

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN

**İSOPROTERENOL İLE MİYOKARD İNFARKTÜSÜ
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA L-ARGİNİNİN
TOTAL SİYALİK ASİD DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Nuray SEZER

EDİRNE-2006

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN

**İSOPROTERENOL İLE MİYOKARD İNFARKTÜSÜ
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA L-ARGİNİNİN
TOTAL SİALİK ASİD DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Nuray SEZER

Tez No:

EDİRNE-2006

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Nuray SEZER tarafından tez başlığı “İsoproterenol İle Miyokard İnfarktüsü Oluşturulmuş Ratlarda L-argininin Total Sialik Asid Düzeylerine Etkisinin İncelenmesi” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 04/10/2006 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

İmza
Prof. Dr. Erol ÇAKIR
JÜRİ BAŞKANI

İmza
Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN
ÜYE

İmza
Prof. Dr. Turhan KÜRÜM
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren danışmanım Biyokimya AD öğretim üyesi Prof. Dr. Selma SÜER GÖKMEN'e, Biyokimya AD Başkanı Prof. Dr. Erol ÇAKIR'a, Biyokimya AD öğretim üyeleri Yrd. Doç. Dr. Sevgi ESKİOCAK'a ve Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ'a, Deney Hayvanları Birimi'ndeki çalışmalarım da yardımcı olan Kardiyoloji AD AraŐ. Gör. Dr. Feyza ULUSOY AKSU ve Vet. Hek. Ziya ÇUKUR'a, dokuları histopatolojik olarak inceleyen Patoloji AD öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA'ya, Biyokimya AD'da görevli Uzm. Dr. Cemal KAZEZOĞLU'na, Yüksek Lisans Öğr. Selda ŐENTÜRK'e ve diğer asistan arkadaşlarıma, Merkez Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
SİYALİKASİT.....	3
L-ARGİNİN.....	11
ISOPROTERENOL.....	14
AKUT MİYOKARD İNFARKTÜSÜ.....	15
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	21
BULGULAR.....	27
TARTIŞMA.....	37
SONUÇLAR.....	43
ÖZET.....	45
İNGİLİZCE ÖZET.....	47
KAYNAKLAR.....	49
RESİMLEMELER LİSTESİ.....	58
ÖZGEÇMİŞ.....	60
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
ATP'az	: Adenozin trifosfataz
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CK	: Kreatin kinaz
CK-MB	: Kreatin kinaz -MB
CMP	: Sitidin monofosfat
CTP	: Sitidin trifosfat
EKG	: Elektrokardiyografi
ISO	: İsoproterenol
LDH	: Laktat dehidrojenaz
LSA	: Lipide bağlı sialik asid
NAD⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NANA	: N-Asetil nöraminik asid
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
Pi	: İnorganik fosfat
PPi	: Pirofosfat
TSA	: Total sialik asid
TnC	: Troponin C
TnI	: Troponin I
TnT	: Troponin T
UDP	: Uridin difosfat

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut miyokard infarktüsü (AMI), gelişen teknolojinin beraberinde getirdiği birtakım olumsuz yaşam şartları nedeniyle son yıllarda en sık rastlanan hastalıklardan biri haline gelmiştir. Miyokard infarktüsü ateroskleroz nedeniyle daha önce daralmış koroner arterin trombotik tıkanması ile kan akımının ani kesilmesi sonucunda ortaya çıkar. Bu tıkanma ile oluşan miyokardial hasar; damarın ne oranda tıkalı olduğuna, koroner tıkanmanın süresine, hasarlı damarın beslediği alana, kolleterallerle hasarlı bölgeye sağlanan kanın miktarına, tıkaçıcı trombüsün kendiliğinden lizisini sağlayan etkenlere, miyokardın oksijen gereksinimine ve tıkanmış koroner arterde akım yeniden sağlandığında infarktlı alanda miyokardial perfüzyonun yeterliliğine bağlıdır (1).

Doku ve hücrelerin çözünebilir ve çözünemez komponentlerinin yapısal bileşenleri olan sialik asidler, protein ve lipide bağlı oligosakkaridlerde terminal olarak bulunan dokuz karbonlu şeker neuraminik asidin asetillenmiş türevleridirler (2).

Sialik asidlerin başlıca fonksiyonları arasında konformasyonel stabilizasyon, proteazlara karşı koruma, negatif elektrik yükü sağlama, su bağlama kapasitesinin artırılması, hücresel tanıma ve gelişimin regülasyonu sayılabilir (3).

Sialik asidler, asidik yapılarından dolayı hücre yüzeyine negatif yük kazandırır ve hücre-hücre ya da hücre-matriks etkileşimlerinde önemli rol oynarlar. Spesifik hücresel tanıma bölgelerini maskeleyen yeteneğine sahiptirler ve biyolojik bilginin transferinde rolleri vardır. Ayrıca glikolipidlere ve glikoproteinlere antijenik özellik kazandırır ve glukokonjugatların makromoleküler yapısını etkileyebilirler (4).

Sialik asidin ateroskleroz patogenezindeki ve kardiovasküler olayların habercisi olarak rolü son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Plazma sialik asid derişimlerinin koroner kalp

hastalıklarında ve miyokard infarktüsünde arttığı ileri sürülmüştür. (5-9). Ayrıca serum total sialik asidin (TSA) yükselmiş düzeylerinin, artmış kardiyovasküler mortalite (6,10) ve serebrovasküler hastalıklarla (11) ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Akut miyokard infarktüsülü hastalarda infarktüsten sonraki ilk 3 günde total sialik asid ve lipide bağlı sialik asid (LSA) düzeylerinin orantılı olarak arttığı saptanmış ve bu artış ile miyokardial hasarın belirleyicisi olan laktat dehidrojenaz (LDH)'daki artış arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (12).

Miyokard infarktüsünde serum sialik asid derişimlerdeki artış; sialik asid kalıntılarını uzaklaştırarak sialoglukokonjugatların ve sialooligosakkaridlerin katabolik metabolizmasını başlatmaktan sorumlu enzim olan sialidazın (13) aktivitesindeki artıştan kaynaklanabilir. Sialidaz aktivitesinin miyokard infarktüsülü hastalarda arttığı gösterilmiştir (14).

Miyokard infarktüsünde gözlenen serum sialik asid düzeylerindeki artış normalde serumda bulunan glikoproteinlerin sialilasyonundaki artış ile de ilişkili olabilir. Sialik asid kalıntılarının asialoglikoproteinlere transferinden sorumlu olan sialiltransferaz'ın (15) atherosklerozda arttığı gösterilmiştir (16). Serum sialik asid konsantrasyonundaki artış hücre membran yüzeyinden sialik asidin sekresyonunun bir sonucu da olabilir. Tümör hücresinden veya infarktüs sonrası miyokardial hücreden dolaşıma sialik asidin salıverilebileceği bildirilmiştir (12,17). Akut faz proteinlerinin karaciğerden dolaşıma artmış atılımları da serum sialik asid düzeylerinde bir artışa yol açabilir çünkü birçok akut faz proteininin oligosakkarid yan zincirlerinin terminal pozisyonunda sialik asid kalıntısı mevcuttur (18).

Yarı esansiyel ve aynı zamanda bazik bir amino asid olan L-arginin'den hücrede nitrik oksid sentaz aracılığı ile oluşan nitrik oksit (NO)'in miyokardial iskemiye karşı önemli bir koruma sağladığı ve L-arginin verilisinin, NO üretimini uyararak kalbi hasara karşı koruduğu gösterilmiştir (19). Akut miyokard infarktüsü sonrasında serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan oksidatif hücre hasarı sorumlu olabilir ve oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip NO'in sentezinde öncül madde olan L-arginin verilışı miyokard infarktüsü sonrası gözlenen total sialik asid düzeylerindeki artışı azaltabilir.

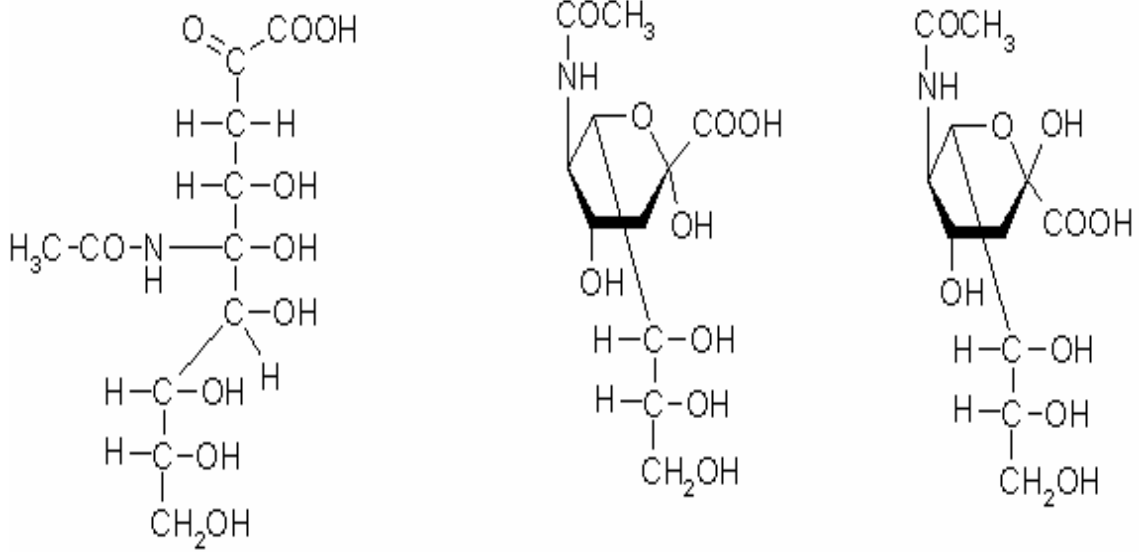
Bu çalışmanın amacı, isoproterenol ile deneysel olarak miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratlarda L-arginin'in serum ve doku total sialik asid düzeylerine etkisini incelemek ve miyokard infarktüsünde gözlenen sialik asid artışında oksidatif hücre hasarının rolünü irdelemektir.

GENEL BİLGİLER

SİALİK ASİD

Sialik Asidin Yapısı

Bir monosakkarit türevi olan N-asetilneuraminik asid (NANA) molekülü sialik asid adıyla da bilinmektedir. Sialik asid, dokuz karbon atomuna sahip, 309 dalton ağırlığında bir aminoşekerdir (Şekil 1)(20).



Fisher düz zincir şekli

α-piranoz

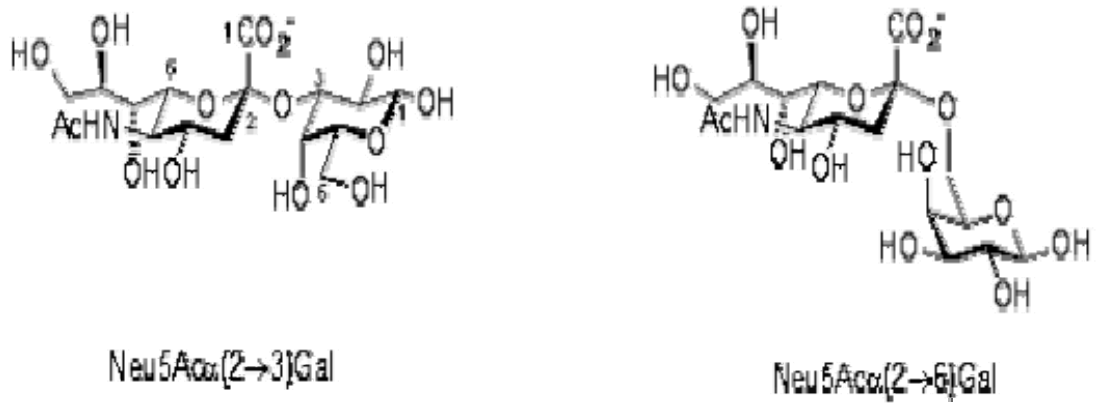
β-piranoz

Şekil 1. Sialik asidin lineer ve piranoz formu (20).

Sialik asitler, glikoproteinlerin ve glikolipidlerin N-terminal ucunda bulunurlar (21,22).

Sialik asid, fizyolojik pH'da tamamen iyonlaşabilen ve pKa değeri 2,6 olan, nispeten kuvvetli bir asid olup, bu özellik moleküle negatif bir yük kazandırır (23, 24). Doğada çeşitli hayvan türlerinde 20'den fazla farklı sialik aside rastlanmıştır (25).

NANA, glikoproteinlerin oligosakkarit zincirinde terminal durumundaki $\alpha(2\rightarrow6)$ bağında, gangliozidlerde ise oligosakkarit zincirinin ortasındaki $\alpha(2\rightarrow3)$ bağında yer alır (Şekil 2) (25, 26). Galaktoz genellikle N-asetilgalaktozamin veya N-asetilglukozamin'e α -glikozidik bağ ile bağlıdır (22).



Şekil 2. NANA'in oligosakkarid zincirinde $\alpha(2\rightarrow3)$ ve $\alpha(2\rightarrow6)$ bağ durumu (26).

Sialik Asid Metabolizması

Sitozolde NANA sentezi aminoşekerlerin öncüsü olan fruktoz-6-fosfat ile başlar. Fruktoz-6-fosfat aminotransferaz enzimi etkisiyle, fruktoz-6-fosfat'a glutamin nitrojeni transfer edilir (E.C.5.3.1.19) ve glukozamin-6-fosfat oluşur. Glukozamin-6-fosfat asetil-CoA ile asetillenerek N-asetilglukozamin-6-fosfat'a dönüşür. Oluşan N-asetilglukozamin-6-fosfat mutaz enzimi etkisiyle, N-asetilglukozamin-1-fosfat'a ya da epimeraz enzimi etkisiyle N-asetilmannozamin-6-fosfat'a dönüşür. N-asetilglukozamin-1-fosfat, üridin trifosfat (UTP) varlığında, üridin difosfat (UDP) N-asetilglukozamin fosforilaz tarafından UDP-N-asetilglukozamine çevrilir. UDP-N-asetilglukozamin de epimeraz etkisiyle, okside nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) varlığında UDP-N-asetilgalaktozamini oluşturur. Bu yol daha sonra glikozaminoglikan ve glikoprotein sentezine doğru gider. N-asetilglukozamin-6-fosfattan oluşan N-asetilmannozamin-6-fosfat, fosfoenol pruvat ile aldol kondensasyonuna

katılır. NANA aldolaz ile katalizlenen bu reaksiyon sonucu N-asetilneuraminik asit-9-fosfat oluşur ve onun da hidrolizi ile NANA ve inorganik fosfat (Pi) meydana gelir. NANA oligosakkaritlere bağlanmadan önce sitidin trifosfat (CTP) ile aktifleşir ve sitidin monofosfat-NANA (CMP-NANA) meydana gelir. Bu reaksiyon pirofosforilaz tarafından katalizlenir. Bu sırada 1 mol pirofosfat (PPi) ayrılır (Şekil 3) (22, 27).

Sialik asidlerin glikozidik hidroksil grupları, glikokonjugatların oligosakkaridlerine transferinden önce CTP tarafından aktive edilir:

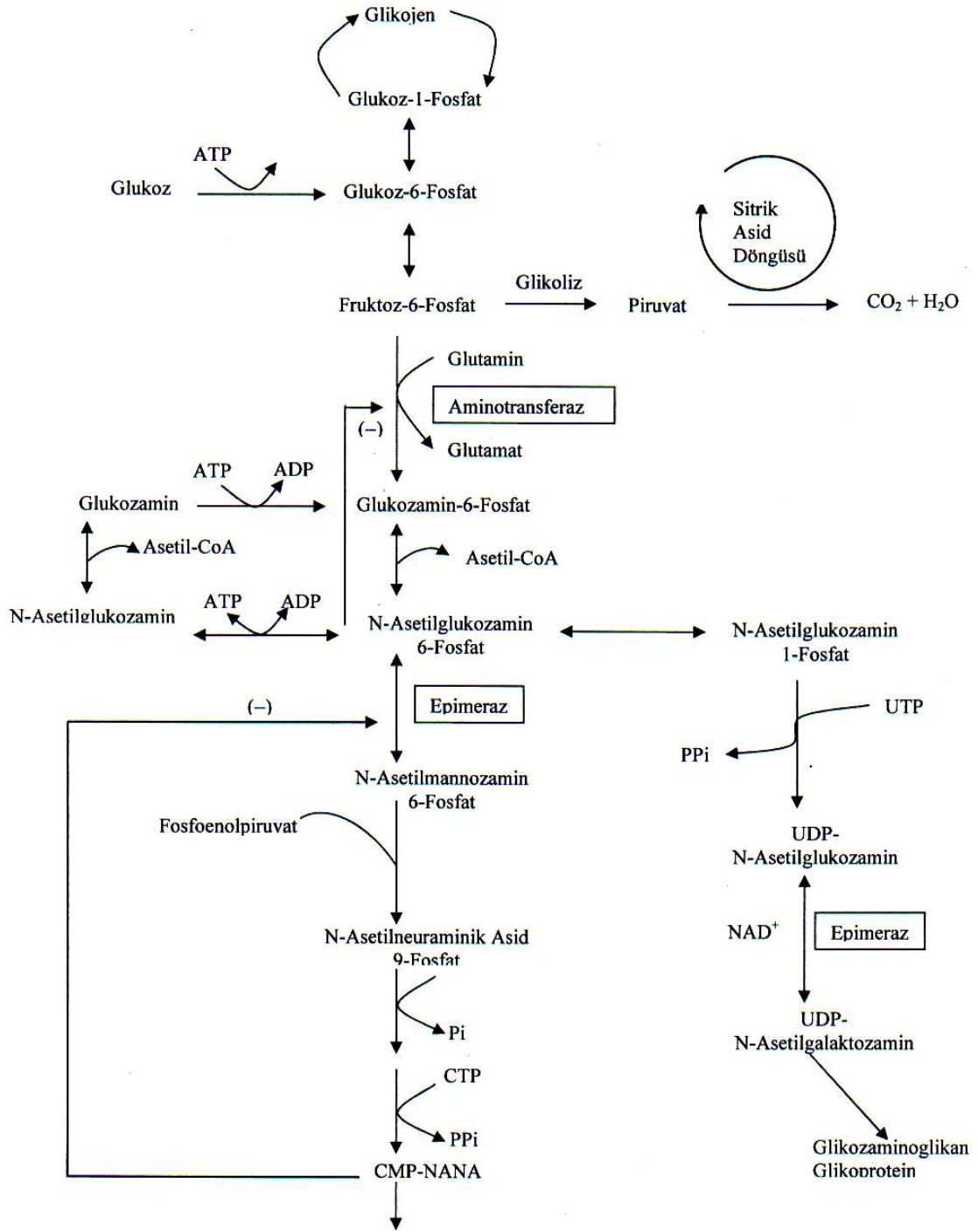


CMP-sialik asidler nükleusta sentezlenir. Sialo-glikokonjugatların sentezlendiği özellikle karaciğer, beyin, submandibular glandlar gibi dokularda bu nükleotid esterlerin meydana gelmesi beklenir. Fakat düşük miktarda bulunması ve dayanıksız olmasından dolayı izolasyonu zordur (27).

