



**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**PATENT DUKTUS ARTERİOZUS KAPATILMASININ
PLAZMA AMİNO ASİT PROFİLİ ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. MELİKE SİNEM SÖYLEMEZ

KAYSERİ-2013



T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

PATENT DUKTUS ARTERİÖZUS KAPATILMASININ
PLAZMA AMİNO ASİT PROFİLİ ÜZERİNE OLAN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. MELİKE SİNEM SÖYLEMEZ

Danışman
Prof. Dr. FİGEN NARİN

Bu Uzmanlık Tezi Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi Tarafından
TST-09-1050 No'lu Proje ile Desteklenmiştir.

KAYSERİ-2013

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
KISALTMALAR	II
TABLO LİSTESİ.....	IV
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. PATENT DUKTUS ARTERİÖZUS.	3
2.1.1. Tarihçe.....	3
2.1.2. Embriyoloji.	4
2.1.3. Normal Fizyoloji.	4
2.1.3.1. Fetal Dolaşım..	4
2.1.3.2. Normal Kapanmanın Histolojisi ve Mekanizması..	5
2.1.4. Anatomi.....	6
2.1.5. Patofizyoloji.	7
2.1.6. Prognoz ve Komplikasyonlar	8
2.1.7. Tedavi.....	8
2.1.7.1. Medikal Tedavi..	8
2.1.7.2. Cerrahi Yolla PDA Kapama.....	9
2.1.7.3. Transkateter Yolla PDA Kapama.....	9
2.2. AMİNO ASİTLER.....	10
2.2.1. Yapısı ve Özellikleri	10
2.2.2. Standart Olmayan Amino Asitler.....	11
2.2.3. Amino Asitlerin Metabolizması	11
2.2.4. Alanin.....	12
2.2.5. Arjinin	13
2.2.6. Fenilalanin ve Tirozin	14
2.2.7. Glisin.....	16
2.2.8. Glutamin.....	18
2.2.9. Prolin.....	19
2.2.10. Treonin	21
2.2.11. Dallı Zincirli Amino Asitler: Valin, Lösin, İzolösin.....	21
2.2.12. 3-Metil-Histidin	24
2.3. KONJENİTAL KALP HASTALIKLARI VE AMİNO ASİTLER.....	26
2.4. TOTAL PROTEİN	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
4. BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇLAR.....	62
7. KAYNAKLAR	64
8. TEZ ONAY SAYFASI	72

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini bizlerden esirgemeyen başta danışman hocam Prof. Dr. Figen NARİN'e ve Biyokimya AD.'daki tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının oluşturulmasında ve tamamlanmasında her zaman bana yardımcı olan, bilgisi, duyarlılığı, iyi niyeti ve hoşgörüsüyle örnek aldığım sevgili hocam Prof. Dr. Figen NARİN'e; hasta toplama aşamasındaki yardımlarından dolayı eşi Prof. Dr. Nazmi NARİN'e; metabolizma laboratuvarındaki çalışmalarda her türlü imkan ve kolaylığı sağlayan Prof. Dr. Mustafa KENDİRCİ'ye; testlerin çalışılması aşamasında yardımcı olan Musa YILDIZ'a ve tüm metabolizma laboratuvarı çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Canım ailem...Annecim, babacım, biricik kardeşim Ahmet'im ve sevgili eşim...Karşılaştığım her zorlukta bana hep destek oldunuz. Hakkınızı ödeyebilmem mümkün değil. İyiki varsınız ve iyiki yanımdasınız. Dualarınızı bir ömür eksik etmeyin benden... Herşey için sonsuz teşekkürler...

KISALTMALAR

A	: Alanin
AA	: Araşidonik asit
Ala	: Alanin
Amu	: Atomik kütle ünitesi
Arg	: Arjinin
ASD	: Atriyal septal defekt
ASE	: Amerikan ekokardiyografi derneği
ATP	: Adenozin trifosfat
BPD	: Bronkopulmoner displazi
CE	: Çarpışma enerjisi
=CH ₂	: Metilen grubu
CO ₂	: Karbondioksit
-COOH	: Karboksil grubu
COX	: Siklooksijenaz
DA	: Duktus arteriozus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DOPA	: 3,4-dihidroksifenilalanin
EKO	: Ekokardiyografi
ESI	: Elektrospray iyonizasyon
ESPEN	: Avrupa klinik beslenme ve metabolizma derneği
ESPGHAN	: Avrupa pediatrik gastroenteroloji, hepatoloji ve beslenme derneği
ESPR	: Avrupa pediatrik araştırma derneği
F	: Fenilalanin
G	: Glisin
Gln	: Glutamin
Gly	: Glisin
-H	: Hidrojen atomu
HLH	: Hipoplastik sol kalp sendromu
HMG-CoA	: β-hidroksi-β-metilglutaril CoA
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
I	: İzolösin
IAA	: Interrupted aortik ark
Ileu	: İzolösin
IS	: Internal standart
IV	: İntravenöz
KKH	: Konjenital kalp hastalığı
KKY	: Konjestif kalp yetmezliği
KPB	: Kardiyopulmoner bypass
L	: Lösin
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografisi-kütle/kütle spektrometresi
Leu	: Lösin
LOD	: Gözlenebilme sınırı
LOQ	: Tayin sınırı
3-MH	: 3-Metil-histidin

MS	: Kütle spektrometresi
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADH	: Redükte nikotinamid adenin dinükleotid
NEK	: Nekrotizan enterokolit
-NH ₂	: Amino grubu
NH ₃	: Amonyak
NH ₄ ⁺	: Amonyum iyonu
NO	: Nitrik oksit
-OH	: Hidroksil grubu
P	: Prolin
PDA	: Patent duktus arteriozus
PG	: Prostaglandin
PGE ₂	: Prostaglandin E ₂
PGI ₂	: Prostaglandin I ₂
Phe	: Fenilalanin
pI	: İzoelektrik nokta
PKU	: Fenilketonüri
pO ₂	: Parsiyel oksijen basıncı
Pro	: Prolin
Q	: Glutamin
R	: Arjinin
-R	: Yan zincir
RT	: Alıkonma zamanı
SAM	: S-adenozil metiyonin
-SH	: Sülfhidril grubu
SIM	: Seçilmiş iyon monitörleme
T	: Treonin
Thr	: Treonin
Tyr	: Tirozin
V	: Valin
Val	: Valin
VKİ	: Vücut kütle indeksi
VSD	: Ventriküler septal defekt
Y	: Tirozin

TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1: Esansiyel, Esansiyel Olmayan ve Yarı-Esansiyel Amino Asitler...	12
Tablo 2: Farklı Yaş Gruplarında Plazma Amino Asitleri İçin Referans Değerler	25
Tablo 3: Farklı Yaş Gruplarında Serum Total Protein Referans Değerleri...	29
Tablo 4: LC-MS/MS’de Pozitif İyon Modunda Çalışma Koşulları	34
Tablo 5: Level I Kontrol Değerleri	36
Tablo 6: Level II Kontrol Değerleri	37
Tablo 7: Level I ve II Kalibratör Değerleri	38
Tablo 8: LC-MS/MS ile Amino Asit Analizinde Kullanılan MS-MS Tarama Parametreleri	42
Tablo 9: Yöntemin Analitik Duyarlılığı	46
Tablo 10: İşlem Öncesi ve Sonrası Gruplarının Demografik Verileri	48
Tablo 11: İşlem Öncesi ve Kontrol Gruplarının Demografik Verileri	49
Tablo 12: İşlem Sonrası ve Kontrol Gruplarının Demografik Verileri	49
Tablo 13: Çalışma Grubunun Plazma Total Protein Düzeyleri	50
Tablo 14: Çalışma Grubu Hasta Sayılarının Plazma Total Protein Düzeylerine Göre Dağılımı.....	50
Tablo 15: İşlem Öncesi ve Kontrol Grubunun Plazma Total Protein Düzeyleri	50
Tablo 16: İşlem Sonrası ve Kontrol Grubunun Plazma Total Protein Düzeyleri.....	50
Tablo 17: Çalışma Grubunun Plazma Amino Asit Düzeyleri.....	52
Tablo 18: Çalışma Grubunda Hasta Sayılarının Plazma Amino Asit Düzeylerine Göre Dağılımı	53
Tablo 19: İşlem Öncesi ve Kontrol Grubunun Plazma Amino Asit Düzeyleri.....	54
Tablo 20: İşlem Sonrası ve Kontrol Grubunun Plazma Amino Asit Düzeyleri	55

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1: Embriyonik Aortik Ark Sistemi	5
Şekil 2: Fetal Hayat ve Doğum Sonrası PDA'da Kan Akım Yönleri.....	5
Şekil 3: İnsan DA'sının Fonksiyonel ve Anatomik Kapanma Süreçleri.	6
Şekil 4: PDA Konfigürasyonunda Görülen Varyasyonlar.....	7
Şekil 5: Amino Asit Genel Yapısı	10
Şekil 6: Alanin	13
Şekil 7: Arjinin.....	13
Şekil 8: Fenilalaninin	14
Şekil 9: Tirozin	15
Şekil 10: Glisin	16
Şekil 11: Glutamin	19
Şekil 12: Prolin	20
Şekil 13: Treonin	21
Şekil 14: Valin	22
Şekil 15: Lösin.....	22
Şekil 16: İzolösin	23
Şekil 17: 3-Metil-Histidin.....	25
Şekil 18: Kalpteki Metabolitler ve Fonksiyonları.....	26
Şekil 19: Kütle Spektrometresinin Bölümleri.....	33
Şekil 20: LC-MS/MS Sisteminin Bölümleri.....	33
Şekil 21: Kontrol Level I Pikleri.....	37
Şekil 22: Kontrol Level II Pikleri	37
Şekil 23: Kalibratör Level I Pikleri.....	38
Şekil 24: Kalibratör Level II Pikleri	38
Şekil 25: Alanin Kalibrasyon Eğrisi	39
Şekil 26: Arjinin Kalibrasyon Eğrisi	39
Şekil 27: Glutamin Kalibrasyon Eğrisi.....	39
Şekil 28: Glisin Kalibrasyon Eğrisi	39
Şekil 29: İzolösin Kalibrasyon Eğrisi	40
Şekil 30: Lösin Kalibrasyon Eğrisi.....	40
Şekil 31: Fenilalanin Kalibrasyon Eğrisi	40
Şekil 32: Prolin Kalibrasyon Eğrisi	40
Şekil 33: Treonin Kalibrasyon Eğrisi	41
Şekil 34: 3-Metil-Histidin Kalibrasyon Eğrisi.....	41
Şekil 35: Tirozin Kalibrasyon Eğrisi	41
Şekil 36: Valin Kalibrasyon Eğrisi	41
Şekil 37: Alanin IS.....	42
Şekil 38: Arjinin IS.....	42
Şekil 39: Glutamin IS	43
Şekil 40: Glisin IS.....	43
Şekil 41: İzolösin IS.....	43
Şekil 42: Lösin IS	43

Şekil 43: Fenilalanin IS.....	44
Şekil 44: Prolin IS.....	44
Şekil 45: Treonin IS.....	44
Şekil 46: 3-Metil-Histidin IS	44
Şekil 47: Tirozin IS.....	45
Şekil 48: Valin IS.....	45
Şekil 49: İşlem Öncesi Bir Hastanın Amino Asit Pikleri	51
Şekil 50: Şekil 49'daki Hastanın İşlem Sonrası Amino Asit Pikleri	51
Şekil 51: Kontrol Grubundan Bir Örneğin Amino Asit Pikleri	51

**PATENT DUKTUS ARTERİOZUS KAPATILMASININ PLAZMA AMİNO
ASİT PROFİLİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

ÖZET

Amaç: Son medikal gelişmeler, konjenital kalp defektlerinin başarılı bir şekilde tedavi edilmesine olanak sağlamaktadır. Kardiyak operasyonlar sonrası amino asitlerin esansiyel metabolik yakıt olarak kullanılmaları, hasta iyileşme süreci ve morbidite açısından klinik önem taşımaktadır. Bu çalışma, patent duktus arteriozus (PDA) kapatılmasının, plazma amino asit profili üzerine olası etkilerini araştırmak ve değerlendirmek amacıyla planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: PDA kapatılması için hastaneye yatırılan 22 hasta ile 21 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Perkütan transkateter yol ile PDA'sı kapatılan hastalardan işlem öncesi ve işlem sonrası olmak üzere iki kez; kontrol grubundan bir kez plazma örneği alındı. Plazma örneklerinde total protein, alanin (Ala), arjinin (Arg), glisin (Gly), glutamin (Gln), treonin (Thr), tirozin (Tyr), valin (Val), lösin (Leu), izolösin (Ileu), prolin (Pro), fenilalanin (Phe), 3-metil-histidin (3-MH) seviyeleri ölçüldü.

Bulgular: PDA kapatılma öncesi hastaların % 27'sinde total protein, %23'ünde Ala, %27'sinde Arg, %18'inde Gln, %14'ünde Gly, %4'ünde Ileu, %18'inde Leu, %9'unda Val, %23'ünde Phe, %4'ünde Pro, %9'unda Thr düzeyleri düşük bulundu. PDA kapatılma sonrası hastaların %9'unda total protein, %4'ünde Arg, %9'unda Gln, %4'ünde Phe düzeylerindeki düşüklüğün devam ettiği saptandı. PDA kapatılma sonrası plazma total protein, Ala, Arg, Gly, Thr, Tyr düzeyleri, kapatılma öncesi düzeylerinden yüksek bulundu ($p \leq 0.05$). Kontrol grubu plazma total protein, Ala, Gln, Gly, Pro, Thr, Val, Phe ve 3-MH düzeyleri, PDA kapatılma öncesi düzeylerden yüksek bulundu ($p \leq 0.05$). PDA kapatılma sonrası plazma Arg ve Tyr düzeyleri kontrol grubu düzeylerinden yüksek bulundu ($p \leq 0.05$). Kontrol grubu plazma Gln ve 3-MH düzeylerinin, PDA kapatılma sonrası düzeylerden yüksek olduğu saptandı ($p \leq 0.05$).

Sonuç: PDA’lı çocukların plazma amino asit seviyelerinde saptanan bu değişiklikler; çocukların hızlı iyileşmeleri ve normal büyüme gelişme göstermeleri açısından önem taşıyabilir. Operasyon öncesi Ala, Gln, Gly, Pro, Thr, Val, Phe, Tyr, Arg amino asitlerinden, operasyon sonrası Gln amino asidinden zengin diyet veya solüsyonlarla beslenmeleri; kapatılma sonrası iyileşme ile hastanede kalış sürelerini kısalmasına, malnutrisyon durumlarının düzelmesine ve büyüme hızlarının artmasına yardımcı olabilir. Perkütan transkateter yol ile PDA kapatılmasının, plazma amino asit düzeyleri üzerine olası etkilerinin değerlendirildiği bu çalışma ile literatüre katkı sağlanacağı düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Patent duktus arteriozus kapatılması, amino asit düzeyleri.

AN INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PATENT DUCTUS ARTERIOSUS CLOSURE ON PLASMA AMINO ACID PROFILES

ABSTRACT

Purpose: Latest medical developments enable the successful treatment of congenital heart defects. The use of amino acids as essential metabolic fuels after cardiac operations, have a great clinical importance in terms of morbidity and healing process. This study is planned to investigate and evaluate the possible effects of patent ductus arteriosus (PDA) closure on plasma amino acid profile.

Materials and Methods: 22 patients who were hospitalized for closure of PDA and 21 healthy control were included in this study. Plasma samples were taken twice, before and after closure from the patients whose PDA's were closed by percutaneous transcatheteric way and just once from controls. Total protein, alanine (Ala), arginine (Arg), glycine (Gly), glutamine (Gln), threonine (Thr), tyrosine (Tyr), valine (Val), leucine (Leu), isoleucine (Ileu), proline (Pro), phenylalanine (Phe), 3-methyl-histidine (3-MH) levels were analyzed in plasma samples.

Findings: Before PDA closure, there were observations on plasma samples of patients that they were low and these were; %27 of them in total protein, %23 of them in Ala, %27 of them in Arg, %18 of them in Gln, %14 of them Gly, %4 of them in Ileu, %18 of them in Leu, %9 of them in Val, %23 of them in Phe, %4 of them in Pro and %9 of them in Thr. After PDA closure, the same low levels of samples continued as %9 of them in total protein, %4 of them in Arg, %9 of them in Gln and %4 of them in Phe. Plasma total protein, Ala, Arg, Gly, Thr, Tyr levels after PDA closure were higher than the levels before closure ($p \leq 0.05$). Plasma total protein, Ala, Gln, Gly, Pro, Thr, Val, 3-MH, Phe levels of control group were higher than the levels before PDA closure ($p \leq 0.05$). Plasma Arg and Tyr levels after PDA closure were higher than the levels of control group ($p \leq 0.05$). It was determined that plasma Gln and 3-MH levels of control group were higher than the levels after PDA closure ($p \leq 0.05$).

Result: These changes which were determined in the amino acid levels of children with PDA, may be important for a faster recovery and a normal growth in these

children. By supporting these patients with diets or solutions rich in Ala, Gln, Gly, Pro, Thr, Val, Phe, Tyr, Arg amino acids before the operation, and rich in Gln amino acid after the operation, may help to shorten the hospitalization and recovery period, heal the malnutrition status and increase the growth velocity. This study, in which the possible effects of percutaneous transcatheteric PDA closure on plasma amino acid levels were evaluated, may be considered to have a contribution to the literature.

Keywords: Patent ductus arteriosus closure, amino acid levels.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Patent Duktus Arteriozus (PDA), doğum sonrasında sistemik ve pulmoner arteriyel dolaşım arasındaki normal fetal vasküler bağlantının kapanmaması durumudur. PDA, 2000 canlı doğumda bir görülür ve konjenital kalp hastalıklarının %5-10'unu oluşturur (1). Prematüre bebeklerde PDA'nın insidansı %20-60 arasında değişir ve bu insidans gebelik haftası ve doğum ağırlığı ile ters orantılıdır (2). Bu hastalarda duktusun açık kalması; duktal medial kas dokusunun az olması, immatür duktusun parsiyel oksijen basıncı (pO_2) ile ilişkili konstrüksiyona daha az duyarlı iken prostaglandin (PG) ile vazodilatasyona daha fazla duyarlı olması gibi birtakım faktörlere bağlıdır (3). Klinik belirti veren PDA'nın bronkopulmoner displazi (BPD), nekrotizan enterokolit (NEK) ve büyüme gelişme geriliği ile bağlantılı olduğu gösterilmekle beraber sonuçlar çelişkilidir (4, 5).

Önemli derecede hemodinamik dengesizliğe yol açan duktus arteriozus (DA) tıbbi yada cerrahi yöntemlerle tedavi edilebilse de, yarar-zarar ilişkisi üzerinde görüş birliğine henüz varılamamıştır. Tedavi protokolünde; sıvı kısıtlaması, diüretikler, indometazin veya ibuprofen gibi PG sentez inhibitörlerinin yanında tıbbi tedaviye cevap alınmadığı durumlarda cerrahi yöntemler de yer almaktadır (6).

Yenidoğanda 3-5. günler arasında belirgin olarak görülen asidoz ($pH < 7.25$) , geniş PDA ile doğan bebeklerde daha erken gelişmektedir. PDA'lı bebeklerde kilo kaybı da (doğum ağırlığının ~%17'si) diğer bebeklere oranla daha fazladır. Asidoz insidansının düşürülmesinde parenteral beslenme ile protein artışının desteklenmesi önemlidir (7).

Son medikal gelişmeler, konjenital kalp defektlerinin yaşamın ilk aylarında başarılı bir şekilde tedavi edilmesine olanak sağlamaktadır. Fakat pediatrik kardiyak cerrahideki bu ilerleyişe rağmen bebeklerdeki postoperatif morbidite yaşça büyük olan çocuklara göre daha yüksek seviyede bulunmaktadır (8). Postoperatif morbidite, kan ve kardiyopulmoner bypass ünitesinin kontağı ile tetiklenen jeneralize inflamatuvar reaksiyon ve perioperatif periyotta stres ve travmaya hiperkatabolik yanıtın etkisi ile ilişkilidir (9). Operasyon sonrasındaki protein metabolizma değişiklikleri; morbiditedeki artış, hastane masrafları, hasta yatış süresi ve malnutrisyon problemi açısından klinik önem taşımaktadır (10).

Yapılan literatür taramasında, konjenital kalp hastalığı olan çocuklarda operasyon sonrası nutrisyonel desteğin araştırılması yönündeki çalışmaların dışında, özellikle PDA kapatılmasının plazma amino asit profili üzerine olan etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır (11-14). Bu çalışma, PDA kapatılmasının plazma amino asit profili üzerine olası etkilerini araştırmak ve değerlendirmek için planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PATENT DUKTUS ARTERİÖZUS

Patent Duktus Arteriozus (PDA), sol altıncı primitif aortik arktan köken alan, proksimal sol ana pulmoner arteri subklavian arterin çıkış yerinin hemen distalinden inen aortaya bağlayan yapıdır. Duktus arteriozus (DA) fetal hayatta işlevsel olup, doğumdan hemen sonra akciğerlerin fonksiyon görmeye başlaması ile birkaç gün içinde fizyolojik, birkaç hafta içinde anatomik olarak kapanır. Doğumdan sonra kapanma gerçekleşmez ise, soldan sağa şanta neden olan PDA oluşur. Tanı konulup tedavi edilmezse ilerleyen dönemlerde şant tersine dönebilir (1).

