Bu boyamanın ardından aynı preperatlara bağ dokunun daha iyi görülebilmesi için Gomori'nin Trikrom boyaması tekniği ilave edildi. Hemotoksilen-Eosin ve Trikrom boyamaları için karaciğerden alınan doku örnekleri 24 saat tamponlu nötral formolde bekletildi ve rutin işlemlerle parafinle bloklandılar. Hazırlanan bu bloklardan 6 µ kalınlığında kesitler alındı. Alınan bu kesitler Hematoksilen-Eosin ve Gomori'nin Trikrom Boyaması yöntemiyle boyandılar. Daha sonra bu preperatların Nikon AFX-DX Optiphot araştırma mikroskopuyla fotoğrafları çekildi (97).

5.4.3 Kontrol grubu:

Bu gruptaki tavşanlara herhangi bir toksik madde verilmedi. Deneme süresince diğer iki grupla beraber bu gruptanda kan örnekleri alındı, serumları çıkartıldı ve sialik asit, lipid bağlı sialik asit, total protein, serum glutamat privik transaminaz ve serum glutamat okzaloasetat transaminaz tayinleri yapılarak normal değerler elde edildi ve bu normal değerler, akut ve kronik gruptaki ölçüm sonuçları ile karşılaştırıldı. Denemenin sonunda bu gruptaki tavşanlar da öldürüldü ve otopsileri yapıldı.

Karaciğerlerinden alınan doku örneklere kronik gruptaki işlemler uygulanarak histopatolojik olarak Hematoksilen-Eosin boyaması yapıldı.

6. BULGULAR :

Akut, Kronik ve Kontrol grubu tavşanların canlı ağırlıkları ve ortalamaları Tablo 1 ' de, total karaciğer ağırlıkları ve ortalamaları Tablo 2 ' de, total karaciğer ağırlıklarının canlı ağırlıklarına oranları ve ortalamaları Tablo 3 ' de gösterilmiştir.

Akut, Kronik ve Kontrol gruplarına ait SGOT miktarlarına ait değerler Tablo 4 ' de, SGPT miktarlarına ilişkin bulgular Tablo 5 ' de, Sialik asit miktarları Tablo 6 ' da, lipid bağlı Sialik Asit miktarlarına ait değerler Tablo 7 ' de ve Total Protein değerleri Tablo 8 ' de gösterilmiştir.

Akut ve kontrol grupları SGOT düzeyleri Şekil 12' de, kronik ve kontrol grupları SGOT düzeyleri Şekil 13' de, akut ve kontrol grupları SGPT düzeyleri Şekil 14' de, kronik ve kontrol grupları SGPT düzeyleri Şekil 15' de, akut ve kontrol grupları SA düzeyleri Şekil 16' da, kronik ve kontrol grupları SA düzeyleri Şekil 17' de, akut ve kontrol grupları LSA düzeyleri Şekil 18'de, kronik ve kontrol grupları LSA düzeyleri Şekil 19'da, akut ve kontrol grupları total Protein düzeyleri Şekil 20' de, kronik ve kontrol grupları total protein düzeyleri Şekil 21' de gösterilmiştir.

Akut, Kronik ve Kontrol gruplarının SGOT, SGPT, Sialik Asit, Lipid bağlı Sialik Asit ve Total Proteinle ilgili gruplar arası istatistiki önem analizleri Tablo 9 ve Tablo 10 ' da bildirilmiştir.

Akut grupla ilgili histopatolojik mikroskopik bulgular Resim 1 ve 2 ' de, kronik grupla ilgili bulgular Resim 3 ve 4 ' de kontrol grubuyla ilgili bulgular ise Resim 5 ve 6 ' da gösterilmiştir.

n	AKUT (gr)	KRONİK (gr)	KONTROL (gr)
1	1380	1028	1500
2	1350	1093	1500
3	1110	1450	0952
4	1575	1470	0985
5	0970	0980	0750
6	1000	1190	1000
7	0920	1050	0750
Ort.	1186.42	1180.14	1062.42

Tablo.1 Akut, Kronik ve Kontrol gruplarının canlı ağırlıkları ve ortalamaları.

n	AKUT (gr)	KRONİK (gr)	KONTROL (gr)
1	39.5	50	40
2	44.1	39	47
3	27.9	44	36.7
4	55.1	48.5	41.2
5	31.8	42.5	37.3
6	29.7	45	38.5
7	32.1	54	37.5
Ort.	37.17	46.142	39.742

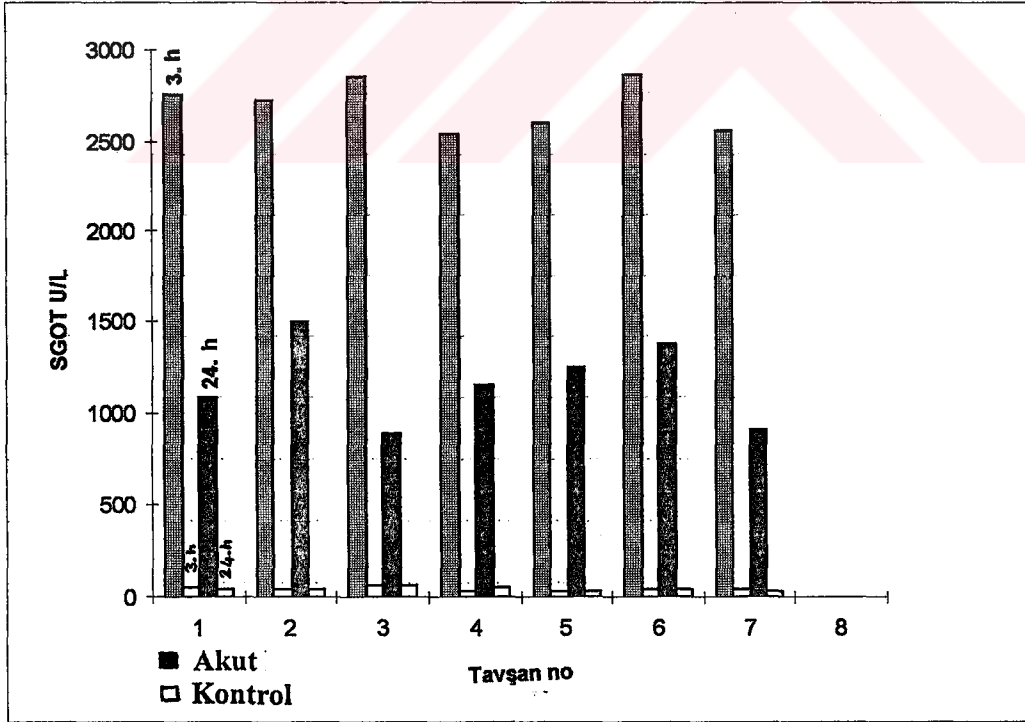
Tablo.2 Akut, Kronik ve Kontrol grubu total karaciğer ağırlıkları

n	AKUT (%)	KRONİK (%)	KONTROL (%)
1	2.876	4.863	2.666
2	3.266	3.595	3.133
3	2.513	3.034	3.855
4	3.498	3.299	4.182
5	3.278	4.336	4.973
6	2.970	3.781	3.850
7	3.498	5.142	5.000
Ort.	3.128 ± 0.14	4.007 ± 0.30	3.951 ± 0.33

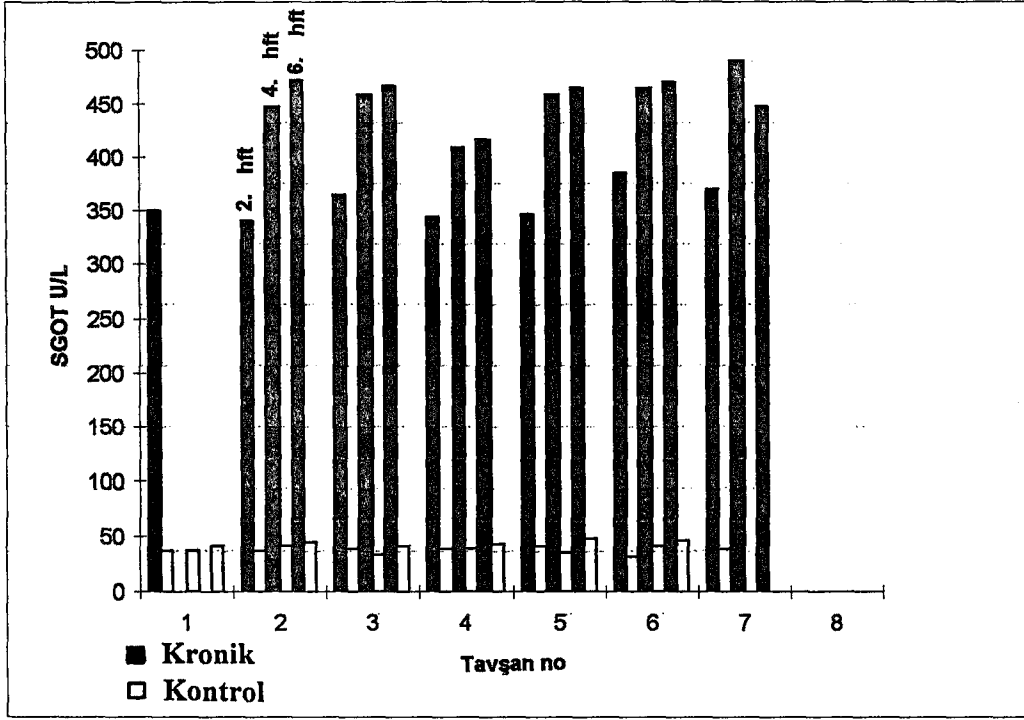
Tablo.3 Akut, Kronik ve Kontrol gruplarının canlı ağırlıklarının total karaciğer ağırlıklarına oranları.

n	Akut Hepatit (U / L)		Kontrol (U / L)		Kronik Hepatit (U / L)			Kontrol (U / L)		
	3. h	24. h	3. h	24. h	2. hft.	4. hft.	6. hft.	2. hft.	4. hft.	6. hft.
1	2762.17	1082.52	53	40	350			37	36	41
2	2728.99	1496.32	45	49	342	448	473	36	40	45
3	2859.95	885.22	65	70	365	460	466	38	34	40
4	2545.67	1145.38	30	54	345	410	417	39	39	42
5	2611.02	1251.88	28	38	347	459	465	40	35	48
6	2863.44	1381.09	48	45	386	465	471	32	41	46
7	2561.38	904.43	39	31	370	490	448	39		

Tablo.4 Akut, Kronik ve Kontrol gruplarında SGOT düzeyleri.



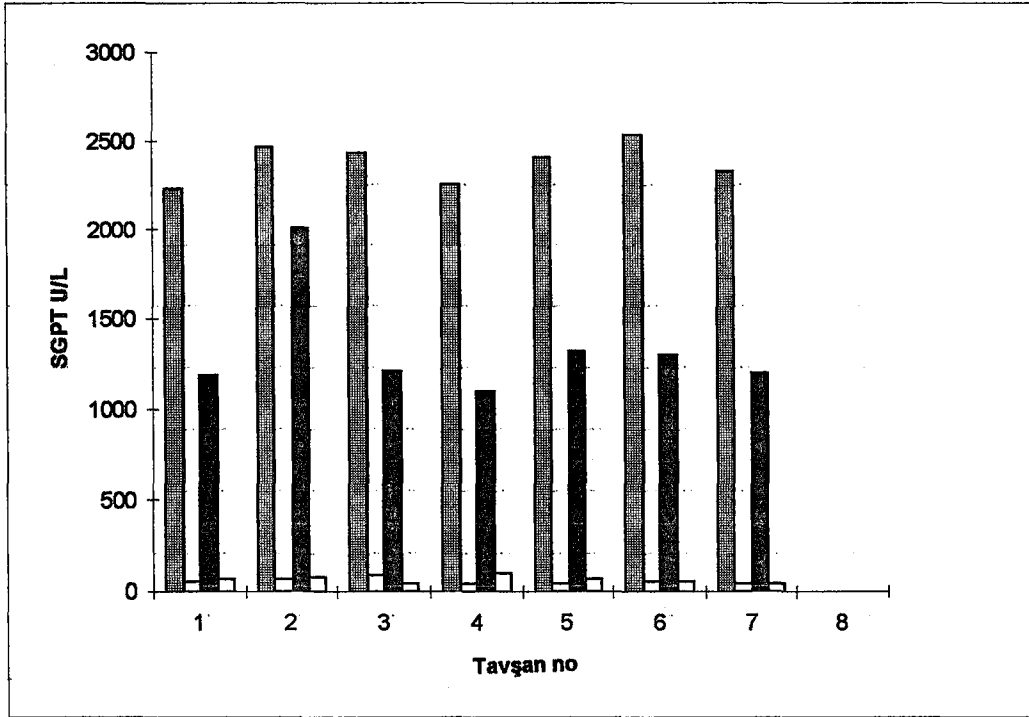
Şekil.12 Akut ve Kontrol gruplarında SGOT düzeyleri.