Sialik asid sentezinde anahtar enzimler; fruktoz-6-fosfat aminotransferaz ve UDP-N-asetilglikozamin epimerazdır. Her iki enzimin aktivitesi de feedback kontrol mekanizması altındadır. CMP-NANA seviyesinin artması UDP-N-asetilglukozamin epimeraz enzimini inhibe eder. Aynı şekilde UDP-N-asetilglukozamin'in artması da fruktoz-6-fosfat aminotransferaz aktivitesini azaltır (27, 28).

Glikoprotein sentezinde sialik asid kalıntılarının ilavesi trans golgide olur. Sialiltransferazlar, CMP-sialik asid kompleksindeki sialik asid kalıntılarının asialoglikoproteine transferinden sorumlu enzimlerdir (E.C.2.4.99.1). Sialiltransferaz enzimi glikoziltransferazlar grubuna girer ve monosakkaritleri glikoprotein ve glikolipid kalıntlarına eklerler. Sialiltransferaz enzimi, sialik asidin bağlandığı molekülün cinsine, yapısına, pozisyonuna ve şeker kalıntısına spesifiktir. Alıcı glikokonjugat spesifikliğine göre enzimin farklı türleri vardır. Bu yüzden transfer reaksiyonlarında α -glikozidik bağın (2→3), (2→4), (2→8) gibi farklı türleri oluşmaktadır (28).

Lizozomal sialidaz enzimi (Neuraminidaz E.C.3.2.1.18), memeli hücrelerinde oligosakkarit, glikoprotein, ve gangliozidlerden terminal sialik asid kalıntılarının ayrılmasını sağlar. Sialillenmiş glikokonjugatlardaki bağ tipleri ile ilgili olarak sialidaz; (2→3) bağlarını hızlı, (2→6) bağlarını daha yavaş hidroliz eder (29). Enzim, virüsler ve bakteriler gibi mikrobiyal sistemler ile memeli gibi yüksek organizmalarda bulunur (25).



Şekil 3. Sialik asid ve glikoprotein sentezi (27). UTP: Uridin trifosfat, PPi: Pirofosfat UDP: Uridin difosfat, CTP: Stidin trifosfat, CMP: Sitidin monofosfat, NANA: N-asetil neuraminik asit, ADP: Adenozin difosfat, ATP: Adenozin trifosfat, NAD: Nikotinamid adenin dinükleotid.

Sialidaz enzimi, bir glikoprotein molekülündeki sialik asid kalıntılarının uzaklaştırılmasından sorumlu olduğu için biyolojik süreçlerde önemli rol oynar. Çünkü sialidaz ile sialik asid kalıntılarının koparılması sialoglikokonjugatın dolaşımdaki ömrünü, antijenik ekspresyon ve reseptör tarafından tanınma gibi önemli biyolojik süreçlerini etkileyebilir. Subsellüler lokalizasyon gösteren sialidazın, farklı tiplerinin bulunduğu ve insan dokusunda da farklı iki tipinin varlığı gösterilmiştir. Bunlar substrat spesifikliğı, ısıya dayanıklılık, kasyonlar tarafından inhibisyona duyarlılık ve kinetik özellikleri temel alınarak saptanmıştır (22).

Memelilerin dokularındaki pek çok sialidazın moleküler parametre bilgileri izolasyondaki güçlüklerden dolayı henüz tam değildir. İnsan karaciğerindeki lizozomal sialidazın molekül ağırlığı 70,000 olarak tahmin edilmektedir ve bu, memelilerde molekül ağırlığı bilinen tek sialidazdır (30).

Sialik Asidin Fonksiyonları

Sialik asidler canlı hücre ve organizmalarda moleküler ve hücresele etkileşimlerin regülasyonunda önemli rol oynarlar. Serum sialik asidlerin %98-99 gibi büyük bir kısmı glikoproteinlere, küçük bir kısmı ise lipidlere bağlıdır. Biyolojik fonksiyonları, onların hücre membranlarındaki eksternal lokalizasyonundan ve glukokonjugatlardaki periferale durumlarından kaynaklanır (22).

Sialik asid, hücreye negatif yük kazandırır, makromoleküllerin yapısına katılır. Hücre yüzeyinde yer alan sialik asid, hücrelerin tanınmasında ve reseptörlerin bir komponenti olarak maddelerin hücre içine alınmasında rol oynar. Bu yüzden sialik asidin biyolojik önemini başlıca 4 başlık altında toplayabiliriz (25, 31):

1) Sialik asidlerin negatif yüklerinden dolayı fonksiyonları: Sialik asidlerin hücre yüzeyinde ve glikoproteinlerde bulunmaları, güçlü karboksil gruplarından dolayı (NANA için $pK=2.6$), negatif yüzey yüküne anlamlı katkı sağlar (25, 32). Sialik asidin itici elektrostatik gücü, hücre membranının yapısal bütünlüğünün korunmasında da etkilidir. Sialik asidin enzimatik olarak sarkoma hücrelerinden uzaklaştırılması ile membran deformasyonunun arttığı gösterilmiştir (33). Membran sialik asidlerinin kültür ortamında, trombositler, eritrositler ve kanser hücrelerinde elektrostatik itmeden dolayı hücre agregasyonunu önlediğı gözlenmiştir (3). Özellikle eritrosit membranının sialik asid içeriğı, bu hücrenin yaşam süresiyle yakından ilişkilidir (34). Yeni doğanlarda eritrosit membran sialik asidinin, eritrositlerin yaşam süresinde önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (35).

Sialik asidler, makromoleküllere ve hücelere katyonik bileşiklerin bağlanmasını da kolaylaştırmaktadır. Sialik asid kalıntıları kas hücelerinde önemli Ca^{+2} bağlayıcı moleküllerdir (36).

2) Makromoleküler yapılar da ve reseptör bileşeni olarak sialik asidler: Sialik asidler pek çok hücre yüzey reseptörlerinin esansiyel bileşeni olarak bulunmuştur. Sialik asidin varlığı insülin, serotonin, opioid, östrojen, interferon, LDL reseptörlerinde saptanmıştır (32). Sialik asid içeren reseptörler aracılığı ile hücreye tetanoz, difteri, botulismus, kolera, tubokülar gibi çeşitli toksinler bağlanabilir. (22). Sialik asidlerin makromoleküler yapılar da bazı etkileri vardır. Sialik asidlerin submandibular bez glikoproteinlerinden kısmen uzaklaştırılması ile akışkanlıklarının çok azaldığı gözlenmiştir. Sialik asid bölgeleri tüm glikoproteinlerin intrinsik akışkanlığını arttırdığından; solunum, sindirim, ürogenital sistem, göz içi sıvısı ve eklem sıvısı gibi müssin yapıdaki sekresyonların akışkanlığı üzerine anlamlı bir etkisi vardır (22).

3) Sialik asidlerin maskeleye etkisi: Hücre yüzeyindeki spesifik tanıma bölgelerinin maskelenmesi sialik asidlerin önemli fonksiyonlarından biridir. Böylece oligosakkarit zincirlerinin ve glukokonjugat moleküllerinin protein ve lipid kısımlarının antijenliğini azaltır veya önlerler. Antijeniklik, sialik asidlerin enzimatik olarak uzaklaştırılmasıyla veya karboksil grubunun bir alkole indirgenmesiyle değişir ya da anlamlı derecede artar (37).

Üreme sisteminde de sialil kalıntılarının, hücre membranındaki antijenikliği maskeleye görülmektedir. Plasentanın trofoblast hücelerinin yüzeyinde bulunan ve sialik asid bakımından zengin glikoprotein tabakasının, fetüsle anne arasında bir immün bariyer oluşturup, annenin fetüse karşı antikor oluşturmasını önlediği gösterilmiştir (38).

Sialik asidler genellikle glikoproteinlerin galaktoz ve N-asetilglukozamin kalıntılarına bağlanarak onları hepatosit yüzeyindeki reseptörlere karşı maskeleye olur. Serum glikoproteinlerinin dolaşımda kalma sürelerini bu özellik belirler. Aksi takdirde desiale glikoproteinler, hepatositlerde bulunan D-galaktoz, spesifik reseptörlerce yani lektinler tarafından tanınarak endositoz ile dolaşımdan uzaklaştırılır ve parankimal hücelerde parçalanırlar (22, 28).

4) Sialik asidlerin belirteç olarak önemi: Sialik asidler, hücelerin membran glikoproteinlerinde bulunan bir karbonhidrattır. Hücelerin biyolojik bütünlüklerini sürdürmede hücre membranı için önemlidirler. Hücre membranları, hücrenin büyümesi ve neoplastik hareketleri için sialik aside ihtiyaç duyarlar (22). Sialik asidin, normal gebelik süresince doğrusal bir artış gösterdiği ve bu artışın fetüsün anne tarafından reddedilmesini önleyici bir faktör olduğunu savunan çalışmalar vardır (38). Sialik asid, negatif yükü

nedeniyle hücre biyolojisinde glikoproteinlerin konformasyonlarını etkiler. Böylece mikroorganizmalar, toksinler ve hormonlar için reseptör görevi yaparak diğer hücrelerle moleküllerin immunolojik tanıma bölgelerini ve reseptörlerini maskeleyerek önemli bir rol oynar (28, 39). Ayrıca inflamatuvar hastalıklar ve kanserin çeşitli semptomları ile ilgili hücresel tanıma ve immunolojik reaksiyonlar gibi çeşitli biyolojik yanıtlarda, glikoprotein ve gangliozidlerde yer alan sialik asid kalıntılarının önemli rol oynadığı bildirilmiştir (22). Beyin tümörü ve prostat kanseri gibi çeşitli malign hastalıklarının teşhisinde sialik asidin belirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (40,41). Serum sialik asid seviyesinin, bakteriyel enfeksiyonlarda ve kronik karaciğer hastalıklarında da önemli miktarda arttığı gösterilmiştir (42). Serum sialik asid non-spesifik bir tümör belirteci olmasına rağmen, çeşitli malignitelerde tümörün varlığı ile ilgili olduğu saptanmış ve onun bir tümör belirteci gibi değerlendirilmesini sağlamıştır (43). Total sialik asidin bir bölümünü oluşturan LSA'in tümör orijinli olabileceği görüşü kuvvetlenmiştir. Lipide bağlı sialik asid düzeylerinin de meme ve akciğer kanserinde arttığı bildirilmiştir (44). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda diyabette, retinopati, nefropati gibi bazı diyabetik komplikasyonlarda, böbrek yetmezliğinde ve miyokard infarktüsü geçiren hastalarda serum sialik asid düzeyinin arttığı görülmüştür. Zamana bağlı olarak da kademeli bir artış olduğu ifade edilmiştir (8, 45, 46).

Desialilasyon

Biyolojik sistemlerde sialik asid kalıntılarının bir glikoproteinden uzaklaştırılması olayına desialilasyon denir. Desialilasyon, o glikoproteinin antijenik ekspresyonunu, reseptör tarafından tanınmasını ve dolaşımda kalma süresini etkileyebilir (13). Total hücre sialik asidinin %70'ini membranın dış yüzeyindeki glikoproteinler ile gangliozidlerin yapısında bulunan sialik asid oluşturur ve membranın negatif yükünün %50'sinden sorumludur. Sialik asidler ayrıca permeabilite ve transport olayları gibi membranla ilgili birçok temel işlevde oldukça önemlidirler (47).

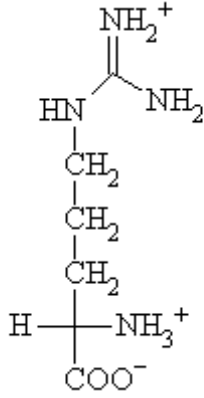
Sialik asidlerin negatif yüklü karboksil gruplarının da hücre membranındaki Ca^{+2} bağlanma yerlerinden biri olduğu bilinmektedir. Kas hücresinin desialilasyonu sonucu bağlanma azalır. Bununla birlikte Ca^{+2} 'un hücreye girişi artar ve membran polaritesi azalır. Sialik asid, miyokard hücre yüzeylerinde bol miktarda bulunmakta ve membrana bağlı sialik asid kalp kasındaki Ca^{+2} alış-verişini kontrol etmektedir (22, 48). Spontan aritmik aktivite, membran potansiyelinde depolarizan değişimler, plato ve aksiyon potansiyelinde önemli düşüşler sarkolemmanın %25'inin desialilasyonu sonucu ortaya çıkar (22).

Sialik asidler, hücre yüzeyinin tüm negatif yükünün majör bileşenleri olarak güçlü bir elektrostatik bariyere eşlik ederler (49).

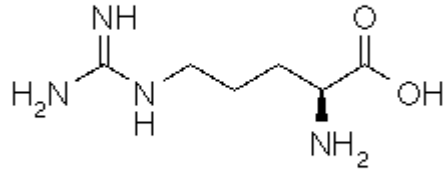
ARGİNİN

Argininin Yapısı

Arginin ilk olarak Hedin tarafından 1895’de bulunmuş pozitif yüklü, bazik R gruplu bir aminoasittir. Genel formülü $C_6H_{14}N_4O_2$ ’dir. Molekül ağırlığı 174.2 g’dır (50). Polarize ışığı çevirme durumuna göre D ve L olmak üzere iki izomeri vardır (Şekil 4) (51, 52). Erişkinler için esansiyel değildir fakat çocuklar ve gençler için esansiyeldir. L-arginin gereksinimi büyüme döneminde, travma yada enfeksiyon durumunda artar (50, 53).



D-arginin



L-arginin

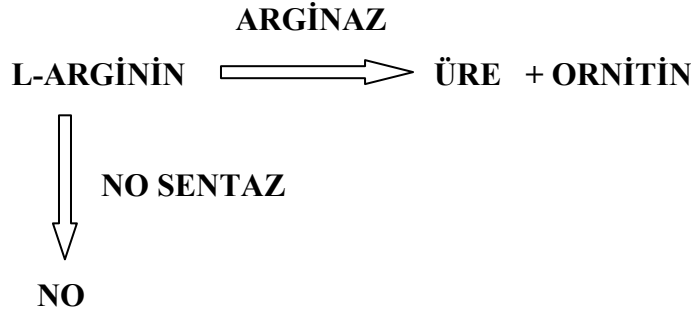
Şekil 4. Argininin L ve D izomerleri (51, 52).

L-Arginin Metabolizması

L-Arginin proteinlerin yıkımı sonucu oluşur. Besinlerdeki proteinlerin sindirim kanalında hidrolizi sonucu serbest kalan L-arginin, ince barsak lümeninden enterositler tarafından alınarak aktif transportla emilir. İnce barsaktan emilen L-arginin portal dolaşımına taşınır. Karaciğerde metabolize olmamış L-arginin sistemik dolaşıma geçer. L-arginin oral yolla alındıktan yaklaşık 1-2 saat sonra plazmada en yüksek düzeylere ulaşır. Glomeruler filtrasyona uğrayan L-argininin yaklaşık tamamı reabsorbe olur. İnce barsak, böbrek ve karaciğerde glutamat ile sitrülinden de L-arginin sentezlenir. Plazma arginin düzeyine %10 oranında katkıda bulunur. İnce barsakta glutamattan oluşan sitrülün sistemik

dolaşıma geçer. Sitrülin, böbrekler tarafından alınarak proksimal tübüllerde arginine çevrilir (50, 54).

Arginin iki yoldan metabolize olur: Birincisi üre döngüsünün son basamağı olup arginin üre ve ornitine hidroliz olur. Argininin metabolize olduğu diğer yol ise nitrik oksit sentaz (NOS)'ın katalizlediği nitrik oksit sentezidir (Şekil 5) (54, 55).



Şekil 5. L-argininin metabolik yolları (55).

Arginazın katalizlediği reaksiyon sonucu üre ve ornitin oluşur. Ornitin, protein yapısına katılmayan bir aminoasittir, üre döngüsünden başka hücre proliferasyonunda ve gelişiminde rol oynayan poliaminlerle, kollajen yapısında yer alan prolin aminoasidinin sentezinde de öncül madde olarak görev yapmaktadır (56-58). Oluşan ornitin, ornitin dekarboksilaz enzimi vasıtası ile putressine dönüşmekte ve putressin de ara kademelerden geçerek spermin ve spermidin sentezini sağlamaktadır (Şekil 6). Ornitin dekarboksilaz enzimi poliamin biyosentezinde hız kısıtlayıcı basamak olup yüksek arginaz enzim konsantrasyonu, ornitin dekarboksilaz enzimini aktive eder. Başlıca poliaminler olarak bilinen putressin, spermin ve spermidin, hücrelerin büyüme ve gelişmesi için önemli biyomoleküllerdir (56, 59).



Şekil 6. Argininden poliamin sentezi (56).

L-arginin, endotel kaynaklı nitrik oksit (NO) salınımını nitrik oksit sentaz (NOS) vasıtasıyla tetiklemektedir. Endotelde L-argininden kaynaklanan NO'nun kalbi koruyucu etkisi vardır. Nitrik oksit, kuvvetli vazodilatör ve koroner damarların akımını arttırıcı bir maddedir. L-

Arginin vasküler yapılarda NO sentezinin ön maddesi olarak koruyucu olabilir. Endojen L-arginin yapımı oldukça yavaş ve fizyolojik ihtiyaçları karşılamak için yetersizdir. L-argininin, arginaz enzimi ile üreye çevrilmesi NO sentezi için kullanılacak miktarında azalmaya yolaçar (19). Dışarıdan verilen L-arginin, endotel kaynaklı NO üretimini hızlandırır ve aterotromboz dizisindeki endotel fonksiyonunu düzeltir. Endotel kaynaklı NO biyoaktivitesini düzenleyen çeşitli etki mekanizmaları ileri sürülmüştür (60).

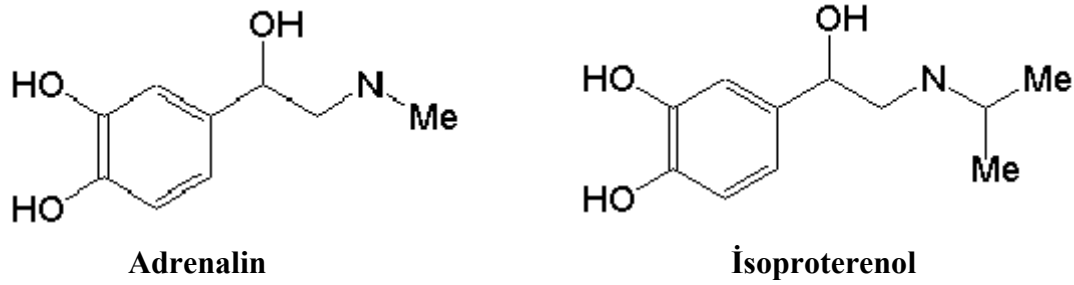
İSOPROTERENOL

İsoproterenolün Yapısı ve Etki Mekanizması

Sistemik ismi 4-(1-hidroksi-2-[(metiletil)amino]etil)-1,2-benzendiol hidro- klorit, kapalı formülü $C_{11}H_{17}NO_3 \cdot HCl$, molekül ağırlığı 242.72 g olan non-selektif β mimetiktir (61). Sentetik bir sempatomimetik amin (katekolamin) olup, β_1 ve β_2 reseptörleri uyarır (59).