2.1.1.Tarihçe

DA yapısı, ilk kez M.S.131’de Galen tarafından duyurulduğundan beri duktus Botalli olarak bilinmektedir. Bu sıra dışı bir durumdur çünkü Botallo’nun DA hakkında hiçbir iddiası olmamıştır. Van Horne, 1660’da Botallo çalışmalarının derlemesini yayınlamış ve yanlış bir çeviri ile duktusun anatomisini gösteriyormuş gibi bir taslak sunmuştur (15). Harvey, 1628’de arteriyal bağlantının önemini teşhis etmiş ve kan akışının yönünü göstermiştir (16). Highmore, 1651’de PDA’nın postnatal kapatılmasını tanımlamış (17), Munro ise duktusun cerrahi obliterasyonunu ilk kez 1907’de öne sürmüştür (18). Gibson, 1898’de PDA’nın karakteristik üfürümünü tanımlamış ve tanısallığını vurgulamıştır (19). Gross, 26 Ağustos 1938’de 7 yaşındaki bir kız çocuğunun PDA’sını kapatarak kardiyak cerrahinin modern çağını başlatmıştır(20).

PDA'nın kateter laboratuvarında kapatılması yöntemi, ilk defa 1967 yılında Portsman tarafından ileri sürülmüştür. Ancak oklüzyonda kullanılan Ivalon tıkaçın femoral arter yolu ile yerleştirilmesi için 18F (=6 mm) sheath-introducer'ın kullanılması; hem büyük hasta yaşı gerekliliğinden dolayı, hem de sıklıkla arteriyel komplikasyonlara yol açması nedeniyle yöntemin yaygın olarak kullanılmasını engellemiştir (21). Rashkind, venöz yolla yerleştirilebilen 'köpük-şemsiye'yi PDA oklüzyonunda kullanmaya 1979'da başlamış ve ilk kez PDA'nın transkateter yöntemle kapatılmasının küçük yaş gruplarında uygulanabilirliğini göstermiştir (22). Bu teknik daha sonraki yıllarda Mullins ve diğer araştırmacılar tarafından geliştirilerek uygulama kolaylığı sağlanmıştır (23). Cambier ve ark. (24) 1992'de transkateter yöntemle PDA kapatılmasında Gianturco koillerini kullanmalarının ardından transkateter coil oklüzyonu, küçük ve orta boyuttaki patent duktusların kapatılmasında yaygın bir teknik haline gelmiştir. Daha sonraları, orta ve büyük boyuttaki patent duktuslar için yeni transkateter PDA oklüzyon yöntemleri geliştirilmiştir (1).

2.1.2. Embriyoloji

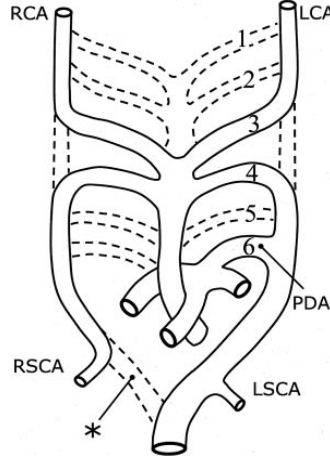
Fetal hayattaki normal kardiyovasküler gelişimde, embriyonik aortik arkların altıncı çiftinin proksimal kısımları pulmoner arterin proksimal dalı olarak kalırken, sol altıncı arkın distal kısmı, sol pulmoner arteri sol dorsal aortaya bağlayan DA olarak kalır (Şekil 1). Normalde fetal hayatın sekizinci haftasına kadar tamamlanan bir transformasyonla sağ altıncı distal aortik ark, dorsal aorta ile olan bağlantısını kaybeder ve dejenere olur (1).

2.1.3. Normal Fizyoloji

2.1.3.1. Fetal Dolaşım

Fetal kardiyak outputun ~%65 kadarı sağ ventrikül kaynaklı olmasına rağmen yalnız %5-10'unun akciğerlerden geçtiği bilinmektedir. Sağ ventrikül outputunun ise büyük kısmı DA yoluyla inen aorta geçmektedir. Bu nedenle DA, sağ ventrikül outputunun yüksek dirençli pulmoner dolaşımdan uzaklaşmasına olanak sağlayan ve normal fetal gelişim için gerekli olan çok önemli bir yapıdır (1).

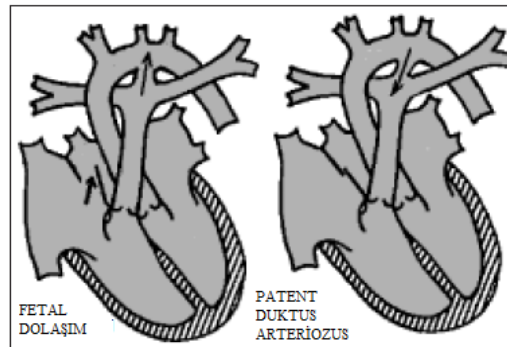
Doğumla birlikte akciğerler açıldığında, pulmoner dirençle birlikte pulmoner arter basıncı da düşer. Böylece pulmoner arter basıncı aorttan düşük hale gelir (Şekil 2) ve DA açıklığının devam etmesi durumunda pulmoner artere doğru sistolo-diyastolik bir akım oluşur (6).



Şekil 1. Embriyonik Aortik Ark Sistemi (İçe Kıvrılmış Bölümler Kesikli Çizgilerle Gösterilmiştir).
RCA: Sağ Karotis Arter, LCA: Sol Karotis Arter, RSCA: Sağ Subklavian Arter, LSCA: Sol Subklavian Arter)

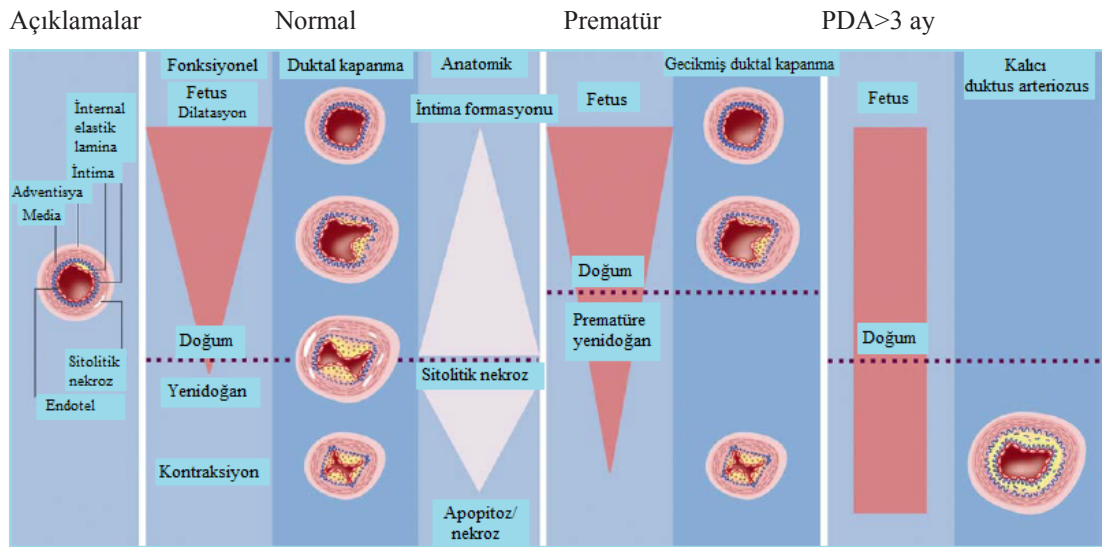
2.1.3.2. Normal Kapanmanın Histolojisi ve Mekanizması

Fetal DA oluşumu her ne kadar komşu ana pulmoner arter ve inen aorta benzer görünse de, arada önemli birtakım histolojik farklar bulunmaktadır. Örneğin; aort ve pulmoner arteri saran media tabakası temelde dairesel olarak dizili elastik lif tabakalarından oluşurken, DA'nın media tabakası, içinde elastik dokunun gevşek ve kontraktil yapılarını barındıran düz kas liflerinin longitudinal ve spiral tabakalarından oluşmuştur. DA'nın intima tabakası ise intimal yastıklar olarak adlandırılan, bol mukoid materyal içeriği nedeniyle oldukça kalın ve düzensiz bir yapıya sahiptir (1). Fetal DA'nın açıklığını kontrol eden birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerden en önemlileri nispeten düşük fetal oksijen basıncı ve siklooksijenaz (COX) aracılı araşidonik asit (AA) metabolizma ürünleridir (başlıca prostaglandin E_2 [PGE_2] ve prostasiklin [PGI_2]) (1).



Şekil 2. Fetal Hayat ve Doğum Sonrası PDA'da Kan Akım Yönleri

Şekil 3'te DA'nın matürasyon sırasındaki morfolojik oluşumu, fonksiyonel ve anatomik kapanmadaki süreçler, prematür yenidoğanda geciken kapanmanın karakteristik histolojik özellikleri ve PDA oluşumu görülmektedir. Normalde intrauterin hayatta duktus dilate durumdadır (3). Term yenidoğandaki fonksiyonel kapanma doğum sonrası duktusun anlık kontraksiyonu ile genellikle ilk 24-48 saatte meydana gelir. Takip eden 2-3 hafta içerisinde lümenin postnatal oklüzyonu ve anatomik kapanması gerçekleşirken (1), lümeni matür duktusa çeviren intimal yastıkların gelişimi kapanmayı kolaylaştırır. Son olarak duktus, apoptoz ve nekroz sonucu fibröz bir kalıntıya dejenere olur (3) ve bu lümensiz fibröz bant ligamentum arteriozum olarak kalır (1). Prematüre yenidoğanda DA'nın geciken kapanması intimal yastıkların yetersiz gelişimi ile birlikte. Yaşça büyük olan bir çocukta (>3 ay) ise PDA, ek olarak subendotelyal elastik lamina ve az gelişmiş, elastinden zengin intimal yastıklarla karakterizedir (3).

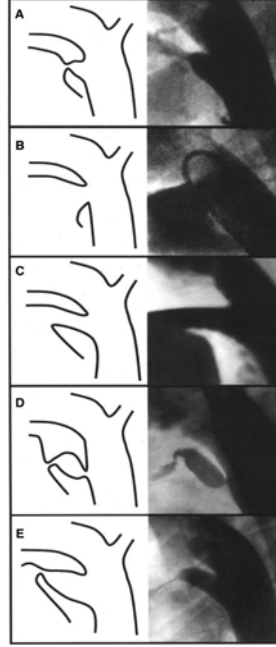


Şekil 3. İnsan DA'sının Fonksiyonel ve Anatomik Kapanma Süreçleri

2.1.4. Anatomi

DA birçok farklı boyut ve konfigürasyonda devam edebilmektedir. Genellikle patent duktusun son kısmı, pulmoner arterin son kısmından büyüktür ve konik konfigürasyonla sonlanır. Boyut, konfigürasyon ve komşu yapılarla ilişkiler; şantın derecesini değerlendirmede, kan akımı direncini belirlemede ve girişimsel kapatmada önemlidir (1). Şekil 4'te anjiyografik klasifikasyon kullanılarak belirlenen patent duktusun boyut ve konfigürasyon varyasyonları görülmektedir. Tip A (konik) duktusta belirgin aortik ampulla ve pulmoner arter sonu yakınında konstrüksiyon

görülürken, Tip B (geniş, pencere) duktus oldukça kısadır. Tip C (tübüler) duktusta konstrüksiyon bulunmazken, Tip D (kompleks) duktusta çok fazla konstrüksiyon vardır. Tip E (tünel) duktusta ise konstrüksiyon trake ön sınırının dışındadır (25).



Şekil 4. PDA Konfigürasyonunda Görülen Varyasyonlar (Solda Tiplere Ait Şemalar, Sağda Tiplerin Anjiyogram Örnekleri Gösterilmiştir)

2.1.5. Patofizyoloji

Normal bir kardiyovasküler sistemde PDA'nın hemodinamik etkisi, genellikle DA'nın akım direncine bağlı olan şantın büyüklüğü ile belirlenir. Direnci belirlemede ise DA'nın uzunluğu, çapı, şekli ve konfigürasyonu önemlidir. Şantın büyüklüğü; duktal direncin yanında, aort ve pulmoner arter arasındaki basınç gradyentine de bağlıdır. Sistolik ve diyastolik komponentlerle dinamik olan basınç gradyenti ise büyük oranda pulmoner ve sistemik vasküler dirençlere ve kardiyak outputa bağlıdır. Pulmoner ve sistemik dirençlerdeki değişiklikler, akım direnci az olan büyük duktuslarda daha fazladır.

Duktus arteriosus yoluyla soldan sağa şant, pulmoner oversirkülasyona ve sol kalp volüm yüküne neden olur. Duktal şantta artan pulmoner akım, artmış pulmoner volüme neden olurken; orta veya büyük şantlı hastalarda akciğer kompliyansı azalabilmekte ve solunum zorluğu meydana gelebilmektedir. Yaşlı hastalarda konjestif kalp yetmezliği (KKY) ile beraber pulmoner ödem de oluşabilmektedir. Ayrıca şantlı hastalarda, sol atriyal ve ventriküler end-diyastolik basınçların artışıyla

birlikte sol ventrikül hipertrofisi; nöroendokrin adaptasyonlar sonucunda kalp hızı ve kontraktilitesinde artış ile subendokardiyal iskemi de görülebilmektedir (1).

2.1.6.Prognoz ve Komplikasyonlar

Asiyanotik, sol-sağ şanlı bir doğumsal kalp hastalığı olan PDA'da prognoz; duktus açıklığının boyutuna, şantın büyüklüğüne ve pulmoner vasküleritenin derecesine bağlıdır. Küçük PDA'da genellikle prognoz normaldir ve tek risk infektif endokardit/endarterit'tir. Prematüre PDA dışında genellikle spontan kapanma görülmez. Büyük PDA'da ise sıklıkla pulmoner hipertansiyon, eisenmenger sendromu ve KKY görülmektedir. DA anevrizması, laringeal sinir paralizisi ve akut aort diseksiyonu da görülebilen diğer komplikasyonlar arasındadır (1,6).

2.1.7.Tedavi

2.1.7.1.Medikal Tedavi

PDA tanısı alan bir yenidoğanda, kalp yetersizliği durumunda antikonjestif tedavi verilmelidir. Prematüre bir bebekte ise kalp yetersizliği bulguları varsa destek tedavisi, sıvı kısıtlaması ve diüretik verilmesi genellikle sorunu çözmektedir. İlk 5 gün içinde günde %1-2 kilo kaybı olacak şekilde sıvı kısıtlaması uygundur . Işık, duktusun açık kalmasını kolaylaştıran bir faktör olduğundan; gereksiz fototerapiden kaçınmak gerekir. İlk günlerde furosemid kullanılan prematürelerde paradoks olarak renal prostaglandin (PG) salgılanmasının arttığı ve duktus açıklığının devam ettiği; klortiyazidlerde ise bu etkinin olmadığı bildirilmiştir. Eğer bu önlemlerle duktus kapanmamışsa 3. günden sonra, bir COX inhibitörü olan intravenöz (IV) indometazin 0.2 mg/kg/doz 12-24 saat arayla 3 doz verilebilir. Bunun için hastada, trombositopeni ($<50.000/mm^3$), kanama diyatezi, aktif kanama, nekrotizan enterokolit (NEK) ve oligürinin ($<1\text{ mL/kg/saat}$) olmaması ve duktusa bağımlı bir kalp hastalığının bulunmaması gereklidir. İndometazinin; genellikle geçici bir renal fonksiyon bozukluğuna sebep olduğu, pulmoner ve gastrointestinal kanamaya yol açtığı ve trombosit fonksiyonlarını bozduğu bilinmektedir. Bu etkilerinin bir kısmı renal, gastrointestinal ve serebral vazokonstriksiyonla da ilgilidir. Ayrıca yine bir COX inhibitörü olarak, oral veya IV ibuprofen 12-24 saat arayla 3 doz verilebilir. Bununla birlikte genellikle 24 saatlik doz aralığı tercih edilmektedir. İlk doz 10 mg, sonrakiler 24 saat arayla 5 mg/kg/doz şeklindedir. Her iki ilacın da yararlılığı yaklaşık olarak benzerdir. İbuprofen kullanmak için de indometazine benzer şekilde, hastada duktusa bağımlı bir kalp hastalığının olmadığı gösterilmesi; trombositopeni, aktif kanama, NEK ve ciddi renal yetersizlik durumunun

bulunmaması gereklidir. Ülkemizde IV indometazin bulunmadığından ve ibuprofenin; serebral, gastrointestinal ve renal kan akımında azalma gibi yan etkileri olmadığından, tercihte ibuprofen önceliklidir. Miad bebeklerde bu yöntem genellikle etkili değildir. Bu önlemlerle kapanma olmadığına PDA küçük de olsa, infektif endokardit riski nedeniyle tercihen 1 yaş içinde, en geç okul çağından önce kapatılmalıdır (6).

2.1.7.2.Cerrahi Yolla PDA Kapama

İlk cerrahi yöntemle yapılan PDA ligasyonundan (20) bu yana ligasyon ve divizyon (bağlama ve ayırma) standart bir operasyon olmuştur. Hastalar cerrahi olmayan kapatma tekniklerine uygun değilse, PDA cerrahi olarak kapatılmalıdır. Cerrahi yöntemlerden ilki kardiyopulmoner bypass olmadan sol posterolateral torakotomi yoluyla ligasyon ve divizyon iken, diğeri dördüncü interkostal aralıktan üç küçük giriş yapılarak video destekli torakoskopik klips ligasyon tekniği ile yeterli uzunluktaki (güvenli ligasyona izin verecek kadar) duktusun ligasyonudur. Her iki tekniğin de cerrahi mortalite oranı sıfırdır (26).

2.1.7.3.Transkateter Yolla PDA Kapama

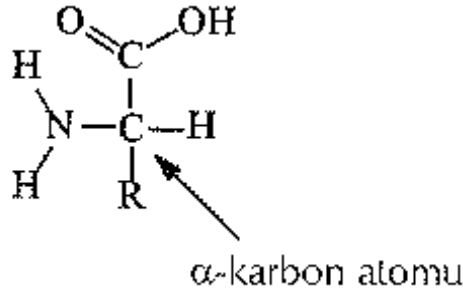
Bugün birçok cerrahi yöntemin mortalite ve morbiditesi çok düşük olmakla birlikte; genel anestezi gerekliliği, uzun süreli hospitalizasyon, nervus reccurens hasarı, psikolojik travma, torakotominin neden olduğu göğüs ağrısı, skar dokusu oluşması ve bronkopnömoniye eğilim gibi bir kısım kaçınılmaz sorun ve komplikasyonlar, PDA tedavisinde alternatif yöntem arayışına yol açmıştır. Transkateter girişimsel yöntemlerin gelişmesi, dukt okluder ve benzeri yeni cihazların kullanıma girmesi ile PDA'nın çapına ve tipine bağımlı olmaksızın erişkin hastaların çoğunda cerrahi gereksinim ortadan kalkmıştır. PDA'lar, yaşa ve ağırlığa göre değişkenlik göstermekle birlikte, pulmoner arter tarafındaki en dar çapı gözönüne alınarak sınıflandırılır (26).

Erken yaşta geçirilen konjenital kalp hastalığı (KKH) operasyonları sonrası morbidite oranı günümüzde halen yüksek olmakla birlikte, bu oran operasyon öncesi beslenme ve ekstrakorporal sirkülasyonu da içeren travmaya verilen sistemik yanıt ile ilişkilidir (13). Stres ve travma; oksidatif metabolizma, immün reaksiyonlardaki protein sentezi, iyileşme ve vital organ fonksiyonları için gerekli olan plazma amino asit salınımı ile kaslarda artmış proteolizise neden olmaktadır (9).

2.2.AMİNO ASİTLER

2.2.1.Yapısı ve Özellikleri

Amino asitler, proteinlerin başlıca yapı taşlarıdır. Doğada yaklaşık 300 amino asit olmasına karşın, bakterilerden insana kadar tüm canlılar 20 amino asit ve türevlerinden yapılmış proteinlerden oluşmaktadır. Proteinler içindeki tüm amino asitler α -amino asitlerdir. α -Amino asitlerdeki α -karbon atomu asimettir. D- ve L-konfigürasyonları vardır. Sentetik olarak elde edilen α -amino asitler rasemiktir. Proteinlerin hidrolizinden ele geçenler daima L- konfigürasyonunda bulunur. Doğada bulunan amino asitlerin hemen hepsi α -amino asitler olsa da β - amino asitlere de rastlanmaktadır. Genel olarak bütün canlıların hücre proteinlerinde bulunan amino asitler L-amino asitlerdir. Glisin dışındaki bütün amino asitler asimmetrik karbon atomu içerirler. Optikçe aktiftirler; polarize ışığı sağa veya sola çevirirler. Amino asitler hem asidik, hem bazik gruplar içerdiklerinden hem kuvvetli asitlerle hem kuvvetli bazlarla tuz oluşturmak üzere reaksiyona girebilirler. Yani amfoter maddelerdir. α -karbonuna hidrojen atomu (-H), amino grubu (-NH₂), karboksil grubu (-COOH) ve bir de yan zincir (-R) grubu bağlıdır ve bu karbon R grubunun -H olduğu glisin dışında diğer tüm amino asitlerde, dört farklı grubun bağlı olduğu bir stereojenik merkezdir (Şekil 5). Bu yüzden bu α -amino asitler kiraldır (27-29).



Şekil 5. Amino Asit Genel Yapısı (27)

Amino asitler R gruplarının çözünürlük özelliklerine, yani iyonizasyon ve polaritelerine göre beş ana sınıfa ayrılmaktadır (27, 29).