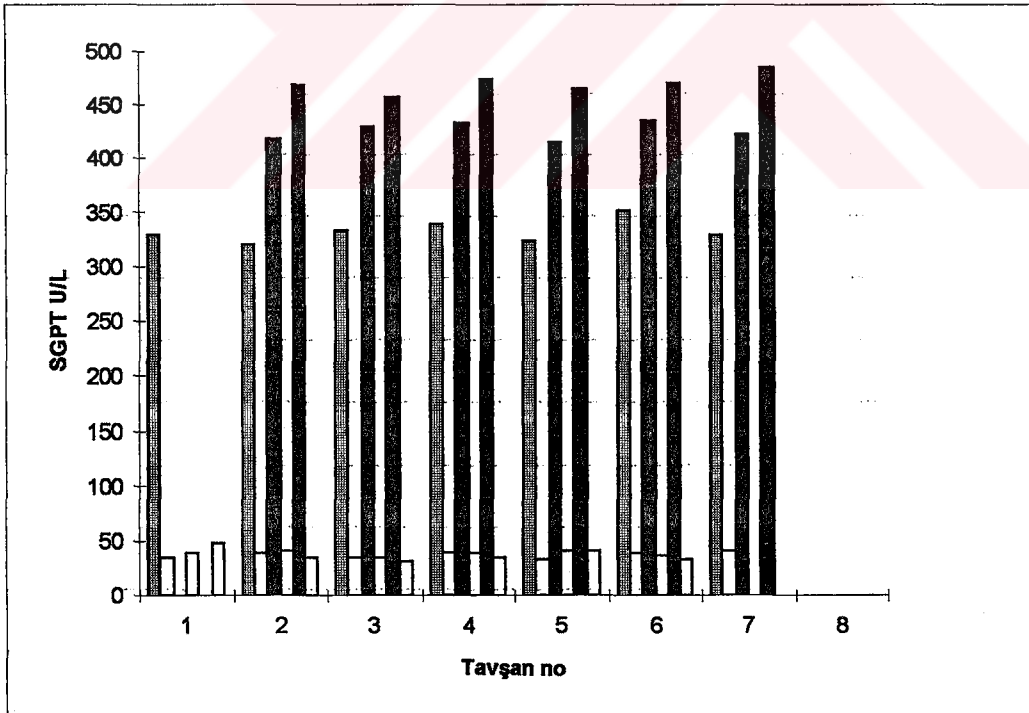
Şekil.13 Kronik ve Kontrol gruplarında SGOT düzeyleri.

n	Akut Grup (U / L)		Kontrol(U / L)		Kronik Grup (U / L).			Kontrol.(U / L).		
	3 . h	24. h	3. h	24. h	2. hft.	4. hft.	6. hft.	2. hft.	4. hft.	6. hft.
1	2231.39	1187.28	60	66	330			35	39	49
2	2463.61	2007.90	68	76	321	418	468	38	40	35
3	2435.67	1213.47	86	50	333	429	458	36	35	31
4	2257.58	1101.73	39	105	339	434	474	39	38	35
5	2411.64	1321.72	42	68	325	415	465	34	40	41
6	2531.70	1295.53	51	51	351	435	470	39	37	34
7	2330.91	1197.76	49	47	329	423	485	41		

Tablo.5 Akut, Kronik ve Kontrol gruplarında SGPT düzeyleri.



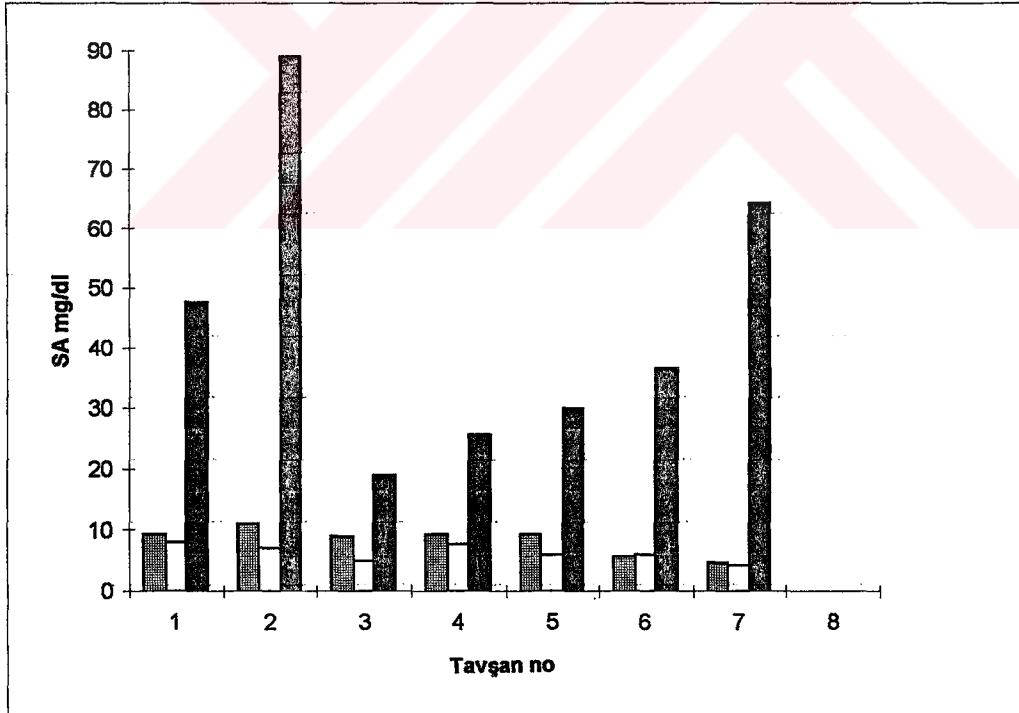
Şekil.14 Akut ve Kontrol gruplarında SGPT düzeyleri.



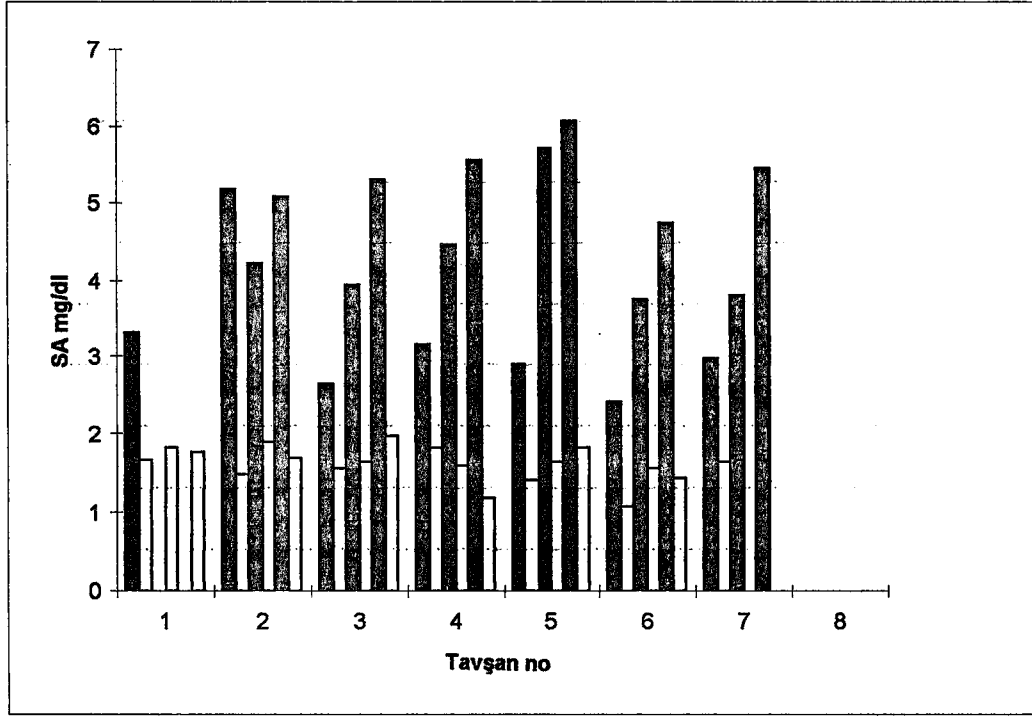
Şekil.15 Kronik ve Kontrol gruplarında SGPT düzeyleri.

n	Akut Grubmg/dl		Kontrol mg/dl		Kronik Grub (mg / dl)			Kontrol (mg / dl)		
	3. h	24. h	3. h	24. h	2. hft	4. hft	6. hft	2.hft	4. hft	6. hft
1	9.43	47.77	7.97		3.33			1.66	1.82	1.77
2	10.95	88.89	7.11		5.15	4.22	5.08	1.50	1.90	1.70
3	8.97	18.89	5.05		2.66	3.93	5.30	1.58	1.64	1.98
4	9.50	25.55	7.57		3.16	4.46	5.56	1.83	1.60	1.19
5	9.34	30.00	5.91		2.91	5.72	6.07	1.41	1.65	1.84
6	5.65	36.67	5.98		2.41	3.76	4.73	1.08	1.58	1.43
7	4.58	64.44	4.22		2.99	3.82	5.45	1.64		

Tablo.6 Akut, Kronik ve Kontrol gruplarında Sialik Asit düzeyleri.



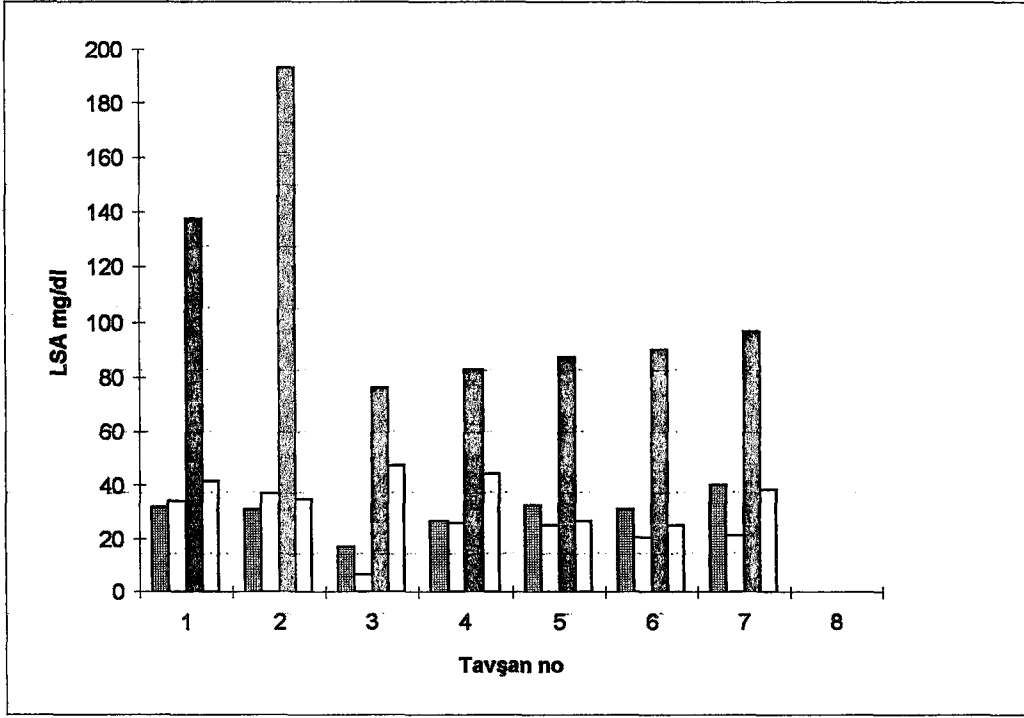
Şekil.16 Akut ve Kontrol gruplarında SA düzeyleri