Adrenalin doğal olarak vücutta sentezlenen bir katekolamindir. İsoproterenol, yapı olarak adrenaline çok benzemektedir (Şekil 7) (62). Ancak adrenalin gibi α reseptörlerini etkilemez. Vazokonstriktör değil, vazodilatör etkisi vardır. Adrenalin gibi barsakta inaktive edildiğinden ağız yoluyla kullanılamaz. İskemik koroner hastalığı olanlarda kontrendikedir (59, 62).

İsoproterenol (ISO), intravenöz veya aerosol şeklinde inhalasyon yoluyla, astım tedavisinde bronkodilatör olarak; kalp bloğunda kalp hızını arttırmak amacıyla ve pulmoner hipertansiyonlu hastalarda pulmoner vasküler resistansı azaltmak amacıyla kullanılır (62).



Şekil 7. Adrenalin ve isoproterenolün yapısal benzerliği. Me: Metil (62).

İsoproterenol, ratlarda deneysel miyokard infarktüsü oluşturmak için yaygın olarak kullanılan sentetik bir katekolamindir (63).

İsoproterenol ile miyokard infarktüsü oluşturulmuş sıçan kalbinde meydana gelen patofizyolojik değişikliklerin insanlarda miyokard infarktüsü sonrası oluşan değişikliklere benzerlik gösterdiği bilinmektedir (64). Katekolamin ile uyarılmış nekrozda, siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeylerindeki artışın (65), intrasellüler kalsiyum artışının ve yüksek enerjili fosfatların tüketilmesinin (66) önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Katekolaminler tarafından uyarılan miyokardial nekrozun patogenezi multifaktöryel olmasına rağmen oksidatif stresin önemli rolü olduğu gösterilmiştir (67, 68).

AKUT MİYOKARD İNFARKTÜSÜ

Tanım

Batı ülkelerinde en yaygın ölüm nedeni olan iskemik kalp hastalığı koroner kan akımının yetersizliğinden kaynaklanır. Amerika Birleşik Devletleri'nde insanların yaklaşık % 25'i bundan ölür. Bazı ölümler, akut koroner tıkanma ya da kalp fibrillasyonu ile ani, bazıları da kalbin pompalama gücünün gittikçe zayıflaması sonucu, haftalar ya da yıllara varan bir süreçte yavaş yavaş meydana gelir (69).

Koroner dolaşımın amacı, miyokarda oksijen ve madde sağlamak ve metabolik yıkım ürünlerini uzaklaştırmaktır. Kalp kasılması aerobik metabolizmaya bağımlıdır ve bazal oksijen tüketimi yaklaşık %60'tır. Artan miyokard oksijen tüketimini karşılamak için koroner kan akımının artması gerekir (70). Koroner dolaşım, kalp de dahil olmak üzere vücuttaki tüm organların perfüze olabilmesi için gerekli basıncı ve akımı oluşturmaktan sorumlu organ olan kalbin perfüzyonunu sağladığı için özeldir. Bunun önemli sonuçları vardır, çünkü koroner dolaşımın bozulması kalbin pompalama gücünü zayıflatır. Bu durum koroner kan akımını daha da çok bozar (71).

Koroner kan akımını azaltan nedenler arasında en sık rastlanan aterosklerozdur. Ateroskleroz, damar duvarının kalınlaşması ve esnekliğinin kaybolması ile karakterize arteriyel hastalık grubunun bir parçasıdır (72). Ateroskleroza genetik yatkınlık bulunan şahıslarda ya da fazla miktarda kolesterol veya katı yağla beslenen kimselerde arterlerin intiması altında zamanla büyük miktarda kolesterol birikir. Daha sonra bu alanları istila eden fibröz doku çoğu kez kireçlenir. Sonuçta gelişen aterosklerotik plak damar içine çıkıntı yaparak kan akımını kısmen ya da tamamen duraklatır (69). Aterosklerotik plak yıllar içinde yavaş bir şekilde genişleyerek ağır darlık ya da tam tıkanıklık oluşturabilir. Zaman içinde plak kendiliğinden yarılabılır ya da açılarak içeriği kan akımına karışabilir. Açılan plak trombüs oluşumunu uyarır; trombüsler emboli yapabilir, bu ise lümeni aniden tam olarak tıkayabilir ya da plak ile zaman içinde birleşerek kitlesine ve tıkaçıcı özelliklerine katkıda bulunur (73).

Ateroskleroz ani tıkanma yaratmak yerine yıllar süren bir süreç içinde koroner arterleri daraltırsa, aynı zamanda kolleterallerin de geliştiği görülür. Böylece şahısta, kalbin fonksiyon bozukluklarına bağlı akut ataklar görülmez. Fakat kollateral kan akımının karşılaştığı sınırları aşan sklerotik olaylar bazen de bizzat kolleterallerle gelişen ateroskleroz kalbin pompalama gücünü ciddi şekilde kısıtlar. Kalp normalde gerekli kanı bile pompalayamaz. Yaşlı şahısların çoğunda kalp yetersizliğinin nedeni budur. Akut koroner tıkanmasından hemen sonra tıkanma

noktasının ilerisinde çevredeki damarlarda, küçük bir kolleteral akımın dışında, kan akımı kesilir. Kalp kasında kan akımının çok az olduğu ya da hiç bulunmadığı için görev yapamayan bu bölgeye infarktüs bölgesi, bütün bu olaya da miyokard infarktüsü adı verilir (69).

Etiyoloji ve Patogenez

Akut miyokard infarktüsü geçiren hastaların %90'ında hasar gören alanı besleyen koroner arter sıklıkla plak yırtılması ile ilişkili olarak akut trombüs oluşması sonucu tıkanır. Aterosklerotik plağın neden olduğu endotel değişikliğinin başlatığı trombosit işlev farklılaşmasının pıhtı oluşumuna katkısı olasıdır. Hastaların üçte ikisinde spontan tromboliz geliştiği için 24 saat sonra trombotik tıkanma hastaların yalnız yaklaşık %30'unda gözlenir. Unstable angina tablosunda anjiyografik çalışma yapılan hastaların üçte birinde ya da daha fazlasında iskemi alanını besleyen arterlerle kısmen tıkanma yapan trombüsler bulunur. Anjiyografide trombüsün tanınması güç olabileceği için insidansın olduğundan az bildirilmesi olasıdır (73).

Memeli miyokardında kan sunumu bölgeseldir; her bir ana koroner arter dalı miyokardın belirli bir kısmını besler. Komşu epikardiyal arterler arasında çapraz akımların derecesi türler arasında belirgin farklılık gösterir. Deneysel hayvan modellerinde bölgesel infarktüs oluşturmanın tek yolu o alanı besleyen koroner arterin tıkanmasıdır (74).

Seyrek olarak miyokard infarkt nedeni arteriyel embolizasyon da olabilir. Koroner spazmı bulunan ve bunun dışında koroner arterleri normal olan hastalarda miyokard infarktı bildirilmiştir. Kokain kullanımının da koroner arter hastalığı olmaksızın miyokardial iskemi ve infarktüse yol açabileceği gösterilmiştir (73).

Risk Faktörleri

Akut miyokard infarktüsüne neden olan risk faktörleri üç gruba ayrılmaktadır: (75)

1. Sabit faktörler (değiştirilemeyen):

- Yaş
- Cinsiyet
- Aile öyküsü
- Etnik grup
- Vasküler hastalık

2. Değiştirilebilen ana faktörler:

- Sigara kullanımı
- Alkol kullanımı
- Kan basıncı yüksekliği
- Kolesterol yüksekliği
- Sedanter yaşam tarzı

3. Diğer faktörler:

- Diyabet
- Obezite
- Homosistein yüksekliği
- Sosyal sınıf
- Psikososyal çevre
- A tipi kişilik
- Eksojen östrojenler
- Diğer hastalıklar
- Enfeksiyon.

Akut Miyokard İnfarktüs Tanısı

1. Ayırıcı tanı: Akut mitokard infarktüsünde tanı tipik olarak göğüste ağrı, basınç hissi, sıkışma veya ağırlık hissi, boyun, çene, omuzlar, sırt veya kollara yansıyan ağrıdır. Hazımsızlık veya mide yanması, bulantı, kusma akut miyokard infaktüsü olan hastaların %50 kadarında çoğunlukla diğer semptomlarla birlikte görülür (76).

2. Elektrokardiyografik tanı: Elektrokardiyografi (EKG), miyokard iskemisini veya infaktüsünü tanımlamada hassastır fakat iskemi-nekroz ayırımı yapmakta yeterli değildir. Akut miyokard infarktüsü esnasında alınan seri EKG'ler hastaların birçoğunda değişimler gösterir. Kardiyak iskemik ağrı esnasında alınan bir EKG'de (sıklıkla fakat her zaman değil) repolarizasyon anomalileri görülür. Ağrı esnasında çekilen EKG'de iskemik değişiklik yoksa ağrının iskemik olmadığı düşünülebilir ama bu kesin değildir (77).

3. Plazma tanısal belirteçler: Miyokardiyal nekroz sonucunda enzimler, miyogloblin ve kontraktıl proteinler gibi birçoğ makromolekül dolaşıma katılır ve bunlar akut miyokard infarktüsü tanısında önemli rol oynarlar (77).

Akut Miyokard İnfarktüsünde Kardiyak Belirteçler

Akut kardiyak hasarın tanısı için vazgeçilmez olan bulgu; kardiyak hasar belirteçlerindeki yükselmedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre miyokard infarktüsü tanısı için iki kriter gereklidir: 1) İskemi ile uyumlu klinik semptomlar 2) EKG bozuklukları ve miyokard hasarı için tipik olan enzimlerde iki kat artış. Kardiyak hasar tanısının sadece semptomlar ve EKG değişikliklerine dayanılarak konması olanaksızdır. Özellikle karmaşık klinik durumlarda, belirteç proteinlerde yükselmenin, saptanan tek bozukluk olabileceği bilinmektedir. Bu nedenle bazı araştırmacılar, uygun klinik ortamda, iskemik kalp hastalığı ile ilişkili tipik belirteç salınım modellerinin, akut iskemik hasarın onaylanması için yeterli olacağını öne sürmüşlerdir (Tablo 1)(76).

Kreatin kinaz-MB (CK-MB): Kreatin kinaz (CK), kas metabolizmasının temel enzimi olup yüksek enerjili fosfatların adenosin trifosfat (ATP)'tan kreatine transferini katalize eden bir enzimdir (78). Kreatin kinaz, her biri 43000 Da ağırlığında M ve B olmak üzere iki monomerden oluşur. Üç formda bulunur: MM, MB, BB. Kalp kasında hem MB hem de MM formu bulunur (79). Kreatin kinaz ve kreatin kinaz-MB seviyelerinin tayini rutindir ve yüksek oranda hassaslık, özgüllük ve uygun maliyet sebebi ile akut miyokard infarktüs tanısında çok değerlidir. CK-MB ölçümü olmadan yapılan total kreatin kinaz seviyesi tayini de benzer hassaslığa sahiptir ama özgüllüğü düşük olup, %70 kadar olduğundan akut miyokard infarktüsü tanısında tek başına total CK seviyesinin kullanılması önerilmemektedir (77). CK-MB daha çok kardiyak miyositlerden salınır ve total CK düzeyinin %20'sini oluşturur. CK-MB artışı infarktüsten 6 saat sonra başlar ve tüm hastalarda artış 12 saatte oluşur. Pik değerler, kabaca 24 saatte oluşur ve CK-MB 36-72 saatte normale döner (76, 78). Bu nedenle, 8-12 saatte bir kan örneği alınması önerilir (76).

Laktat Dehidrogenaz İzoenzim 1 (LDH-1): Laktat dehidrogenaz vücut dokularında bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Pirüvatın aerobik ortamda laktata dönüşümünü katalizler. Laktat dehidrogenaz H ve M olarak adlandırılan 2 tip alt üniteye sahip tetramerik bir moleküldür. Elektroforetik alanda anoda doğru göç hızlarına göre gruplandırılmış 5 izoenzimi vardır: LDH-1 (HHHH: kalp kası, eritrositlerde), LDH-2 (HHHM: kalp kası, eritrositlerde), LDH-3 (HHMM: lenfatik doku, trombositler), LDH-4 (HMMM: iskelet kasında, karaciğerde) ve LDH-5 (MMMM: iskelet kasında, karaciğerde). Bunlardan LDH-1 ve LDH-2 miyokard infarktüsü tanısında kullanılır (79). LDH-1 infarktüsün 8-12. saatlerinde yükselmeye başlar, 1-3 günde pik yapar ve 7-10. günde normale döner. LDH ve izoenzimleri, Akut miyokard

infarktüsü düşünölen ancak CK aktiviteleri normale dönmüş geç gelen hastalarda önemlidir (78).

Tablo 1. Genel olarak kullanılan miyokard hasarı belirteçlerinin özellikleri (76).

Belirteç	Moleküler Ağırlık (Da)	İlk Değerlendirme Zamanı(saat)	Pik Yükselme İçin Geçen Süre(saat)	Normal Sınırlara Dönme Süresi	Kan Örneği Alma Şeması
Miyoglobin	17,800	1-4	6	24 saat	Gelişte ve 2 saatte bir
cTnI	23,500	6-12	24	5-10 gün	Gelişte ve 6-9 saat sonra
cTnT	33,000	3-12	12-48	5-14 gün	Gelişte ve 6-9 saat sonra
CK-MB	86,000	3-12	24	48-72 saat	Gelişte ve 2 saatte bir
LDH	135,000	10	24-48	10-14 gün	Başlangıçtan 24 saat sonra

CK, kreatin kinaz; **cTnI**, kardiyak troponin I; **cTnT**, kardiyak troponin T; **LDH**, laktat dehidrojenaz.

Miyoglobin: Kaslarda bulunan, düşük moleköl ağırlıklı, oksijen bağlayan bir hem proteindir. Tüm sitoplazmik proteinlerin %5-10'unu oluşturur. Miyoglobin, miyokard hasarı sonucu hücrelerden salınır ve kana karışır. İnfarktüsün ilk 1-2. saatlerinde yükselmeye başlar, 6-7. saatlerinde pik yapar ve bu durum 24 saat sürer. CK-MB aktivitelerinden daha belirgin olarak yükselir. Miyokard infarktüsünde spesifitesi ilk 2 saat içinde %95 ve sensitivitesi %37 olarak bulunmuştur (78). Yükselme zamanının çok kısa olması ve iskelet kasının çok ufak hasarlarında da artması miyoglobinin akut miyokard infarktüsündeki seri tayinlerinin klinik önemini azaltır. Miyoglobinin serumda artışı infaktlı alanın yeniden kanlanmasıyla hızlanır (80).

Troponinler (Tn): Kalp ve iskelet kasının aktin filamentine bağlanan, düzenleyici kompleks bir proteindir ve kalsiyum, ATP hidrolizi ile kardiyak kontraksiyona sebep olan aktin-miyozin etkileşimini düzenler. 3 subüniteden oluşmuştur. Bunlar asimetrik globüler

protein olan troponin T (TnT), troponin I (TnI) ve troponin C (TnC) dir (81). Troponinler kana T, I, C kompleksleri şeklinde ve serbest alt gruplar olarak salınırlar. Troponin T ve I çizgili kasta kasılma işleminin önemli bileşenleri olarak beraber görev alırlar. Çizgili kaslarda troponin kompleksi benzer şekilde yer alsa da T ve I'nın izoformları kardiyak kasta farklıdır (82).

-TnT; troponin kompleksini tropomiyozine ve komşu moleküllere bağlar.

-TnI; Aktin-miyozin etkileşimini önleyerek ATP-az aktivitesini inhibe eder. Kas kontraksiyonunda inhibitör rol üstlenir. Ayrıca aktin filamentinin troponin C'ye bağlanmasına yardımcı olur.

-TnC; TnI ve TnT arasındaki etkileşimleri düzenler ve Ca^{+2} bağlayarak kontraksiyonun başlamasına aracılık eden bir proteindir. Kalmodule benzer.

TnT kalbe spesifiktir ve miyokard hücrelerinde kontraktıl elementlere sıkıca bağlanmış bir polipeptittir. İnfarktüsü takip eden 4-6 saat içinde yükselir ve 11. saatte pik yapar (10-24 saat). 2 ile 5 günde sona eren bir plato gözlenir ve 7 gün içinde azalarak referans değerlerine döner. Miyokard infarktüsünün ilk 6 saati içinde TnT'nin CK-MB veya miyoglobine göre belirteç olarak üstün bir yanı yoktur. Ancak TnT'nin duyarlılığı 10 saat ile 5 gün arası %100'dür. Tanısal etkinliği ise 6 güne kadar % 98'dir. TnT kalp kası hasarının ayırıcı tanısında kullanılır (81, 83).

TnI kardiyak kas kompleksinde düzenleyici rol oynayan bir proteindir. Sadece miyokarda bulunduğundan kalp hastalıkları için daha spesifiktir. Kalp kasında CK-MB'den daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır ve CK-MB'den daha çabuk yükselir (ilk 4 saatte). Akut miyokard infarktüsü sonrasındaki 4-6 saatte yükselmeye başlar, 11. saatte pik yapar (10-24 saat arası) ve yaklaşık 5 günde referans değerlerine döner (84, 85). TnI unstabil anjina, miyokardiyal hasar, iskeminin veya nekrozun tanısında ve peroperatif miyokardiyal infarktüsün tanısında oldukça yararlı bilgiler sağlar (80).

Diğer kardiyak belirteçlerin aksine troponinler sağlıklı bireylerde tespit edilemezler. Bu nedenle ufak artışları bile miyokard hasarını göstermesi açısından önemlidir (86).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmada 16 adet sağlıklı, yetişkin, erkek, Wistar albino rat kullanıldı. Ratlar, Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nden sağlandı. Hayvanlar oda sıcaklığında, 12 saat ışık 12 saat karanlık siklusu ile barındırıldı. Çalışmaya başlamadan hayvanların tartımları alındı. Total sialik asid düzeylerinin ölçümü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında yapıldı. Kalp dokularının histopatolojik incelemesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışma Trakya Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 09.03.2006 tarihinde, 03 sayılı oturumda, TÜTF-2006/035 protokol ile onaylandı (Ek 1).