1-Polar olmayan alifatik R grublu amino asitler: Glisin, alanin, valin, lösin, izolösin bu grupta yer almaktadır. Bu amino asitlerin içerdikleri alifatik yan zincirler hidrofobiktir. Valin, lösin ve izolösin dallı zincirli amino asitlerdir. Herhangi bir sınıfa sokulması güç olan prolin ve onun modifiye şekli olan hidroksiprolin de bu

gruba dahil edilebilir. Prolinin, alifatik karakterde yan zinciri ve sekonder bir amino grubu vardır (imino asit) .

2-R grupları aromatik olan amino asitler: Fenilalanin, tirozin ve triptofan bu grupta yer almaktadır. Diğer amino asitler ışığı absorbe etmezken, bu gruptaki amino asitler dalga boyu ultraviyoleye yakın bir bölgede (250-290 nm) ışığı absorbe etmektedir.

3-Polar yüksüz R gruplu amino asitler: Serin, treonin, sistein, glutamin, metiyonin, asparajin ve sistin bu grupta yer almaktadır. Bu amino asitler, su ile hidrojen bağları yapabilen fonksiyonel grupları bulunan amino asitlerdir. Bu fonksiyonel gruplar serin ve treoninde hidroksil grubu (-OH), sistein ve metiyoninde sülfhidril grubu (-SH), glutamin ve asparaginde ise amid gruplarıdır.

4-Negatif yüklü (asidik) R gruplu amino asitler: Aspartik asit ve glutamik asit asidik karakterli amino asitlerdir. Fizyolojik pH değerinde negatif yüklüdürler. Yapılarındaki ikinci -COOH bu özelliklerini kazandırmaktadır.

5-Pozitif yüklü (bazik) R gruplu amino asitler: Lizin, arjinin ve histidin bu grupta yer almaktadır. Bu amino asitler bazik hidrofilik yan zincirler taşırlar. Özellikle lizin ve arjininin yüksek bazik özellikleri bulunmaktadır (27, 28).

2.2.2.Standart Olmayan Amino Asitler

Bu amino asitler protein yapısında yer alan 20 amino asitin, işlevlerini artırmak için polipeptid zinciri sentezinden sonra değişikliğe uğramasıyla (modifikasyon) oluşurlar. Hidroksilizin, hidroksiprolin, N-metillizin, fosfoserin, fosfotreonin ve sistin önemli olanlardan bazılarıdır. Standart olmayan amino asitlerden ayırdetmek için, protein yapısındaki amino asitlere, standart, primer veya doğal amino asitler denilmektedir (28, 29).

2.2.3.Amino Asitlerin Metabolizması

Organizmada bulunan dinamik amino asit havuzuna amino asitlerin katılımı üç yolla sağlanmaktadır. Bunlar; besinlerle protein alınımı (ekzojen), endojen proteinlerin hidrolizi ve endojen amino asit sentezidir (28-30). Mide-bağırsak kanalındaki proteolitik enzimler diyetle alınan proteinleri amino asitlerine ayırırlar. Amino asitler jejunumdan emilerek kan dolaşımına verilir ve daha sonra vücudun amino asit havuzuna katılırlar. Karaciğer ve diğer dokular bu havuzdaki amino asitleri kullanarak, plazma proteinlerini ve hücre içi proteinleri sentezlerler (27). Gelişmiş canlılarda 20 amino asit sentezinin ancak bir kısmı de novo sentez ile olmaktadır. Bunlar; endojen (esansiyel olmayan) amino asitler olarak adlandırılır. Ekzojen

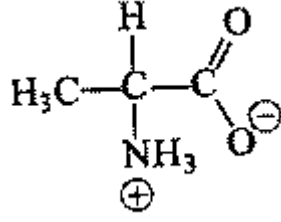
(esansiyel) amino asitler ise insanlar tarafından sentezlenemeyen ve bu nedenle diyetle veya parenteral solüsyonlarla alınması gereken amino asitlerdir. Diğer amino asitlerden sentezlenebilen ve sentezleri belirli koşullar altında sınırlandırılmış olan amino asitler de yarı-ekzojen (yarı-esansiyel) amino asitler olarak sınıflandırılır (Tablo 1). Bu amino asitler, özellikle amino asit sentezinde görevli enzimlerinde gecikme bulunan preterm infantların gelişimlerinde büyük öneme sahiptir (31). Karaciğer ve böbrekler transaminasyonla amino asitlerin birbirine dönüşümünde ve deaminasyonla parçalanmalarında aktif olarak görev alırlar. Deaminasyonla amonyak ($-NH_3$) üretilir ve üre oluşturulur. Oluşan üre, böbrekler tarafından hızla atılarak uzaklaştırılır (27).

Tablo 1. Esansiyel, Esansiyel Olmayan ve Yarı-Esansiyel Amino Asitler (31)

Esansiyel	Esansiyel Olmayan	Yarı-esansiyel
Valin	Alanin	Arjinin
İzolösin	Aspartik asit	Sistein
Lösin	Asparajin	Glisin
Lizin	Glutamik asit	Prolin
Metiyonin	Glutamin	Tirozin
Fenilalanin	Serin	Histidin
Treonin		
Triptofan		

2.2.4. Alanin

α -Aminopropiyonik asit veya 2-aminopropiyonik asit olarak da adlandırılan ve moleküler formülü $C_3H_7NO_2$ olan alanin (Ala, A)'in (Şekil 6) molekül ağırlığı 89.09 g/mol'dür. Erime noktası $258^\circ C$ ve yoğunluğu 1.424 g/cm^3 olup; izoelektrik nokta (pI) değeri: 6.00; $25^\circ C$ 'de pK_a değerleri ise 2.35 ($-COOH$), 9.87 ($-NH_2$)'dir (32, 33). Polar olmayan alifatik R gruplu hidrofobik amino asitler grubunun en az hidrofobik amino asidi olan alanin, endojen bir amino asittir ve piruvattan transaminasyon yolu ile sentez edilmektedir. Bu tepkimede glutamat, amino grubu vericisi olarak kullanılmaktadır. Oluşan alanin, α -ketoglutarat ile tepkimeye katılarak, yeniden pirüvat ve glutamat oluşturmaktadır.



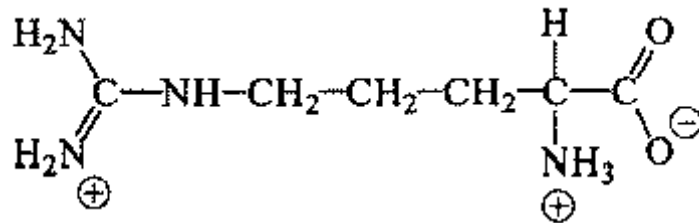
Şekil 6. Alanin (27)

Kaslarda ve diğer dokularda oluşan amonyak, karaciğere alanin şeklinde taşınmaktadır. Amonyak üre sentezinde, pirüvat ise glukoneogenezde öncül bir bileşik olarak kullanılmaktadır. Kan glukoz düzeyi düşük olduğunda, alaninden oluşan pirüvattan glukoneogenez ile elde edilen glukoz, enerji üretiminde kullanılmak üzere yeniden kaslara gönderilmektedir. Glukoz-alanin döngüsü denilen bu yol ile kaslardan karaciğere alanin, ters yönde ise glukoz taşınmaktadır. Karaciğerde alaninden glukoz sentezlenme hızı diğer bütün amino asitlerden daha fazla olduğundan, alanin kilit bir glukoneogenetik amino asit olarak görev yapmaktadır. Bu yüzden, açlık kan glukoz düzeyinin korunmasında glukojenik amino asit olan alaninin büyük önemi bulunmaktadır (28,30,34).

Plazmada bulunan alaninin farklı yaş gruplarındaki referans değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir (35).

2.2.5.Arjinin

2-Amino-5-guanidinopentanoik asit, 2-amino-5-[(aminoiminometil)amino]pentanoik asit veya 2-amino-5-guanidinovalerik asit olarak da adlandırılan ve moleküler formülü $C_6H_{14}N_4O_2$ olan arjinin’in (Arg, R) (Şekil 7) molekül ağırlığı 174.2 g/mol’dür. Erime noktası $260^{\circ}C$ ve yoğunluğu 1.300 g/cm^3 olup; pI değeri: 10.76, pK_a değerleri ise 1.82 (-COOH), 8.99 (-NH₂), 12.48 (guanido grup)’dir (32, 33).



Şekil 7. Arjinin (27)

Yapısında yer alan guanidin grubu nedeniyle bazik R gruplu amino asitler sınıfında yer alan arjininin büyük bölümü memelilerde arjinaz ile üre ve ornitine yıkıldığından, arjinin protein sentezine katılamamaktadır. Bu nedenle erişkin bir insan için esansiyel olmayan arjinin, gelişmeleri için yüksek miktarlarda amino asit gereken çocuklar ve gençler için esansiyel bir amino asittir (koşullu esansiyel, yarı-esansiyel). Glutamattan, ornitin üzerinden üre döngüsü yolu ile arjinin sentez edilmektedir. Arjininin yıkımından elde edilen ornitin transaminasyonu ile oluşan glutamat- γ -semialdehidin oksidasyonundan da glutamat açığa çıkmaktadır.

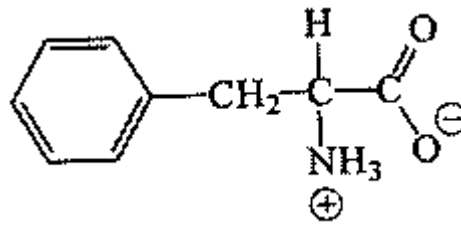
Arjinin yüksek memelilerde kreatin sentezi için kullanılmaktadır. Guanidin grubunun glisine aktarılması ile guanidinoasetik asit ve yeniden ornitin oluşmaktadır. Guanidinoasetik asidin metilasyonu ile oluşan kreatinin fosforlanması sonucu, kreatin fosfat elde edilmektedir (27, 28, 34) .

Arjinin, proteinlerde bulunmayan bir amino asit olan ornitin yolu ile putresin, spermidin ve spermin adlı poliaminlerin oluşumunda da rol almaktadır (28, 34).

Plazmada bulunan arjininin farklı yaş gruplarındaki referans değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir (35).

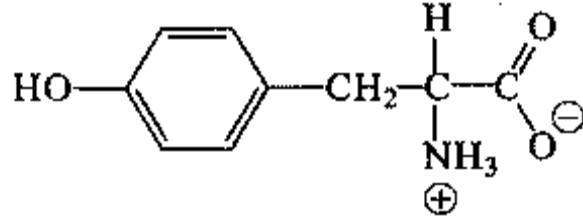
2.2.6.Fenilalanin ve Tirozin

Sistematik adı 2-amino-3-fenil propanoik asit olan fenilalanin (Phe, F)’in moleküler formülü $C_9H_{11}NO_2$ olup (Şekil 8), molekül ağırlığı 165.2 g/mol’dür. Erime noktası 283 °C ve yoğunluğu 1.29 g/cm³ olup; pI değeri: 5.76; pK_a değerleri ise 2.20 (-COOH), 9.31(-NH₂)’dir (32).



Şekil 8. Fenilalaninin (27)

4-hidroksifenilalanin veya 2-amino-3(4-hidroksifenil)-propanoik asit olarak da adlandırılan tirozin (Tyr, Y)’in, kimyasal formülü $C_9H_{11}NO_3$ olup (Şekil 9), molekül ağırlığı 181.2 g/mol’dür. Erime noktası 342 °C ve yoğunluğu 1.456 g/cm³ olup; pI değeri: 5.63; pK_a değerleri ise 2.20 (-COOH), 9.21(-NH₂), 10.46 (fenolik hidroksil grubu)’dır (32).



Şekil 9. Tirozin (27)

Esansiyel bir amino asit olan fenilalaninin hidroksilasyonu ile tirozin sentez edilmektedir. Bu nedenle tirozin, fenilalanin hidroksilaz enziminin eksik olduğu veya bulunmadığı durumlarda besinler ile alınmalıdır.

Normal koşullarda fenilalaninin tamamına yakın bölümü karaciğerde fenilalanin hidroksilaz enzimi ile hidroksillenerek katabolize olmaktadır. Fenilalanin katabolizmasında daha az kullanılan transaminasyon yolunda ise fenilpirüvat oluşmaktadır. Fenilpirüvat, fenillaktata indirgenmekte veya oksidatif dekarboksilasyon ile fenilasetata çevrilmektedir. Fenilasetat, insanda glutamin ile birleşerek idrarda atılan ve bir zehirsizleştirme ürünü olan fenilasetilglutamini oluşturmaktadır. Besinsel fenilalaninin bu yıkım yolu yeterli olmamaktadır. Bu yüzden tirozine hidroksilasyonun kalıtsal eksikliğinde, kanda aşırı miktarda fenilalanin ve fenilpirüvat birikmektedir (Fenilketonüri) (28, 30, 34).

Plazmada arttığı durumlar: Hiperfenilalaninemiler, sepsis, ağır yanıklar (36), geçici neonatal tirozinemi, geçici neonatal hiperfenilalaninemisi, filebotomi ateşi, viral hepatit ve hepatik ensefalopati, özellikle prematüre yenidoğanda immatür karaciğer (37).

Tirozinin en çok kullanılan katabolizma yolu karaciğerde gerçekleşmekte ve tirozinin p-hidroksifenilpirüvata transaminasyonu ile başlamaktadır. Ancak diğer az kullanılan yıkım yollarının daha büyük fizyolojik önemleri bulunmaktadır. En önemli katabolizma yolunda p-hidroksifenilpirüvatın oksijenle tepkimeye girmesi ile homogentisik asit oluşmaktadır.

Tirozinin, 3,4-dihidroksifenilalanin (DOPA) hidroksilasyonu ile başlatılan bir dizi tepkime sonunda nöral ve adrenal hücrelerde katekolaminler; melanositlerde ise deri, saç ve gözün kahverengi-siyah pigmenti melanin sentez edilmektedir. Az kullanılan diğer bir yol ile tirozin, kan basıncını arttırıcı etkisi olan tiramine dekarboksile olmaktadır. Tirozin, tiroglobülindeki tirozin kalıntılarının iyodinasyonu ile sentez edilen tiroid hormonlarının öncülü olarak da görev yapmaktadır (28, 30, 34).

Plazmada bulunan fenilalanin ve tirozinin farklı yaş gruplarındaki referans değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir (35).

Plazmada arttığı durumlar: Tirozinemi, enfeksiyöz veya metabolik kaynaklı karaciğer fonksiyon bozukluğu, prematür bebekler ve hipertroidi (38).

Plazmada azaldığı durumlar: Polikistik böbrek hastalığı, hipotermi, fenilketonüri, kronik böbrek yetmezliği, karsinoid sendrom, miksödem, hipotroidi, Huntington koresi, romatoid artrit ve flebotomi ateşi (37).

Fenilalanin ve tirozin metabolizması bozuklukları:

1-Fenilketonüri (PKU): Amino asit metabolizmasının en sık karşılaşılan kalıtsal hastalığı olan PKU, büyük çapta fenilalanin hidroksilaz eksikliğine bağlı olmakla birlikte, daha nadir olarak tetrahidrobiopterin kofaktörünün veya dihidrobiopterin redüktaz enziminin eksikliklerine bağlı olarak da ortaya çıkmaktadır.

2-Geçici neonatal hiperfenilalaninemi: Bu bozukluk, fenilalanin hidroksilaz enzim sisteminin karaciğer olgunlaşmasının gecikmesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır.

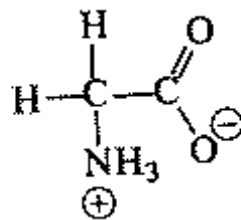
3-Tirozinemiler: Fumarilasetoasetat hidroksilaz eksikliğine bağlı (Tip I), tirozin aminotransferaz eksikliğine bağlı (Tip II) ve p-hidroksifenilpirüvat oksidaz eksikliğine bağlı (neonatal tirozinemi) olarak ortaya çıkmaktadır.

4-Alkaptonüri: Homogentisik asit oksidaz eksikliğine bağlı olarak bu hastalıkta, homogentisik asit birikmekte ve idrarla büyük miktarlarda atılmaktadır.

5-Albinizm: Tirozinin melanositlerde melanine dönüşümünü sağlayan tirozinaz enziminin yokluğu veya yetersizliğine bağlı olarak deri, saç ve gözlerde pigmentasyon azalmaktadır (27, 28, 34).

2.2.7. Glisin

Aminoetanoik asit, aminoasetik asit veya glikokol olarak da adlandırılan ve moleküler formülü $C_2H_5NO_2$ olan glisin (Gly, G)’in (Şekil 10) molekül ağırlığı 75.07 g/mol’dür. Erime noktası $233^{\circ}C$ ve yoğunluğu 1.607 g/cm^3 olup; pI değeri: 5.97; pK_a değerleri ise 2.34 ($-COOH$), 9.60 ($-NH_2$)’dır (32).



Şekil 10. Glisin (27)

Glisinin sentezi, memelilerde birçok yoldan gerçekleşebilmektedir. Serin hidroksimetiltransferazın katalizlediği yolda üç karbon atomlu serinin β -karbon atomu tetrahidrofolata taşınmakta ve N^5, N^{10} -metilentetrahidrofolatı oluşturmaktadır. Bu yapıdaki tek karbonlu birim, gerektiğinde tekrar glisine aktarılabilmekte ve glisinden serin sentez edilebilmektedir. Serinden sonra pirüvat oluştuğu için glisin, serin üzerinden pirüvata katabolize olmaktadır (30).

Ayrıca omurgalı karaciğerinde glisin sentetazın katalizlediği bir diğer tepkime ile glisin sentez edilebilmektedir. Ayrıca, karaciğerde serinden oluşan glioksalattan transaminasyon yoluyla da glisin sentezlenebilmektedir.

Glisinin metabolik yıkımı 2 yolla olmaktadır. Birinci yolda glisine N^5, N^{10} -metilentetrahidrofolattan hidroksimetil grubunun taşınması ile serin oluşmakta ve daha sonra serinden pirüvat elde edilmektedir. Omurgalılarda en çok kullanılan ikinci yolda ise glisin, karbondioksit (CO_2), amonyum iyonu (NH_4^+) ve bir metilen grubuna ($=CH_2$) oksidatif olarak parçalanmaktadır. Glisin bu yol ile tek karbonlu birimlerin metabolizmasına ve redükte nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) ile enerji oluşumuna katılmaktadır (28, 30).

Kimyasal olarak en basit amino asit olan glisinin organizmada önemli biyokimyasal fonksiyonları bulunmaktadır:

1-Protein yapısı: Çeşitli vücut doku proteinlerinin, protein hormonların ve enzimleri yapısına katılmaktadır.

2-Porfirin ve hem biyosentezi: Süksinil CoA ile birlikte porfirinlerin ve hem yapısının ön maddesidir.

3-Pürin sentezi: Pürin iskeletinin 4, 5, 7 no'lu atomlarını glisin molekülü sağlamaktadır.

4-Karbohidrat, lipid ve amino asit sentezi: Glukojenik bir amino asit olduğu için glukolitik ara maddeler üzerinden dolaylı olarak karbohidrat, lipid ve diğer amino asitlerin sentezine katılmaktadır.

5-Kreatin sentezi: Arjininin guanido grubunun glisine aktarılması ile oluşan guanidoasetik asidin, S-adenozilmetiyonin (SAM)'den sağlanan metil grubu ile metilasyonu sonucu, kas fonksiyonunda temel bir bileşik olan kreatin elde edilmektedir.

6-Safra asitlerinin sentezi: Bir safra asidi olan glikokolik asit, hippürük asit ve diğer detoksifikasyon ürünleri, glisin karaciğerde sırası ile kolik asit, benzoik asit ve diğer asitlerle konjugasyonu sonucu oluşan peptidlerdir.

7-Glutasyon sentezi: Glisin, glutasyon (γ -glutamilsisteinilglisin) tripeptidinin yapısına katılmaktadır. Glutasyon, amino asit taşıyıcısı olarak ve hücrel proteinlerdeki -SH gruplarının indirgenmiş halde tutulmasında görev yapmakta ve bu yolla eritrositleri oksidatif hasardan korumaktadır (28, 30, 34).

Plazmada bulunan glisin farklı yaş gruplarındaki referans değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir (35).

Plazmada arttığı durumlar: Septisemi, hipoglisemi, ketoz olmayan hiperglisemi, hiperammonemi tip I, şiddetli yanıklar, iminoglisinüri tip II, açlık, propiyonik asidemi, metilmalonik asidemi, karbamoilfosfat sentetaz eksikliği, kwashiorkor, kronik renal yetmezlik, lizinürik protein intoleransı (36, 39).

Plazmada azaldığı durumlar: Gut, diabetes mellitus ve takip eden abdominal cerrahi (40).

Glisin metabolizması bozuklukları:

1-Non-ketotik hiperglisinemi: Glisin yıkımını sağlayan enzim kompleksindeki bir hataya bağlı olarak görülen ve kalıtsal olan bu hastalıkta glisin, başta beyin-omurilik sıvısı olmak üzere tüm vücut sıvılarında birikerek zeka geriliği ve nöbetlere yol açmaktadır.

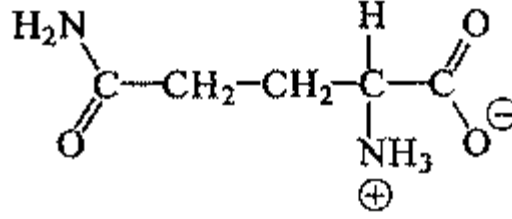
2-Ketotik hiperglisinemi: Nedeni kesin olarak belirlenemeyen bu tip, propiyonik asidemide de görülmektedir.