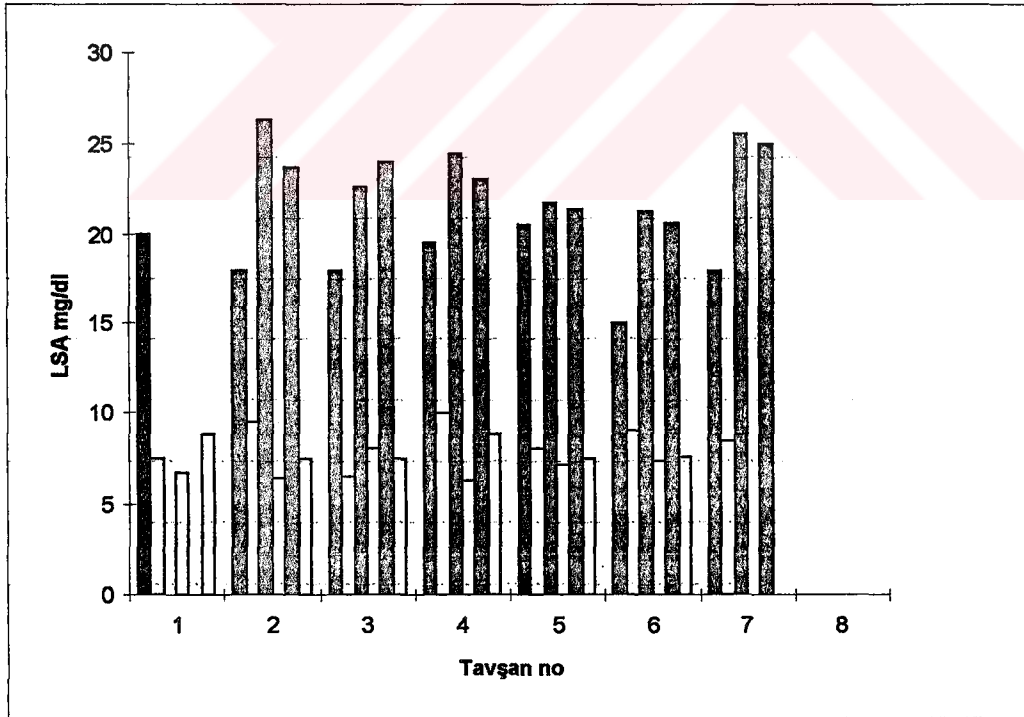
Şekil.17 Kronik ve Kontrol gruplarında SA düzeyleri.

n	Akut Grup mg/dl		Kontrol (mg/dl)		Kronik Grup (mg/dl)			Kontrol (mg/dl)		
	3. h	24. h	3. h	24. h	2. hft	4. hft	6. hft	2. hft	4. hft	6. hft
1	31.72	137.93	33.79	41.38	20.00			7.50	6.72	8.84
2	31.03	193.10	37.24	34.48	18.00	26.400	23.67	9.50	6.40	7.47
3	17.24	75.86	6.89	46.89	18.00	22.560	24.01	6.50	8.00	7.49
4	26.89	82.75	25.51	44.13	19.50	24.50	23.01	10.00	6.24	8.77
5	32.81	86.89	24.83	26.20	20.50	21.760	21.40	8.00	7.20	7.50
6	31.03	90.34	20.69	24.82	15.00	21.280	20.60	9.00	7.36	7.66
7	40.00	96.55	21.22	38.62	18.00	25.600	25.04	8.50		

Tablo.7 Akut, Kronik ve Kontrol Gruplarında Lipid Bağlı Sialik Asit düzeyleri.



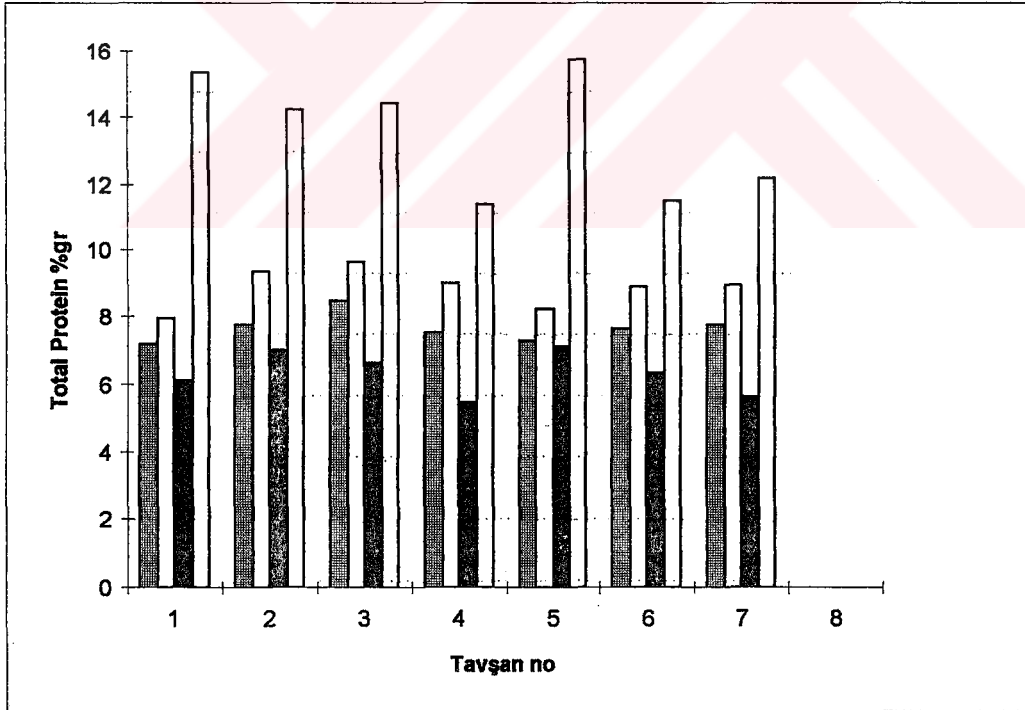
Şekil.18 Akut ve Kontrol gruplarında LSA düzeyleri.



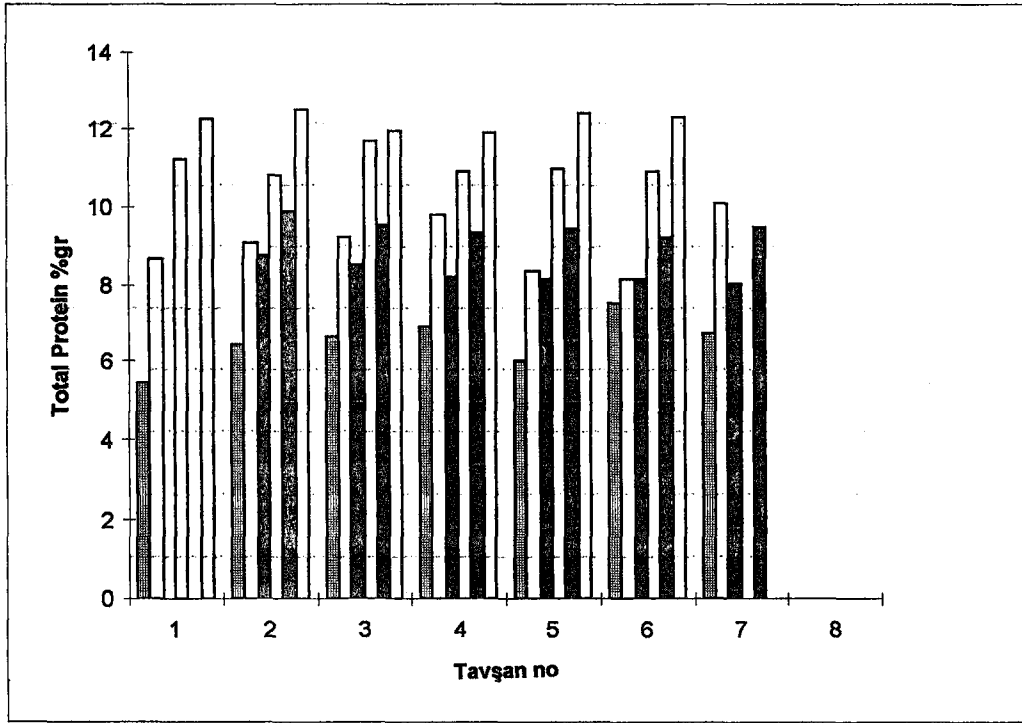
Şekil.19 Kronik ve Kontrol gruplarında LSA düzeyleri

n	Akut Grup %gr		Kontrol (% gr)		Kronik Grup (% gr)			Kontrol (% gr)		
	3. h	24. h	3. h	24. h	2. hft	4. hft	6. hft	2. hft	4. hft	6.hft
1	7.20	6.09	7.95	15.34	5.48			8.67	11.23	12.25
2	7.74	6.99	9.37	14.19	6.42	8.76	9.86	9.04	10.83	12.50
3	8.49	6.61	9.67	14.40	6.64	8.50	9.50	9.21	11.67	11.95
4	7.50	5.44	8.97	11.40	6.90	8.16	9.32	9.76	10.93	11.90
5	7.31	7.09	8.22	15.75	6.00	8.13	9.40	8.34	10.97	12.40
6	7.62	6.34	8.87	11.49	7.50	8.15	9.21	8.14	10.90	12.30
7	7.74	5.64	8.94	12.15	6.75	8.01	9.45	10.07		

Tablo.8 Akut, Kronik ve Kontrol gruplarına ait Total Protein düzeyleri.



Şekil.20 Akut ve Kontrol gruplarında Total Protein düzeyleri.



Şekil.21 Kronik ve Kontrol gruplarında Total Protein düzeyleri.

Parametreler	n	Akut Hepatit		Kontrol Grubu	
		3 h	24 h	3 h	24 h
		$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
SGOT (U/L)	7	2705 ± 51 a **	1164 ± 87 b **	44 ± 4.9 cd **	49.9 ± 4.1 cd **
SGPT (U/L)	7	2380 ± 42 a **	1332 ± 116 b **	56.4 ± 6.2 cd **	68 ± 7.1 cd **
T. Prt (%gr)	7	7.6 ± 0.16 a *	6.3 ± 0.24 b **	8.8 ± 0.23 c *	12.94 ± 1.1 d *
S.A (mg/dl)	7	8.34 ± 0.88 a	44.6 ± 9.3 b **	6.26 ± 0.52 a	
LSA (mg/dl)	7	30.1 ± 2.6 a	109.1 ± 16 b **	30 ± 3.7 a	36.6 ± 3.2 a

(a, b, c, d gruplar arası istatistiki açıdan önemli bulunmuştur.) (*p<0.05, **p<0.001)

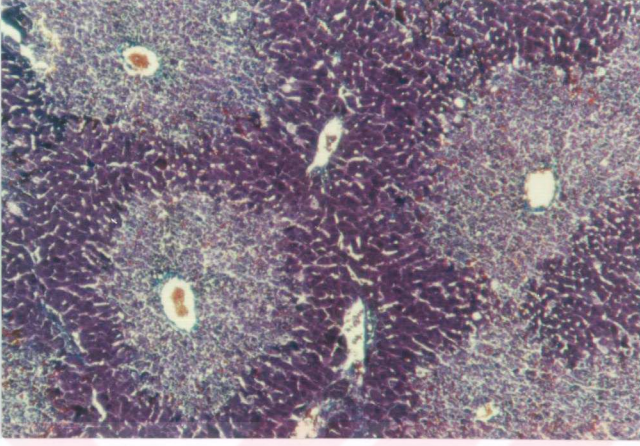
Tablo.9 Akut ve Kontrol gruplarına ait parametrelerin gruplar arası istatistiki önem analizleri (İstatistiksel analizler Minitab Paket Programı ile yapıldı.)