Deneysel Akut Miyokard İnfarktüsü Modelinin Oluşturulması ve L-Arginin Uygulanması

Deneyde ratlar ISO grubu (8 rat) ve ISO+L-arginin (8 rat) olmak üzere rastgele 2 gruba ayrıldı. ISO grubundaki ratlara intraperitoneal yoldan 150 mg/kg/gün olacak şekilde ISO, 24 saat arayla toplam 2 kez uygulandı. ISO+L-arginin grubundaki ratlara ise hem oral yoldan 250 mg/kg/gün olacak şekilde 5 gün süreyle L-arginin (19) verildi, hem de intraperitoneal yoldan 150 mg/kg/gün olacak şekilde ISO 24 saat arayla toplam 2 kez uygulandı. İsoproterenol-HCl'in deneysel akut myokard infarktüs modeli oluşturduğu farklı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (59, 87, 88).

Kan Örneklerinin Alınması

Deneye başlamadan önce ve ikinci ISO dozundan 24 saat sonra olmak üzere 2 defa anestezi altında periferik venöz kan örneği alındı. Anestezik ilaç olarak 5 mg/kg ronpun (Ksilazin) ve 50 mg/kg ketalar (Ketamin-HCl) kullanıldı. Serum TSA analizi için kanlar biyokimya tüplerine alındı. Alınan kan örnekleri 11000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen serumlar ependorflara konularak analiz gününe kadar -80°C'de saklandı.

Sakrifikasyon ve Doku Örneklerinin Alınması

Akut miyokard infarktüsü sonrası kalp dokusunda beklenen değişiklikleri histopatolojik olarak incelemek üzere ISO grubundan ve ISO+L-arginin grubundan rastgele seçilen birer rat 15.güne kadar yaşatıldı ve ardından anestezi altında sakrifiye edildi. Diğer ratlar ikinci ISO dozundan 24 saat sonra periferik kan örneklerinin alınmasını takiben anestezi altında hemen sakrifiye edilerek kalp dokuları çıkarıldı. Doku total sialik asid ve protein analizi için kalp dokuları soğuk % 0.9'luk NaCl ile 2 kez yıkandı ve analiz gününe kadar serum fizyolojik içinde -80°C'de saklandı. Histopatolojik olarak incelenecek kalp dokuları formolle tespit edilip Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderildi.

Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sülfirik asit (Riedel de Haën)

o-Fosforik asit (Riedel de Haën)

Sodyum m-periyodat (Merck)

Sodyum m-arsenit (Sigma)

Sodyum sülfat (Merck)

Tiyobarbitürik asit (Merck)

Sikloheksanon (Lab-san)

Sodyum karbonat (Sigma)

Sodyum potasyum tartarat (Merck)

Bakır sülfat (Merck)

Folin Ciocalteus Phenol reaktifi (Sigma)

Analizlerde Kullanılan Cam Malzemeler ve Laboratuvar Gereçleri

Santrifüj (Rotofix-32,Hettich)

Otomatik pipetler (Eppendorf, Socorex, Microlit)

Hassas terazi (Sartorius)

Su banyosu (GFL 1083)

Vorteks (VELP)

Manyetik karıştırıcı (IKA)

Spektrofotometre (Unicam)

Distile su cihazı (Nüve NS245)

Deney tüpleri

Balon jojeler

Erlen

Baget

Puar

Portüp

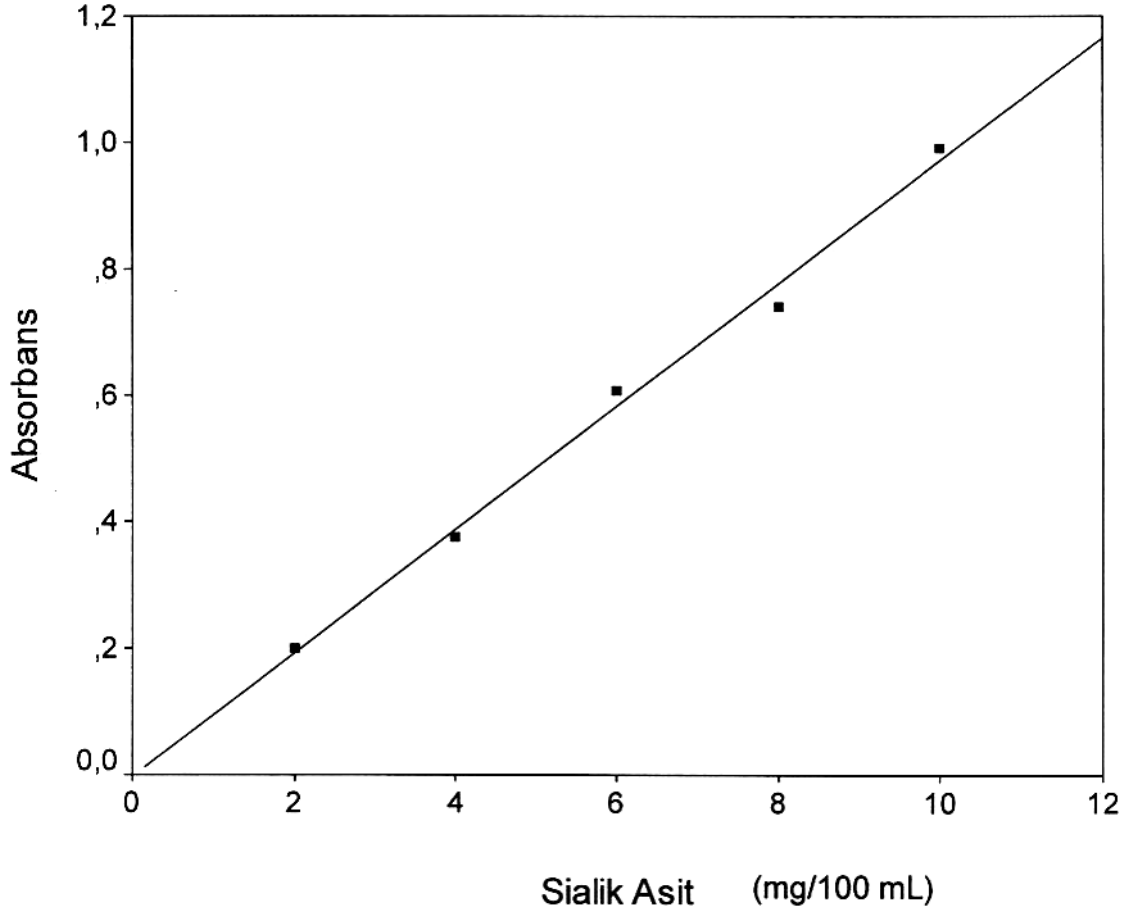
Serum ve Doku Total Sialik Asid Tayini

Serum total sialik asid düzeylerini belirlemek için Warren tarafından geliştirilen tiyobarbitürik asit yöntemi kullanıldı (89).

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

Deneyin yapılışı ve standart grafiğinin oluşturulması: Serumda total sialik asid tayini için 0.1 ml serum 1.9 ml 0,1 N H_2SO_4 ile, doku total sialik asid tayini için 0.2 ml doku homojenatı 0.1 N H_2SO_4 ile 80 °C'lik su banyosunda inkübe edilerek hidroliz edildi ve sialik asid serbest hale geçirildi. Hidrolizattan 0.2 ml alınarak bir tübe konuldu ve %85'lik o-fosforik asid ile hazırlanmış 0.2 M sodyum m-periyodattan ilave edildi. Üzerine %10'luk sodyum arsenitten 0.5ml ve ardından 0.04 M tiyobarbitürik asidten 1.5 ml eklenerek kaynayan su banyosuna tutuldu. Oda sıcaklığında soğutulurken üzerine 2.15 ml sikloheksanon ilave edildi ve ekstraksiyon yapıldı. 1200 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Üstteki pembe renkli fazın absorbansı köre karşı 549 nm'de okundu.

Standart eğrisinin hazırlanması için 2, 4, 6, 8 ve 10 mg/100mL konsantrasyonlarında sialik asid standart çözeltileri hazırlandı. Yukarıdaki yöntem hazırlanan sialik asid standart çözeltilerine uygulandı. Absorbansları okunarak konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi (Şekil 8). Regresyon analizinden saptanan formül kullanılarak numunelerdeki sialik asid düzeyleri hesaplandı.



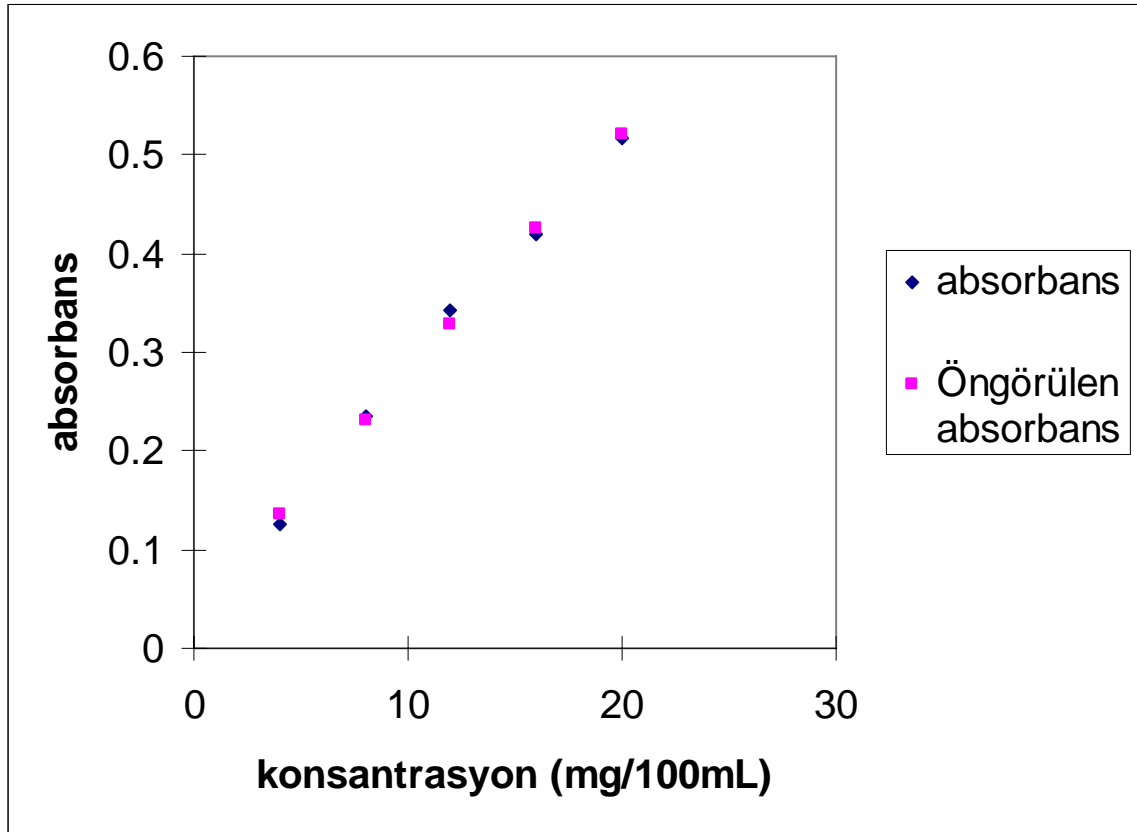
Şekil 8: Total sialik asid standart grafiği.

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

Doku Total Protein Tayini

Doku total protein analizi Lowry metodu kullanılarak yapıldı (90). Analiz için 0.5 ml örnek (1/10 dilüe edilmiş) ile 0.5 ml alkali bakır ayırıcı bir deney tüpüne kondu ve 10 dk oda ısısında bekletildi. Üzerine 2ml folin ayırıcı kondu ve 30dk 37°C’de bekletildi. Absorbans köre karşı 660 nm’de okundu.

Standart eğrisinin hazırlanması için 4, 8, 12, 16 ve 20 mg/100mL konsantrasyonlarında albümin standart çözeltileri hazırlandı. Yukarıdaki yöntem, hazırlanan albümin standart çözeltilerine uygulandı. Absorbansları okunarak konsantrasyon-absorbans grafiği çizildi (Şekil 9). Regresyon analizinden saptanan formül kullanılarak numunelerdeki protein düzeyleri hesaplandı.



Şekil 9. Albumin standard grafiği

$$\text{Absorbans} = 0.0386444 + 2.411 \times \text{Konsantrasyon}$$

Dokuların Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Dokuların %10'luk formaldehitle 24 saat tespit edilmesinin ardından horizontal olarak sirküler dilimler halinde tamamıyla alkol takibine alındı. 16 saatlik takip süresinin ardından dokulardan hazırlanan parafin bloklardan 5µ kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler hematoxilen-eozin ile boyanarak ışık mikroskobunda değerlendirme yapıldı. İlk değerlendirmenin ardından uygun görülen bloklardan histokimyasal olarak Mason trikrom boyama için yeni kesitler alındı. Son alınan kesitler önceki kesitlerle birlikte ışık mikroskobu altında yeniden değerlendirmeye tabi tutuldu.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme için Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Dairesi'nde bulunan S0064 Minitab Release 13 (Lisans No: wcp. 1331.00197) nolu program kullanıldı. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verildi. Sonuçların değerlendirilmesinde Wilcoxon two sample ve Mann-whitney U testleri kullanıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

BULGULAR

ISO grubundaki ve ISO+L-arginin grubundaki ratların deneysel akut miyokard infarktüsü modeli oluşturulmadan önceki ve akut miyokard infarktüs dönemi total sialik asid düzeyleri sırasıyla Tablo 2 ve Tablo 3'te görülmektedir.

ISO grubundaki ratların ağırlığı 373.87 ± 19.22 gram, ISO+L-arginin grubundaki ratların ağırlığı 375.62 ± 16.57 gram olarak bulundu. Serum total sialik asid ortalamaları deneysel akut miyokard infarktüsü oluşturmadan önce ISO grubunda 81.92 ± 9.19 mg/100mL, ISO+L-arginin grubunda ise 75.60 ± 8.71 mg/100mL olarak bulundu (Tablo 4). Deneysel akut miyokard infarktüsü modeli oluşturmadan önce ISO grubu ile ISO+L-arginin grubu arasında serum total sialik asid düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$, $z = -1.214$) (Şekil 10).

Serum total sialik asid ortalamaları deneysel akut miyokard infarktüs modeli oluşturulduktan sonra ISO grubunda 140.28 ± 3.05 mg/100mL, ISO+L-arginin gruplarında ise 119.44 ± 13.19 mg/100mL olarak bulundu (Tablo 4). ISO grubunun deneysel akut miyokard infarktüsü modeli oluşturulduktan sonraki serum total sialik asid düzeyleri, infarktüs modeli oluşturulmadan önceki serum total sialik asid düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.02$, $z = -2.366$) (Şekil 11). ISO+L-arginin grubunun deneysel akut miyokard infarktüs modeli oluşturulduktan sonraki serum total sialik asid düzeyleri de infarktüs öncesi serum total sialik asid düzeylerinden daha yüksekti ($p < 0.02$, $z = -2.366$) (Şekil 12).

Deneysel akut miyokard infarktüsü oluşturulduktan sonra ISO+L-arginin grubunun serum total sialik asid düzeyleri, ISO grubunun serum total sialik asid düzeylerinden istatistiksel olarak daha düşüktü ($p < 0.05$, $z = -2.239$) (Şekil 13).

ISO grubunun ve ISO+L-arginin grubunun akut miyokard infarktüs modeli oluşturulduktan sonraki doku total sialik asid düzeyleri Tablo 5’de görülmektedir. Miyokard infarktüs döneminde doku total sialik asid düzeyleri ISO grubunda 14.74 ± 4.68 $\mu\text{g}/\text{mg}$ protein, ISO+L-arginin grubunda 16.85 ± 3.76 $\mu\text{g}/\text{mg}$ protein olarak bulundu. Akut miyokard infarktüsü sonrası ISO grubu ile ISO+L-arginin grubunun arasında doku total sialik asid düzeyleri bakımından fark yoktu ($p > 0.05$, $z = 0.703$) (Şekil 14).

Sadece ISO uygulanan ratların 15. güne ait kalp dokusunda mikroskopik olarak kaslarda belirgin atrofi, kas demetleri arasında hafif dereceli inflamasyon ve bu inflamasyona eşlik eden, kalp kasları arasına giren fibrotik değişiklikler görüldü (Şekil 15 ve 16). Bulgular myokard infarktüsü ile uyumlu olarak değerlendirildi. L-arginin ile tedavi edilen ratların kalp dokusunda ise hafif dereceli atrofi bulguları (hücre boyutlarında ve nükleer boyutlarda hafif dereceli küçülme) ve kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu gelişimi izlendi (Şekil 17 ve 18).