3-Tip 1 primer hiperoksalüri: Glisinden oluşan glioksilik asidin formik aside oksidasyonunun engellenmesi ile biriken glioksalatın oksitlenmesi sonucu aşırı miktarlarda oksalat idrarla atılmakta ve böbreklerde taş oluşumuna yol açmaktadır.

4-Glisinüri: Renal taşıma sisteminde görülen kalıtsal bozukluğa bağlı olarak, glisinin renal atılımında anormal bir artışla birlikte böbreklerde kalsiyum oksalat taşları oluşmaktadır (27, 28, 34).

2.2.8.Glutamin

2-5-Diamino-5-oksopentanoik asit, 2-aminoglutaramik asit veya glutamik asit 5-amid olarak da adlandırılan ve moleküler formülü $C_5H_{10}N_2O_3$ olan glutamin (Gln, Q)’in (Şekil 11) molekül ağırlığı 146.1 g/mol’dür. Erime noktası 186°C ve yoğunluğu 1.532 g/cm³ olup; pI değeri: 5.65; pK_a değerleri ise 2.17 (-COOH), 9.13 (-NH₂)’dür (32).



Şekil 11. Glutamin (27)

Toksik bir madde olan -NH_3 , glutamin sentez edilerek veya glukoz-alanin döngüsü ile taşınmaktadır. Glutamat dehidrogenazla indirgenen α -ketoglutarat, NH_4^+ ile aminlenerek glutamat oluşturmaktadır. Glutamin sentetazın katalizlediği tepkime ile de adenosin trifosfat (ATP) hidrolizinden sağlanan enerji kullanılarak glutamata NH_4^+ bağlanmakta ve glutamin oluşmaktadır. Bu amidasyon tepkimesi ile toksik olan -NH_3 , toksik olmayan glutamine çevrilerek kanda taşınmaktadır.

Glutamin, böbrekte yaygın olarak bulunan glutaminaz enziminin katalizlediği tek aşamalı bir tepkime ile NH_4^+ ve glutamata dönüşmektedir. Asit-baz dengesinin korunmasında önemli rolü olan idrar amonyacı, glutaminin hidrolizi ile elde edilmektedir (27, 28, 34).

Birçok biyosentetik tepkimede azot vericisi olarak görev yapan glutamat ve glutamin, canlılarda indirgenmiş azotun öncelikle amino asitlerin ve çeşitli azotlu biyomoleküllerin yapısına katılmasını sağlayan önemli bileşiklerdir (34).

Glutamatın tersine plazma ve mitokondriyal membranlardan geçebilen glutamin, ince bağırsağın mukoza hücreleri için en önemli yakıt maddesidir. Ayrıca glutaminin amid azotu; histidin, triptofan, arjinin, karbamoilfosfat, sitidintrifosfat, pürinler, glukozamin, nikotinamid adenin dinükleotid (NAD), glutamat ve üre oluşumu için birçok biyosentetik tepkimeye katılmaktadır (28, 34). Plazmada bulunan glutaminin farklı yaş gruplarındaki referans değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir (35).

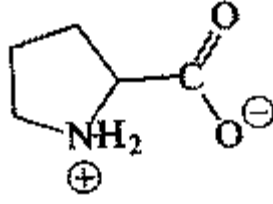
Plazmada arttığı durumlar: Karaciğer koması, reye sendromu, menenjit, serebral kanama, total parenteral beslenme, üre siklusu kusurları (37, 41).

Plazmada azaldığı durumlar: Romatoid artrit (41).

2.2.9.Prolin

Prolidin-2-karboksilik asit olarak da adlandırılan ve moleküler formülü $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$ olan prolin (Pro, P)’in (Şekil 12) molekül ağırlığı 115.1 g/mol’dür.

Erime noktası $205\text{-}228^\circ\text{C}$ ve yoğunluğu 1.380 g/cm^3 olup; pI değeri: 6.30; pK_a değerleri ise 1.95 (-COOH), 10.64 (-NH_2)’dür (32).



Şekil 12. Prolin (27)

Glutamatın halka yapısındaki bir türevi olan prolin sentezinin ilk aşamasında, glutamatın γ -karboksi grubunun ATP ile tepkimeye katılması sonucu γ -glutamilfosfat oluşmaktadır. Bunun NADPH ile indirgenmesi sonucu oluşan glutamat γ -semialdehid, sonra kendiliğinden Δ^1 -prolin-5-karboksilat oluşturmak üzere halkalaşmakta ve bu yapı indirgenerek prolini oluşturmaktadır.

Biyosentez yolunun tersine dönüşümüne benzer şekilde gerçekleşen prolin katabolizması aşamalarında, glutamat oluşumu farklı enzimler ile olmaktadır. Prolin oksidaz ile prolinden oluşan Δ^1 -prolin-5-karboksilat, glutamat γ -semialdehid ile ornitine transamine olabilmekte veya glutamata oksitlenmektedir. Ornitinin putrescine dekarboksilasyonu, spermidin ve spermin poliaminlerinin kaynağı olarak kullanılmaktadır (28, 34).

Prolin ve hidroksiprolin, kollajen yapısında yer alan en önemli amino asitlerdir. Prolin türevleri olan 3-hidroksiprolin ve 4-hidroksiprolin karışık fonksiyonlu oksijenazlar kullanılarak, polipeptid zincirlerinde bulunan prolin kalıntılarından elde edilmektedir. Kollajen yapımı ve yıkımı sırasında açığa çıkan hidroksiprolin de, proline benzer şekilde katabolize olmaktadır (27, 34). Plazmada bulunan prolinin farklı yaş gruplarındaki referans değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir (35).

Plazmada arttığı durumlar: Hiperprolinemi tip I ve II, lizinürik protein intoleransı, bebeklerde protein malnutrisyonu, ağır yanıklardan 1 gün sonra (39).

Plazmada azaldığı durumlar: Abdominal cerrahiden sonra, huntington koresi (39), şiddetli yanık sonrası 4. gün (40).

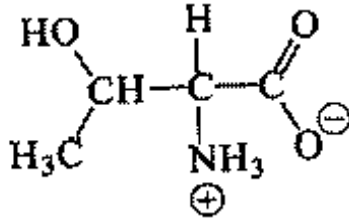
Prolin ve hidroksiprolin metabolizması bozuklukları:

1-Hiperprolinemi: Tip I’de prolin oksidaz, tip II’de ise Δ^1 -prolin-5-karboksilat dehidrogenaz enzimleri eksiktir. Kan ve idrarda prolin düzeyleri yüksektir. Tip I’de böbrek hasarı görülmekte ve her iki tipte de zeka geriliği bulunmaktadır.

2-Hidroksiprolinemi: Hidroksiprolin oksidaz eksikliğine bağlı olarak prolin, hidroksiprolin ile birlikte glisinin renal reabsorpsiyonları bozulmaktadır. Zeka geriliği ve hematüri başlıca klinik belirtilerdir (27, 28, 34).

2.2.10.Treonin

2-Amino-3-hidroksibütirik asit olarak da adlandırılan ve moleküler formülü $C_4H_9NO_3$ olan treonin (Thr, T)'in (Şekil 13) molekül ağırlığı 119.12 g/mol'dür. Erime noktası 229-230°C ve yoğunluğu 1.437 g/cm³ olup; pI değeri: 5.60; pK_a değerleri ise 2.09 (-COOH), 9.10 (-NH₂)'dür (32).



Şekil 13. Treonin (27)

İnsan vücudunda kendine uyan α -ketoasidinden sentez edilemediği için esansiyel bir amino asit olan treonin, memelilerde üç yolla yıkılmaktadır:

1-Serin-treonin dehidrataz ile α -ketobütirata dönüşüm

2-Treonin aldolaz ile glisin ve asetaldehide ayrılma

3-Dehidrogenasyon ve dekarboksilasyon ile aminoaseton oluşumu.

Bu yollardan son ikisinde pirüvat oluşabildiği için treonin, glukojenik bir amino asit olarak değerlendirilmektedir. Treoninin aminoaseton yolu omurgalılarda önemli bir yoldur (27, 28, 34). Plazmada bulunan treoninin farklı yaş gruplarındaki referans değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir (35).

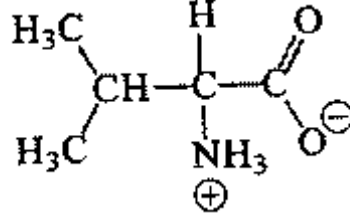
Plazmada azaldığı durumlar: Flebotomi ateşi, kronik böbrek yetmezliği (37).

2.2.11.Dallı Zincirli Amino Asitler: Valin, Lösin, İzolösin

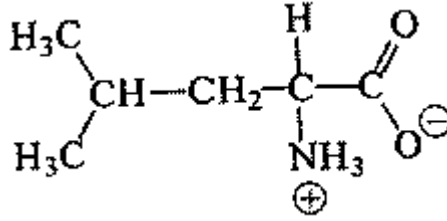
α -Aminoizovalerik asit veya 2-amino-3-metilbütanoik asit olarak da adlandırılan ve moleküler formülü $C_5H_{11}NO_2$ olan valin (Val, V)'in (Şekil 14) molekül ağırlığı 117.15 g/mol'dür. Erime noktası 298°C ve yoğunluğu 1.316 g/cm³ olup; pI değeri: 5.97; pK_a değerleri ise 2.32 (-COOH), 9.62 (-NH₂)'dir (32).

2-Amino-4-metilpentanoik asit olarak da adlandırılan ve moleküler formülü $C_6H_{13}NO_2$ olan lösin (Leu, L)'in (Şekil 15) molekül ağırlığı 131.17 g/mol'dür. Erime

noktası 300°C ve yoğunluğu 1.293 g/cm³ olup; pI değeri: 5.98; pK_a değerleri ise 2.36 (-COOH), 9.60 (-NH₂)’dir (32).



Şekil 14. Valin (27)



Şekil 15. Lösin (27)

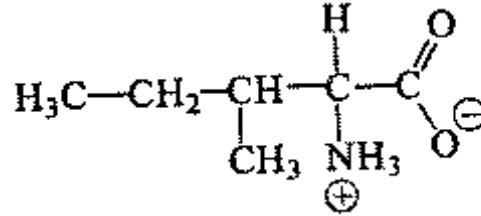
2-Amino-3-metilpentanoik asit olarak da adlandırılan ve moleküler formülü C₆H₁₃NO₂ olan izolösin (Ileu, I)’in (Şekil 16) molekül ağırlığı 131.17 g/mol’dür. Erime noktası 275°C ve yoğunluğu 1.255 g/cm³ olup; pI değeri: 6.02; pK_a değerleri ise 2.36 (-COOH), 9.68 (-NH₂)’dir (32).

Hepsi esansiyel olan bu amino asitler, kendilerine uyan α -keto asitlerden sentez edilebilmektedirler. Memelilerdeki katabolizmalarının bazı başlangıç basamakları benzer enzimlerle katalizlenen valin, lösin ve izolösinin farklı olan sonraki aşamalarında değişik ürünler oluşmaktadır (27, 28, 34).

Protein içeriği zengin bir beslenme sonrasında, öncelikle kas tarafından alınıp tutulan dallı zincirli amino asitler transamine olmaktadır. Karaciğerin yanı sıra bu amino asitler, kalp, böbrek, beyin, iskelet kası gibi karaciğer dışı dokularda metabolize olarak enerji sağlamaktadırlar.

Dallı zincirli amino asitlerin katabolizmalarında sırasıyla transaminasyon, oksidatif dekarboksilasyon, α,β -dehidrogenasyon tepkimeleri ortaktır. Tepkimeler geri dönüşümlü olduğundan, bunlara karşılık gelen α -ketoasitler diyetle bu amino asitlerin yerini alabilmektedirler.

Oksidatif dekarboksilasyon tepkimesini katalizleyen ve mitokondriyal bir multienzim kompleksi olan dallı zincir α -ketoasit dehidrogenazı, açıl CoA tiyoesterlerini oluşturmaktadır. Açıl CoA tiyoesterlerinin α,β -dehidrogenasyonları ile, her üç dallı amino asite uyan α,β -doymamış açıl CoA tiyoesterleri oluşmaktadır. Bu tiyoesterler daha sonra farklı katabolizma yollarını izlemektedir.



Şekil 16. İzolösin (27)

Valinden oksidasyon ile oluşan metilmalonil CoA, süksinil CoA oluşturmaktadır. Süksinil CoA, sitrik asit döngüsü veya diğer yollar ile metabolize olabilmektedir. Süksinil CoA, glukoneogenez ile glukozaya dönüşebildiği için valin, glukojenik bir amino asit olarak değerlendirilmektedir (28, 30).

Valinin plazmada arttığı durumlar: Akçaağaç şurubu idrar hastalığı, ketoz ve hipervalinemi (42).

Valinin plazmada azaldığı durumlar: Kwashiorkor, karsinoid sendrom, akut açlık, hiperinsülinemi, şiddetli yanık sonrası 4. gün, huntington koresi ve hepatik ensefalopati (39).

Lösin; kolesterol ve izoprenoidlerin sentezindeki ara ürüne benzeyen fakat mitokondride oluştuğu için mevalonata dönüşmeyen β -hidroksi- β -metilglutaril CoA (HMG-CoA) üzerinden asetoasetat ve asetil CoA oluşturmaktadır. Bu nedenle lösin güçlü ketojenik etki göstermektedir (27, 28, 30).

Lösinin plazmada arttığı durumlar: Akçaağaç şurubu idrar hastalığı, viral hepatitler, obezite ve uzun süreli açlık (42).

Lösinin plazmada azaldığı durumlar: Kwashiorkor, akut açlık, hiperinsülinemi, şiddetli yanık sonrası 4. Gün (39), abdominal cerrahiden sonra 1. gün (40), huntington koresi ve hepatik ensefalopati (37).

İzolösinin CoA türevi, birkaç aşamada glukojenik olan propionil CoA ve ketojenik etkili asetil CoA oluşturmaktadır. İzolösin ve valinden oluşan propionil CoA aynı zamanda tek sayıda karbon atomu taşıyan yağ asitlerinin öncülüdür (27, 28).

İzolösünün plazmada arttığı durumlar: Akçaağaç şurubu idrar hastalığı, viral hepatitler, obezite ve uzun süreli açlık (37, 42).

İzolösünün plazmada azaldığı durumlar: Kwashiorkor, karsinoid sendrom, akut açlık, hiperinsülinemi, şiddetli yanık sonrası 4. Gün (39) , abdominal cerrahiden sonra 1. gün (40), huntington koresi ve hepatik ensefalopati (37).

Plazmada bulunan dallı zincirli amino asitlerin farklı yaş gruplarındaki referans değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir (35).

Dallı zincirli amino asit metabolizması bozuklukları:

Son derece nadir olan bu bozukluklar, yenidoğan ve küçük çocuklarda genellikle asidoz ile birlikte ortaya çıkmaktadır. En sık karşılaşılan ve otozomal resesif olarak taşınan dallı zincirli α -ketoasit dekarboksilaz eksikliğinde, α -ketoasitler ile onlara uyan hidroksiasitler ve diğer yan ürünler idrarla atılmaktadır. İdrarın akça ağaç şurubuna benzer karakteristik kokusu nedeniyle akçaağaç şurubu idrar hastalığı adı verilen ve şiddetli kusma, nöbetler, zeka geriliği ve ketoasidozla seyreden bu hastalıkta ketoasidemiye azaltan besinler ile tedavi bazı durumlarda etkili olmaktadır (27, 28, 34).

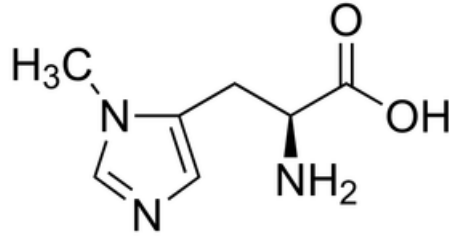
2.2.12. 3-Metil-Histidin

2-Amino-3-(1-metil-1H-imidazol-5-il) propanoik asit, π -metil histidin, n-t-metil histidin, tau-metil histidin veya 1-metil histidin olarak da adlandırılan ve moleküler formülü $C_7H_{11}N_3O_2$ olan 3-metil histidin (3-MH)’in (Şekil 17) molekül ağırlığı 169.18 g/mol’dür. Erime noktası 240°C ve yoğunluğu 1.370 g/cm³,tür (32).

3-MH; aktin ve miyozinde bulunan miyofibriler proteinlerin integral kısmını meydana getiren bir amino asit türevidir olup, polipeptid zincirindeki histidin rezidülerinin post-translasyonel modifikasyonu ile oluşmaktadır (43). 3-MH atılımı, kas protein yıkımı açısından bir gösterge olarak kullanılmaktadır. Protein katabolizması ile salınan 3-MH tekrar proteine katılmamakta ve idrarla atılmaktadır. Kas kütlesi için düzeltilmiş 3-MH atılımı, kas protein yıkımını yansıtmaktadır. 3-MH iskelet miyofibriler protein katabolizmasının noninvazif bir markırı olup, nitrojen kaybı, travma ve enfeksiyon ile ilişkilidir (44).

Özellikle 3-MH/kreatinin oranı kas yıkılımını göstermede değerlidir. Bu oran normalde 0.23 ± 0.07 ’dir ve yaş-cinsiyetten bağımsızdır (45). Katabolik hastalarda etkin nütrisyon desteği ile birlikte 3-MH/kreatinin oranı azalmakla birlikte, kronik malnütrisyonla artma gözlenmektedir. 3-MH plazma konsantrasyonları ise 2-17 yaş arasında <200 μ mol/L iken erişkinde <600 μ mol/L’dir ve özellikle kronik böbrek

yetmezliğinde artış göstermektedir (46). 3-MH pratikte azot dengesinin değerlendirilmesinde önemlidir (45).



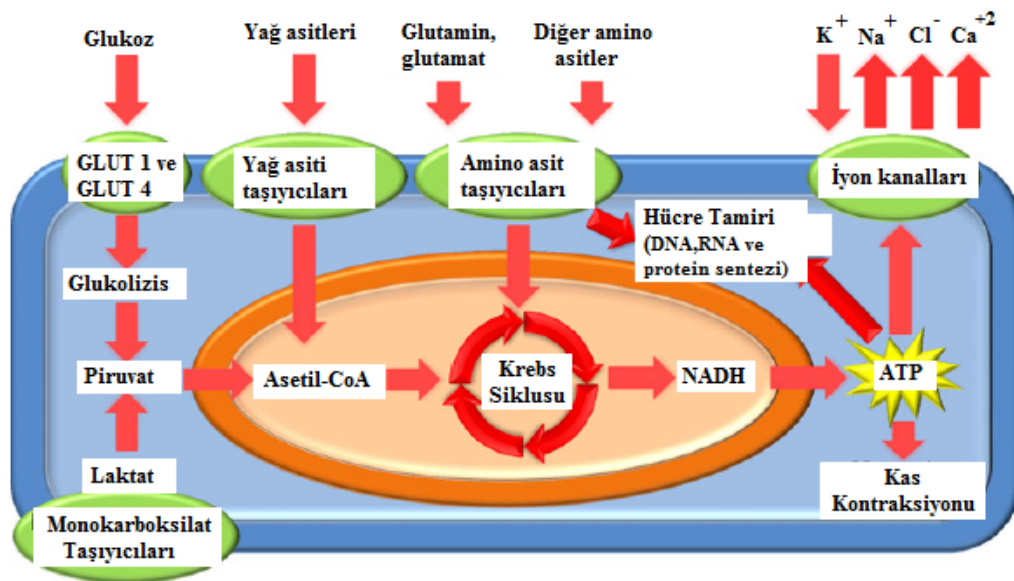
Şekil 17. 3-Metil-Histidin (32)

Tablo 2. Farklı Yaş Gruplarında Plazma Amino Asitleri İçin Referans Değerler (nmol/mL) (35)

Plazma Amino Asit	1 Hafta	1 Hafta-1 Ay	1-4 Ay	4 Ay-2 Yaş	2-10 Yaş	10-18 Yaş	>18 Yaş
Alanin	108-448	116-376	183-378	144-348	158-314	192-508	182-552
Arjinin	12-116	12-104	38-102	18-78	38-98	45-125	46-128
Glutamin	198-886	178-670	368-652	337-709	373-709	396-740	435-721
Glisin	101-317	20-356	73-241	74-290	113-261	148-324	123-319
Fenilalanin	21-85	21-93	29-85	26-70	35-67	38-78	39-74
Tirozin	38-178	40-160	31-115	14-114	34-82	40-92	35-84
Treonin	53-141	55-187	66-182	36-136	48-140	72-192	102-190
Prolin	120-344	65-457	98-254	53-201	93-221	75-307	88-290
Valin	65-201	59-199	96-228	79-267	133-273	142-278	144-269
Lösin	47-175	47-167	55-155	53-149	64-164	76-168	78-160
İzolösin	22-82	22-94	28-84	32-92	31-83	38-94	34-84

2.3.KONJENİTAL KALP HASTALIKLARI VE AMİNO ASİTLER

Kalp kası, enerjisini; yağ asitleri (matür myokardın primer kaynağı), glukoz, laktat (immatür myokardın primer kaynağı), keton cisimleri ve serbest amino asitler gibi birçok molekülden sağlar. Serbest amino asit havuzunun ana bileşenleri, mitokondri ve plazma arasındaki dengenin sağlanmasında görev alan endojen amino asitlerdir. Endojen amino asitler, anaplerotik ajanlar gibi Krebs siklusuna girebilmekte (Şekil 18) ve özellikle aerobik arrest ile iskemiye içeren patolojik durumlarda Krebs siklus aktivitesindeki bozuklukları önleyebilmektedir (47).