Parametreler	n	Kronik Grup			Kontrol Grubu		
		2. Hafta	4. Hafta	6. Hafta	2. Hafta	4. Hafta	6. Hafta
		$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
SGOT (U/L)	7	357.90 \pm 6.10 a*	455.30 \pm 11 b*	456.70 \pm 8.7 b*	37.29 \pm 1.0 c	37.50 \pm 1.2 c**	43.67 \pm 1.3 d**
SGPT (U/L)	7	332.57 \pm 3.8 a*	425.67 \pm 3.4 b*	470.00 \pm 3.7 c*	37.43 \pm 0.95 d	38.17 \pm 0.79 d	37.50 \pm 2.7 d
T.Prt (% gr.)	7	6.52 \pm 0.25 a*	8.28 \pm 0.12 b*	9.45 \pm 0.09 c*	9.03 \pm 0.27 d*	11.08 \pm 0.13 e*	12.21 \pm 0.09 f*
S.A (mg./dl)	7	3.23 \pm 0.34 a**	4.31 \pm 0.30 b**	5.36 \pm 0.19 c**	1.52 \pm 0.09 d*	1.69 \pm 0.05 d	1.65 \pm 0.12 d
LSA (mg./dl)	7	18.43 \pm 0.69 a	23.68 \pm 0.87 b	22.96 \pm 0.68 b	8.43 \pm 0.46 c*	6.98 \pm 0.27 c	7.95 \pm 0.27 c

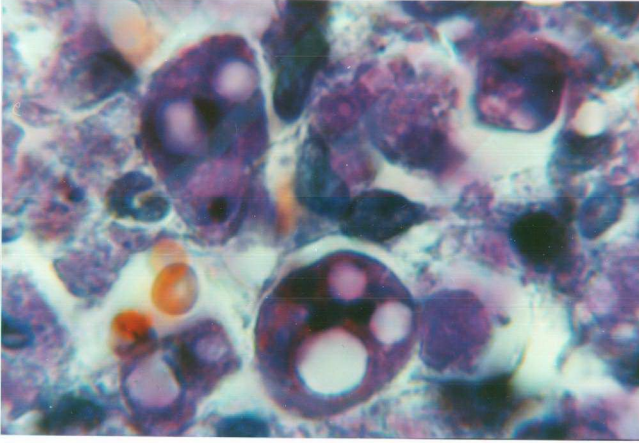
(a, b, c, d, e, f gruplar arası istatistiki açıdan önemli bulunmuştur.) (*p<0.001

**p<0.05)

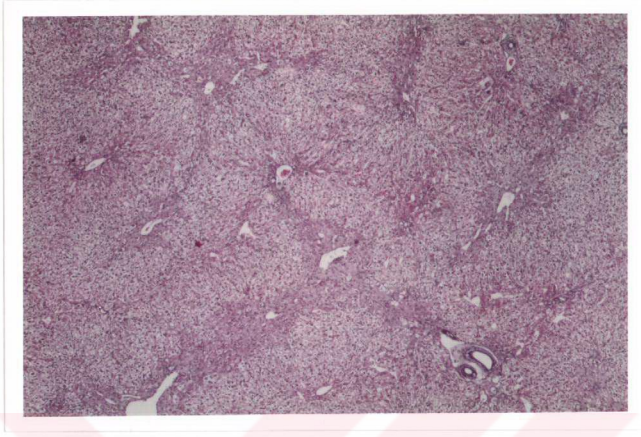
Tablo.10 Kronik ve Kontrol gruplarına ait parametrelerin gruplar arası istatistiki önem analizleri (İstatistiksel analizler Minitab Paket Programı ile yapıldı.)



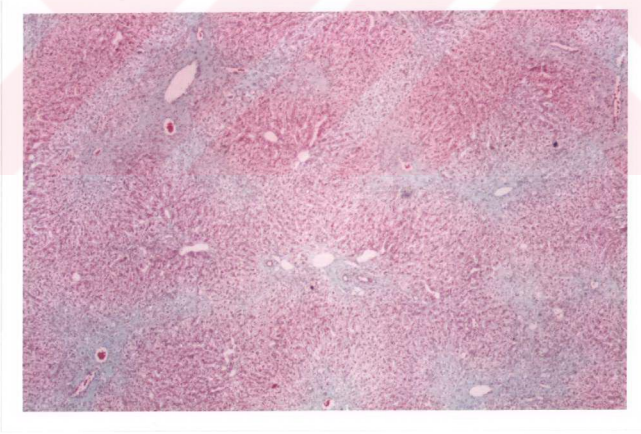
Resim 1. Akut toksikasyona maruz bırakılan karaciğer dokusunun Mallorinin Trikrom boyaması yöntemiyle histopatolojik görünümü.



Resim 2. Akut toksikasyona maruz bırakılan karaciğer hepatositlerinin Mallorinin Trikrom boyaması tekniği ile histopatolojik görünümü.



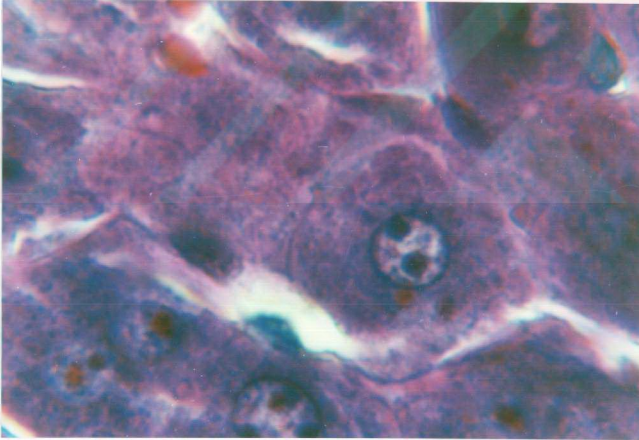
Resim 3. Kronik toksikasyona maruz bırakılan karaciğer dokusunun Hematoksilen-Eosin boyama tekniği ile histopatolojik görünümü.



Resim 4. Kronik toksikasyona maruz bırakılan karaciğer dokusunun Gomorinin Trikróm boyaması tekniği ile histopatolojik görünümü.



Resim 5 Sağlam karaciğer dokusunun Hematoksilen-Eosin boyama tekniğiyle mikroskopik görünümü.



Resim 6. Sağlam karaciğer dokusunun Mallorinin Trichrom boyaması tekniğiyle mikroskopik görünümü.

Akut sirozlu gruptaki makroskopik otopsi bulguları

Karaciğerin yüzeyinde gri boz renge kadar renk değişimlerinin olduğu gözlemlendi. Karaciğerde değişen oranlarda büyüme, üst yüzünde ve kesit yüzünde bol miktarda nekroz fuayelerine rastlandı. Karaciğerin sert, katı ve kıvamlı olduğu, kesit yüzeyinin ise boz renkte ve üst yüzeyinde düğümçüklerin olduğu görüldü. Periton boşluğunda değişen miktarlarda berrak bir sıvının biriktiği görüldü. Akciğerlerde tek taraflı ve bazen de çift taraflı yüzeylerinde yer yer peteşi ve ekimozlara rastlandı. Bazılarında dalakta büyüme ve barsaklarda hava toplanması görüldü.

Kronik sirozlu gruptaki makroskopik otopsi bulguları

Bu grupta karaciğerdeki lezyonlar akut sirozlu gruba göre daha fazla ve generalize idi. Kıvamındaki sertlik daha fazla ve nekrotik bölgelerin sınırları daha belirgindi. Kesit yüzeylerindeki nekroz fuayeleri daha fazla idi. Karaciğerin total olarak büyümesinin akut gruba göre daha fazla olduğu görüldü. Karaciğerin yüzeyindeki renk değişimlerinin daha fazla ve şiddetli olduğu gözlemlendi.

Kontrol grubundaki makroskopik otopsi bulguları

Karaciğerde herhangi bir lokal veya generalize lezyonlara rastlanmadı. Doku bütünlüğünün, renk ve kıvamının normal olduğu gözlemlendi.

Akut sirozlu gruptaki mikroskopik otopsi bulguları

Histopatolojik incelemelerde sentrolobüler nekroz bölgelerine rastlandı. Sentrolobüler boşlukların çeperlerinde bağ doku üremesi olduğu gözlemlendi (Resim 1). Bu nekrotik bölgelerde multi vokuoler dejenerasyonlar gözlemlendi. Karaciğerdeki sinüzoidler ayırt edilemiyordu (Resim 2). Bu histopatolojik bulgulara dayanılarak 48. saatte akut grupta sentrolobüler dejenerasyonların ve yağ dejenerasyonlarının başladığı, kısmen bağ dokunun oluştuğunu söyleyebiliriz.

Kronik sirozlu gruptaki mikroskopik otopsi bulguları

Portal alanlarda ve perivenlerde yer yer yoğun bağ doku artışı, bağ dokunun Portal Alan Vena sentralis ve Vena sentralis ile Vena sentralisler arasında septalar oluşturduğu,

karaciğerin düzenli lobüler yapısının bozulduğu ve hepatositlerde yaygın olarak dejenerasyonların oluştuğu gözlendi (Resim 3 ve 4). Bu bulgulara dayanılarak kronik grupta altıncı haftada sirozun oluştuğunu söyleyebiliriz.

Kontrol grubu mikroskopik otopsi bulguları

Karaciğer hepatositlerinin normal olduğu, hepatositlerde herhangi bir dejenerasyonun olmadığı, vokuollerin sağlam olduğu ve karaciğerin düzenli yapısını koruduğu gözlendi (Resim 5 ve 6).



7. TARTIŞMA VE SONUÇ :

Tedavide alınacak olumlu sonuçlar, hastalığın prognozunun kontrolü ile mümkündür. Hastalığın yaygınlığının saptanması, yapılacak olan tedavinin cinsini ve yönünü belirlemede, değişik evrelere uygulanacak nitelik ve nicelik bakımından farklı tedavi programlarının tesbitini mümkün kılmaktadır. Erken tanıya gidebilmek, hastalığın kapsamı hakkında bilgi edinebilmek ve hastalığın tedaviye verdiği cevabı gözleyebilmek için ölçülebilir değerlere ihtiyaç vardır (103).

Hekimlikte klinik bulguları tamamlayan ve onları destekleyip güçlendiren değerler arasında biyokimyasal analizlerin ayrı bir önemi vardır. Klinik biyokimyanın laboratuvar metotları ile elde edilen sonuçlar, hastalığın erken teşhisi, etyolojisi, patojenezisi ve seyri ile uygulanan bir tedavinin kontrolü hakkında hekime bilgiler verir (104).

Bütün dokular belirli konsantrasyonlarda değişik enzimleri içerirler. Enzimlerin büyük çoğunluğu hücre içinde, kanda buldukları konsantrasyondan çok daha fazla miktarda bulunurlar. Kandaki enzim aktivitelerindeki değişimler buldukları dokular ve organlar hakkında kesin bilgi verir. Hücre proliferasyonu, hücre yapım ve yıkım döngüsündeki bir hızlanma veya hücre harabiyeti genel olarak kandaki enzim düzeylerini yükseltir. Böylece doku ve organlardaki patolojik durumlardan eğer tedavi yapılıyorsa hastalığın prognozu, seyri ve iyileşme şansı ile ilgili bilgiler alınması bakımından enzimlerin analizi oldukça önemlidir. Örneğin karaciğerin en önemli enzimlerinden olan serum GPT ve serum GOT ' ın kandaki miktarlarındaki artışlar hücre zarının yıkımlanması ve hücre nekrozu sonucu olur ve bu artış akut karaciğer hastalıkları, akut ve kronik toksik hepatopatiler hakkında oldukça spesifik ve seçici bilgiler verir (42,105).

Köpek, kedi ve kemirgenlerin karaciğer hastalıklarının ortaya çıkarılmasında, serumdaki GPT seviyesi oldukça önemli bir değerdir. Serum GPT bu hayvanların hepatosit stoplazmasında büyük miktarlarda bulunur. Karaciğerde hücresel dejenerasyon veya yıkım meydana geldiği zaman serumdaki seviye hemen artar. Serum GPT seviyesindeki bu artış hepatositlerde meydana gelen hasarın miktarı ile doğrudan ilgilidir. Eğer hasar küçükse serumdaki artış da hafiftir. Orta dereceli hasarda üç-sekiz kat artar. Şiddetli karaciğer nekrozunda serum aktivitesi çok daha fazla miktarlarda artar (17,106).