Tablo 2. ISO grubundaki ratların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeyleri

Rat	TSA (mg/100 mL)	
	MI öncesi	MI dönemi
1	82.90	141.76
2	63.52	138.24
3	84.04	139.27
4	81.35	144.04
5	93.47	138.45
6	87.25	144.04
7	80.93	136.17

Tablo 3. ISO+L-arginin grubundaki ratların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeyleri

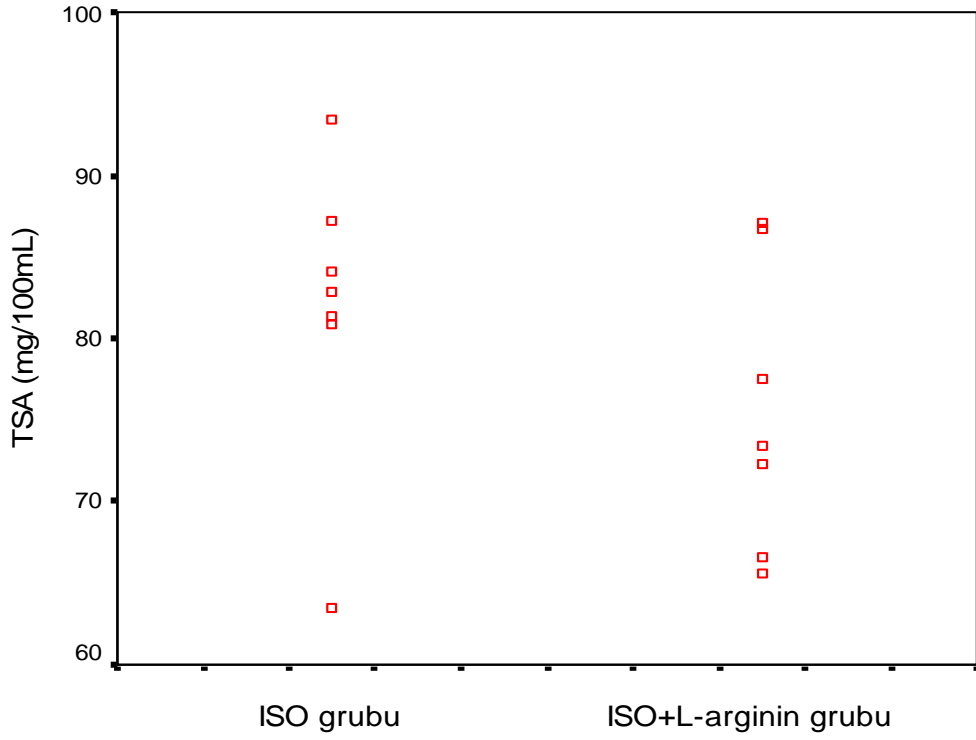
Rat	TSA (mg/100 mL)	
	MI öncesi	MI dönemi
1	72.33	116.89
2	86.74	144.25
3	65.60	118.13
4	77.51	120.21
5	87.05	124.77
6	66.63	102.38
7	73.37	109.43

Tablo 4. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) ortalamaları

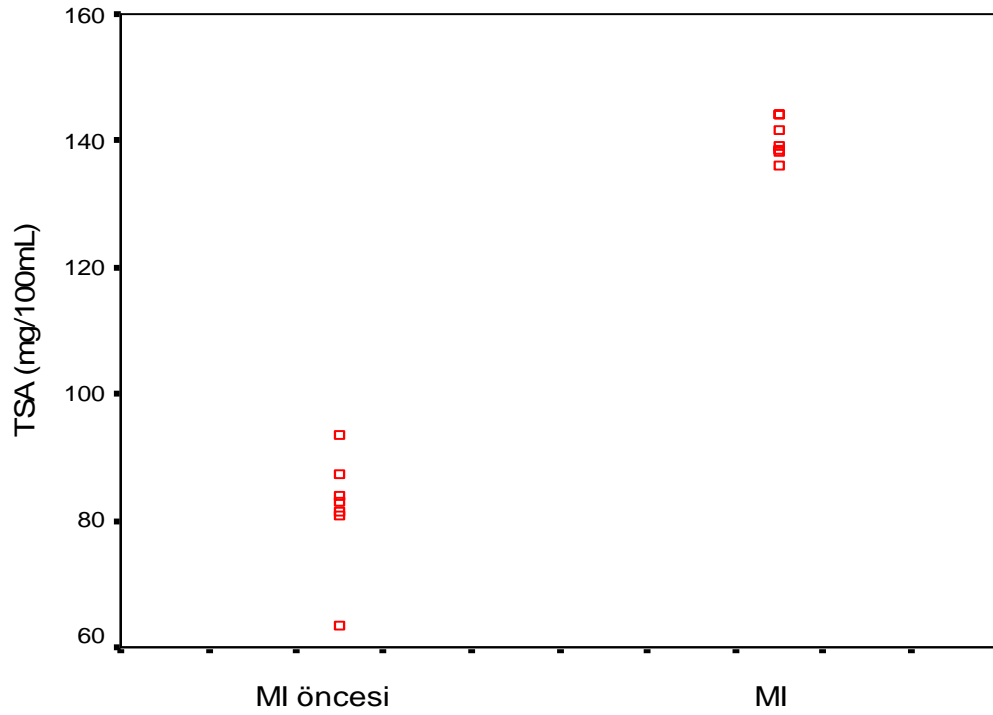
TSA (mg/100mL)					
Grup	n	Ort.± SD	median	min.	max.
<i>ISO</i>					
MI öncesi	7	81.92±9.19*	82.90	63.52	93.47
MI sonrası	7	140.28±3.05	139.27	136.17	144.04
<i>ISO+L-arginin</i>					
MI öncesi	7	75.60±8.71*	73.37	65.60	87.05
MI sonrası	7	119.44±13.19	118.13	102.38	144.25

* p<0.02, z = -2.366

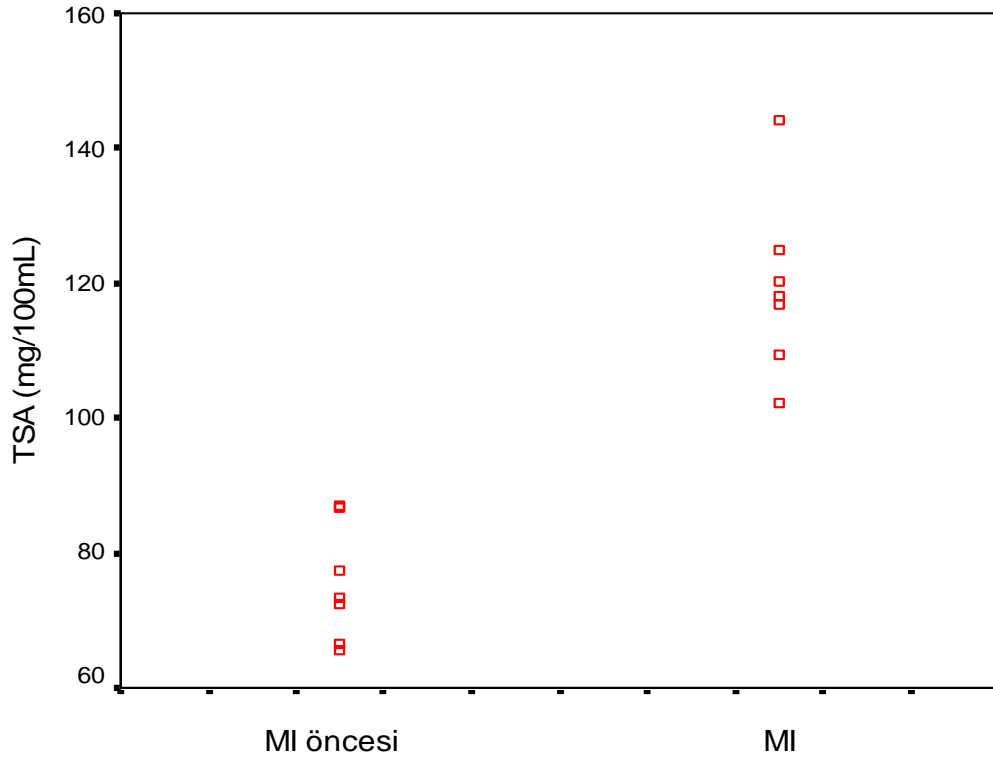
(Karşılaştırmalar Wilcoxon two sample testi ile grup içinde yapılmıştır).



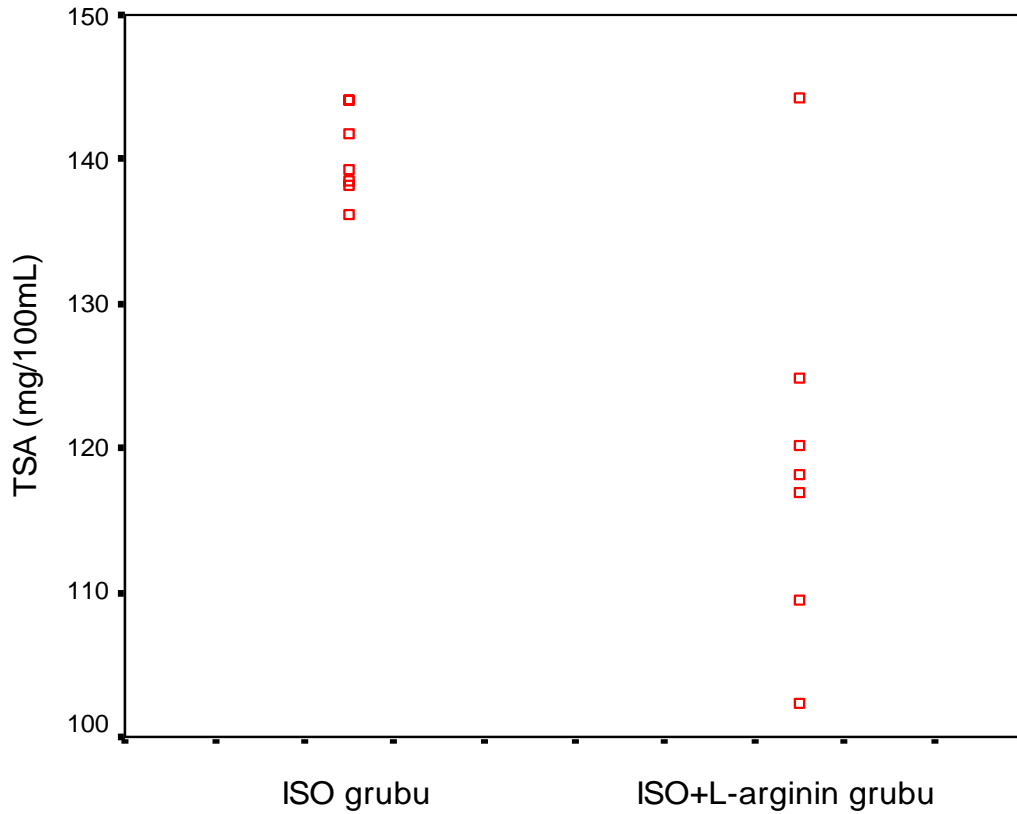
Şekil 10. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI öncesi serum total sialik asid (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 11. ISO grubundaki sıçanların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 12. ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması



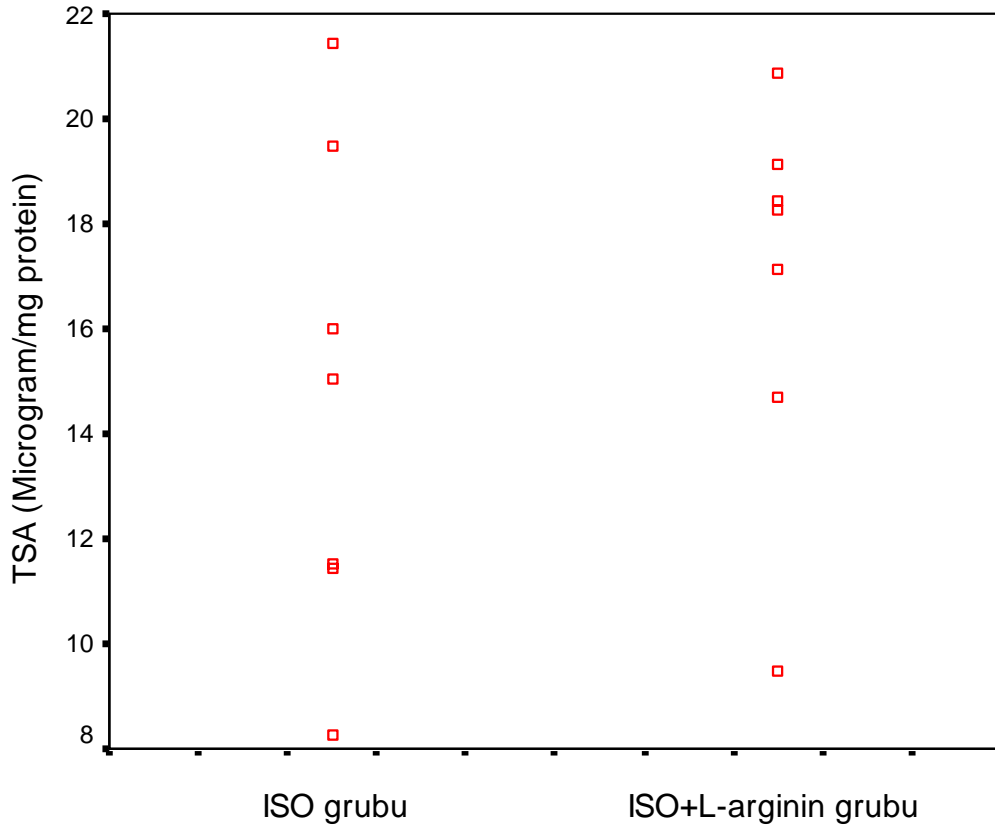
Şekil 13. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 5. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI dönemi doku total sialik asid (TSA) düzeyleri

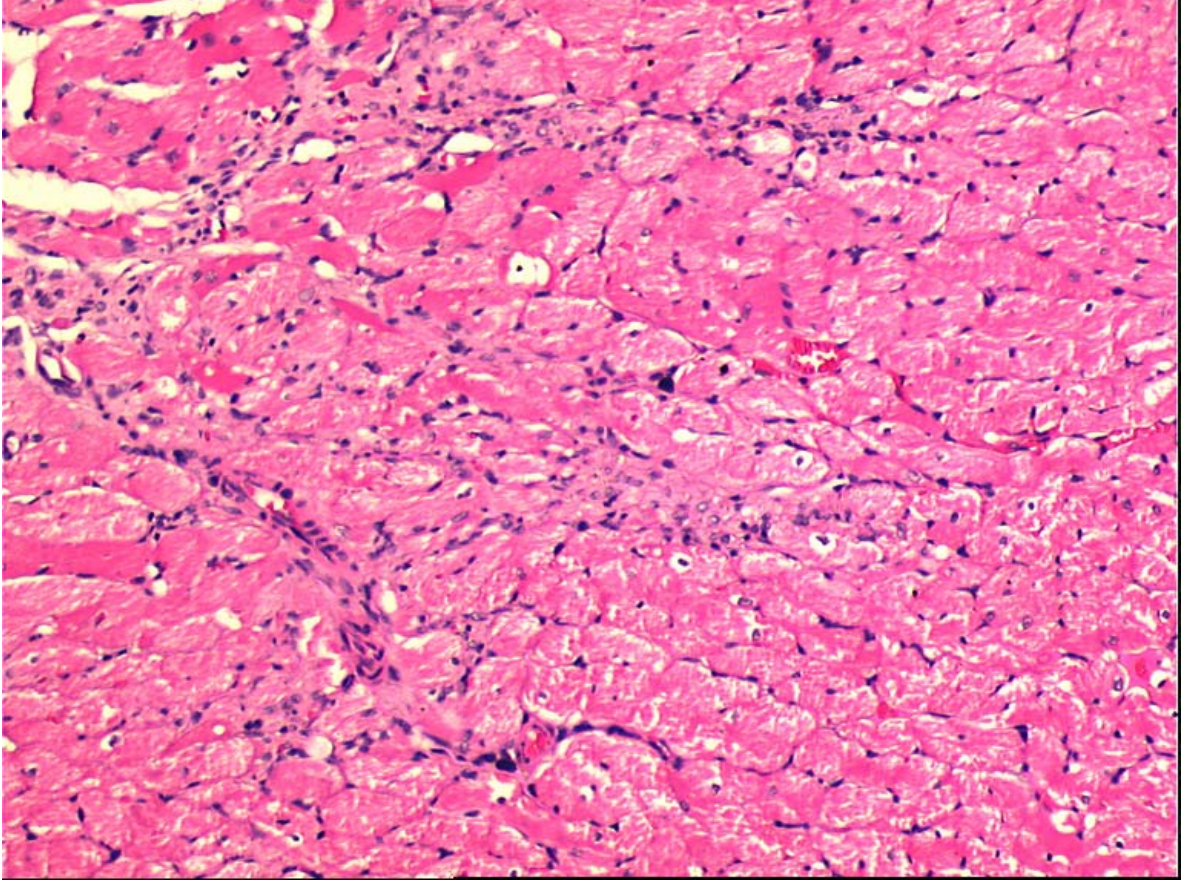
TSA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ protein)					
Grup	n	Ort. \pm SD	median	min.	max.
ISO	7	14.74 \pm 4.68	15.04	8.28	21.42
ISO+L-arginin	7	16.85 \pm 3.76	18.26	9.49	20.86

$p > 0.05$, $z = -0.703$

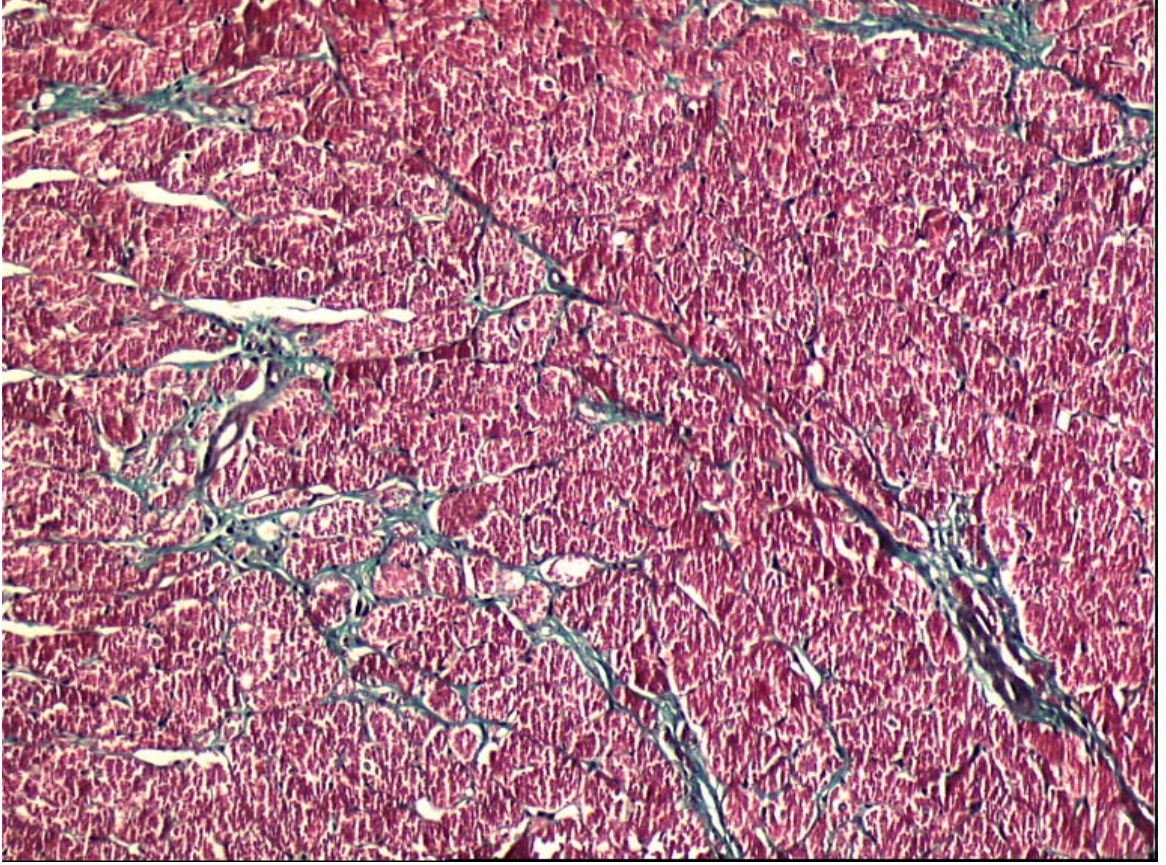
(Karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır).