Şekil 18. Kalpteki Metabolitler ve Fonksiyonları (49)

İmmatür kalbe ait amino asit profilinin belirlenmesinde yaş, önemli bir faktör konumundadır. Erken yaşlarda aspartat, glutamat, taurin, alanin ve dallı zincirli amino asit seviyelerinin daha yüksek olduğu bilinmektedir. Kronik hipoksi, artmış alanin düzeylerine neden olurken, endojen amino asit seviyelerinde bir azalmaya yol açmamaktadır. Ventriküler septal defekt (VSD)'li hastalarda, atriyal septal defekt (ASD)'li hastalara göre artan volüm yükü ve metabolik stres nedeniyle glutamin ve dallı zincirli amino asit patolojileri önem kazanmaktadır (48).

KKH'lı çocuklarda düşük kalori alımı, kardiyak lezyonun ağırlık derecesi, malabsorpsiyon, artmış metabolizma hızı, bozulmuş periferel perfüzyona ikincil olarak besinlerin biyolojik yararlanımında yetersizlik ve prenatal faktörler gibi mekanizmalar nedeniyle büyüme geriliğine sık rastlanmaktadır. Bu hastalarda kronik malnutrisyonun bulguları olan deri altı yağ dokusunda ve kas kitlesinde azalma ile

boy kısalığı seyrek değildir. Siyanoz, pulmoner hipertansiyon ve KKY varlığında büyüme geriliği prevalansı artarken (50), kardiyak cerrahi öncesi beslenme desteğinin en uygun düzeyde sağlanmasının cerrahi sonrası morbidite ve mortaliteyi azalttığı bildirilmiştir (51).

Konjenital kalp hastalıklı çocuklarda kardiyak operasyon sonrası erken dönemde hipoaminoasidemi olduğu bildirilmiştir (12). Kardiyak cerrahi geçiren çocuklarda erken dönemde çeşitli nedenlerle (araya giren ek minör cerrahi girişimler, hastane enfeksiyonları, parenteral beslenmeye ikincil gelişebilen kolestatik hepatit ve kısıtlı sıvı kullanma zorunluluğu gibi) parenteral beslenmenin ideal yapılamaması sonucunda postoperatif enerji alımı yetersiz kalır. Yetersiz enerji alımına sekonder malnutrisyon gelişir veya operasyon öncesi varolan malnutrisyon ağırlaşır (51). Ağır malnutrisyon gelişen hastalarda yara iyileşmesi gecikir, enfeksiyona eğilim nedeniyle hastanede kalış süresi uzar, cerrahi mortalite ve morbidite oranı artar. Pediatrik yoğun bakım ünitelerinde izlenen çocukların yaklaşık olarak üçte birinde akut veya kronik protein-enerji malnutrisyonu gelişmektedir (53). KKH'lı çocukların postoperatif izleminde metabolik dengenin sağlanması, intestinal perfüzyonun ve immün fonksiyonların düzenlenmesi için beslenme önemlidir. Postoperatif 1. günde oluşan proteolizis ve hipoaminoasidemiği önlemek için glukoz ve amino asit solüsyonu verilmesinin negatif nitrojen dengesini ve kaslardan oluşan proteolizisi önlediği, proteolizisin göstergesi olan idrar 3-MH atılımının azaldığı, postoperatif 7. günde normal plazma amino asit profilinin oluştuğu gösterilmiştir (12).

Özellikle hızlı proliferen olan hücreler (lenfositler ve makrofajlar gibi) için gerekli olan glutamin, doku ve plazmada bulunan bir serbest amino asittir. (54). Glutamin hücrede deoksiribonükleik asit (DNA) sentezinin primer nitrojen donörü olup, organlar arası nitrojen transportunda ve böbrek bikarbonat üretiminde önemli bir görev üstlenmektedir. Hiperkatabolik ve hipermetabolik durumun glutamin düzeyinde belirgin azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (52). Özellikle ağır hastalarda ve büyük cerrahi travmayla karşılaşanlarda bu durum daha belirgindir. Kritik hastalarda azalmış olan glutamin düzeyi iskelet kasından sağlanan glutamin ile kompanse edilemez. Glutaminin immünomodülatör ve immünostimülan etkisinin olduğu, enfeksiyon sıklığında azalmaya yol açarak mortalite ve morbidite oranını azalttığı bildirilmiştir (54).

Dallı zincirli amino asitler özellikle sepsis ve karaciğer yetmezliği gibi hiperkatabolik durumlardaki hastalar için önemli metabolik substratlardır (9). Yaşla

azalan dallı zincirli amino asit konsantrasyonları, metabolik stres ile korelasyon gösterir. Başta lösin olmak üzere bu amino asitler, miyokardiyal protein turnover regülasyonunun sağlanmasında önemli role sahiptirler. Farklı koşullar altında lösin; protein yıkımını engeller, protein sentezini uyarır ve nitrojen dengesini düzenler (55). Yetişkinlerdeki kardiyak operasyonlar sonrasında iskelet kası dallı zincirli amino asitlerin, glutaminin ve alaninin ana kaynağını oluştururken, KKH ve distrofisi olan bebekler daha sınırlı bir endojen amino asit havuzuna sahiptirler (56).

Alanin ve hipoksik stres arasındaki ilişki, alaninin dallı zincirli amino asitler ile olan pozitif korelasyonu ile doğrulanmıştır. Özellikle siyanotik kalplerde alanin konsantrasyonlarının %20 daha yüksek olduğu bildirilmiştir (57).

Durumu kritik olan hastalara sistemik ve pulmoner vasküler dirençte düşüş gözlenmiş ve L-arjininin yenidoğan kalbindeki hipotermik iskemi ve reperfüzyona olan yararı kesinleşmiştir (58).

Kardiyak operasyon sonrası bebeklerde, özellikle erken postoperatif dönemde plazma glutamin, valin, lösin, izölösin, alanin, glisin, treonin, prolin ve arjinin seviyelerinde geçici fakat anlamlı bir azalma gözlemlendiği, fenilalanin seviyelerinde ise artış saptandığı bildirilmiştir (12).

2.4.TOTAL PROTEİN

Total protein; kan plazmasında bulunan akut-faz reaksiyon proteinleri, taşıyıcı proteinler, fibrinojen ve diğer pıhtılaşma faktörleri, kompleman bileşenleri, immünoglobulinler, enzim inhibitörleri, anjiyotensin ve bradikinin öncülleri gibi yüzlerce farklı proteinden oluşmaktadır (59). Bu proteinlerin vücuttaki başlıca işlevleri:

- Plazma proteinlerinin %60'ını oluşturan albumin başta olmak üzere, hücre dışı sıvıda, kan damarları ve dokular arasındaki onkotik basınç farkını oluşturmak,
- Yabancı proteinler, bakteriler, virüsler gibi yabancı cisimlere karşı vücudu savunmak,
- Yağ asidi, steroid, bilirubin gibi suda çözünmeyen moleküllerle bazı katyonların dolaşımında taşınmasını sağlamak,
- Endokrin sistemde ve pıhtılaşmada görev almak,
- Dokularda pH düzenleyici tampon görevi görmek,
- Doku büyümesi ve tamirinde gerekli besin maddelerini oluşturmak (60).

Çoğu plazma proteini karaciğerde sentezlenir ve hepatik sinüzoidler ve karaciğer santral veni yoluyla kan dolaşımına geçer. Plazma proteinleri kanda ve kanla ekstrasellüler doku aralığı arasında dolaşırlar. Plazma proteinleri genellikle karaciğerde metabolize olurlar. Siyalik asit içeriğinin tamamı veya bir kısmının kaybı, bazı plazma proteinlerinin yıkımı için belirleyici sinyal görevi görmektedir (59).

Klinik kimya laboratuvarında protein tayini; total protein tayini ve farklı tipte proteinlerin tayini şeklinde olabilmektedir. Plazma proteinleri böbrek, karaciğer hastalıkları, hipogammaglobulinemi ve multiple myeloma gibi hastalıklarda elektroforezle alt bileşenlerine ayrılır (60).

Total proteinin arttığı durumlar: Poliklonal ya da monoklonal gamapatiler nedeniyle oluşan hiperimmünoglobulinemi, akut faz yanıtı, psödohiperproteinemi (dehidratasyon nedenli hemokonsantrasyon, örneğin kuruması).

Total proteinin azaldığı durumlar: Protein kaybına yol açan gastroenteropatiler, akut yanıklar ve nefrotik sendrom, proteinlerin sentezindeki azalma nedeniyle oluşan düşüşler (ağır protein yetmezliği, kronik karaciğer hastalığı, malabsorpsiyon sendromu, malnutrisyon ve agamaglobulinemi) (37, 61).

Serum total protein konsantrasyonunun farklı yaş gruplarındaki referans değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir (41). Plazma total protein konsantrasyonu ise fibrinojen varlığından dolayı, serumdan yaklaşık 0.3 g/dL daha yüksektir ve bu farkın klinik olarak anlamlı olması söz konusu değildir (62).

KKH'lı çocukların yarısından fazlasında bozulmuş protein metabolizmasıyla birlikte malnutrisyon görülmektedir (11). Bu çocuklarda kardiyak operasyonların hemen sonrasında yaygın kas proteolizi olduğu bildirilmiştir (12). Operasyon sonrası görülen proteolizisdeki artış, hepatik albumin seviyesindeki azalma ve tam onarım yapılan çocuklarda bile oluşabilen sekonder organ disfonksiyonu, mikrovasküler permeabilitede artışla birlikte hipoproteinemiye neden olmaktadır (11).

Tablo 3. Farklı Yaş Gruplarında Serum Total Protein İçin Referans Değerler (g/dL) (41)

	Yenidoğan	1 Hafta	7 Ay-1 Yaş	1-2 Yaş	≥3 Yaş	Yetişkin
Total Protein	4.6-7.0	4.4-7.6	5.1-7.3	5.6-7.5	6.0-8.0	6.0-8.3

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenen (Proje no: TST-09-1050) ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanan (07.04.2009 tarih, karar no: 09/216) bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, Pediatrik Kardiyoloji Bilim Dalı ve Metabolizma Laboratuvarı'nda yapıldı.

3.1. GEREÇ

Çalışma sırasında saf su cihazları (MINIpure, EASYpure RF Barnstead), santrifüj (nüve NF 400R), buzdolabı (Arçelik), -40°C derin dondurucu (REVCO ULT 1740-5-V40), çeşitli ölçülerde otomatik pipetler (Socorex, Nichipet), 20-200 µL ve 100-1000 µL'lik pipet uçları, cam (2 mL) ve ependorf tüpler, vialler ve vial kapakları (1,8 mL) kullanıldı. Kullanılan cam tüpler ve vialler %20 nitrik asit içerisinde 24 saat bekletildikten sonra, sırasıyla Tip 2 ve Tip 1 saf su ile 3 kez yıkanarak demineralize edildi. Ölçümlerde kullanılan çözeltiler Tip 1 saf su ile hazırlandı.

Amino asit analizinde kullanılan cihazlar:

- Zivak Tandem Gold sıvı kromatografisi-kütle/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) sistemi,
- Zivak amino asit kolonu (250 x 2 mm C18 kolon),
- Zymark Turbo Vap LV buharlaştırıcı (evaporatör),
- Mikro 120 Hettich mikrosantrifüj,
- Heidolph Reax Top karıştırıcı (vorteks),

- -20°C derin dondurucu (Bosch).

3.2. GRUPLAR

Çalışma grubu: Bu çalışmaya, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Kardiyoloji Bilim Dalı'nda Eylül 2009-Aralık 2011 tarihleri arasında perkütan transkateter yol ile PDA'sı kapatılan 6 ay-6 yaş arası 10'u kız ve 12'si erkek çocuk olmak üzere toplam 22 hasta dahil edildi.

PDA tanısında PDA'nın morfolojisi, çapı ve şekli, Amerikan Ekokardiyografi Derneği (ASE) kılavuzuna (63) uygun olarak M-mod Ekokardiyografi (EKO) ve devamlı Doppler çalışmalarıyla, suprasternal ve parasternal uzun eksenle yapılarak belirlendi. Ağlayan çocukların EKO'ları sedasyon uygulandıktan sonra yapıldı. Fizik muayenede devamlı üfürümü olan hastalar; EKO'da soldan sağa şant tespit edilen semptomatik hastalar; duktus çapı 1 mm'den fazla olan ve sol ventrikül-atriyumda volüm yükü bulguları olan hastalar anjiyo ile kapama programına alındı. Hasta ebeveynlerine işlem öncesi yapılacak prosedür anlatıldı ve ebeveynlerden aydınlatılmış onam alındı. Anjiyoda transkateterik yolla PDA'sı kapatılan hastalar, kendi içinde işlem öncesi ve işlem sonrası olmak üzere iki gruba ayrıldı. İlave konjenital kardiyak patolojisi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Kontrol grubu: Bu çalışmaya, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı Kardiyoloji Polikliniği'ne başvuran, herhangi bir sistemik hastalığı olmayan, herhangi bir ilaç kullanmayan, hasta grubunun yaş ve cinsiyet dağılımına benzer şekilde seçilen 11'i kız, 10'u erkek toplam 21 çocuk kontrol grubu olarak dahil edildi. Hasta ebeveynleri bu çalışma hakkında bilgilendirildi ve aydınlatılmış onam formları alındı.

Çalışma sırasında; çalışma grubundan işlemten 1 gün önce ve 30 gün sonra olmak üzere toplam iki kez; kontrol grubundan bir kez kan alındı. Yapılacak analizlere uygun şekilde, çalışma ve kontrol gruplarından alınan venöz kan örnekleri EDTA'lı tüplerde toplandı. Örnekler, 30 dk içerisinde, +4°C'de 2000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen plazma örnekleri alikotlara ayrılarak ölçüm gününe kadar ependorf tüplerde -40°C'de dondurularak saklandı.

3.3. YÖNTEM

Çalışma gruplarının plazma örneklerinde; rutin analizler ve biyokimyasal çalışmalar yapıldı.

3.3.1.Rutin Analizler

Çalışma gruplarından elde edilen plazma örneklerinde total protein ölçümü yapıldı. Total protein düzeyleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı'nda Architect C8000 marka otoanalizörde uygun ticari kitler kullanılarak analiz edildi.

3.3.2.Biyokimyasal Çalışma

Amino asit düzeylerinin ölçümü:

Çalışma gününe kadar alikotlar halinde dondurularak saklanan hasta ve kontrol grubu plazmalarındaki amino asit düzeyleri, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Metabolizma Laboratuvarı'nda Zivak Tandem Gold LC-MS/MS sisteminde Zivak Amino Acids LC-MS/MS Analysis Kit in Biological Fluids kiti kullanılarak belirlendi.

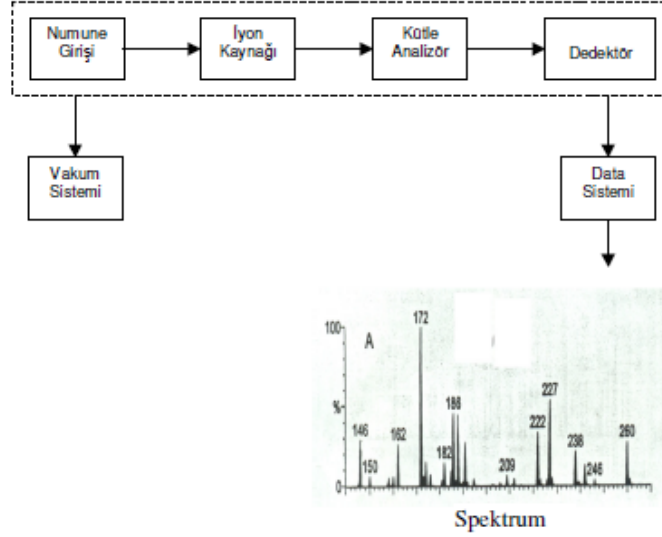
LC-MS/MS:

LC-MS/MS (High-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry) tekniği, kompleks karışımların yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde fizikokimyasal özelliklerine göre ayrıldıktan sonra bileşenlerin belirlenmesi ve miktar tayini için kütle spektrometresi (MS)'nde analiz edilmeleri esasına dayanmaktadır. Kütle spektrometreleri, yüklü partiküllerin manyetik ya da elektriksel bir alandan geçerken diğer yüklü partiküllerden kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılmaları prensibine göre çalışırlar. Moleküller normalde yüklü partiküller değildir ve MS'ler iyonizasyon işlemi ile molekülleri uyararak yüklü iyonize moleküller haline dönüştürürler. Yüklü moleküller stabil değildir ve diğer moleküllerle veya bir yüzey ile temas ettikleri zaman fragmentlerine parçalanır ve yüklerini kaybederler (64). Oluşan her bir iyon spesifik bir moleküler kütle ve yüke sahiptir ve m/z değerlerinin yoğunluğuna (intensite) karşı gösterildiği bir spektrum ile bileşik tanımlanmaktadır. Her bir iyonun yoğunluğu detektöre ulaşan miktarı ile orantılıdır ve her bileşiğin spektrumu kendine özeldir. Bilinmeyen bir örneğin analizi sonucu elde edilen spektrum, referans spektrumu ile karşılaştırılarak tanımlanır (64-66). Şekil 19'da bir kütle spektrometresinin bölümleri gösterilmiştir (67).

Kantitatif Analiz:

Kütle spektrometresinde kantitatif doğruluk, analitik işlemin başlangıcında eklenen uygun internal standart (IS) ile sağlanır. Bilinen miktarda IS eklenmesi ekstraksiyon, derivatizasyon ve analitik adımlar gibi herhangi bir aşamadaki madde kayıplarını kompanse eder. Seçilen IS'ın ilgilenilen bileşiğin kimyasal yapısına uygun olması gerekir. Böylece IS'ın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin bilinmeyen maddeninki ile

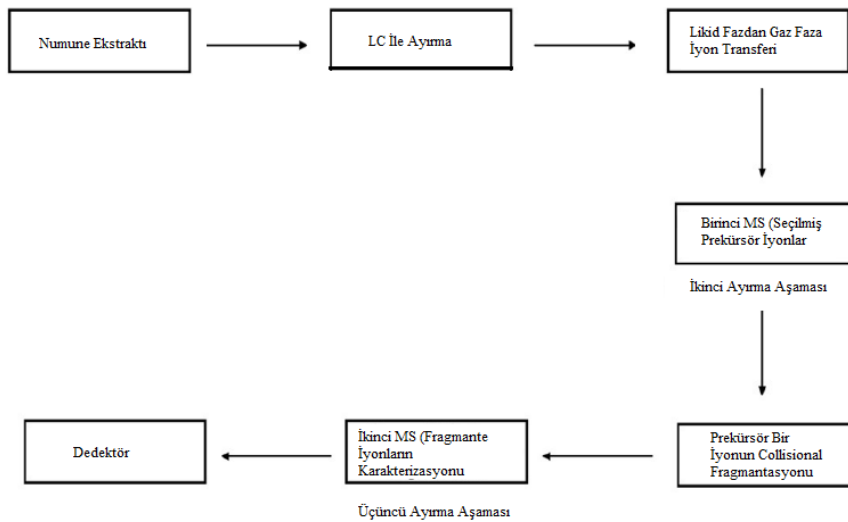
uyumlu olması sağlanır. Bu sebeple döteryumla işaretlenmiş bileşiklerin IS olarak kullanımı yaygındır. Gerçekte IS yapısal benzerliğinden dolayı analizlenen bileşiğinki ile aynı kromatografik alıkonma zamanına (RT) sahiptir. Kantitatif değerlendirmede, numunenin yoğunluğu veya alanı IS ile orantılanarak kalibrasyon eğrisinden değerlendirilir ve sonuçlar belirlenir (64, 66).



Şekil 19. Kütle Spektrometresinin Bölümleri (Şematik Olarak)

LC-MS/MS ile yapılan açılıkarnitin ve amino asit analizi ile metabolik hastalıkların tanımlanması son derece önemlidir (68, 69).

Şekil 20’de bir LC-MS/MS sisteminin bölümleri gösterilmiştir (70).



Şekil 20. LC-MS/MS Sisteminin Bölümleri (Şematik Olarak)

3.3.2.1.Zivak Tandem Gold LC-MS/MS Sisteminde Çalışılan Koşullar

Tablo 4. LC-MS/MS’de Pozitif İyon Modunda Çalışma Koşulları

Kolon	Zivak-AA Kolon (250 x 2 mm, C18)
Kolon enjeksiyon hacmi	10 µL
Gradient	00.00 dk %62A %38B 12.00 dk %35A %65B 12.01 dk %5 A %95B 14.00 dk %5 A %95B 14.01 dk %62A %38B 18.00 dk %62A %38B
Akış hızı	0.25 mL/dk
İyonizasyon Modu	Elektrospray iyonizasyon (ESI) pozitif
Gaz basıncı	55 psi
Tarama zamanı	0.342 sn
SIM (Seçilmiş iyon monitörleme) genişliği	1.2 Atomik kütle ünitesi (amu)
Kurutma gazı sıcaklığı	350°C
İğne	5000 V
Kalkan	600 V
Kapiller	40 V
Dedektör	1300 V

3.3.2.2.Zivak Amino Acids LC-MS/MS Analysis Kit in Biological Fluids (200 Test) Reaktifleri (ZV-3002-KK-T)

- Standart çözeltisi 1 (S1), liyofilize
- Standart çözeltisi 2 (S2)
- Standart çözeltisi 3 (S3)
- Reaktif 1 (R1, IS)
- Reaktif 2 (R2, n-propanol)

- Reaktif 3 (R3, izooktan)
- Reaktif 4 (R4, kloroform)
- Reaktif 5 (R5, metanol)
- Mobil faz A (metanol)
- Mobil faz B (metanol)
- Plazma kontrol Level (seviye) 1, liyofilize
- Plazma kontrol Level 2, liyofilize

3.3.2.3. Kalibratör-Numune Hazırlama ve Çalışma Prosedürü

Kalibratörün hazırlanışı:

Liyofilize halde bulunan standart 1, 3 mL distile su eklenerek çözüldü. Çözme işleminden sonra kalibratör 400 µL'lik hacimlere bölünerek -20 °C'de saklandı. Kalibrasyon yapılmadan hemen önce kullanılacak 400 µL'lik kısım dondurucudan çıkarılarak erimesi sağlandı. Daha sonra 40 µL standart 2 çözeltisi eklendi ve vorteksle 20 sn karıştırıldı. Bu şekilde hazırlanan plazma kalibratör aşağıdaki miktarlarda numune hazırlama tüpüne alındı ve numune hazırlama prosedüründen geçirildikten sonra cihazın kalibrasyonu yapıldı.