Hepatitis, karaciğerin inflamasyonu anlamında genel bir terimdir ve hepatoselüler hasarlı hastalıkları tanımlamada kullanılır. Hepatitis siroz da dahil karaciğeri etkileyen tüm

diffuz, dejeneratif ve yangısal karaciğer hastalıklarını içermektedir. Sirozda karaciğer dejenerasyonu nedeniyle oluşan tüm klinik semptomlar ve etyoloji, hepatitisin aynıdır. Tek fark sirozun kronik seyirli olmasıdır. Toksik hepatitiste karaciğerde oluşan lezyonlar genellikle sentrolobülerdir ve orta şiddetde seyredir. Karaciğerde şişlik ve yaygın nekroz oluşur. Şekillenen nekroz şiddetli ve uzun süreli toksikasyonlar sonucunda şekillenirse fibroze dönüşür. Hayvanlarda görülen toksik hepatitisin en yaygın nedenleri, inorganik (fosfor, bakır, arsenik, selenyum) ve organik (karbontetraklorür, heksakloreten, kreozol, kloroform) zehirlenmelerdir. Toksik hepatitisten başka nedenlerine göre enfeksiyöz hepatitis, paraziter hepatitis, nutrisyonel hepatitis, metabolik hepatitis ve konjestif hepatitis de görülmektedir. Tüm karaciğer loblarının hasara uğradığı yaygın hepatic nekrozda, hepatic fibrozis gelişir. Rejenerasyon mümkün değildir ve fibroz doku oluşur. Böylece fibrozis akut veya kronik olarak gelişen hepatitisin son döneminde şekillenir (2,3).

Hücre yüzey bileşikleri olan glikoprotein ve glikolipitler, kanser ve bir seri hastalıkta (örneğin karaciğer sirozu, nefrotik sendrom, malign hastalıklar, myeloma gibi) bu hastalıkların özellikleri bakımından oldukça önemlidir. Çünkü normal hücrelerde bulunan glikoprotein ve glikolipit kompozisyonları deforme olmuş hücrelerde bulunanlara göre farklılık arz etmektedir. Sialik asit de bu glikoprotein ve glikolipitlerin yaygın bir terminal sakkarididir. Bu hastalıklardan dolayı hücre yüzeyinde meydana gelen anormal değişimler onların yüzeylerinde mevcut bulunan glikoprotein ve glikolipitlerin dolayısıyla sialik asitin de değişmesine sebep olacaktır. Sialik asitin direkt olarak ölçülmesi hücrenin anormal büyümesi ve davranışları veya hücrenin harabiyeti hakkında bilgiler verecektir (74,92).

Serum, sialoglikoproteinleri ve sialoglikolipitleri değişik oranlarda içerdiği için sialik asitin zengin ve rölatif bir kaynağıdır. Serumda sialik asitin ölçülmesi tedavi altındaki hastaların seyrinin incelenmesi bakımından faydalıdır. Çünkü yangısal reaksiyonlar süresince serumda sialik asit miktarının yüksek bulunması olasıdır. Bu miktarın yüksekliği tipik olarak bozuklukla ilişkilidir. Sialik asitin bir diğer çeşiti olan Lipid bağlı sialik asitin ölçülmesi de hastalığın seyrinin kontrolü açısından büyük önem taşımaktadır. Hatta son yıllarda yapılan çalışmalarda Lipid bağlı sialik asitin ,sialik asitten çok daha iyi bir marker olabileceği görüşünde olan araştırmacılar çoğunluktadır (80).

Neoplazmlı, karaciğer sirozlu, pnömöli ve romatoid artritli hastalarda yapılan çalışmalarda sialik asitin miktarının ölçülmesinin çok gerekli ve bunun tartışmasız bir klinik

bilgi olduğu, bu grup hastalıkların prognozu ve diyagnozunun takip edilmesinde potansiyel bir klinik veri olarak kullanılabileceği bildirilmektedir (68).

Araştırmamızda tek doz intraperiotenal olarak karbontetraklorür verdiğimiz akut sirozlu deneme grubunda enjeksiyon uygulanmasını takiben üçüncü saatte yaptığımız ölçümlerde SGPT düzeyi 2380 ± 42 U / L olarak tesbit edilmiştir. Yine uygulamayı takiben 24. saatde yaptığımız ölçümlerde ise SGPT düzeyi 1332 ± 116 U / L olarak bulunmuştur. Uygulamayı takiben enzim düzeylerinde 24. saatten itibaren bir düşme olduğu gözlenmiştir.

Kontrol grubunda yaptığımız ölçümlerde üçüncü saatteki SGPT düzeyi 56.4 ± 6.2 U / L , 24. saatteki ölçümlerde ise 68 ± 7.1 U / L olarak bulunmuştur. Kontrol grubunun iki analizi karşılaştırılacak olursa aralarında bir fark olmadığı gözlenmektedir.

Çalışmamızda kronik sirozlu deneme grubunda 2., 4. ve 6. haftalarda yaptığımız SGPT ölçümleri sırasıyla 332.57 ± 3.8 U / L , 425.67 ± 3.4 U / L ve 470 ± 3.7 U / L olarak bulunmuştur. Kontrol grubu SGPT miktarları ise yine sırasıyla 37.43 ± 0.95 U / L , 38.17 ± 0.79 U / L ve 37.50 ± 2.7 U / L olarak tesbit edilmiştir.

Yamagishi ve ark.(12) larının yaptıkları bir çalışmada deneysel olarak karbontetraklorür verdikleri ratlarda SGPT düzeyinin uygulamadan on saat sonra 30.2 U / L normal seviyesinden, 1132.7 U / L ' ye kadar çok hızlı bir şekilde yükselme gösterdiği ve yine benzer şekilde Fujiwara ve ark.(41) tarafından yapılan çalışmada karbontetraklorür uygulamasından 36 saat sonra SGPT düzeyinin yaklaşık 2000 K.Ünite' den 9000 K.Üniteye kadar yükseldiği görülmüştür.

Araştırmamızda akut deneme grubunda karbontetraklorür uygulamasını takiben üçüncü saatteki yapılan SGOT ölçümü 2705 ± 51 U / L bulunmuştur. 24. saatteki ölçümlerde ise bu miktarın 1164 ± 87 U / L ' ye düştüğü gözlenmiştir.

Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde ise üçüncü saatteki SGOT miktarı 44 ± 4.9 U / L , 24. saatteki ise 49.9 ± 4.1 U / L olarak bulunmuştur. Bunda da kontrol grubundaki hayvanlar arasında SGPT ' de olduğu gibi değerler bakımından bir fark bulunmamıştır.

Kronik sirozlu deneme grubunda 2., 4. ve 6. haftalarda yapılan SGOT ölçümlerinde ise miktarlar sırasıyla 357.90 ± 6.1 U / L , 455.3 ± 11 U / L ve 456.7 ± 8.7 U / L olarak bulunmuştur.Kontrol grubunda bu miktarlar yine sırasıyla 37.29 ± 1.0 U / L , 37.5 ± 1.2 U / L ve 43.67 ± 1.3 U / L olarak tesbit edilmiştir.

Çeşitli kaynaklarda (11,38) deneysel olarak siroz oluşturulan ratlarda SGOT ölçümlerinde anlamlı ve hızlı yükselişler olduğu bildirilmektedir.

Enzim miktarlarındaki bu artışlar, karbontetraklorür uygulamasını takiben kısa bir süre içerisinde karaciğerde hasarın, hepatositlerde dejenerasyonların, hepatik nekrozun ve yağ dejenerasyonunun başladığını göstermektedir. Zira histolojik olarak yaptığımız kesitlerden elde ettiğimiz verilerde bunu destekler mahiyettedir.

Serum içine enzim akışındaki artışlar ; (1) hücrenin hasarı sonucu enzim sızıntısındaki artış (örn., toksik hepatopati sırasında karaciğer enzimlerinin sızması), (2) aşırı enzim üretimi sonucu hücrelerden enzim sızmasındaki artışlar nedeniyle olmaktadır (106).

Hasara uğramış dokulardan serum içine enzim sızma oranı, (1) doku hasarının yaygınlığı, hızı ve şiddeti (2) enzimin doku konsantrasyonu ve (3) enzimin molekül ağırlığı, diffuze olabilme durumu ve serumdan uzaklaştırılma oranından (yarı ömrü) etkilenir. Hücresel hasar yaygın, hızlı ve şiddetli olduğunda, sellüler enzim konsantrasyonu yüksek, enzimin sentezlenme oranı yüksek, molekül ağırlığı düşük, hızlı diffuze olma yeteneği ve subsellüler komponentlere bağlanmama özelliğine sahip olduğundan, enzimin sızma oranı daha yüksektir. Serumda sellüler enzimlerin konsantrasyonlarındaki artış, aynı zamanda hücre proteinlerinin plazmaya geçme oranından da etkilenir (106).

Ölçümler sonucunda, Total Protein miktarlarında, akut deneme grubunda, kontrol grubuna göre bir düşme olduğu gözlenmiştir. Uygulamadan sonra üçüncü saatte yapılan ölçümlerde akut gruptaki total protein miktarı 7.60 ± 0.16 % gr, 24. saatte ise 6.3 ± 0.24 % gr olarak bulunmuştur. Kontrol grubunun ölçümlerinde ise üçüncü saatteki total protein miktarı 8.8 ± 0.23 % gr, 24. saatteki ise 12.94 ± 1.1 % gr olarak tespit edilmiştir.

Kronik sirozlu deneme grubunda yapılan Total protein miktar tayinlerinde 2., 4. ve 6. haftalarda sonuçlar sırasıyla 6.52 ± 0.25 % gr, 8.28 ± 0.12 % gr ve 9.45 ± 0.09 % gr olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bu miktarlar yine sırasıyla 9.03 ± 0.27 % gr, 11.08 ± 0.13 % gr ve 12.21 ± 0.09 % gr olarak tespit edilmiştir. Akut gruptaki gibi kronik grupta da kontrollerine nazaran bir düşme olduğu gözlenmiştir.

Karbontetraklorür verilerek deneysel karaciğer sirozu oluşturulan ratlarda yapılan bir çalışmada total protein konsantrasyonunda gözle görülür bir düşüş olduğunu tesbit edilmiştir (37).

Albüminin hepatic sentezinin, karaciğerdeki hastalıklardan dolayı karaciğer paransiminin hasar görmesine bağlı olarak azaldığı bildirilmektedir. Düşük serum albümin konsantrasyonu kronik siroz veya subakut hepatitiste gözleendiği literatürlerde bildirilmektedir (107).

Çalışmamızda akut deneme grubunda uygulamayı takiben yapılan sialik asit ölçümlerinde, üçüncü saatte 8.34 ± 0.88 mg / dl olarak bulunan miktar, 24. saatte 44.6 ± 9.3 mg / dl olarak saptanmıştır. 24. saatteki ölçüm miktarının üçüncü saatteki ölçüm miktarına göre daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Kontrol grubundaki ölçümlerde ise bu miktarın 6.26 ± 0.52 mg / dl de kaldığı gözlenmiştir.

Kronik sirozlu deneme grubunda yapılan sialik asit ölçümlerinde 2., 4. ve 6. haftalarda miktarlar sırasıyla 3.23 ± 0.34 mg / dl, 4.31 ± 0.30 mg / dl ve 5.36 ± 0.19 mg / dl olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bu miktarlar yine sırasıyla 1.52 ± 0.09 mg / dl, 1.69 ± 0.05 mg / dl ve 1.65 ± 0.12 mg / dl olarak tespit edilmiştir. Kronik grupta da kontrol grubuna göre sialik asit miktarlarında bir artış olduğu gözlenmektedir.

Stefenelli ve ark.(68) malign tümörlü, bakteriyel infeksiyonlu, romatoid artritli ve karaciğer sirozlu 2264 adet insanda yaptıkları çalışmada, sirozlu insanlarda sialik asit miktarlarında, sağlam insanlardan oluşun kontrol grubuna göre, bir yükseliş meydana geldiğini bildirmişlerdir. Sirozlu vakalarda sialik asitin selektif özelliğinin % 69 ' lara kadar çıktığını ileri sürmüşlerdir. Serum sialik asit konsantrasyonunun ölçümünün bu hastalıkların prognozunda ve diyagnozunda faydalı bir marker olacağını bildirmişlerdir.

Literatür verilerine göre (87) sirozda, sialik asit içeren proteinlerin üretiminde bir artış olduğu gibi sirozlu vakalarda serumda yapıları ölçümlerde sialik asit miktarlarında yine bir artış olduğu tespit edilmiştir. Sirozda, sialik asitin glikoproteinlere muhtemelen anormal bir şekilde bağlandığı bildirilmektedir.