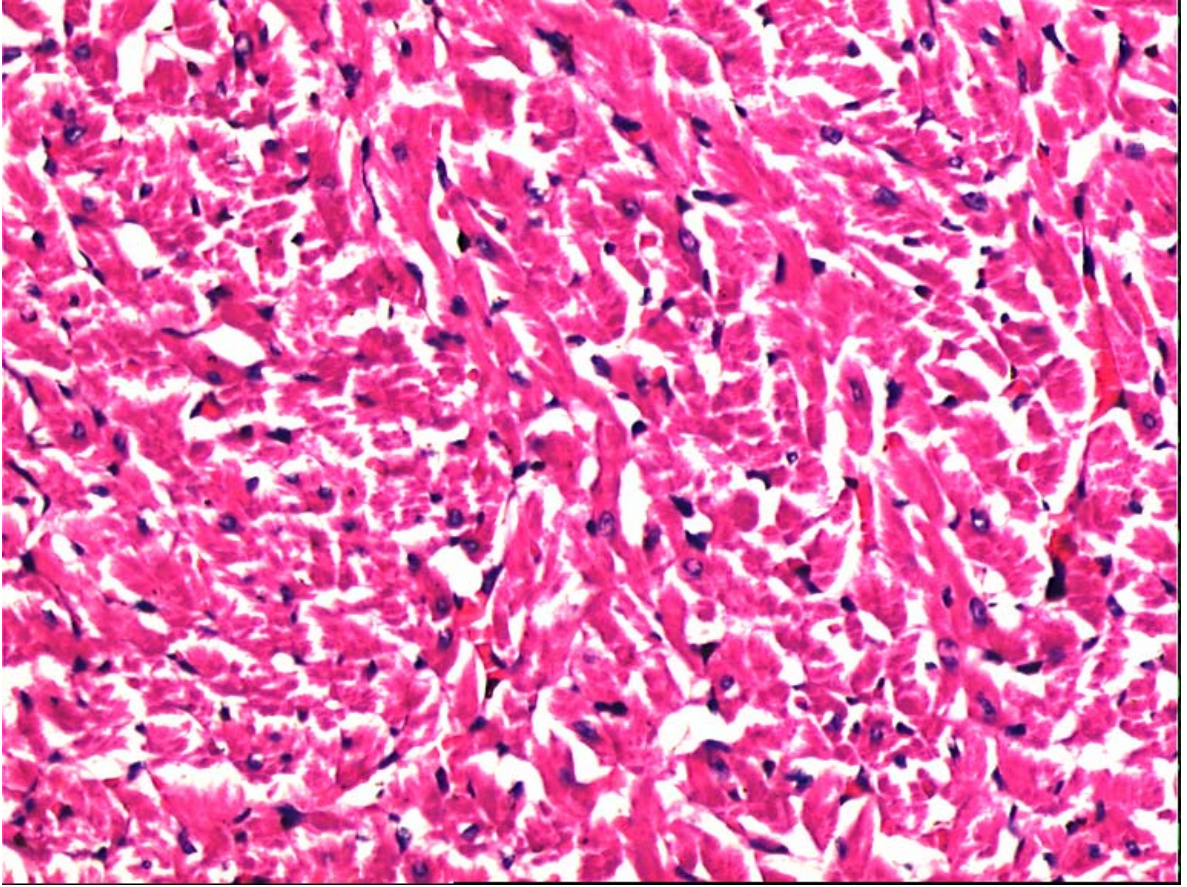
Şekil 14. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI dönemi doku total sialik asid (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması



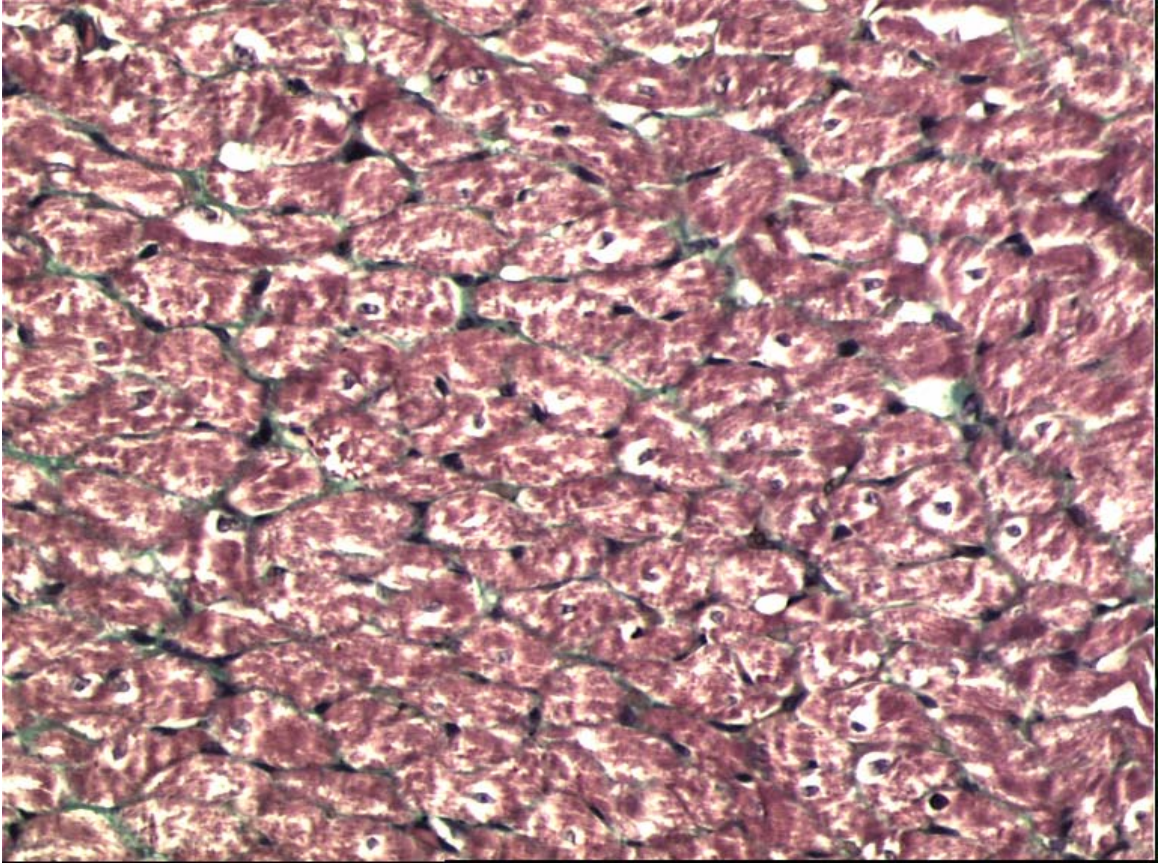
Şekil 15. ISO grubunun akut myokard infarktüs sonrası 15.güne ait kalp dokusunda kaslarda belirgin atrofi, kas demetleri arasında hafif dereceli inflamasyon (HEX200)



Şekil 16. ISO grubunun akut myokard infarktüs sonrası 15.güne ait kalp dokusunda kalp kasları arasına giren bağ dokusu (Mason TrikromX200)



Şekil 17. ISO+L-Arginin grubunun akut myokard infarktüs sonrası 15.güne ait kalp dokusunda hafif dereceli atrofi bulguları (hücre boyutlarında ve nükleer boyutlarda hafif dereceli küçülme) gelişimi (HEX200)



Şekil 18. ISO+L-Arginin grubunun akut myokard infarktüs sonrası 15.güne ait kalp dokusunda kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu (Mason TrikromX200)

TARTIŞMA

Akut koroner yetmezlik, miyokardın oksijen gereksinimini karşılamaya yetecek kan dolaşımına sahip olamaması ile ortaya çıkan bir durumdur. Miyokardial hücre ve/veya hücre membranı hasara uğradığı zaman hücre içindeki enzim ve proteinlerin dolaşıma salverilmesi kaçınılmaz olur. Bunlardan özellikle kreatin kinaz, laktat dehidrojenaz, aspartat aminotransferaz, aldolaz ve troponinler klinik olarak önemlidirler (91, 92).

Neuraminik asidin açillenmiş türevleri olan sialik asidler sekresyonlarda ve hücre membranlarında glikoprotein ve glikolipidlerin karbonhidrat zincirlerinin indirgen olmayan ucunda terminal olarak bulunurlar (4, 22).

Son yıllarda, yüksek sialik asid düzeylerinin artmış kardiyovasküler mortalite ve serebrovasküler hastalıkla ilişkili kardiyovasküler bir risk faktörü olduğunu bildiren çalışmalar dikkat çekmektedir (5, 11). Miyokard infarktüslü hastaların serumunda da sialik asidin yüksek bulunduğu gösterilmiştir (8, 9). Crook ve ark. (8) TSA ve LSA düzeylerinin miyokard infarktüsünün 1., 2. ve 5. gününde yükseldiğini bildirmişlerdir. Süer Gökmen ve ark. (12) miyokard infarktüslü hastalarda infarktüsün 24. saati, 48. saati ve 72. saatinde TSA ve LSA düzeylerinde dereceli bir artışın bulunduğunu göstermişlerdir.

Mathew ve ark. (93), ISO ile deneysel miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratların serum total sialik asid düzeylerinde bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmayı destekler biçimde biz de çalışmamızda ISO grubunun deneysel akut miyokard infarktüsü modeli oluşturulduktan sonraki serum total sialik asid düzeylerini, infarktüs modeli oluşturulmadan önceki serum total sialik asid düzeylerinden anlamlı olarak daha yüksek bulduk ($p<0.02$). Benzer şekilde, ISO+L-arginin grubunun deneysel akut miyokard infarktüs modeli

oluşturulduktan sonraki serum total sialik asid düzeyleri de infarktüs öncesi serum total sialik asid düzeylerinden daha yüksekti ($p<0.02$).

Serum sialik asid düzeylerinde akut miyokard infarktüsü sonrası gözlenen artışın nedeni ile ilgili birkaç hipotez ileri sürülmüştür. Oligosakkarid yan zincirlerinin terminal pozisyonunda sialik asid kalıntıları içeren (18) akut faz proteinlerinin karaciğerden dolaşıma atılımındaki artışın akut miyokard infarktüsü sonrası serum sialik asid konsantrasyonlarında artışa yol açabileceği bildirilmiştir (8, 9). Bununla birlikte, Süer Gökmen ve ark. (94) akut miyokard infarktüsü hastalarda yaptıkları bir çalışmada seruloplazmin, $\alpha 2$ -makroglobulin ve $\alpha 1$ -antitripsin gibi sialik asidce zengin inflamasyona duyarlı proteinlerden sadece $\alpha 1$ -antitripsin ile sialik asid arasında pozitif bir korelasyon bulunduğunu göstermişlerdir. Dahası, yapısında sialik asid içermeyen bazı akut faz proteinleri ile sialik asid arasında pozitif bir korelasyonun bulunduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (8, 9). Diğer yandan, akut faz proteinlerinin yapısındaki sialik asid, proteine bağlı sialik asid fraksiyonunu temsil ettiğinden miyokard infarktüsü sonrası akut faz proteinlerinin karaciğerden dolaşıma atılımındaki artışın sadece proteine bağlı sialik asid fraksiyonunda bir artışı başlatacağı ve lipide bağlı fraksiyonu etkilemeyeceği açıktır. Bütün bunlar göz önüne alındığında, akut miyokard infarktüsünde gözlenen serum sialik asid düzeylerindeki artışta karaciğerden akut faz proteinlerinin artmış atılımının tek başına sorumlu olamayacağı son derece açıktır.

Miyokard infarktüsü sonrası gözlenen serum sialik asid düzeylerindeki artış normalde serumda bulunan glikoproteinlerin artmış sialilasyonu ile de ilişkili olabilir. Sialiltransferazlar sialik asid kalıntılarının asialoglikoproteinlerle transferinden sorumlu enzimlerdir (15) ve aterosklerozda plazma ve/veya aortik intimanın sialiltransferaz aktivitesinde bir artış bulunduğu bildirilmiştir (16).

Bununla birlikte, serum sialik asid konsantrasyonunda artışı başlatan bir diğer neden hücre membran yüzeyinden sialik asidin spontan olarak saliverilmesi veya sekresyonu da olabilir. Tümörlü hastalarda gözlenen serum sialik asid düzeylerindeki artıştan hücre yüzeyindeki sialik asid içeren glukokonjugatlardan sialik asidin spontan olarak saliverilmesinin sorumlu olabileceği bildirilmiştir (17). Diğer yandan, Süer Gökmen ve ark. (12), akut miyokard infarktüsü hastalarda infarktüsten sonraki ilk 3 günde serum total ve lipide bağlı sialik asid düzeylerinde dereceli bir artışın olduğunu, total sialik asid düzeylerindeki artış ile miyokardial hasarın belirleyicisi olan LDH artışı arasında pozitif bir korelasyon bulunduğunu ve dolayısıyla akut miyokardial infarktüste gözlenen sialik asid artışından hücre hasarına bağlı olarak sialik asidin hücre ve/veya hücre membranından

spontan olarak salıverilmesinin veya sekresyonunun sorumlu olabileceğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar bir başka çalışmalarında ise, akut miyokardial infarktüste artmış lipide bağlı sialik asid düzeylerinin hücre ve/veya hücre membranından sialik asidin spontan olarak salıverilmesinin veya sekresyonunun bir göstergesi olabileceğini ileri sürmüşlerdir (94). Diğer taraftan, Lopez Solis ve Durham (95), β -adrenerjik agonistlerin intravenöz verilisinin sıçan parotis bezi plazma membranlarının sialik asid içeriğinde önemli bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Sialoglukokonjugatlardan sialik asid kalıntılarını ayıran sialidazın (13) aktivitesindeki artış sialik asidin membrandan sekresyonunda rol oynayabilir. Sialidaz enzim aktivitesinin akut miyokardial infarktüsünde arttığı gösterilmiştir (14). ISO'nun sıçan kalp dokusundaki sialidaz aktivitesinde artışa ve total sialik asid miktarında azalmaya yol açtığı da gösterilmiştir (96). Biyolojik sistemlerde sialidaz tarafından sialik asid kalıntılarının uzaklaştırılması dolaşımdaki sialoglukokonjugatların turnoverini, reseptörler tarafından tanınmasını ve antijenik ekspresyonunu etkileyebilen önemli bir süreçtir (22).

Tertov ve ark. (97) sialik asidin desialilasyon sonucu serbest bir havuz oluşturmadığını, bunun yerine ya serbestleşmiş sialik asidin ya da düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'in yapısındaki sialik asidin plazmadaki proteinlere ve glikolipidlere transferiyle glikoprotein ve glikolipidlere bağlı hale geldiğini bildirmişlerdir. Bu nedenle hücre veya hücre membranından salıverilmiş serbest sialik asidin glikolipidlere transferi, yükselmiş lipide bağlı sialik asid düzeylerinden sorumlu tek faktördür.

Miyokardial infarktüsün patogenezi tam olarak bilinmemesine rağmen, patofizyolojik koşullarda reaktif oksijen türlerinin aşırı üretiminin kardiovasküler hastalıkların gelişiminde önemli rol oynadığını bildiren çalışmaların sayısında artış vardır (98). İskemi sonrası miyokarda reaktif oksijen türlerinin oluşumunun hızlandığı (99) ve bu moleküllerin akut inflamatuvar yanıtta ve post-iskemik doku hasarında önemli rol oynadıkları bildirilmiştir (100). Daha da önemlisi oksidatif stresin, sialidaz aktivasyonu/indüksiyonu olmaksızın hücre yüzeyindeki oligosakkaridlerden sialik asidin koparılmasını başlattığı gösterilmiştir (99). Bu çalışmalar göz önüne alındığında, miyokard infarktüsü sonrası gözlenen serum sialik asid artışında miyokardial hücredeki oksidatif hasarın da sorumlu olabileceğini ileri sürebiliriz.

Sentetik bir katekolamin olan ISO deneysel miyokard infarktüsü oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (63). ISO ile deneysel olarak oluşturulan miyokardial infarktüsteki patofizyolojik değişikliklerin insanlarda miyokard infarktüsü sonrası oluşan değişikliklere benzerlik gösterdiği bilinmektedir (64).

ISO ile oluşturulan kardiyak hasar için çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Katekolamin ile uyarılmış nekrozda, cAMP düzeylerindeki artışın (65), intrasellüler kalsiyum artışının ve yüksek enerjili fosfatların tüketilmesinin (66) önemli rol oynadığı bildirilmiştir. β adrenerjik agonistlerin hedef hücrelerdeki hücre içi cAMP düzeylerini arttırdıkları ve cAMP'yi parçalayan fosfodiesteraz enzim inhibitörlerinin bu etkiyi daha da belirginleştirdikleri gösterilmiştir (101). ISO'nun miyokardiyal hiperaktivite ve koroner hipotansiyon nedeniyle iskemi ve hipoksi oluşturduğu (102) ve sitozolde Ca^{+2} artışı ile miyokardiyal iskemiye uyardığı (103) bildirilmiştir. Li ve ark. (104) tarafından yapılan bir çalışmada ISO ile oluşturulmuş miyokardiyal hasara, koroner hipotansiyon ve ardından oluşan miyokardiyal hiperaktivite sonrasında gereksinim duyulan oksijenin sağlanamamasının neden olabileceği gösterilmiştir. Bir başka çalışmada katekolaminlerin artan oksidatif metabolizmasından kaynaklanan aşırı radikal üretiminin miyokardiyal iskemiye neden olduğu rapor edilmiştir (105). Katekolaminlerin otooksidasyonu sonucu oluşan oldukça sitotoksik radikallerin de kardiyak hasarın en önemli nedeni olduğu gösterilmiştir (106). Katekolaminler tarafından uyarılan miyokardiyal nekrozun patogenezi multifaktöryel olmasına rağmen oksidatif stresin major rol oynadığı kabul edilmektedir (67, 68).

Yarı esansiyel ve bazik bir amino asid olan L-arginin, hem üre siklusu enzimi olan arjinazın hem de NO üretiminden sorumlu NOS'in substratıdır. NO'in damar regülasyonu ve immunmodülasyon gibi önemli biyolojik etkilere sahip olduğu bilinmektedir (107). L-argininden hücrede nitrik oksid sentaz aracılığı ile oluşan NO'nun ISO ile oluşturulmuş kardiyak hasarı önleyebildiği gösterilmiştir (19).

Akut miyokard infarktüsü sonrasında serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan eğer miyokardiyal hücrenin oksidatif hasarı sorumlu ise, oksidatif hücre hasarını önleyici etkiye sahip NO'nun sentezinde öncül madde olan L-arginin verilmesinin miyokard infarktüsü sonrası gözlenen total sialik asid düzeylerindeki artışı önlemesini bekleyebiliriz.

Mathew ve ark. (93) tarafından ISO ile miyokard infarktüsü oluşturulmuş sıçanların serum ve kalp dokusu total sialik asid düzeylerinde bir artış olduğu, yağ asidlerinin okside olmak üzere mitokondriye taşınmasında rol oynayan karnitin verilmesinin ise miyokarda nekrozu büyük ölçüde önlediği ve sialik asid düzeylerindeki artışı azalttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte literatürde ISO ile deneysel miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratların serum total sialik asid düzeylerine L-argininin etkisini araştıran bir çalışmaya rastlayamadık.

Bu çalışmada, oksidatif stresin önemli rol oynadığı isoproterenol ile oluşturulmuş infarktüs modelinde, L-argininin serum ve doku total sialik asid düzeylerine etkisi incelenerek

miyokard infarktüsünde gözlenen sialik asid artışında oksidatif hücre hasarının rolü irdelenmiştir.