Kalibratör Level I: 50 µL plazma kalibratör + 50 µL distile su

Kalibratör Level II: 100 µL plazma kalibratör

Kalibratör Level III: 100 µL standart 3

Kontrollerin Hazırlanışı:

Level I ve Level II plazma kontroller 3 mL deiyonize suda çözüldü. 300 µL'lik hacimlere bölünerek -20 °C'de saklandı. Kontrol yapılmadan hemen önce kullanılacak 300 µL'lik kısım dondurucudan çıkarılarak erimesi sağlandı. Daha sonra Level I plazma kontrole 30 µL standart 2 çözeltisi eklendi ve vorteksle 20 sn karıştırıldı. Level II plazma kontrole ise 30 µL distile su eklendi.

Numune Hazırlama Prosedürü:

1. 100 µL hasta örneği (veya Level I ve II kalibratörü) cam örnek hazırlama tüplerine kondu.

2. 100 µL Reaktif 1 eklendi ve 10 sn vorteksle karıştırıldı.
3. 200 µL Reaktif 2 eklendi ve 10 sn vorteksle karıştırıldı.
4. 200 µL Reaktif 3 eklendi ve 10 sn vorteksle karıştırıldı. 2 dk beklendi ve tüp tekrar 10 sn vorteksle karıştırıldı. Karıştırıldıktan sonra 1 dk daha beklendi.
5. 200 µL Reaktif 4 eklendi ve 10 sn vorteksle karıştırıldı. Karıştırıldıktan sonra 1 dk beklendi.
6. 4000 rpm’de 3 dk santrifüj edildi.
7. Üst fazdan 200 µL alarak, konik cam tüpe kondu ve azot gazı altında uçuruldu.
8. 500 µL Reaktif 5 eklendi ve 10 sn vorteksle karıştırıldı (bu karışımdan sonra örnek, cihaza enjekte edilinceye kadar oda ısısında 24 saat, 2-4°C’de 48 saat dayanıklıydı).
9. Sıvı, otomatik örnek yükleyiciye aktarıldı ve 10 µL örnek LC-MS/MS sistemine enjekte edildi. Her örnek için çalışma zamanı 18 dk idi.

Level I ve II plazma kontrol değerleri Tablo 5-6’da gösterildi.

Tablo 5. Level I Kontrol Değerleri

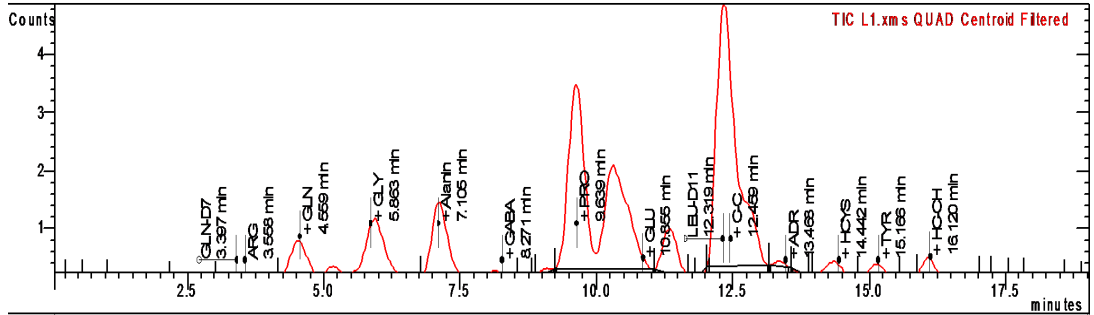
Kontrol Level I Değerleri (nmol/mL)		Minimum	Maksimum
Alanin	410	328	492
Arjinin	63	50	76
Glutamin	295	236	354
Glisin	195	156	234
İzolösin	69	55	83
Lösin	207	166	248
Fenilalanin	87	70	104
Prolin	236	189	283
Treonin	121	97	145
Tirozin	60	48	72
3-Metil-Histidin	85	69	105
Valin	215	172	258

Tablo 6. Level II Kontrol Değerleri

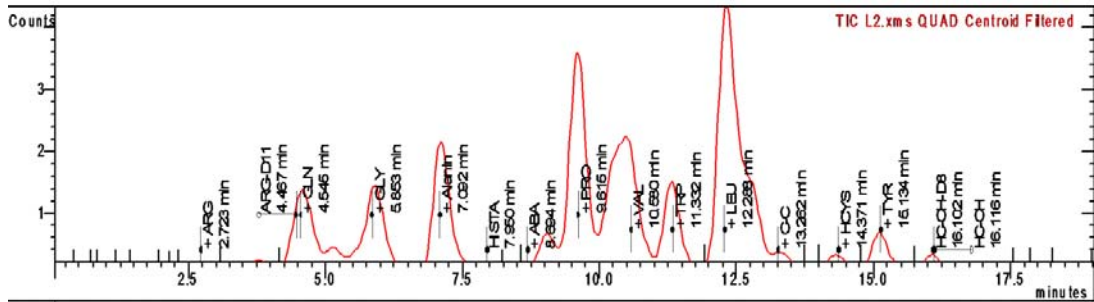
Kontrol Level II Değerleri (nmol/mL)		Minimum	Maksimum
Alanin	678	542	814
Arjinin	302	242	362
Glutamin	788	630	946
Glisin	675	540	810
İzolösin	115	92	138
Lösin	303	242	364
Fenilalanin	292	234	350
Prolin	480	384	576
Treonin	216	173	259
Tirozin	240	192	288
3-Metil-Histidin	288	230	345
Valin	435	348	522

Kontrol Level I ve II pikleri:

Level I ve II plazma kontrol pikleri Şekil 21-22’de gösterildi.



Şekil 21. Kontrol Level I Pikleri



Şekil 22. Kontrol Level II Pikleri

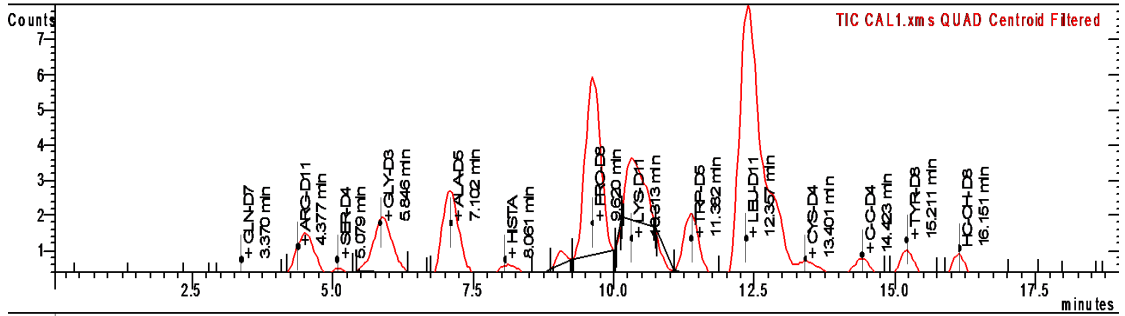
Level I ve II plazma kalibratör değerleri Tablo 7’de gösterildi.

Tablo 7. Level I ve II Kalibratör Değerleri

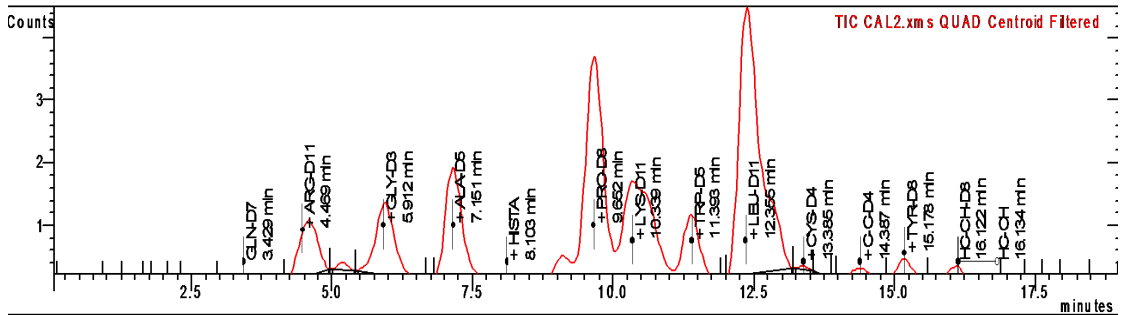
Kalibratör Değerleri (nmol/mL)	Level I	Level II
Alanin	271	542
Arjinin	90	180
Glutamin	272	544
Glisin	222	444
İzolösin	46	92
Lsin	126	252
Fenilalanin	93	186
Prolin	177	354
Treonin	86	172
Tirozin	76	152
3-Metil-histidin	55	110
Valin	157	314

Kalibratör pikleri:

Level I ve II plazma kalibratör pikleri Şekil 23-24’de gösterildi.



Şekil 23. Kalibratör Level I Pikleri

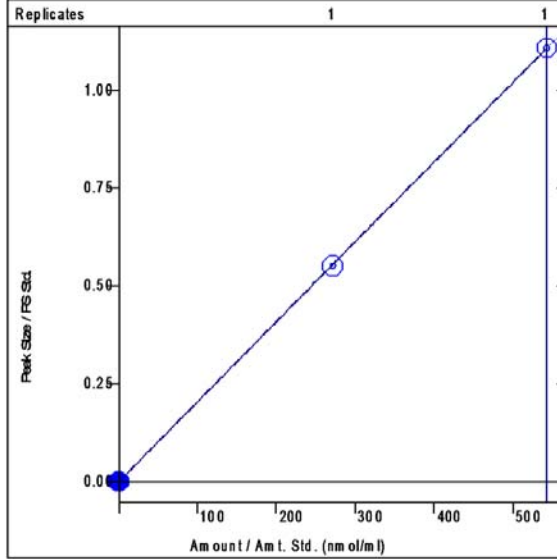


Şekil 24. Kalibratör Level II Pikleri

Kalibrasyon eğrileri:

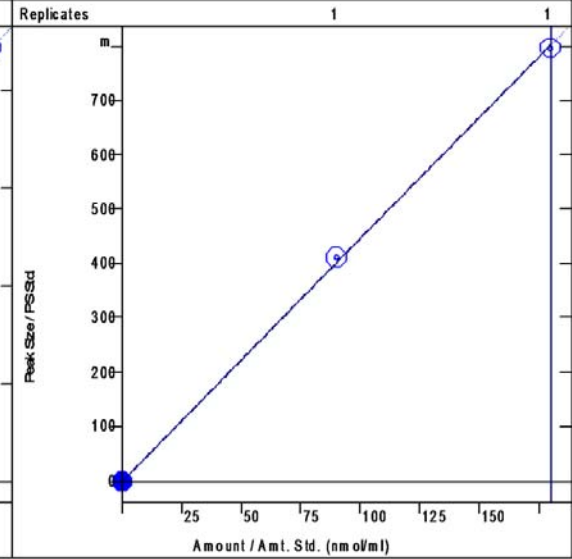
Amino asitlere ait kalibrasyon eğrileri Şekil 25-36’da gösterildi.

Alanin
Curve Fit: Linear, Origin: Include, Weight: None
Resp. Fact. RSD: 0.4120%, Coeff. Det.(r2): 0.999989
 $y = +0.0020x - 0.0011$



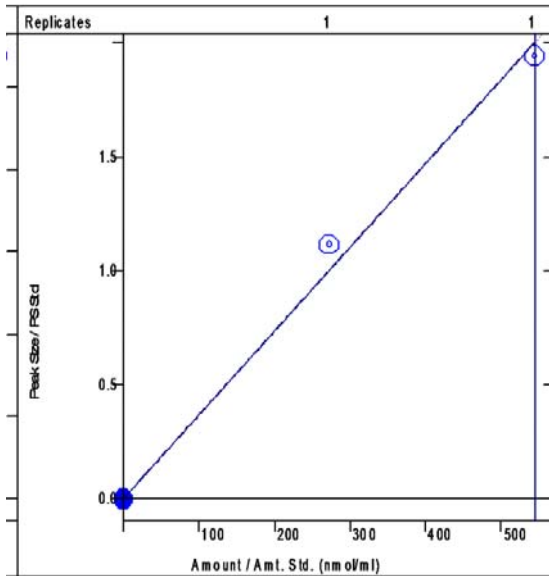
Şekil 25. Alanin Kalibrasyon Eğrisi

Arginin
Curve Fit: Linear, Origin: Force, Weight: None
Resp. Fact. RSD: 2.132%, Coeff. Det.(r2): 0.999688
 $y = +0.0045x$



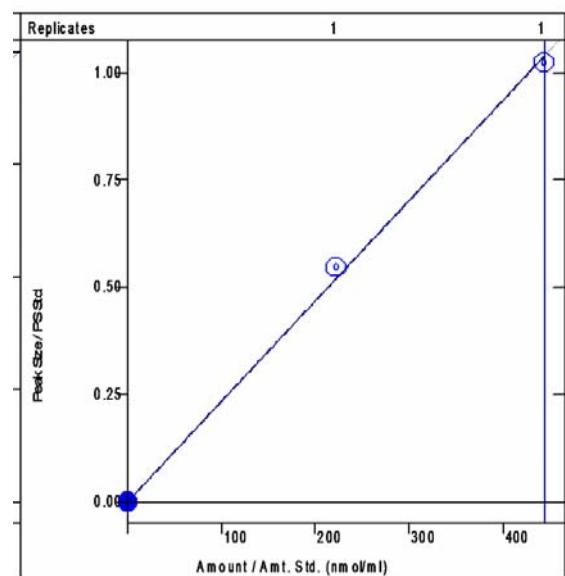
Şekil 26. Arjinin Kalibrasyon Eğrisi

Glutamin
Curve Fit: Linear, Origin: Force, Weight: None
Resp. Fact. RSD: 9.907%, Coeff. Det.(r2): 0.992490
 $y = +0.0037x$



Şekil 27. Glutamin Kalibrasyon Eğrisi

Glisin
Curve Fit: Linear, Origin: Force, Weight: None
Resp. Fact. RSD: 4.782%, Coeff. Det.(r2): 0.998369
 $y = +0.0023x$