Ve yine bir kaynakta (80) bütünlüğü bozulmuş olan malign hücrelerde, karbonhidrat kompozisyonunun anormal hale gelmesiyle yüzeylerinde bulunan glikoprotein ve glikolipitlerin kana salındığını ve sialik asitin ise bu glikoprotein ve glikolipitlerin en büyük bileşeni olduğu bildirilmektedir. Sialik asitin ve total proteinin kanser ve karaciğer hastalıklarında iyi bir marker olarak pozisyonu test edilmiş ve sonuçta bunların sensivite ve spesifite bakımından faydalı olacağını kanaatine varılmıştır.

Araştırmamızda akut deneme grubunda karbontetraklorür uygulamasından sonra üçüncü saatte yapılan ölçümlerde, lipid bağlı sialik asit miktarı 30.1 ± 2.6 mg / dl, 24. saatte yapılan ölçümlerde ise bu miktar 109.1 ± 16 mg / dl olarak bulunmuştur. Çıkan sonuçtan da anlaşılacağı üzere 24. saatteki oran üçüncü saatteki orandan daha yüksek bulunmuştur. 24. saatte LSA 'nın yüksek çıkmasının nedeninin karaciğer hücrelerinde lipid peroksidasyonunun bu sürede had safhaya ulaştığını düşündürmektedir.

Kontrol grubunda yapılan ölçümlerde ise lipid bağlı sialik asit üçüncü saatte 30 ± 3.7 mg / dl, 24. saatteki ölçümlerde ise 36.6 ± 3.2 mg / dl olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki iki analiz arasında pek bir fark olmadığı gözlenmektedir.

Kronik sirozlu deneme grubunda 2., 4. ve 6. haftalarda yapılan lipid bağlı sialik asit ölçümlerinde miktarlar sırasıyla 18.43 ± 0.69 mg / dl, 23.68 ± 0.87 mg / dl ve 22.96 ± 0.68 mg / dl olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bu miktarlar yine sırasıyla 8.43 ± 0.46 mg / dl, 6.98 ± 0.27 mg / dl ve 7.95 ± 0.27 mg / dl olarak tespit edilmiştir. Sonuçlara bakılınca LSA miktarlarında sağlıklı olanlara göre bir artış olduğu gözlenmektedir.

Colli ve ark.(91) göğüs, akciğer, mide, kolon, ovaryum kanserli ve karaciğer tümörlü hastalarda yaptıkları sialik asit ve lipid bağlı sialik asit ölçümlerinde gözle görülür bir yükselme olduğunu bildirmişlerdir. Bu tip hastalıklarda kanda sialoglikoproteinlerin ve sialoglikolipitlerin konsantrasyonlarının yüksek olmasının nedenini, bütünlüğü bozulan hücrenin sekresyon ve boşaltım mekanizmasının da bozulduğunu dolayısıyla kontrolsüz bir şekilde kana glikoprotein ve glikolipit salınırilişine bağlamakta ve lipid bağlı sialik asitin doğruluk değerinin % 82 ' lere kadar çıkabileceğini bildirmişlerdir.

Mayo klinikte yapılan bir çalışmada Erbil ve ark. (86) serumda NANA ve LSA konsantrasyonlarında bulunan yüksekliğin sadece mevcut bulunan hastalığın diyagnozuyla ilgili değil aynı zamanda bu hastalığın derecesi, iyileşme şansı, tanımlanması ve erken nüksün teşhis edilmesinde de oldukça faydalı olduğunu bildirmişlerdir. En iyi ve doğru korelasyonun Sialik asit ve LSA arasında olduğunu gözlemiştirler.

Stefenelli ve ark.(68) malign hücrelerin temelde, yüzeylerinde ve membranlarındaki glikoproteinlere bağlanan sialik asit miktarlarında bir artışa neden olduklarını bildirmişlerdir. Malign hücrelerin yüksek bir dönüşme yeteneğine sahip olduklarını, sonuçta sayıca arttıklarını ve daha fazla sialik asit bağladıklarını ifade etmişler, bu hücrelerin sekresyon ve boşaltım mekanizmaları da bozuk olduğundan, serumda sialik asit miktarlarında bir artışa

neden olduğunu bildirmektedirler. Serumdaki sialik asit miktarındaki yükseliğe, karaciğerden sialoglikoproteinlerin salınımında ve sentezinde şiddetli bir artışın da muhtemel bir neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde, akut grupta karaciğer enzimlerinin CCL4 verildikten sonra ilk üç saatte en fazla yükseldiği 24. saatte ise düştüğü görülmektedir. SA ve LSA ise aksine 24. saatte daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni karaciğer hücrelerindeki hasar CCL4 enjeksiyonundan sonra üçüncü saatte en fazla olduğu ve bu hasara bağlı olarak enzim konsantrasyonu en yüksek oranda bulunmuştur. SA ve LSA' nın 24. saatte artması ise hasara uğrayan hücrelerde glikoprotein ve glikolipitlerin yaygın bir terminal sakkaridi olan sialik asit LSA' nın ancak hücrelerde lipid peroksidasyonu başladıktan sonra, serumdaki konsantrasyonlarının yükseldiği düşünülebilir. Karaciğer hücrelerindeki hasara bağlı olarak proteinden zengin rasyona rağmen protein sentezi yavaşladığından hepatitli tavşanların kan serumlarındaki total protein miktarları kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur.

Kronik grupta ise gerek enzimlerdeki gerekse SA ve LSA miktarlarındaki artışlar akut gruba göre daha azdır. Bunun nedeni kronik toksik hepatitte hücre dejenerasyonunun daha ağır şekillendiğinden dolayı olabilir.

Neoplastik hastalıklarda LSA ve SA' nın yükseldiği çeşitli araştırmalarda rapor edilmektedir (68, 85, 92, 95). Fakat akut ve kronik sirozda da yükselmesi neoplastik hastalıkların ayırıcı tanısında yeterli olamayacağını göstermektedir. Bununla beraber gerek karaciğer hasarında ve gerek neoplastik hastalıklarda prognoz açısından önem kazanmaktadır. Hücrelerdeki hasarın derecesi, lipid peroksidasyonunun şiddeti hakkında kan serumundaki LSA ve SA düzeyleri bir fikir verebilir ve tedavide yardımcı olabilir.

Neoplastik hastalıklarda malign hücrelerin yüzeylerinde ve membranlarında glikoproteinlere sialik asitin bağlanması nedeniyle serumdaki sialik asitin konsantrasyonunun artmasına rağmen, akut ve kronik hepatit' te lipid peroksidasyonu sonucu LSA ve SA konsantrasyonlarının arttığı düşünülebilir. Zira karaciğer enzimlerindeki artış da bu sonucu desteklemektedir.

8. ÖZET

Bu çalışmada, deneysel siroz oluşturulan tavşanların serumlarında sialik asit, lipid-bağlı sialik asit miktarları ile total protein ve bazı karaciğer enzimlerinin aktiviteleri araştırıldı.

Siroz oluşumunun değişik evrelerinde bu parametrelerin konsantrasyonları ve aktiviteleri ölçüldü. Sirozlu gruplarda Sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit miktarlarında önemli bir artış olurken kontrol gruplarında herhangi bir artış olmadığı ve sabit kaldığı gözlemlendi. Serum GOT ve GPT enzimlerinin miktarlarında da sirozlu gruplarda belirli bir artış olurken kontrol gruplarında bir artış olmadığı tesbit edildi. Total protein miktarlarında ise sirozlu gruplardaki karaciğer harabiyetinden dolayı protein sentezinde azalmalar gözlemlendi. Kontrol grubuna göre sirozlu gruplarda total protein miktarlarında bir düşme olduğu tesbit edildi.

Akut siroz oluşturulan grupta Sialik asit, Lipid-bağlı sialik asit, Total protein, serum GOT ve GPT düzeyleri sırasıyla üçüncü saatte 8.34 ± 0.88 mg/ dl, 30.1 ± 2.6 mg/ dl, 7.6 ± 0.16 % gr, 2705 ± 51 U/ L , 2380 ± 42 U/ L olarak bulunurken bu değerlerin kontrol grubunda yine sırasıyla 6.26 ± 0.52 mg/ dl, 30 ± 3.7 mg/ dl, 8.8 ± 0.23 % gr , 44 ± 4.9 U/ L , 56.4 ± 6.2 U/ L ' de kaldığı gözlemlenmiştir. 24. saatteki ölçümlerde ise bu değerler yine yukarıdaki sıraya göre akut siroz oluşturulan grupta 44.6 ± 9.3 mg/ dl, 109.1 ± 16 mg/ dl, 6.3 ± 0.24 % gr, 1164 ± 87 U/ L., 1332 ± 116 U/ L olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bu miktarlar LSA, Total protein, serum GOT ve GPT sırasına göre 36.6 ± 3.2 mg/ dl, 12.94 ± 1.1 % gr, 49.9 ± 4.1 U/ L, 68 ± 7.1 U/ L olarak tesbit edilmiştir.

Kronik sirozlu grupta ise bu miktarlar sırasıyla 2. haftada 3.23 ± 0.34 mg/ dl, 18.43 ± 0.69 mg/ dl, 6.52 ± 0.25 % gr, 357.9 ± 6.1 U/ L , 332.57 ± 3.8 U/ L olarak, 4. haftada 4.31 ± 0.3 mg/ dl, 23.68 ± 0.87 mg/ dl, 8.28 ± 0.12 % gr, 455.3 ± 11 U/ L, 425.67 ± 3.4 U/ L olarak, 6. haftada ise bu miktarlar 5.36 ± 0.19 mg/ dl, 22.96 ± 0.68 mg/ dl, 9.45 ± 0.09 % gr, 456.7 ± 8.7 U/ L, 470 ± 3.7 U/ L olarak saptanmıştır. Bu değerler kontrol grubunda ise 2. haftada yine sırasıyla 1.52 ± 0.09 mg/ dl, 8.43 ± 0.46 mg/ dl, 9.03 ± 0.27 % gr, 37.29 ± 1.0 U/ L, 37.43 ± 0.95 U/ L olarak, 4. haftada 1.69 ± 0.05 mg/ dl, 6.98 ± 0.27 mg/ dl, 11.08 ± 0.13 % gr, 37.5 ± 1.2 U/ L, 38.17 ± 0.79 U/ L olarak, 6.haftada ise 1.65 ± 0.12 mg/ dl, 7.95 ± 0.27 mg/ dl, 12.21 ± 0.09 % gr, 43.67 ± 1.3 U/ L, 37.5 ± 2.7 U/ L olarak bulunmuştur.

Yapılan istatistiksel analizlerde konsantrasyonlar arasında önemli bir farkın olduğu gözlemlendi.

Sonuçta, sirozun klinik teşhisinde, prognozunda ve iyileşmenin takibinde sialik asit ve lipid-bağlı sialik asitin enzimlere destek olarak biyokimyasal analizinin faydalı olabileceği kanatine varıldı.



9. SUMMARY

INVESTIGATION OF SA, LSA, TOTAL PROTEIN AND SOME SPECIFIC LIVER ENZYMES ACTIVATION IN EXPERIMENTALLY CIRRHOSIS PRODUCED RABBIT BY USING CCL4.

In this study, Sialic Acid (SA), Lipid-bound Sialic Acid, Total Protein and activities of some specific liver enzymes were measured in experimentally cirrhosis-produced rabbits by using CCL4.

The concentrations and activities of these parameters were measured in different stages of cirrhosis. It was found that, although SA, LSA, SGOT and SGPT levels increased in cirrhotic groups, they did not change in control group. Total protein level in cirrhotic group was lower than the total protein level in control group due to the liver degeneration that caused a decrease in protein synthesis.

In acute experimental group, three hours after the administration SA, LSA, Total Protein, SGOT and SGPT levels were 8.34 ± 0.88 mg/ dl, 30.1 ± 2.6 mg/ dl, 7.6 ± 0.16 % gr, 2705 ± 51 U/ L, 2380 ± 42 U/ L, respectively. In control group three hours after these levels were 6.26 ± 0.52 mg/ dl, 30 ± 3.7 mg/ dl, 8.8 ± 0.23 % gr, 44 ± 4.9 U/ L, 56.4 ± 6.2 U/ L, respectively. Twentyfour hours after the administration these levels were 44.6 ± 9.3 mg/ dl, 109.1 ± 16 mg/ dl, 6.3 ± 0.24 % gr, 1164 ± 87 U/ L, 1332 ± 116 U/ L, respectively, in control group these levels were 36.6 ± 3.2 mg/ dl, 12.94 ± 1.1 % gr, 49.9 ± 4.1 U/ L, 68 ± 7.1 U/ L, respectively.