Çalışmamızda deneysel akut miyokard infarktüsü modeli oluşturmadan önce ISO grubu ile ISO+L-arginin grubu arasında serum total sialik asid düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Deneysel akut miyokard infarktüsü oluşturulduktan sonra hem ISO grubunun hem de ISO+L-arginin grubunun serum total sialik asid düzeylerinde önemli bir artış olmakla birlikte, ISO+L-arginin grubunun serum total sialik asid düzeylerindeki artış ISO grubuna göre daha azdı ($p<0.05$). ISO+L-arginin grubundaki ratların serum total sialik asid düzeylerindeki artışın ISO grubundaki ratlara göre daha az olduğu bulgusu L-argininin ISO ile indüklenen oksidatif hasara karşı miyokardı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu gösteren önemli bir bulgudur ve Mathew ve ark (93)'nın çalışmasını desteklemektedir. Bu bulgunun aynı zamanda, miyokard infarktüsü sonrası serum sialik asid düzeylerinde gözlenen değişimde oksidatif hücre hasarının da rolü olabileceğini gösteren önemli bir bulgu olduğuna inanıyoruz. L-Arginin, miyokardial hücrede oksidatif hasarı azaltarak hücre ve/veya hücre membranından sialik asid salıverilmesini azaltmış olabilir.

Oksidatif hasara bağlı olarak miyokardial hücre ve/veya hücre membranından dolaşıma sialik asidin salıverilmesi durumunda myokardial dokunun sialik asid düzeyinde de bir azalma beklenir. Çalışmamızda ISO+L-arginin grubunun doku total sialik asid düzeyleri ISO grubuna göre biraz daha yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak bir fark yoktu ($p>0.05$). Bununla birlikte, histopatolojik inceleme ISO+L-arginin grubundaki ratların kalp dokusunda, ISO grubundaki ratlara göre miyokard infarktüsü ile uyumlu daha hafif değişikliklerin gerçekleştiğini ortaya koydu. ISO grubundaki ratların 15. güne ait kalp dokusunda miyokard infarktüsünü destekler şekilde kaslarda belirgin atrofi, kas demetleri arasında hafif dereceli inflamasyon ve bu inflamasyona eşlik eden, kalp kasları arasına giren fibrotik değişiklikler görüldü. Oysa, ISO+L-arginin grubundaki ratların kalp dokusunda hafif dereceli atrofi bulguları (hücre boyutlarında ve nükleer boyutlarda hafif dereceli küçülme) ve kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu gelişimi izlendi.

Çalışmamızda ISO+L-arginin grubundaki ratların kalp dokusunda miyokard infarktüsü lehine daha hafif değişikliklerin mevcut olduğu bulgusu da L-arginin'in ISO ile indüklenen oksidatif hasara karşı miyokardı koruyucu bir etkiye sahip olduğu düşüncesini desteklemektedir.

ISO'nun sıçan kalbinde artmış oksidatif strese yol açtığını ve antioksidan moleküllerin verilmesinin miyokardial nekrozu azalttığını kanıtlayan birçok çalışma mevcuttur. Antioksidan özelliklere sahip çiğ sarımsağın uzun süre kullanılmasının ISO ile uyarılan miyokardial nekroza karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (67). Benzer şekilde, antioksidan özelliklere sahip bitkisel

bir madde olan Ocimum sanctum'un ISO ile deneysel miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratlarda hasara karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (108). Taurinin de ISO ile uyarılmış miyokardial infarktüste koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (87). Diğer yandan, Kızıltepe ve ark. (109) koroner arter bypass graft ameliyatı esnasında L-argininden zengin non-kardioplejik kan ile kontrollü reperfüzyonun NO düzeylerini artırarak serbest oksijen radikallerinin aracılık ettiği miyokardial hasarı azalttığını göstermişlerdir.

Çalışmamız, (a) ISO ile deneysel miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratların serum total sialik asid düzeylerinde önemli bir artış olduğunu ve (b) L-arginin verilmesinin ratlarda ISO ile uyarılan miyokardial hasarı önleyerek serum total sialik asid düzeylerindeki artışı azalttığını göstermiştir. ISO ile uyarılmış miyokardial infarktüste gözlenen serum total sialik asid artışında birden fazla faktörün rolü olabilir; sialik asidden zengin akut faz proteinlerinin atılımındaki artış, sialik asid sentezindeki artış veya hücre ve/veya hücre membranından sialik asidin spontan olarak veya sialidaz aracılığı ile saliverilmesi gibi. Bununla birlikte, ISO ile uyarılan miyokardial infarktüste oksidatif stres önemli rol oynadığından serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen bu artıştan oksidatif hasar nedeniyle hücre ve/veya hücre membranından sialik asidin saliverilmesi de sorumlu olabilir. Hücrede oksidatif hasarı önleyen NO üretimi için öncül madde olan L-argininin ISO ile uyarılan miyokardial infarktüste serum total sialik asid düzeylerindeki artışı azaltması miyokard infarktüsü sonrası serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan oksidatif hasarın sorumlu olabileceğini kanıtlayan önemli bir bulgudur.

Sonuç olarak, akut miyokard infarktüsü sonrası serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan miyokardial hücredeki oksidatif hasarın da sorumlu olabileceğini söyleyebiliriz.

SONUÇLAR

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

1. Akut miyokard infarktüs modeli oluşturulmadan önce ISO grubu ile ISO+L-arginin grubu arasında serum total sialik asid düzeyleri bakımından anlamlı bir fark olmadığı;

2. Akut miyokard infarktüs modeli oluşturulduktan sonra ISO grubunun serum total sialik asid düzeylerinin, infarktüs modeli oluşturulmadan önceki serum total sialik asid düzeylerinden daha yüksek olduğu;

3. Akut miyokard infarktüs modeli oluşturulduktan sonra ISO+L-arginin grubunun serum total sialik asid düzeylerinin infarktüs modeli oluşturulmadan önceki serum total sialik asid düzeylerinden daha yüksek olduğu;

4. Akut miyokard infarktüs modeli oluşturulduktan sonra ISO+L-arginin grubunun total sialik asid düzeylerinin, ISO grubunun serum total sialik asid düzeylerinden daha düşük olduğu;

5. Akut miyokard infarktüs modeli oluşturulduktan sonra ISO grubu ile ISO+L-arginin grubunun doku total sialik asid düzeyleri arasında fark olmadığı;

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

7. İsoproterenol ile deneysel olarak miyokard infarktüsü oluşturulmuş ve L-arginin verilmiş ratların 15. güne ait rat kalp dokusunun histopatolojik incelemesi sonucunda hafif dereceli atrofi bulguları (hücre boyutlarında ve nükleer boyutlarda hafif dereceli küçülme) ve kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu gelişiminin olduğu görüldü.

Çalışmamız, (a) ISO ile deneysel miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratların serum total sialik asid düzeylerinde önemli bir artış olduğunu ve (b) L-arginin verilmesinin ratlarda ISO ile uyarılan miyokardial hasarı önleyerek serum total sialik asid düzeylerindeki artışı azalttığını göstermiştir. Hücrede oksidatif hasarı önleyen NO üretimi için öncül madde olan L-argininin ISO ile uyarılan miyokardial infarktüste serum total sialik asid düzeylerindeki artışı azaltması miyokard infarktüsü sonrası serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan oksidatif hasarın sorumlu olabileceğini kanıtlayan önemli bir bulgudur. Sonuç olarak, akut miyokard infarktüsü sonrası serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan miyokardial hücredeki oksidatif hasar sorumlu olabilir.

ÖZET

Sialik asidin artmış düzeylerinin kardiyovasküler mortalite ve serebrovasküler hastalıkla ilişkili bir kardiyovasküler risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür. Akut miyokard infarktüsünden sonra da serum sialik asid düzeylerinde bir yükselme olduğu bildirilmiş ancak yükselmenin nedeni tam olarak aydınlatılamamıştır. Akut miyokard infarktüsünden sonra gözlenen serum sialik asid düzeylerinin artışında sialik asidin hücre ve/veya hücre membran yüzeyinden dolaşıma spontan olarak sekresyonu veya sialidaz aracılığıyla salınmasının rolü olabileceği bildirilmiştir. Patofizyolojik koşullarda reaktif oksijen türlerinin aşırı üretiminin kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle, akut miyokard infarktüsü sonrasında serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan oksidatif hücre hasarı da sorumlu olabilir ve oksidatif hasarı önleyici etkiye sahip NO'nin sentezinde öncül madde olan L-arginin verilmesi miyokard infarktüsü sonrası gözlenen total sialik asid düzeylerindeki artışı azaltabilir. Bu çalışmada isoproterenol ile deneysel olarak miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratlarda L-argininin serum ve doku total sialik asid düzeylerine etkisi incelenerek miyokard infarktüsünde gözlenen sialik asid artışında oksidatif hücre hasarının rolü irdelenmiştir.

Çalışmada 16 adet sağlıklı, yetişkin, erkek, Wistar albino rat eşit sayıda 2 gruba bölündü: ISO grubu ve ISO+L-arginin grubu. ISO; intraperitoneal yoldan 150 mg/kg/gün olacak şekilde 24 saat arayla 2 kez uygulandı. L-arginin; oral yoldan 250 mg/kg/gün olacak şekilde 5 gün süreyle verildi. ISO grubundan ve ISO+L-arginin grubundan rastgele seçilen birer rat 2. haftanın sonunda anestezisi altında sakrifiye edilerek histopatolojik olarak incelendi. Deneye başlamadan önce ve ikinci ISO dozundan 24 saat sonra olmak üzere 2 defa anestezisi altında periferik venöz kan örneği alınarak ratlar sakrifiye edildi ve kalp dokuları çıkarıldı.

ISO uygulanması her iki grubun da serum total sialik asid düzeylerinde önemli bir artışa yolaçtı (her iki grup için $p<0.02$). Bununla birlikte, ISO+L-arginin grubunun serum total sialik asid düzeylerindeki artış ISO grubuna göre daha azdı ($p<0.05$). Akut miyokard infarktüsü sonrası ISO grubu ile ISO+L-arginin grubunun arasında doku total sialik asid düzeyleri bakımından fark yoktu ($p>0.05$). Bununla birlikte, histopatolojik inceleme ISO+L-arginin grubundaki ratların kalp dokusunda, ISO grubundaki ratlara göre miyokard infarktüsü ile uyumlu daha hafif değişikliklerin gerçekleştiğini ortaya koydu.

Çalışmamız, (a) ISO ile deneysel miyokard infarktüsü oluşturulmuş ratların serum total sialik asid düzeylerinde önemli bir artış olduğunu ve (b) L-arginin verilmesinin ratlarda ISO ile uyarılan miyokardial hasarı önleyerek serum total sialik asid düzeylerindeki artışı azalttığını göstermiştir. Hücrede oksidatif hasarı önleyen NO üretimi için öncül madde olan L-argininin ISO ile uyarılan miyokardial infarktüste serum total sialik asid düzeylerindeki artışı azaltması miyokard infarktüsü sonrası serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan oksidatif hasarın sorumlu olabileceğini kanıtlayan önemli bir bulgudur.

Sonuç olarak, akut miyokard infarktüsü sonrası serum total sialik asid düzeylerinde gözlenen artıştan miyokardial hücredeki oksidatif hasar da sorumlu olabilir.

Anahtar kelimeler: Total sialik asid, L-arginin, isoproterenol, akut miyokard infarktüsü.

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

SUMMARY

It has been proposed that sialic acid is cardiovascular risk factor with elevated levels associated with increased cardiovascular mortality and also with cerebrovascular disease. It has also been reported that there is an elevation in serum sialic acid levels but the reason for this elevation remains obscure. The shedding (a spontaneous release) or secreting (by sialidase) of sialic acid from the cell or cell membrane surface have been reported to be responsible for the elevated sialic acid levels in acute myocardial infarction.

It is known that overproduction of reactive oxygen species under pathophysiological conditions play an important role in the development of cardiovascular atherosclerotic disease. Therefore, oxidative cell damage may also be responsible for the elevated sialic acid levels in acute myocardial infarction and administration of L-arginin, the precursor in the synthesis of NO which has been proved to possess significant cardioprotective properties against to oxidative injury may reduce the increase in sialic acid levels in myocardial infarction. In the present study, we investigated the effect of L-arginin on serum and tissue total sialic acid levels in experimentally induced myocardial infarction by isoproterenol and evaluated the role of oxidative cell damage in the elevation of sialic acid levels in myocardial infarction.

Sixteen adult male albino rats of Wistar strain divided into 2 groups for the experiment: ISO group and ISO+L-arginin group. ISO was given intraperitoneally (150 mg/kg) twice at an interval of 24 h. L-Arginin was given orally (250 mg/kg/day) for 5 days.

One rat from each group was chosen haphazardly and sacrificed on day 15 after the second dose of ISO for histopathological investigation. Blood samples for the determination of total sialic acid were obtained from the other rats under anesthesia before and after the experimental period. These 14 rats were sacrificed after the second dose of ISO. Serum TSA was determined using the thiobarbituric acid method described by Warren.

ISO administration caused a marked elevation in serum total sialic acid levels in each groups ($p < 0.02$ for both) but the increase in serum total sialic acid levels of ISO+L-arginin group was lower than that of ISO group ($p < 0.05$). There was no difference between tissue total sialic acid levels of ISO group and ISO+L-arginin group after myocardial infarction ($p > 0.05$). However, histopathological examinations of the myocardial tissues of rats revealed that the changes confirming myocardial infarction in ISO+L-arginin group were smaller than those in ISO group.

The present study showed that (a) there is a marked elevation in serum total sialic acid levels in ISO-induced myocardial infarction and, (b) L-arginin treatment reduces the elevation of serum total sialic acid levels by preventing myocardial damage induced by ISO. The reducing effect of L-arginin, the precursor in the synthesis of NO which has been proved to possess significant cardioprotective properties against to oxidative injury, on the increase in sialic acid levels in ISO-induced myocardial infarction is an important observation indicating that oxidative damage may be responsible for the elevated serum total sialic acid levels in myocardial infarction.

As a result, we can report that oxidative damage in myocardial cell may also be responsible for the elevated serum total sialic acid levels in myocardial infarction.

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

KAYNAKLAR

1. Eliot MA, Braunwald E (Çeviri: A.Birand). Akut miyokard infarktüsü. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (Eds). Harrison İç Hastalıkları Prensipleri'nde. 1. Cilt , 15. Baskı , İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi;2004:p.1383-7
2. Ng SS, Dain JA. Biological roles of sialic acid. In: Rosenberg A, Schengrund CL (Eds.). Biochemistry. New York: Plenum;1976:p. 59-102.
3. Schauer R, Kelm S, Reuter G, Roggentin P, Shaw L. Biochemistry and role of sialic acids. In: Rosenberg A (Ed.). Biology of Sialic Acids. Chapter 2. New York: Plenum Pres; 1995: p.7-67.
4. Schauer R. Sialic acids and their role as biological masks. Trends Biochem Sci 1985; 10:357-60.
5. Allain P, Olivier E, Le Bouil A, Benoit C, Geslin P, Tadei A. Increase of sialic acid concentration in the plasma of patients with coronary disease. Presse Med 1996;25(3):96-8.
6. Lindberg G, Eklund GA, Gullberg B, Rastam L. Sialic acid and cardiovascular mortality.BMJ 1991;302(6785):1154.
7. Watts GF, Crook MA, Haq S, Mandalia S. Serum sialic acid as an indicator of change in coronary artery disease. Metabolism 1995;44(2):147-8.
8. Crook M, Haq M, Haq S, Tutt P. Plasma sialic acid and acute-phase proteins in patients with myocardial infarction. Angiology 1994;45(8):709-15.

9. Haq M, Haq S, Tutt P, Crook M. Serum total sialic acid and lipid-associated sialic acid in normal individuals and patients with myocardial infarction, and their relationship to acute phase proteins. *Ann Clin Biochem* 1993;30(Pt 4):383-6.
10. Lindberg G, Rastam L, Gullberg B, Eklund GA, Tornberg S. Serum sialic acid concentration and smoking: a population based study. *BMJ* 1991;303(6813):1306-7.
11. Lindberg G, Rastam L, Gullberg B, Eklund GA. Serum sialic acid concentration predicts both coronary heart disease and stroke mortality: multivariate analysis including 54,385 men and women during 20.5 years follow-up. *Int J Epidemiol* 1992;21(2):253-7.
12. Süer Gökmen S, Kilicli G, Özçelik F, Gulen S. Serum total and lipid-bound sialic acid levels following acute myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med* 2000;38(12):1249-55.
13. Miyagi T, Tsuki S. Purification and characterization of cytosolic sialidase from rat liver. *J Biol Chem* 1985;260(11):6710-6.
14. Hanson VA, Shettigar UR, Loungani RR, Nadijeka MD. Plasma sialidase activity in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1987;114(1 Pt 1):59-63.
15. Broquet P, Baubichon-Cortay H, George P, Louisot P. Glycoprotein sialyltransferases in eucaryotic cells. *Int J Biochem* 1991;23(4):385-9.
16. Gracheva EV, Samovilova NN, Golovanova NK, Il'inskaya OP, Tararak EM, Malyshev PP et al. Sialyltransferase activity of human plasma and aortic intima is enhanced in atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2002;1586(1):123-8.
17. Singhal A, Hakomori S. Molecular changes in carbohydrate antigens associated with cancer. *Bioessays* 1990;12(5):223-30.
18. Taniuchi K, Chifu K, Hayashi N, Nakamachi Y, Yamaguchi N, Miyamoto Y et al. A new enzymatic method for the determination of sialic acid in serum and its application for a marker of acute phase reactants. *Kobe J Med Sci* 1981;27(3):91-102.
19. Ebenezar KK, Sathish V, Devaki T. Effect of L-arginine and L-lysine on lysosomal hydrolases and membrane bound phosphatases in experimentally induced myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem* 2003;247(1-2):163-9.
20. Sialic acid. <http://www.steve.gb.com/science/molecules.html>
21. Waters PJ, Lewry E, Pennock CA. Measurement of sialic acid in serum and urine: clinical applications and limitations. *Ann Clin Biochem* 1992;29 (Pt 6):625-37.