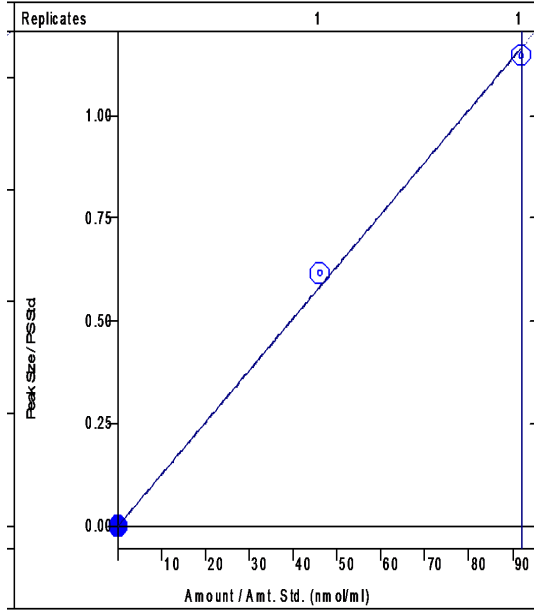
Şekil 28. Glisin Kalibrasyon Eğrisi

Izolosin

Curve Fit: Linear, Origin: Force, Weight: None

Resp. Fact. RSD: 5.205%, Coeff. Det.(r2): 0.998057

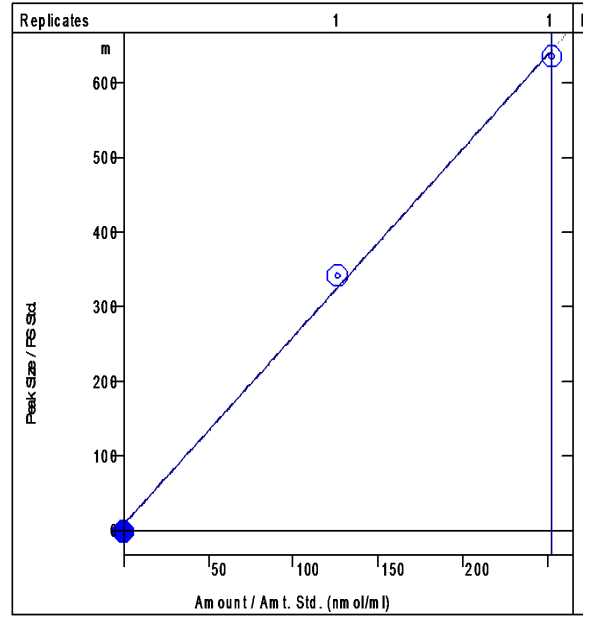
$$y = +0.0127x$$

**Şekil 29.** İzolösın Kalibrasyon Eğrisi**Losin**

Curve Fit: Linear, Origin: Include, Weight: None

Resp. Fact. RSD: 5.445%, Coeff. Det.(r2): 0.997866

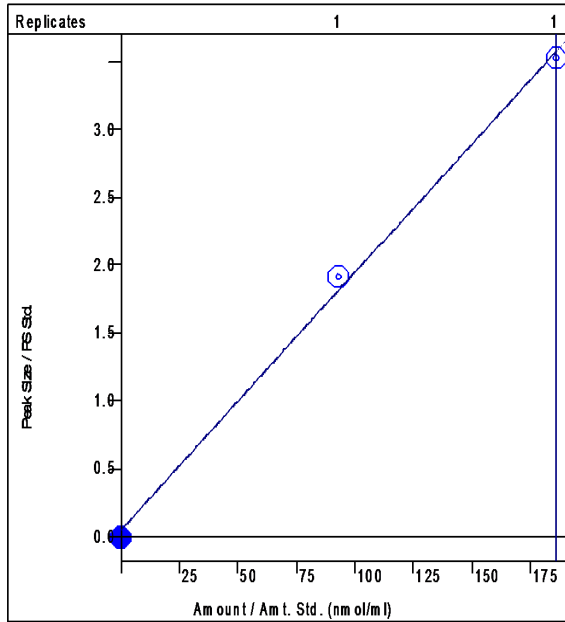
$$y = +0.0025x + 0.0085$$

**Şekil 30.** Lösın Kalibrasyon Eğrisi**Fenilalanin**

Curve Fit: Linear, Origin: Include, Weight: None

Resp. Fact. RSD: 5.765%, Coeff. Det.(r2): 0.997597

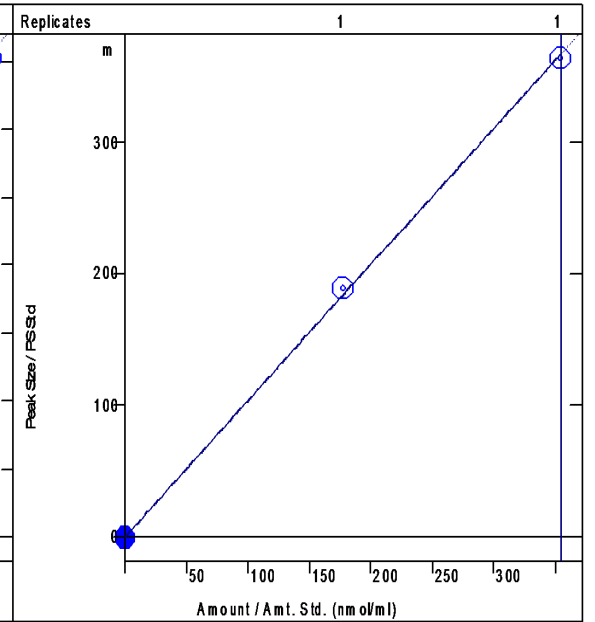
$$y = +0.0189x + 0.0499$$

**Şekil 31.** Fenilalanin Kalibrasyon Eğrisi**Prolin**

Curve Fit: Linear, Origin: Force, Weight: None

Resp. Fact. RSD: 2.703%, Coeff. Det.(r2): 0.999494

$$y = +0.0010x$$

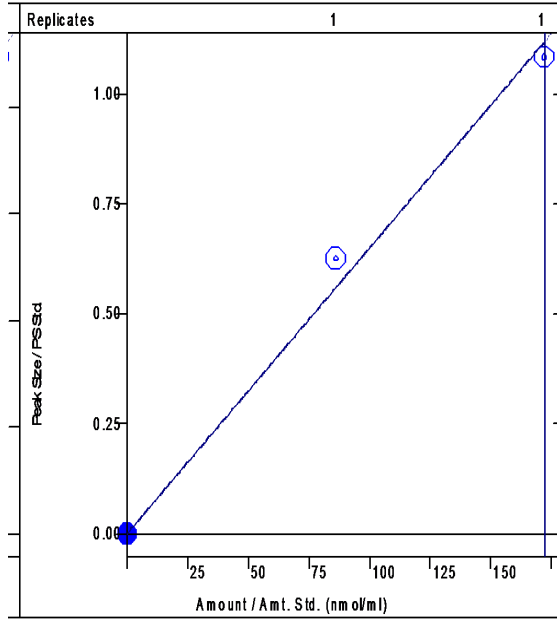
**Şekil 32.** Prolin Kalibrasyon Eğrisi

Treonin

Curve Fit: Linear, Origin: Force, Weight: None

Resp. Fact. RSD: 10.13%, Coeff. Det.(r2): 0.992124

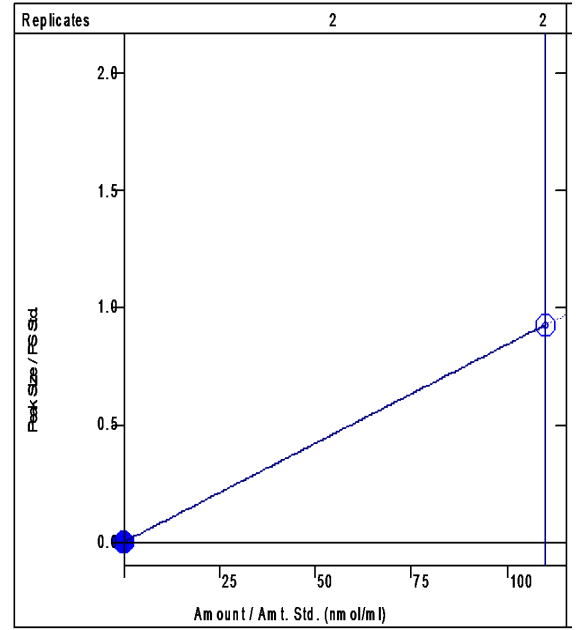
$$y = +0.0065x$$

**Şekil 33.** Treonin Kalibrasyon Eğrisi**3-MeHis**

Curve Fit: Linear, Origin: Force, Weight: None

Resp. Fact. RSD: 0.0032%, Coeff. Det.(r2): 1.000000

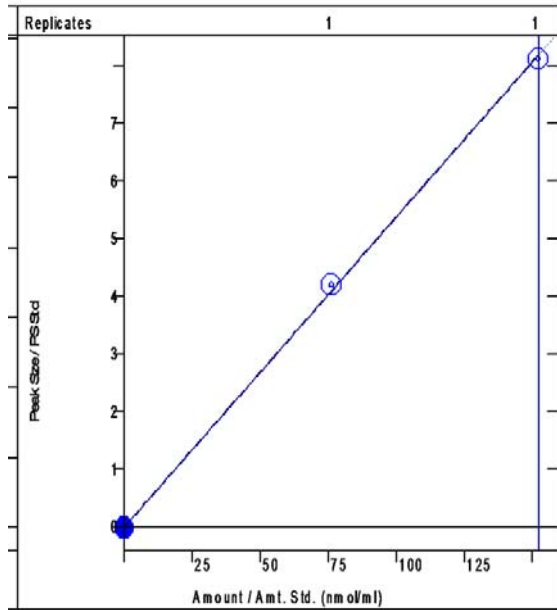
$$y = +0.0084x$$

**Şekil 34.** 3-Metil-Histidin Kalibrasyon Eğrisi**Tirozin**

Curve Fit: Linear, Origin: Force, Weight: None

Resp. Fact. RSD: 2.529%, Coeff. Det.(r2): 0.999558

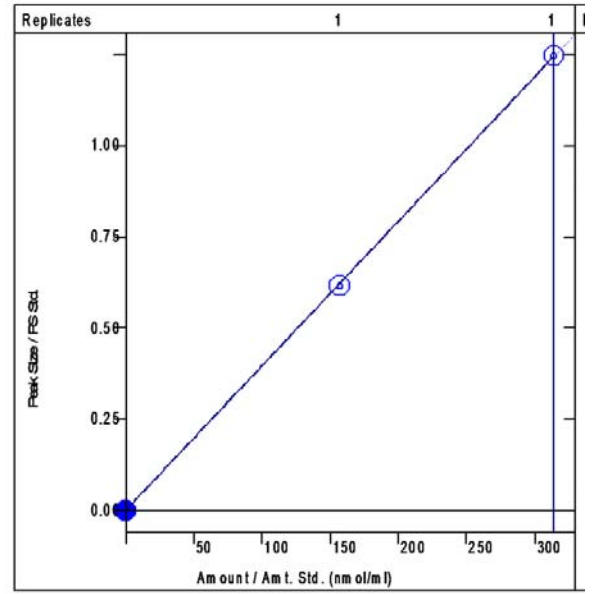
$$y = +0.0538x$$

**Şekil 35.** Tirozin Kalibrasyon Eğrisi**Valin**

Curve Fit: Linear, Origin: Force, Weight: None

Resp. Fact. RSD: 0.7855%, Coeff. Det.(r2): 0.999959

$$y = +0.0040x$$

**Şekil 36.** Valin Kalibrasyon Eğrisi

LC-MS/MS sisteminde amino asit analizinde kullanılan MS-MS tarama parametreleri Tablo 8’de gösterildi.

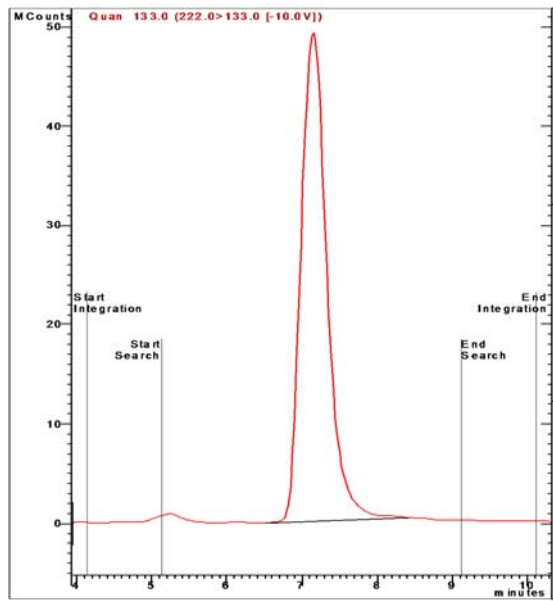
Tablo 8. LC-MS/MS ile Amino Asit Analizinde Kullanılan MS-MS Tarama Parametreleri

Amino Asit	RT	MH+ (m/z)	MS/MS	*CE (eV)
Alanin	6.05	218	130	10V
Arjinin	3.36	303	156	15V
Glutamin	3.92	275	172	15V
Glisin	4.96	204	76	8V
İzolösın	11.85	260	130	10V
Lösın	11.35	260	172	10V
Fenilalanin	11.52	294	164	15V
Prolin	8.43	244	156	15V
Treonin	5.04	248	74	15V
Tirozin	14.36	396	222	15V
3-Metil-Histidin	4.64	298	256	20V
Valin	9.49	246	158	15V

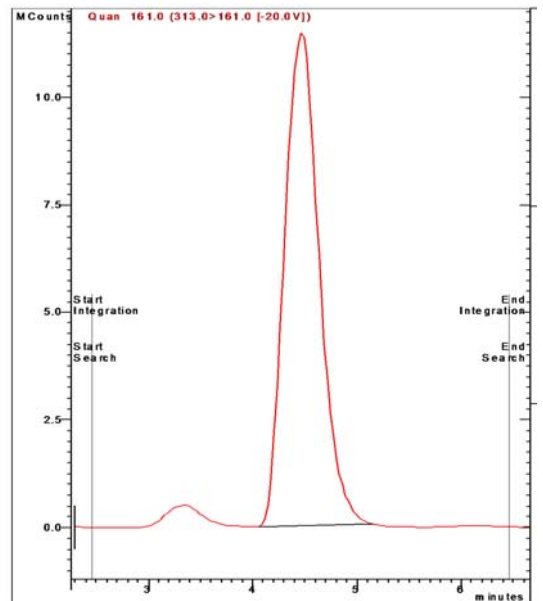
*CE: Çarpışma Enerjisi

İnternal Standart Pikleri:

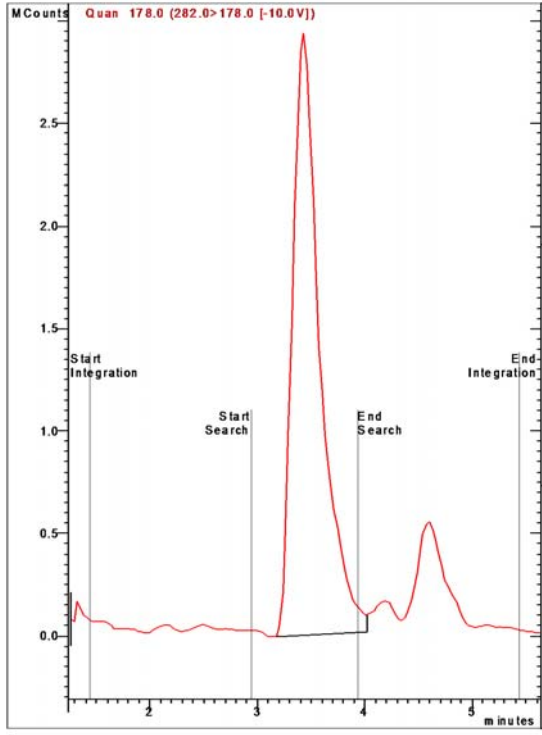
LC-MS/MS sisteminde amino asit analizleri için kullanılan IS pikleri Şekil 37-48’de gösterildi.



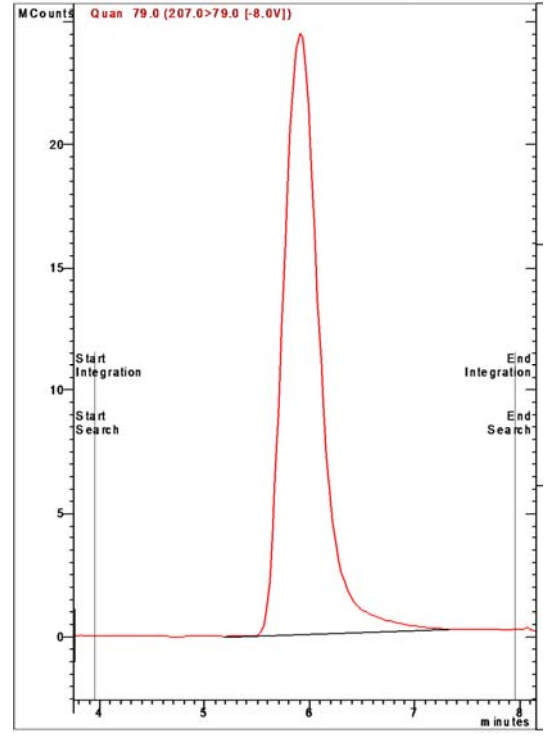
Şekil 37. Alanin IS



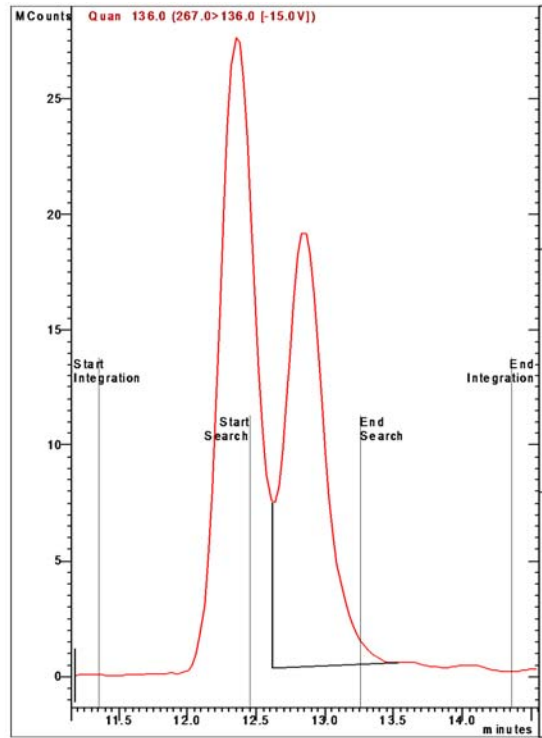
Şekil 38. Arjinin IS



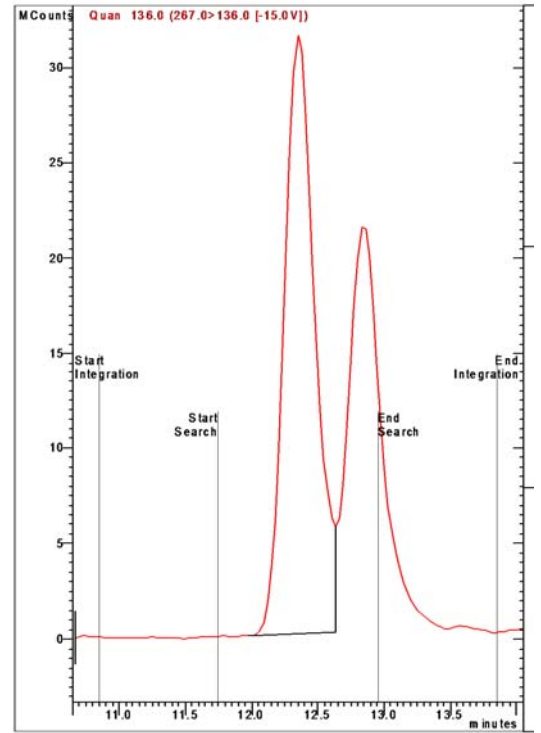
Şekil 39. Glutamin IS



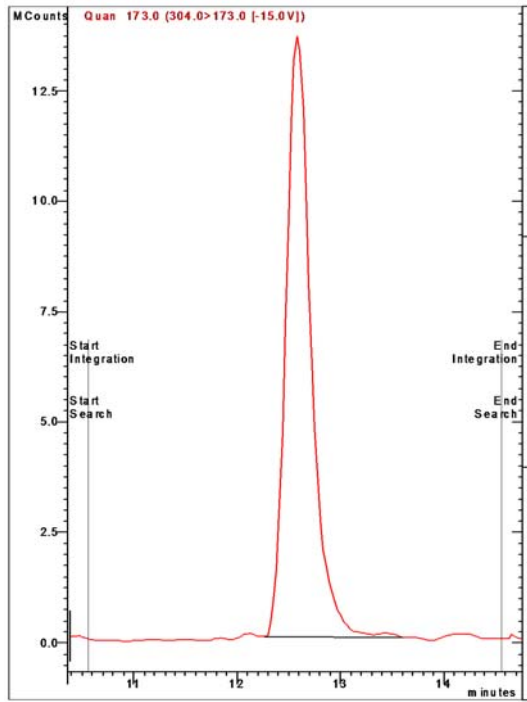
Şekil 40. Glisin IS



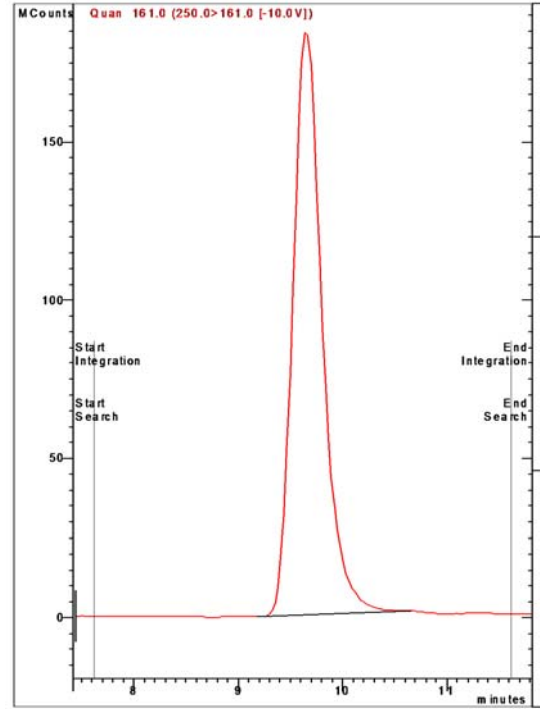
Şekil 41. İzolösün IS



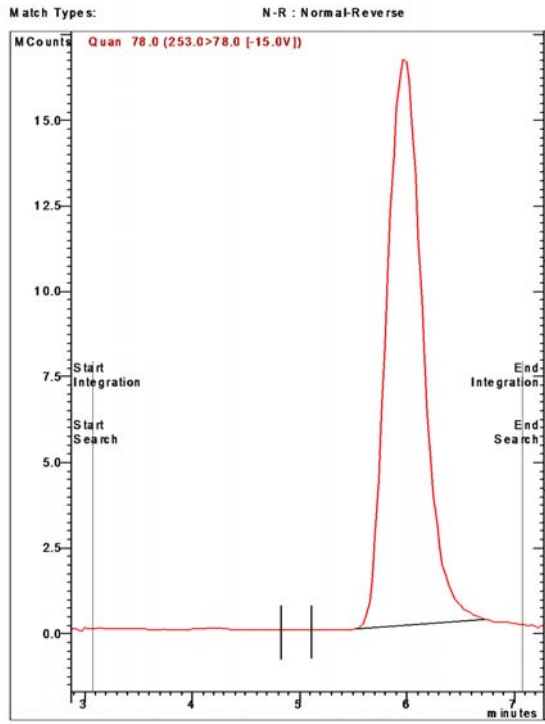
Şekil 42. Lösün IS



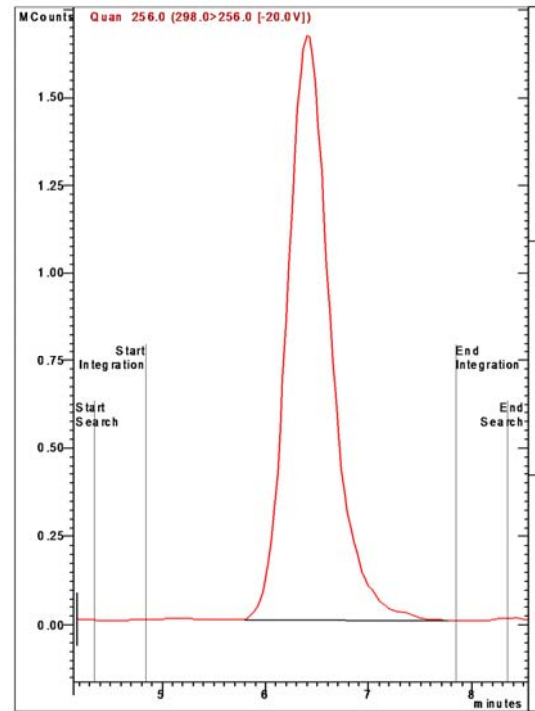
Şekil 43. Fenilalanin IS



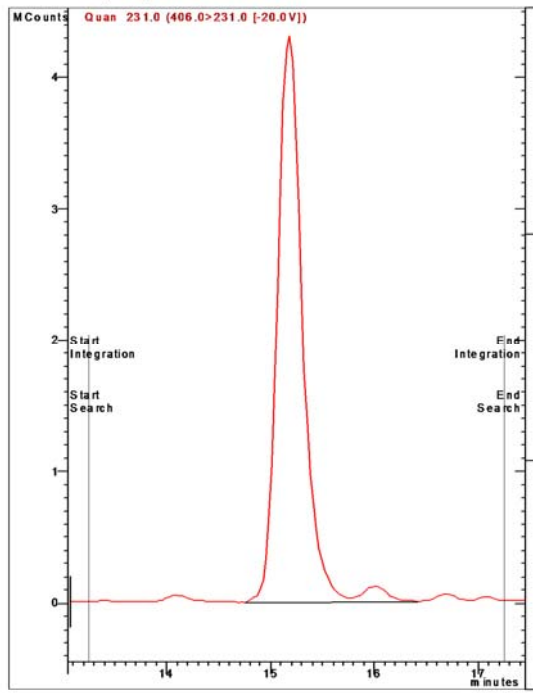
Şekil 44. Prolin IS



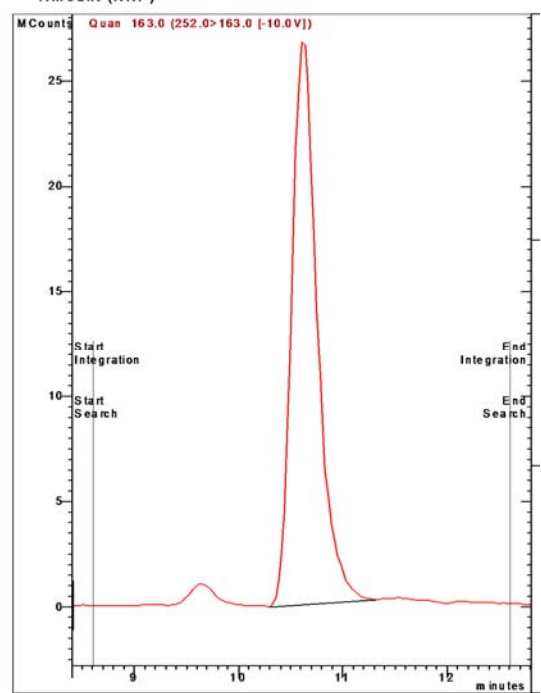
Şekil 45. Treonin IS



Şekil 46. 3-Metil-Histidin IS



Şekil 47. Tirozin IS



Şekil 48. Valin IS

3.3.2.4. Performans Özellikleri

Özgüllük: Yöntemin ölçülen analitler için özgüllüğü %100'dür.

Doğrusallık: Bu analizde elde edilen amino asit sonuçları 2000 nmol/mL'ye kadar doğrusaldır.

Etkileşim: Belirlenmiş bir etkileşim veya çapraz reaksiyon bulunmamaktadır.

Yöntemin Sınırları: Toplam amino asit miktarının 8000 nmol/mL'ye ulaşması veya aşması durumunda doğrusallık kaybolmaktadır.