On the other hand, in chronic experimental group two weeks after the administration these levels were 3.23 ± 0.34 mg/ dl, 18.43 ± 0.69 mg/ dl, 6.52 ± 0.25 % gr, 357.9 ± 6.1 U/ L, 332.57 ± 3.8 U/ L, respectively. Four weeks after the administration these levels were 4.31 ± 0.3 mg/ dl, 23.68 ± 0.87 mg/ dl, 8.28 ± 0.12 % gr, 455.3 ± 11 U/ L, 425.67 ± 3.4 U/ L, respectively. Six weeks after the administration these levels were 5.36 ± 0.19 mg/ dl, 22.96 ± 0.68 mg/ dl, 9.45 ± 0.09 % gr, 456.7 ± 8.7 U/ L, 470 ± 3.7 U/ L, respectively.

In control group these levels two weeks after the beginning of the experiment were 1.52 ± 0.09 mg/ dl, 8.43 ± 0.46 mg/ dl, 9.03 ± 0.27 % gr, 37.29 ± 1.0 U/ L, 37.43 ± 0.95 U/ L; four weeks later these levels were 1.69 ± 0.05 mg/ dl, 6.98 ± 0.27 mg/ dl, 11.08 ± 0.13 %gr, 37.5 ± 1.2 U/ L, 38.17 ± 0.79 U/ L and six weeks later these levels were 1.65 ± 0.12

mg/ dl, 7.95 ± 0.27 mg/ dl, 12.21 ± 0.09 % gr, 43.67 ± 1.3 U/ L, 37.5 ± 2.7 U/ L, respectively.

Significant differences among the concentrations of these parameters were found in statistical analysis.

It is concluded that in addition to enzymes, biochemical analysis of the SA and LSA levels might be useful in the diagnosis, prognosis and post treatment pursuit of the cirrhosis.

10. KAYNAKLAR:

- 1- İmren, H.Y. (1987) Evcil Hayvanların İç Hastalıkları. I. Sindirim Ve Solunum Sistemi Hastalıkları, A. Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara.
- 2- Kaplan, A and Pesce, A. J.(1989) Clinical Chemistry, Theory, Analysis, and Correlation, Second ed., St. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto.
- 3- Turgut, K. (1993) Veteriner Gastroenteroloji, Selçuk Üniv. Veteriner Fak. Konya.
- 4- Carlson, P. (1992) Biyokimya (Çev. Prof. Dr. Azmi Telefoncu), Philipp Üniversitesi, Fizyolojik Kimya Dept. Direktörü, Marburg.
- 5- Alibaşoğlu, M ve Yeşildere, T. (1988) Patoloji, İ. Ü. Vet. Fak. Pethask Yayınları, İstanbul.
- 6- Kayaalp, S. O. (1991) Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt.1, 6. Baskı, Feryal Matbacılık, Ankara.
- 7- Murray, K. R., Mayes, P. A., Granner, D. K. and Rodwell, V. W. (1993) (Çev: Menteş, G ve Ersöz, B) Harperin Biyokimyası, Barış Kitapevi / Appleton & Lange, İstanbul.
- 8- Comporti, M. (1985) Biology of Diseases: Lipid Peroxidation and Celluler Damage Intoxic Liver Injurys, Laboratory Investigation, Vol.53, No:6, p. p. 599-622.
- 9- Doi, K., Kurabe, S., Shimazu, N. and Inagaki, M. (1991) Systemic Histopathology of Rats with CCL₄-induced Hepatic Cirrhosis, Laboratory Animals, 25:21-25.
- 10- Fischer-Nielsen, A., Poulsen, H. E., Hansen, B. A., Hage, E. and Keiding, S. (1991) CCL₄ Cirrhosis in Rats: Irreversible Histological Changes and Differantiated Functional Impairment, J. of Hepatology, 12:110-117.
- 11- Trivedi, P. and Mowat, A., P. (1983) Carbontetrachloride-induced Hepatic Fibrossis and Cirrhosis in the Rat: An Experimental Model of Cirrhosis in Childhood, Br. J. Exp. Path., 64:25-33.
- 12- Yamagishi, F., Komoda, T., Ohnishi, K. and Itoh, S. (1993) Protective Effect of Dantrolene Sodium on Carbontetrachloride-induced Liver Injury in the Rat, Res. Com. in Chem. Path. and Pharm., Vol:82, No:2, November, 237-240.

13- Harvey, M.J. and Klaassen, C.D. (1983) Interaction of Metals and Carbontetrachloride on Lipid Peroxidation and Hepatotoxicity, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 71, 316-322.

14- Hasumura, Y., Teschke, R. and Lieber, C.S. (1974) Increased Carbontetrachloride Hepatotoxicity, and It's Mechanism, after Chronic Ethanol Consumption, *Gastroenterology*, 66, 415-422.

15- Benjamin, M.M. (1978) *Outline of Veterinary Clinical Pathology*, Third Ed., Colorado State Universty., USA.

16- Bingöl, G. (1978) *Biyokimya*, A.Ü. Eczacılık Fak. Yay., Ankara.

17- Coles, E.H. (1986) *Veterinary Clinical Pathology*, Fourth Ed., W.B. Saunders Comp., London.

18- Orten, J.M. and Nevhaus, O.W. (1975) *Human Biochemistry*, Night Ed.

19- Töre, İ.R. (1978) Enzim Testleri ve Veteriner Kliniğinde Uygulanmaları, *İ.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 4, 2, 39-62.

20- Orten, J.M. and Nevhaus, O.W. (1970) *Biochemistry*, Eight Ed., The C.V. Mosby Company., Saint Luis.

21- Richterich, R. (1969) *Clinical Chemistry Theory and Practice*, Academic Press., Newyork., London.

22- Schimith, E. and Schmith, F.W. (1976) *Clinical Enzymology*, FEBS., Letters., 62, 62-69.

23- İmren, A.H. ve Turan, O. (1985) *Klinik Tanıda Metotlar*, Bulguların Değerlendirilmesi Fonksiyon Testleri, A.Ü. Tıp Fak. Yay., Ankara

24- Simesen, M.G. (1971) *In Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, (Edited by Koneko, J.J. and Cornelius, C.E.) Second Ed., Vol:1, Academic Press., New York., San Fransisko., London.

25- Aras, K. ve Ersen, G. (1974) *Klinik Biyokimya*, 5. Baskı., Taş Kitapçılık., Ankara.

26- Ewen, L.M. and Griffiths, J. (1971) Patterns of Enzyme Activity Following Myokardial Infarction and Ischemia, *Am. J. Clin. Path.*, 56, 614-622.

27- Salle, S., Rippel, R. and Hoffmann, E.W. (1990) Evaluation of an Automated Tabletop Blood Biochemical Analyzer for the Veterinary Clinical Pathology, J. A. V. M. A. 196, 2, January, 15, 307-312.

28- Bayşu, N. ve Çamaş, H. (1995) Biyokimya, Kafkas Üniversitesi. Fen-Edebiyat Fak. Yay., No:1.

29- Gözükara, E.M. (1989) Biyokimya, İnönü Üniv. Tıp Fak.

30- Ersoy, E., Bayşu, N., Ertürk, K. ve Üstdal, M. (1979) Biyokimya, A. Ü. Vet. Fak. Yay., Ankara.

31- Yenson, M. (1986) Klinik Biyokimya Laboratuvar Çalışmaları, 6.Baskı., Beta Basım Yayım Dağıtım., İstanbul.

32- Lehninger, A. L. (1972) Biochemistry, Third ed., Worth Pub. Co., New York.

33- Streyer, L. (1981) Biochemistry, Third ed., W.H Freeman and Co. New York.

34- Aydın, A. ve Özkan, S. (1991) Klinikte Biyokimyasal Değerler ve Formüller, Nobel Tıp Kitabevleri., İstanbul.

35- Rectör, W.Gand Reynolds, T.B. (1984) Superiority of the Serum-ascites Albumin Difference Over the Ascites Total Protein Concentration in Separation of Transudative and Exudative Ascites, The American J. of Medicine., Vol:77., July., 83-85.

36- Jungst, D., Gerbes, A.L., Martin, R. and Paumgartner, G. (1986) Value of Ascitic Lipids in Differentiation Between Cirrhotic and Malignant Ascites, Hepatology., Vol:6., No:2, 239-243.

37- Ariosta, F., Riggio, O., Cantafora, A., Calucci, S., Gaudio, E., Mechelli, C., Merli, M., Seri, S. and Capocaccio, L. (1989) Carbontetrachloride-induced Experimental Cirrhosis in the Rat A Reappraisal of the Model, Eur. Surg. Res., 21, 280-286.

38- Dashti, H., Jeppson, B., Hagerstrand, I., Hultberg, B., Srinivas, U. and Abdulla, M. (1989) Thioacetamide and Carbontetrachloride-induced Liver Cirrhosis, Eur. Surg. Res., 21, 833-91.

39- Krahenbühl, S., Reichen, J., Zimmerman, A., Gehr, P. and Stucki, J. (1990) Mitochondrial Structure and Function in CCL₄-induced Cirrhosis in the Rat, Hepatology., April., 526-532.

40- Masaki, N., Yamada, S., Ogata., Ohta., Y and Fujiwara, K (1988) Enhancement of Carbontetrachloride-induced Liver Injury by Glukagon and Insülin Treatment, *Res. Exp. Med.*, 188, 27-33.

41- Fujiwara, K., Oka, Y., Ogata, I., Ohta, Y., Sato, Y., Masaki, N., Tahatsuki, K. and Oka, H (1988)

Exchange Blood Transfusion for Acute Hepatic Failure. It' s Limited Availability Depending on the Type of Injury in Rats, *International Socirty for Artificial Organs.*, 12, 3, 227-223.

42- Jones, D. (1988) Diagnostik Enzymologie in Veterinary Medicine, *In Practice.*, November, 241-244.

43- Blix, G., Gottschalk, A. and Klenk, E. (1957) Proposed Nomenclature in the Field of Neuraminic Acid and Sialic Acids, *Nature.*, 175-340.

44- Üskent, N., Karaca, L. ve Karayılanoğlu, M. (1985) Malign Lenfoma ve Akut Lösemilerde Serum Lipide Bağlı Sialik Asitin Marker Olarak Kullanılması, *Türk Kıbrıs Hematoloji Sempozyumu.*, Tübitak Yayınları., No, 609, Shf, 91, Ankara.

45- Tuppy, H. and Gottschalk, A. (1972) The Structure of Sialic Acids and their Quantitation. *Glycoproteins, their Composition, Structure and Function, Revised and Expanded Second Ed.*, Elsevier., Amsterdam., London., New York.

46- Sherblom, A.P., Bharathan, S., Hall, P.J., Smagula, R.M., Moddy, C.E. and Anderson, G.W (1988) Bovine Serum Sialic Acid: Age-related Changes in Type and Content, *Int. J. Biochem.*, Vol, 20, No, 10, 1177-1183.

47- N.G., S., Dai., J.A. In: Rosenberg, A and Schengrund, C. Ed. (1976) *Biological Roles of Sialic Acid*, Plenum Press., New York.

48- Gottschalk, A. (1960) *The Chemistry and Biology of Sialic Acids and Related Substances*, Cambridge University Press., London.

49- Jourdian, G.W., Dean, L. and Roseman, S. (1971) The Sialic Acids: XI. Aperiodate-resorcinol Method for the Quantitative Estimation on Free Sialic Acids and their Glycosides, *The J. of Biol. Chemistry.*, Vol, 246, No, 2, Issue of January, 25, 430-435.

50- Liu, T.Y.(....) Determination of Sialic Acid Using an Amino Acid Analyzer, *Methods in Enzymology.*

51- Whitehouse, M.V and Zilliken, F. (1963) Isolation and Determination of Neuraminic (Sialic) Acids: In: Methods of Biochemical Analysis., Ed. Glick, D., Interscience Publishers., New York., London., Sydney., Vol, XIII, 199-220.

52- Warren, L. (1959) The Thiobarbitüric Acid Assay of Sialic Acids, The J. of Biological Chemistry., Vol, 234, No, 8, 1971-1975.