22. Schauer R. Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acids. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 1982;40:131-234.
23. Friedman J, Levinsky H, Allalouf D, Staroselsky A. Sialic acid content in mouse myeloma cells and derived B-cell hybridomas with different metastatic potentials. *Cancer Lett* 1988;43(1-2):79-84.
24. Jaques LW, Brown EB, Barrett JM, Brey WS Jr, Weltner W Jr. Sialic acid. A calcium-binding carbohydrate. *J Biol Chem* 1977;252(13):4533-8.
25. Traving C, Schauer R. Structure, function and metabolism of sialic acids. *Cell Mol Life Sci* 1998;54(12):1330-49.
26. NANA. <http://www.siu.edu/~cdemeo/>
27. Mayes PA (Çeviri: G.Menteş). Pentoz fosfat yolu ve heksoz metabolizmasının diğer yolları. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW (Editörler). Harper'in Biyokimyası'nda. İstanbul: Barış Kitabevi; 1993:237-48.
28. Kelm S, Schauer R. Sialic acids in molecular and cellular interactions. *Int Rev Cytol* 1997;175:137-240.
29. Fingerhut R, van der Horst GT, Verheijen FW, Conzelmann E. Degradation of gangliosides by the lysosomal sialidase requires an activator protein. *Eur J Biochem* 1992;208(3):623-9.
30. Miyagi T, Hata K, Konno K, Tsuiki S. Multiple forms of mammalian sialidase: altered expression in carcinogenesis. *Tohoku J Exp Med* 1992;168(2):223-9.
31. Ponnio M, Alho H, Nikkari ST, Olsson U, Rydberg U, Sillanauke P. Serum sialic acid in a random sample of the general population. *Clin Chem* 1999;45(10):1842-9.
32. Crook M. The determination of plasma or serum sialic acid. *Clin Biochem* 1993;26(1):31-8.
33. Soupart P, Clewe TH. Sperm penetration of rabbit zona pellucida inhibited by treatment of ova with neuraminidase. *Fertil Steril* 1965;16(5):677-89.
34. Jancik J, Schauer R, Streicher HJ. Influence of membrane-bound N-acetylneuraminic acid on the survival of erythrocytes in man. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1975;356(8):1329-31.
35. Calatroni A, Cordaro V, Salpietro C, Barberi I. Erythrocyte membrane sialic acid in new-born infants. *Acta Haematol* 1984;71(3):198-203.
36. Harding SE, Halliday J. Removal of sialic acid from cardiac sarcolemma does not affect contractile function in electrically stimulated guinea pig left atria. *Nature* 1980;286(5775):819-21.

37. Schauer R. Sialic acids as antigenic determinants of complex carbohydrates. *Adv Exp Med Biol* 1988;228:47-72.
38. Kelley LK, King BF, Johnson LW, Smith CH. Protein composition and structure of human placental microvillous membrane. External surface, sialic acid containing, extrinsic and intrinsic components. *Exp Cell Res* 1979;123(1):167-76.
39. Bauer PH, Cui C, Liu R, Stehle T, Harrison SC, DeCaprio JA et al. Discrimination between sialic acid-containing receptors and pseudoreceptors regulates polyomavirus spread in the mouse. *J Virol* 1999;73(7):5826-32.
40. Kokoglu E, Suer S, Ozyurt E, Siyahhan A, Sonmez H. Plasma fibronectin and sialic acid levels in various types of human brain tumors. *Cancer Biochem Biophys* 1995;15(1):35-40.
41. Suer S, Sonmez H, Karaaslan I, Baloglu H, Kokoglu E. Tissue sialic acid and fibronectin levels in human prostatic cancer. *Cancer Lett* 1996;99(2):135-7.
42. Stefenelli N, Klotz H, Engel A, Bauer P. Serum sialic acid in malignant tumors, bacterial infections, and chronic liver diseases. *J Cancer Res Clin Oncol* 1985;109(1):55-9.
43. Bhatavdekar JM, Vora HH, Patel DD. Serum sialic acid forms as markers for head and neck malignancies. *Neoplasma* 1988;35(4):425-34.
44. Dnistrian AM, Schwartz MK, Katopodis N, Fracchia AA, Stock CC. Serum lipid-bound sialic acid as a marker in breast cancer. *Cancer* 1982;50(9):1815-9.
45. Gavella M, Lipovac V, Sverko V, Hadzija M. Erythrocyte sialic acid alterations in experimental diabetes. *Cell Mol Biol* 1985;31(2):75-80.
46. Ozben T. Elevated serum and urine sialic acid levels in renal diseases. *Ann Clin Biochem* 1991;28 (Pt 1):44-8.
47. Cook GMV. Techniques for the analysis of membrane carbohydrates. In: Maddy AH (Ed.). *Biochemical analysis of membranes*. London: Wiley and Sons; 1976:p.287-300.
48. Langer GA, Frank JS, Nudd LM, Seraydarian K. Sialic acid: effect of removal on calcium exchangeability of cultured heart cells. *Science* 1976;193(4257):1013-5.
49. Sprague EA, Moser M, Edwards EH, Schwartz CJ. Stimulation of receptor-mediated low density lipoprotein endocytosis in neuraminidase-treated cultured bovine aortic endothelial cells. *J Cell Physiol* 1988;137(2):251-62.
50. Tapiero H, Mathe G, Couvreur P, Tew KD. I. Arginine. *Biomed Pharmacother* 2002;56(9):439-45.

51. Arginin. <http://www.potenzmittel-scout.com/arginin.html>
52. Arginin. <http://imgt.cine444s.fr/.../UK/aminoacids/TABLE-AA/>
53. Pau MY, Milner JA. Arginine deficiency during gestation and lactation in the rat. *J Nutr* 1981;111(1):184-93.
54. Strayer L. Biosynthesis of amino acids and heme, In: *Biochemistry* . 4th ed. New York: WH Freeman and Company; 1996:p.7-52.
55. Bernard AC, Fitzpatrick EA, Maley ME, Gellin GL, Tsuei BJ, Arden WA, Boulanger BR, Kearney PA, Ochoa JB. Beta adrenoceptor regulation of macrophage arginase activity. *Surgery* 2000;127(4):412-8.
56. Ash DE. Structure and function of arginases. *J Nutr* 2004;134(10 Suppl):2760S-2764S.
57. Remesar X, Arola L, Palou A, Alemany M. Arginase activity during pregnancy and lactation. *Horm Metab Res* 1984;16(9):468-70.
58. Rodvell VW (Çeviri: G.Menteş, B.Ersöz). Proteinlerin ve aminoasit azotunun katabolizması. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodvell VW (Eds.). *Harper'in Biyokimyası'nda*. 22. Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi; 1993;382-94.
59. Tipnis UR, He GY, Li S, Campbell G, Boor PJ. Attenuation of isoproterenol-mediated myocardial injury in rat by an inhibitor of polyamine synthesis. *Cardiovasc Pathol* 2000;9(5):273-80.
60. Loscalzo J. L-arginine and atherothrombosis. *J Nutr* 2004;134(10 Suppl):2798S-2800S.
61. İsoproterenol. <http://www.en.wikipedia.org/wiki/Image:isoproterenol.prg>
62. İsoproterenol.
<http://www.chemsoc.org/exemplarchem/entries/2001/mohataren/Files/isoprot.gif>
63. Benjamin IJ, Jalil JE, Tan LB, Co K, Weber KT, Clarc WA. Isoproterenol-induced myocardial fibrosis in relation to myocyte necrosis. *Circ Res* 1989;65:657-70.
64. Stelzner TJ, Welsh CH, Berger E, McCullough RG, Morris K, Repine JE, Weil JV. Antiarrhythmic agents diminish thiourea-induced pulmonary vascular protein leak in rats. *J Appl Physiol* 1987;63(5):1877-83.
65. Bhagat B, Sullivan JM, Fischer VW, Nadel EM, Dhalla NS. cAMP activity and isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab* 1976;12:465-70.

66. Fleckenstein A, Janke J, Doring HJ, Leder O. Myocardial fiber necrosis due to intracellular Ca overload-a new principle in cardiac pathophysiology. *Recent Adv Stud Cardiac Struct Metab* 1974;4:563-80.
67. Banerjee SK, Sood S, Dinda AK, Das TK, Maulik SK. Chronic oral administration of raw garlic protects against isoproterenol-induced myocardial necrosis in rat. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003;136(4):377-86.
68. Kumari SS, Menon VP. Changes in levels of lipid peroxides and activities of superoxide dismutase and catalase in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Indian J Exp Biol* 1987;25(6):419-23.
69. Guyton AC, MD (Çeviri: N.Gökhan, H.Çavuşoğlu). *Tıbbi Fizyoloji*. 7. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1986:423-30
70. Maseri A, Lanza GA, Sanna T, Rigattieri S (Çeviri: Y.Güneş). Koroner kan akımı ve miyokard iskemisi. Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA (Eds). In: *Hurst's The Heart*. 10. Baskı. 3. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2002:1109-1130.
71. Feigl EO, Schaper W (Çeviri: T.Ülker). Koroner dolaşımın fizyolojisi. Crawford MH, DiMarco JP (Eds). *Kardiyoloji'de*. 1. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2003:1-8.
72. Hansson GK, Nilsson J (Çeviri: T.Ülker). Aterosklerozun patogenezi. Crawford MH, DiMarco JP (Eds). *Kardiyoloji'de*. 1. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2003:1-12.
73. Berkov R (Çeviri: M.Tuzcu). Kalp damar hastalıkları. *The Merck Manual Tanı/Tedavi El Kitabı*. 16. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 1995:365-594.
74. Davies MJ (Çeviri: Y.Güneş). Koroner ateroskleroz patolojisi. Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA (Eds). *Hurst's The Heart*. 10. Baskı. 3. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2002:1095-1108.
75. Jamrozik K (Çeviri: T.Ülker). Aterosklerotik hastalığın epidemiyolojisi. Crawford MH, DiMarco JP (Eds). *Kardiyoloji'de*. 1. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2003:1-14.
76. Jaffe AS, Davidenko J (Çeviri: T.Ülker). Akut miyokard iskemisi ve enfarktüsün tanısı. Crawford MH, DiMarco JP (Eds). *Kardiyoloji'de*. 1. Baskı. 1. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2003:1-19.

77. Alexander RW, Pratt CM, Ryan TJ (Çeviri: E.Kaynak). Akut miyokard infarktüsülü hastaların tanı ve tedavisi. Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA (Eds). Hurst's The Heart. 10. Baskı. 3. Cilt. İstanbul: AND Danışmanlık Yayıncılık Ltd Şti; 2002:1275-1360.
78. Demiroğlu C. Koroner Kalp Hastalıkları Tıbbi Tedavisi'nde. 4. baskı İstanbul: Florence Nighthingale Hastanesi; 2000:59-151.
79. Adams JE 3rd, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation* 1993;88(2):750-63.
80. Adams JE 3rd, Miracle VA. Cardiac biomarkers: past, present, and future. *Am J Crit Care* 1998;7(6):418-23; quiz 424-5.
81. Apple FS, Henderson AR. Cardiac function. In: Burtis CA, Ashwood ER (Eds.). *Tietz Text Book of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company;1999,p.630-7.
82. Solano RJ, Rarick HM. Troponin and tropomyosin: proteins that switch on and tune in the activity of cardiac myofilaments. *Circ Res* 1998;83:471-80.
83. Ingram L. Cardiac function. In: Mc Grew L (Ed.). *Clinical Chemistry Principles, Procedures, Correlations*. 4th ed. Tokyo:Lippincott Williams&Wilkins; 2000: p.423-39.
84. Pincus MR, Zimmerman HJ, Henry JB. Clinical enzymology. In: Henry JB(Ed.). *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*.19th ed. Philadelphia:W.B. Saunders Company;1996:p.268-95.
85. Luscher MS, Thygesen K, Ravkilde J, Heickendorff L. Applicability of cardiac troponin T and I for early risk stratification in unstable coronary artery disease. TRIM Study Group. Thrombin Inhibition in Myocardial ischemia. *Circulation* 1997;96(8):2578-85.
86. Hillis GS, Fox KA. Cardiac troponins in chest pain can help in risk stratification. *BMJ* 1999;319(7223):1451-2.
87. Shiny KS, Kumar SH, Farvin KH, Anandan R, Devadasan K. Protective effect of taurine on myocardial antioxidant status in isoprenaline-induced myocardial infarction in rats. *J Pharm Pharmacol* 2005;57(10):1313-7.
88. Sathish V, Ebenezer KK, Devaki T. Biochemical changes on the cardioprotective effect of nicorandil and amlodipine during experimental myocardial infarction in rats. *Pharmacol Res* 2003;48(6):565-70.

89. Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J Biol Chem* 1959;234(8):1971-5.
90. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193(1):265-75.
91. Chapman JF, Christenson RH, Silverman LM. Cardiac and muscle disease. In : Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Biochemistry*. 3rd ed. USA: Mosby; 1996: p.593-612.
92. Melanson SF, Tanasijevic MJ. Laboratory diagnosis of acute myocardial injury. *Cardiovasc Pathol* 2005;14(3):156-61.
93. Mathew S, Menon PV, Kurup PA. Effect of administration of carnitine on the severity of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1986;64 (Pt 1):79-87.
94. Suer Gokmen S, Kazezoglu C, Sunar B, Ozcelik F, Gungor O, Yorulmaz F ve ark. Relationship between serum sialic acids, sialic acid-rich inflammation-sensitive proteins and cell damage in patients with acute myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med* 2006;44(2):199-206.
95. Lopez Solis RO, Durham JP. Purification of plasma membranes from mouse parotid gland and membrane reorganization in response to isoproterenol. *Biochim Biophys Acta* 1983;729(2):237-48.
96. Saito M, Sakiyama K, Shiota T, Ito M. Isoproterenol produces a rapid increase in sialidase activity in rat heart tissue and cardiomyocyte-derived H9c2 cells in culture. *FEBS Lett* 2003;542(1-3):105-8.
97. Tertov VV, Kaplun VV, Sobenin IA, Orekhov AN. Low-density lipoprotein modification occurring in human plasma possible mechanism of in vivo lipoprotein desialylation as a primary step of atherogenic modification. *Atherosclerosis* 1998;138(1):183-95.
98. Singh U, Jialal I. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology* 2006;13(3):129-42.
99. Eguchi H, Ikeda Y, Ookawara T, Koyota S, Fujiwara N, Honke K et al. Modification of oligosaccharides by reactive oxygen species decreases sialyl lewis x-mediated cell adhesion. *Glycobiology* 2005;15(11):1094-101.
100. Lefter DJ, Granger DN. Oxidative stress and cardiac disease. *Am J Med* 2000;109(4):315-23.
101. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995;75(4):725-48.

102. Yeager JC, Iams SG. The hemodynamics of isoproterenol-induced cardiac failure in the rat. *Circ Shock* 1981;8(2):151-63.
103. Bloom S, Davis DL. Calcium as mediator of isoproterenol-induced myocardial necrosis. *Am J Pathol* 1972;69(3):459-70.
104. Li Z, Tran TT, Ma JY, O'Young G, Kapoun AM, Chakravarty S et al. p38 alpha mitogen-activated protein kinase inhibition improves cardiac function and reduces myocardial damage in isoproterenol-induced acute myocardial injury in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004;44(4):486-92.
105. Singal PK, Beamish RE, Dhalla NS. Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. *Adv Exp Med Biol* 1983;161:391-401.
106. Bors W, Michael C, Saran M, Lengfelder E. The involvement of oxygen radicals during the autooxidation of adrenalin. *Biochim Biophys Acta* 1978;540:162-72.
107. Parratt JR. Nitric oxide in sepsis and endotoxaemia. *J Antimicrob Chemother* 1998;41 Suppl A:31-9.
108. Sharma M, Kishore K, Gupta SK, Joshi S, Arya DS. Cardioprotective potential of ocimum sanctum in isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem* 2001;225(1-):75-83.
109. Kiziltepe U, Eyiletlen ZB, Uysalel A, Akalin H. Acute pulmonary hypertensive crisis after TAPVC repair treated with atrial septectomy with inflow occlusion. Total anomalous pulmonary venous connection. *Int J Cardiol* 2003;87(1):107-9.

RESİMLEMELER LİSTESİ

Şekiller

1. Sialik asidin lineer ve piranoz formu.....	3
2. NANA'in oligosakkarid zincirinde $\alpha(2\rightarrow3)$ ve $\alpha(2\rightarrow6)$ bağ durumu.....	4
3. Sialik asid ve glikoprotein sentezi.....	6
4. Argininin L ve D izomerleri.....	11
5. L-argininin metabolik yolları.....	12
6. Argininden poliamin sentezi.....	12
7. Adrenalin ve isoproterenolün yapısal benzerliği.....	14
8. Total sialik asid standart grafiği.....	24
9. Albumin standard grafiği.....	25
10. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI öncesi serum total sialik(TSA) düzeylerinin karşılaştırılması.....	30
11. ISO grubundaki sıçanların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması.....	30
12. ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması.....	31
13. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI dönemi dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması.....	31
14. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI dönemi doku total sialik asid (TSA) düzeylerinin karşılaştırılması.....	32

15. ISO grubunun akut myokard infarktüs sonrası 15.güne ait kalp dokusunda kaslarda belirgin atrofi, kas demetleri arasında hafif dereceli inflamasyon.....	33
16. ISO grubunun akut myokard infarktüs sonrası 15.güne ait kalp dokusunda kalp kasları arasına giren bağ dokusu.....	34
17. ISO+L-Arginin grubunun akut myokard infarktüs sonrası 15.güne ait kalp dokusunda hafif dereceli atrofi bulguları (hücre boyutlarında ve nükleer boyutlarda hafif dereceli küçülme) gelişimi.....	35
18. ISO+L-Arginin grubunun akut myokard infarktüs sonrası 15.güne ait kalp dokusunda kalp kasları arasında dağılan hafif dereceli bağ dokusu.....	36

Tablolar

1. Genel olarak kullanılan miyokard hasarı belirteçlerinin özellikleri.....	19
2. ISO grubundaki ratların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeyleri.....	28
3. ISO+L-arginin grubundaki ratların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) düzeyleri.....	29
4. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI öncesi ve MI dönemi serum total sialik asid (TSA) ortalamaları.....	29
5. ISO ve ISO+L-arginin grubundaki sıçanların MI dönemi doku total sialik asid (TSA) düzeyleri.....	32

ÖZGEÇMİŞ

25.07.1974 yılında Adapazarı'nda doğdum. İlk öğrenimimi Edirne İstiklal İlkokulu'nda, orta öğrenimimi Edirne Atatürk Orta Okulu'nda, lise öğrenimimi Edirne Lisesi'nde tamamladıktan sonra üniversite öğrenimimi Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde 1992-1996 yılları arasında tamamladım. 1998 yılında öğretmen olarak göreve başladım. Halen Edirne Anadolu Meslek ve Meslek Lisesi'nde Kimya öğretmeni olarak görev yapmaktayım.

EKLER



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı: 03

Karar Tarihi: 09.02.06

4-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 09.03.2006 tarihinde “İsoprotenol ile Miyokard İnfarktüsü Oluşturulmuş Ratlarda L-Arginin’in Total Sialik Asid Düzeylerine Etkisinin İncelenmesi” adlı TÜTFEK-2006/035 protokol no.lu Yüksek Lisans Öğrencisi Nuray SEZER’in tez çalışmasını incelemek üzere toplandı.Yrd.Doç.Dr.Ufuk USTA çalışmacılardan olması nedeniyle katılmadı. Doç.Dr.Betül UĞUR ALTUN ve Yrd.Doç.Dr.Ufuk USTA izinli olmaları nedeniyle katılmadı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Biyokimya Anabilim Dalında yapılacağı, Doç.Dr.Selma SÜER GÖKMEN’in yürütücüsü olduğu araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve yapılabileceğine mevcudun oybirliğiyle karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Doç. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki

** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA
Dekan

Posta Adresi:
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
22030 EDİRNE

Tel : (0284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0284) 235 76 52