53- Schelenberg, F., Beange, F., Bourdin, J., Baurre, J.M. and Weill, J. (1991) Alcohol Intoxication and Sialic Acid in Erythrocyt Membrane and in Serum Transferrin, Pharmacology & Biochemistry & Behavior., Vol, 39, 443-447.

54- Şimşek, B ve Hacısalihoğlu, A. (1988) Sialik Asit ve Fizyolojik Fonksiyonları, Biyokimya Derg., Cilt, XI, Sayı, 3, 77-88.

55- Murray, K. R., Mayes, P. A., Granner, D. K. and Rodwell, V. W. (1988) Harper' s Biochemistry, Appleton & Lange Medical Book Publishers, USA.

56- Gerbaut, L., Rey, E. and Lombart, C. (1973) Improved Automated Determination of Bound N-Acetyl Neuraminic Acid in Serum, Clin. Chem., 19, 11, 1285-1287.

57- Huso, D.I., Narayan, O. and Hart, G.W (1988) Sialic Acid on the Surface of Caprine Arthritis Encephalitis Virus Define the Biologycal Properties of the Virus, J. of Virology., June, 1974-2980.

58- Gottschalk, A. and Drzenick, R. (1972) Neuraminidase as a in Structural Analysis, In: Glycoproteins: Their Composition Structure and Function. (Gottschalk, A.), 2 nd. Ed., 381-402, Elsevier Publishing Co., Amsterdam.

59- Warren, L. (1963) The Distribution of Sialic Acids in Nature., Comp. Biochem. Physiol. 10, 153-156.

60- Gotchilk, E.C., Dunne, F.T. and Jonssen, E.K. (1971) Studies on the Meningococcal Polysaccharide, J. Biol. Chem., 246, 4703-4705.

61- Barry, G.T. and Goebel, W.F. (1957) Colominic Acid A Substance of Bacterial Origin Related to Sialic Acid, Nature., January, Vol, 179, 206.

62- Ersoy, E. ve Bayşu, N. (1986) Biyokimya, XXV-989, A. Ü. Basımevi., Ankara.

63- Altıntaş, A., Kurtdede, A., Fidancı, U. R. ve Börkü, M.K (1989) Köpek Gençlik Hastalığında (Distemper) Serum Sialik Asit ve Protein Düzeylerinin Klinik Önemi, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 36, 1, 154-164.

- 64- Atroshi, F., Parantainen, J., Sankari, S., Kangasniemi, R. and Saloniemi, H. (1986) Possible Role of Sialic Acid in Bovine Mastitis with Particular Reference to Milk Electrical Conductivity, *J. Vet. Med. B.*, 33, 620-627.
- 65- Comb, D.G. and Roseman, S. (1960) The Sialic Acids: I. The Structure and Enzymatic Synthesis of N-Acetylneuraminic Acid, *The J. of Biological Chemistry.*, 235, 9, 2529-2537.
- 66- Haksar, A., Maudsley, D.V., Kimmel, G.L. and Peron, F.G (1974) Adrenocorticotropin Stimulation of Cyclic Adenosine 3'-5'-Monophosphate Formation in Isolated Rat Adrenal Cells. The Role of Sialic Acid, *Biochemica et Biophysica Acta.*, 362, 356-365.
- 67- Sherblom, A.P. and Dahlin, E.C. (1985) N-Acetylneuraminic Acid and N-Glycolylneuraminic Acid in the O-Linked Oligosaccharides of a Tumor Cell Glycoprotein, *The J. of Biological Chemistry.*, Vol, 260, No, 3, 1484-1492.
- 68- Stefenelli, N., Klotz, H., Engel, A. and Bauer, P. (1985) Serum Sialic Acid in Malignant Tumors, Bacterial Infections and Cirrhotic Liver Disease, *J. Cancer. Res. Clin. Oncol.*, 109, 55-59.
- 69- Brocher, J.R., Payne, R.C. and Conrad, M.E. (1975) Role of Sialic acid in Erythrocyte Survival, *Lancet.*, 45, 11-19.
- 70- Eylar, E.H., Madoff, A.M., Brody, O.V. and Oncley, J.L. (1962) The Contribution of Sialic Acid to the Surface Change of the Erythrocyt, *J. Biol. Chem.*, 237, 16, 1992-2000.
- 71- Esiova, K. A. N., Saror, D.I., Kolo, M.N. and Eduvie, L.O (1986) Erythrocyt Surface Sialic Acid in NDAMA and Zebu Cattle, *J. Comp. Path.*, 96, 95-99.
- 72- Bretscher, M.S. (1973) Membrane Structure: Some General Principles, *Science.*, 181, 622-629.
- 73- Silver, H. K. B., Rangel, D. M. and Morton, D. L. (1978) Serum Sialic Acid Elevations in Malignant Melanoma Patients, *Cancer.*, 41, 1490-1497.
- 74- Riley, M., Tautu, C., Yerazin, G., at all. (1990) Evaluation of Sialic Acid Concentration in Serum for Diagnosis and Staging of Breast Cancer, *Clin. Chem.*, 36, 161-161.

75- Sydow, G. (1980) A Simplified Quick Method for Determination of Sialic Acid in Serum, *Biomed. Biochim. Acta.*, 44, 11/12, 1721-1723.

76- Silver, H. K. B., Murray, R. N., Worth, A. J., Salinas, F. A. and Spinelli, J. J. (1983) Prediction of Malignant Melanoma Recurrence by serum N-Acetylneuraminic Acid, *Int. J. Cancer.*, 31, 39-43.

77- Simmons, R. L. and Rios, A. (1974) Cell Surface Modification in the Treatment of Experimental Cancer. Neuraminidase or Concanavalin A, *Cancer.*, 34, 1541-1547.

78- Sydow, G., Wittmann, W., Bender, E. and Starick, E. (1988) Der Sialinsäuregehalt im Serum von mit Bovinem Leukosevirus Infizierten Rindern, *Arch. Exper. Vet. Med. Leipzig.*, 42, März, 2, 194-197.

79- Weiss, L., Glaves, D. and Waite, D. A. (1974) The Influence of Host Immunity on the Arrest of Circulating Cancer Cells, and It's Modification by Neuraminidase, *Int. J. Cancer.*, 13, 850-862.

80- Plucinsky, M. C., Riley, W. M., Prorok, J. J. et al. (1986) Total and Lipid Associated Serum Sialic Acid Levels in Cancer Patients with Different Primary Sites and Degree of Metastatic Involvement, *Cancer.*, 58, 2680-2685.

81- Patel, P. S., Baxi, B. R., Adhvary, S. G. and Bolar, D. B. (1990) Individual and Combined Usefulness of LSA. Mucoic Proteins and Hexoses as Tumor in Breast Cancer, *Cancer. Lett.*, 51, 203-208.

82- Mannello, F., Baccihotti, G. D., Proccoli, R. and Gazzanelli, G. (1992) Lipid-Associated Sialic Acid Levels in Human Breast Cyts Fluids, *Breast Cancer Research and Treatment.*, 24, 167-170.

83- Shamberger, R. J. (1984) Serum Sialic Acid in Normals and in Cancer Patients, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 22, 647-651.

84- Kökoğlu, E., Uslu, E. and Uslu, İ. (1987) Levels of Serum Lipid-bound Sialic Acid in Thyroid Cancer, *J. Biochem. XII*, 2, 28, Published by the Turkish Biochemical Society.

85- Tezcan, M. E., Özinel, S., Egeli, D. and Karaslan, F. (1987) Use of SSA Concentrations as Tumor Marker, *J. Biochem. XII*, 2, 163, Published by the Turkish Biochemical Society.

86- Erbil, M. K., Jones, J. D. and Klee, G. G. (1985) Use of Serum and Total Sialic Acid as Markers for Colorectal Cancer, *Cancer.*, 55, 2, 404-409.

87- Carter, A. and Martin, N. H. (1962) Serum Sialic Levels in Healty and Disease, *J. Clin. Path.*, 15, 69-72.

88- Vanlenten, L. and Ashvell, G. (1971) Studies on the Chemical and Enzymatic Modification of Glycoproteins. A General Method for the Triation of Sialic Acid Containing Glycoproteins, *J. Biol. Chem.*, 246, 1246-1249.

89- Morrel, A. G., Gregoriadis, G., Scheinberg, J. H., Hickman, J. and Ashvell, G. (1971) The Role of Sialic Acid in Determining the Survival of Glycoprotein in Circulation, *J. Biol. Chem.*, 246, 1461-1467.

90- Çağlayan, O., Ersöz, B., Menteş, G. and Osmanoğlu, N. (1993) Malign Asitlerin Ayırıcı Tanısında Fibronektin ve Sialik Asitin Değeri, *Ege Tıp Derg.*, 321, 3-4, 401-404.

91- Colli, A., Buccino, G., Cociola, M., Parravicini, R., Mariani, F. and Scaltrini, G. (1989) Diagnostic Accuracy of Sialic Acid in the Diagnosis of Malignant Ascites, *Cancer.*, 63, 912-916.

92- Erbil, M. K., Sen, E. S., Zincke, E. and Jones, J. D. (1986) Significance of Serum Protein and Lipid-bound Sialic Acid as a Marker for Genitourinary Malignancies, *Cancer*, 57, 1389-1394.

93- Manohar, B. M., Sundararaj, A., Nagarajan, B. and Shanmugan, M. (1993) Biochemical Markers in the Diagnosis of Ethmoid Carcinoma in Cattle, *Indian Vet. J.*, 70, January, 14-16.

94- Durand, G., Dumont, J. P., Appel, M., Durand, D., Davy, J., Feber, J. and Agneray, J. (1980) Effect of Streptozotocin Diabetes on Sialic Acid Content and Glycoprotein Binding of Isolated Hepatocytes, *Horm. Metab. Res.*, 12, 247-251.

95- Dnistrian, A. M., Schewartz, M. K., Katapodis, N., Fracchia, A. A. and Stock, C. (1982) Serum Lipid-bound Sialic Acid as a Marker in Breast Cancer, *Cancer.*, 50, 1815-1819.

96- Şanlı, Y ve Kaya, S.(1991) Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım Teknikleri, Medisan Yayınları., No:412, Ankara.

97- Bancroft, J.D and Cook, H.C.(1984) Manuel of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York.

- 98- Katapodis, N., Hirshaut, Y., Geller, N. L and Stock, J. J. (1982) Lipid Associated Sialic Acid Test for the Dedection of Human Cancer, *Cancer Res.*, 42: 5270-5275.
- 99- Tiftik, A.M. (1996) *Klinik Biyokimya*, Mimoza Yayınları., Konya.
- 100- Merck Biotrol GPT Test Combination, 1996.
- 101- Merck Biotrol GOT Test Combination, 1996.
- 102- Braun, J. P., Siest, G. and Rico, A. G. (1987) Uses of Gama-Glutamyltransferase in Experimental Toxicology, *Advances in Veterinary Science and Comporative Medicine.*, 31, 151-173.
- 103- Üskent, N.(1986) *Kanserin Erken Tanısında Tümör Tanımlayıcıları*, Türkiye Klinikleri., Cilt:6, Sayı:2, 149-154.
- 104- Altıntaş, A ve Fidancı, U.R.(1993) *Evcil Hayvanlarda ve İnsanda Kanın Biyokimyasal Normal Değerleri*, A.Ü. Vet. Fak. Derg. 40 (2), 173-186.
- 105- Zilva, J.F and Pannoll, P.R (Çev. Tuncay Özgünen) *Tanı ve Tedavide Klinik Biyokimya*.
- 106- Turgut, K.(1996) *Veteriner Klinik Labarotuvuar Teşhis*, Selçuk Üniv. Veteriner Fak. Konya.
- 107- Philipson, A.T., Hall, L.V and Pritchard, W.R.(1980) *Scientific Foundations Veterinary Medicine*, First Publishers London William Book Limited., London.

11. ÖZGEÇMİŞ

1966 yılında Denizli’ de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi aynı ilde tamamladım. 1985-1986 eğitim-öğretim döneminde İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ ni kazandım. Mezuniyetimin ardından 1991 senesinde askerlik görevimi yaptıktan sonra 1993 senesinde Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı’ na Araştırma Görevlisi olarak girdim. Aynı yıl Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından açılan Biyokimya Anabilim Dalı Doktora programına girdim ve doktora çalışmalarına başladım. Halen aynı Anabilim Dalı’ nda Araştırma Görevlisi olarak görevime devam etmekteyim.