Duyarlılık: Yöntemin analitik duyarlılık değerleri Tablo 9'da gösterildi.

3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Verilerin değerlendirilmesinde "IBM SPSS Statistics 20" istatistik paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren sayısal değişkenlerin özet istatistikleri aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma ($X \pm SD$) olarak verildi. Normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenlerin özet istatistikleri için ortanca (%25.-%75. persentil) değerleri kullanıldı. Kategorik değişkenlerin özet istatistikleri yüzde (%) olarak ifade edildi ve bu değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testinin exact yöntemi kullanıldı.

Grup içi anjiyo öncesi ve sonrası karşılaştırmalarında normal dağılım gösteren değişkenlerde eşleştirilmiş Student 't' testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Wilcoxon işaretli sıra testi kullanıldı.

Anjiyo öncesi ve sonrası PDA hasta gruplarının kontrol grubuyla karşılaştırılmasında, normal dağılım gösteren değişkenlerde Student 't' testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Tüm istatistiki karşılaştırmalarda, anlamlılık düzeyi $p \leq 0.05$ olarak kabul edildi.

Tablo 9. Yöntemin Analitik Duyarlılığı

Amino Asit	LOD (Limit of Detection, Gözlenebilme Sınırı) (nmol/mL)	LOQ (Limit of Quantitation, Tayin Sınırı) (nmol/mL)
Alanin	0.64	2.18
Arjinin	0.46	1.23
Glutamin	0.33	0.63
Glisin	0.58	1.80
İzolösin	0.34	1.02
Lösin	0.46	1.32
Fenilalanin	0.48	1.25
Prolin	0.50	1.50
Treonin	0.44	1.05
Tirozin	0.21	0.63
3-Metil-Histidin	0.24	0.56
Valin	1.05	3.46

4. BULGULAR

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Kardiyoloji Bilim Dalı'nda perkütan transkateterik yol ile PDA'sı kapatılan 22 hasta ile sağlıklı 21 gönüllü kontrol grubu olarak alındı.

Çalışma ve kontrol gruplarına ait veriler, Tablo 10-20'de gösterildi. Bu verilerden elde edilen tanımlayıcı istatistikler, hazırlanan tablolarda (Tablo 10-20) aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma ($X \pm SD$), ortanca (%25.-%75. persentil) ve yüzde (%) şeklinde verildi. Hasta ve kontrol sayısı 'n' olarak gösterildi. İstatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık düzeyi $p \leq 0.05$ olarak kabul edildi.

Çalışma ve kontrol gruplarına ait veriler; klinik bulgular ve biyokimyasal çalışma bulguları şeklinde gösterildi.

4.1. KLİNİK BULGULAR

Çalışma grubunu oluşturan 22 hastanın işlem öncesi yaş ortalaması 7.25 (6-33) ay olarak bulundu. İşlem sonrası yaş ortalaması ise, örneklerin 30. günde alınması nedeniyle 8.25 (7-34) ay olarak bulundu.

Çalışma grubunu oluşturan 22 hastada cinsiyet dağılımı 10 kız (%45) ve 12 erkek (%55) olarak belirlendi.

İşlem öncesi boy, ağırlık ve VKİ (vücut kütle indeksi) değerleri sırasıyla 0.73 (0.67-0.89) m, 10.56 ± 4.17 kg, 16.48 ± 2.37 kg/m² olarak belirlenirken; işlem sonrası 0.74 (0.68-0.90) m, 11.03 ± 4.00 kg ve 16.80 ± 2.16 kg/m² olarak tespit edildi.

Kontrol grubunu oluşturan 21 sağlıklı çocuğun cinsiyet dağılımı 11 kız (%52) ve 10 erkek (%48); yaş ortalaması 24 (6-27) ay; boy, ağırlık ve VKİ değerleri sırasıyla 0.88 (0.72-0.94) m, 12.40 (9.80-15.75) kg, 17.34 (16.72-18.50) kg/m² olarak bulundu.

Çalışma grubunun demografik verileri Tablo 10'da gösterildi. Yaş, boy, ağırlık ve VKİ değerleri açısından işlem öncesi ile işlem sonrası arasında anlamlı fark olduğu belirlendi ($p \leq 0.05$) (Tablo 10).

Tablo 10. İşlem Öncesi ve Sonrası Gruplarının Demografik Verileri

	İşlem Öncesi (n=22)	İşlem Sonrası (n=22)	p
Yaş (ay)	7.25 (6-33)	8.25 (7-34)	<0.001 [*]
Boy (m)	0.73 (0.67-0.89)	0.74 (0.68-0.90)	<0.001 [*]
Ağırlık (kg)	10.56±4.17	11.03±4.00	<0.001 [*]
VKİ (kg/m²)	16.48±2.37	16.80±2.16	0.003 [*]

^{*} Eşleştirilmiş Student 't' testi kullanıldı

^{*} Wilcoxon İşaretli Sıra testi kullanıldı

İşlem öncesi ile kontrol grubunun demografik verileri Tablo 11'de gösterildi. İstatistiksel değerlendirmede ağırlık, boy, VKİ değerleri arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edildi ($p \leq 0.05$).

İşlem sonrası ile kontrol grubunun demografik verileri Tablo 12'de gösterildi. Ağırlık değerleri arasında farkın anlamlı olduğu gözlemlendi ($p \leq 0.05$).

Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları açısından istatistiksel olarak fark olmadığı belirlendi ($p > 0.05$) (Tablo 11,12).

Tablo 11. İşlem Öncesi ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri

	İşlem Öncesi (n=22)	Kontrol (n=21)	p
Yaş (ay)	7.25 (6-33)	24 (6-27)	0.368
Boy (m)	0.73 (0.67-0.89)	0.88 (0.72-0.94)	0.049*
Ağırlık (kg)	9.30 (7.00-13.12)	12.40 (9.80-15.75)	0.027*
VKİ (kg/m²)	15.74 (15.08-17.64)	17.34 (16.72-18.50)	0.008*
Cinsiyet Kız Erkek	10 (%45) 12 (%55)	11 (%52) 10 (%48)	0.565

*Mann-Whitney U testi kullanıldı

Tablo 12. İşlem Sonrası ve Kontrol Grubunun Demografik Verileri

	İşlem Sonrası (n=22)	Kontrol (n=21)	p
Yaş (ay)	7.25 (6-33)	24 (6-27)	0.971
Boy (m)	0.74 (0.68-0.90)	0.88 (0.72-0.94)	0.089
Ağırlık (kg)	9.65 (7.72-13.72)	12.40 (9.80-15.75)	0.048*
VKİ (kg/m²)	16.24 (15.60-18.02)	17.34 (16.72-18.50)	0.052
Cinsiyet Kız Erkek	10 (%45) 12 (%55)	11 (%52) 10 (%48)	0.565

*Mann-Whitney U testi kullanıldı

4.2.RUTİN ANALİZ BULGULARI

Çalışma ve kontrol gruplarının total protein düzeyleri, Tablo 13-16'da gösterildi. Çalışma grubunda işlem sonrası plazma total protein düzeylerinin daha yüksek olduğu ve farkın anlamlı olduğu tespit edildi ($p \leq 0.05$) (Tablo 13).

Çalışma grubunun plazma total protein düzeyleri, Tablo 3'te gösterilen referans değerlere (g/dL) göre belirlendi. Hasta sayılarının bu düzeylere göre dağılımı Tablo 14'te gösterildi.

İşlem öncesi plazma total protein düzeyleri 6 hastada (%27) düşük bulundu. Total protein düzeyleri düşük bulunan 6 hastadan 4'ünün total protein düzeyleri işlem

sonrasında normal düzeylerde bulundu. 2 hastanın (%9) plazma total protein düzeylerindeki düşüklüğün işlem sonrasında da devam ettiği belirlendi (Tablo 14).

Tablo 13. Çalışma Grubunun Plazma Total Protein Düzeyleri

	İşlem Öncesi (n=22)	İşlem Sonrası (n=22)	p
Total Protein (g/dL)	5.72±1.13	6.37±0.89	0.008*

*Eşleştirilmiş Student 't' testi kullanıldı

Tablo 14. Çalışma Grubu Hasta Sayılarının Plazma Total Protein Düzeylerine Göre Dağılımı (g/dL)

	İşlem Öncesi (n=22)				İşlem Sonrası (n=22)			
	Düşük	%	Normal	%	Düşük	%	Normal	%
Total Protein	6	27	16	73	2	9	20	91

Kontrol grubu plazma total protein düzeyleri, işlem öncesi düzeylerden anlamlı olarak yüksek bulundu ($p \leq 0.05$). İşlem sonrası ile kontrol grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$) (Tablo 15-16).

Tablo 15. İşlem Öncesi ve Kontrol Grubunun Plazma Total Protein Düzeyleri

	İşlem Öncesi (n=22)	Kontrol (n=21)	p
Total Protein (g/dL)	5.72±1.13	6.37±0.89	0.008*

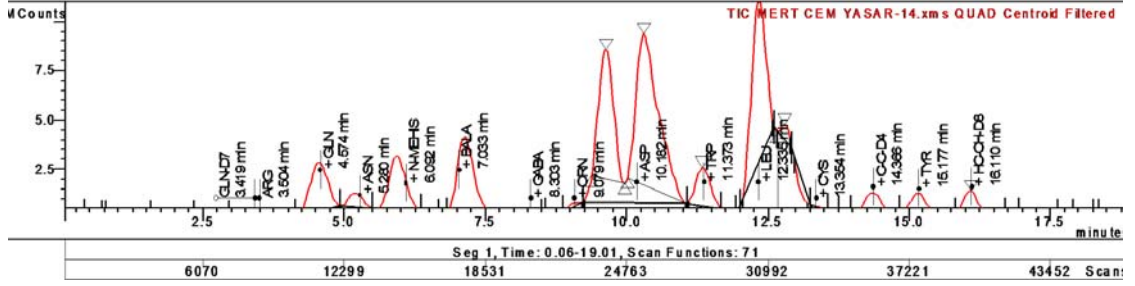
*Mann-Whitney U testi kullanıldı

Tablo 16. İşlem Sonrası ve Kontrol Grubunun Plazma Total Protein Düzeyleri

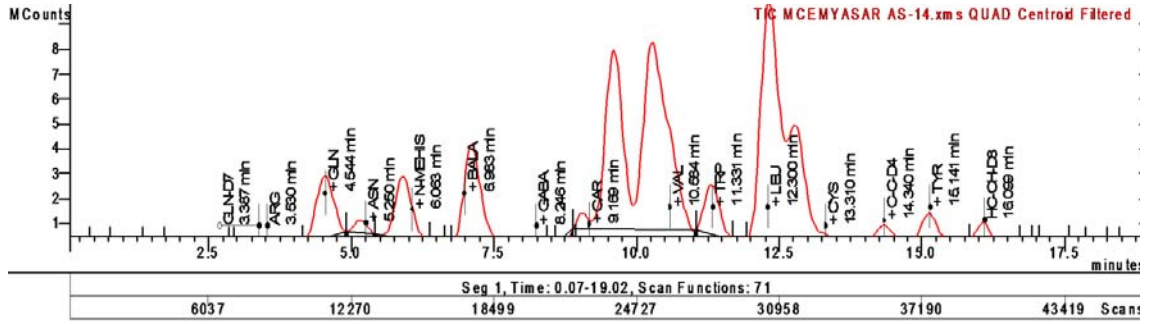
	İşlem Sonrası (n=22)	Kontrol (n=21)	p
Total Protein (g/dL)	6.30(5.92-6.90)	6.40(6.10-6.65)	0.487

4.3. BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA BULGULARI

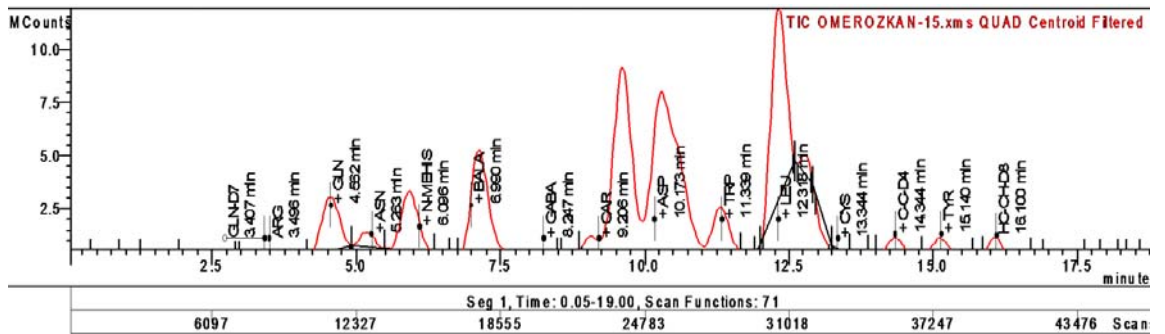
Çalışma grubuna ait örnek pikler Şekil 49-51’de gösterildi.



Şekil 49. İşlem Öncesi Bir Hastanın Amino Asit Pikleri



Şekil 50. Şekil 49’deki Hastanın İşlem Sonrası Amino Asit Pikleri



Şekil 51. Kontrol Grubundan Bir Örneğin Amino Asit Pikleri

Çalışma grubunun plazma amino asit düzeyleri, Tablo 17’de gösterildi. İşlem sonrası plazma alanin, arjinin, glisin, treonin ve tirozin düzeyleri, işlem öncesi düzeylerinden yüksek ve aradaki farkın anlamlı olduğu tespit edildi ($p \leq 0.05$). Glutamin, izolösin,

lösin, fenilalanin, prolin, valin ve 3-metil-histidin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 17).

Tablo 17. Çalışma Grubunun Plazma Amino Asit Düzeyleri (nmol/mL)

	İşlem Öncesi (n=22)	İşlem Sonrası (n=22)	p
Alanin	234.52±79.71	292.19±99.53	0.028*
Arjinin	41.18±24.16	60.608±24.82	0.006*
Glutamin	482.55±144.00	495.20±141.27	0.761
Glisin	171.86±68.68	202.27±49.73	0.036*
İzolösin	92.29±53.60	97.53±31.64	0.702
Lösin	77.95 (58.06-132.20)	96.21 (85.77-138.08)	0.417
Valin	182.48±78.81	223.45±58.00	0.066
Fenilalanin	45.36±17.87	51.46±15.86	0.243
Prolin	157.79±76.86	175.75±61.41	0.376
Treonin	84.81±34.77	110.05±37.21	0.012*
Tirozin	61.07±25.74	74.22±21.52	0.050*
3-Metil-Histidin	1.02 (0.49-2.79)	1.04 (0.58-4.41)	0.559

Çalışma grubunun plazma amino asit düzeyleri, Tablo 2’de gösterilen referans değerlere (nmol/mL) göre belirlendi. Hasta sayılarının bu düzeylere göre dağılımı Tablo 18’de gösterildi.

Tablo 18. Çalışma Grubunda Hasta Sayılarının Plazma Amino Asit Düzeylerine Göre Dağılımı (nmol/mL)

	İşlem Öncesi (n=22)				İşlem Sonrası (n=22)			
	Düşük	%	Normal	%	Düşük	%	Normal	%
Alanin	5	23	17	77	-	-	22	100
Arjinin	6	27	16	73	1	4	21	96
Glutamin	4	18	18	82	2	9	20	91
Glisin	3	14	19	86	-	-	22	100
İzolösin	1	4	21	96	-	-	22	100
Lösin	4	18	18	82	-	-	22	100
Valin	2	9	20	91	-	-	22	100
Fenilalanin	5	23	17	77	1	4	21	96
Prolin	1	4	21	96	-	-	22	100
Treonin	2	9	20	91	-	-	22	100
Tirozin	-	-	22	100	-	-	22	100
3-Metil-Histidin	-	-	22	100	-	-	22	100

İşlem öncesi hastaların %23'ünde alanin; %27'sinde arjinin; %18'inde glutamin; %14'ünde glisin; %4'ünde izölösın; %18'inde lösın; %9'unda valin; %23'ünde fenilalanin; %4'ünde prolin; %9'unda treonin düzeyleri düşük bulundu. 1 hastanın (%4) arjinin, 2 hastanın (%9) glutamin, 1 hastanın (%4) fenilalanin düzeylerindeki düşüklük işlem sonrasında da devam etti. Hastaların alanin, glisin, izölösın, lösın, valin, fenilalanin, prolin, treonin, tirozin ve 3-metil-histidin düzeylerinin (%100) işlem sonrası normal düzeylerde olduğu belirlendi.

İşlem öncesi ve kontrol gruplarının plazma amino asit düzeyleri, Tablo 19'da gösterildi. Kontrol grubu plazma alanin, glutamin, glisin, fenilalanin, prolin, treonin, valin ve 3-metil-histidin düzeyleri, işlem öncesi düzeylerden anlamlı olarak yüksek bulundu ($p \leq 0.05$). Arjinin, izölösın, lösın ve tirozin düzeyleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tablo 19. İşlem Öncesi ve Kontrol Grubunun Plazma Amino Asit Düzeyleri (nmol/mL)

	İşlem Öncesi (n=22)	Kontrol (n=21)	p
Alanin	234.52±79.71	378.84±179.90	0.002*
Arjinin	37.11 (20.43-57.55)	35.50 (20.64-47.87)	0.627
Glutamin	505.79 (393.09-577.78)	2702.94 (506.25-5364.34)	0.001*
Glisin	168.39 (124.60-240.62)	198.06 (172.34-312.14)	0.049*
İzölösın	72.04 (56.74-129.69)	78.74 (49.43-90.44)	0.846
Lösın	77.95 (57.32-136.84)	120.57 (79.27-181.48)	0.055
Valin	161.18 (117.12-251.79)	227.62 (179.31-353.43)	0.002*
Fenilalanin	45.36±17.87	58.42±21.75	0.037*
Prolin	128.75 (97.42-219.82)	180.25 (143.09-298.27)	0.033*
Treonin	76.86 (56.66-105.40)	109.11 (72.50-147.88)	0.022*
Tirozin	61.07±25.74	53.17±19.14	0.262
3-Metil-Histidin	1.02 (0.48-2.86)	10.98 (2.83-118.69)	0.000*

*Mann-Whitney U testi kullanıldı

*Student 't' testi kullanıldı

İşlem sonrası ve kontrol gruplarının plazma amino asit düzeyleri, Tablo 20’de gösterildi. İşlem sonrası arjinin ve tirozin düzeyleri, kontrol grubu düzeylerinden anlamlı olarak yüksek bulundu ($p \leq 0.05$). Kontrol grubu plazma glutamin ve 3-metil-histidin düzeyleri, işlem sonrası düzeylerden yüksek ve aradaki farkın anlamlı olduğu tespit edildi ($p \leq 0.05$). İzolösin, glisin, lösin, prolin, alanin, fenilalanin, treonin, ve valin değerleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tablo 20. İşlem Sonrası ve Kontrol Grubunun Plazma Amino Asit Düzeyleri (nmol/mL)

	İşlem Sonrası (n=22)	Kontrol (n=21)	p
Alanin	292.18±99.53	378.84±179.90	0.061
Arjinin	50.05 (38.29-76.43)	35.50 (20.64-47.87)	0.003*
Glutamin	508.77 (447.80-584.64)	2702.94 (506.25-5364.34)	0.001*
Glisin	204.53 (154.88-232.36)	198.06 (172.34-312.14)	0.466
İzolösin	93.64 (66.61-124.73)	78.74 (49.43-90.44)	0.114
Lösin	96.21 (84.66-138.33)	120.57 (79.27-181.48)	0.356
Valin	213.44 (172.77-259.85)	227.62 (179.31-353.43)	0.120
Fenilalanin	51.46±15.86	58.42±21.75	0.236
Prolin	169.64 (125.05-220.38)	180.25 (143.09-298.27)	0.174
Treonin	109.90 (77.94-129.84)	109.11 (72.50-147.88)	0.865
Tirozin	74.22±21.52	53.17±19.14	0.002*
3-Metil-Histidin	1.04 (0.58-4.68)	10.98 (2.83-118.69)	0.001*

*Mann-Whitney U testi kullanıldı

*Student ‘t’ testi kullanıldı

5. TARTIŞMA

Çocuğun sağlıklı olduğunu gösteren en önemli bulgu yaşına uygun büyüme göstermesidir. Kronik hastalıklar değişik mekanizmalarla beslenme bozukluğuna ve malnutrisyona yol açarak büyüme geriliğine neden olurlar. Kronik hastalıklarda gelişen büyüme bozukluğunun, nutrisyonel ve endokrin faktörler arasındaki karmaşık ilişkiler sonucu olarak ortaya çıktığı bildirilmektedir (71).

Yüksek metabolik hızları ve kısıtlı endojen yakıt depoları nedeniyle çocuklar, akut ve kronik hastalıklar süresince hızla enerji yoksunluğuna girerler. Özellikle KKH'lı süt çocuklarının enerji dengesizliği riski daha belirgindir. Doğumda normal vücut ağırlığı olan KKH'lı bebeklerin çoğu, erken süt çocukluğu döneminde beslenme ve büyüme problemleri ile karşı karşıya kalırlar (72).

Yetersiz beslenme, malabsorbsiyon, anoksik ortamda besinlerin kullanılamaması, artmış bazal metabolizma, artmış nutrisyonel ihtiyaç gibi faktörlerin büyüme geriliğine sebep oldukları bilinmektedir. KKH'lı çocuklarda bu durum, azalmış yağ dokusu, zayıf kas kütlesi ve lineer büyüme geriliği ile karakterize kronik malnutrisyon ile kliniğe yansımaktadır (73). Bu etkenler arasında en belirleyicisi yetersiz beslenmedir (74, 75). Bu çocukların sağlıklı çocuklar gibi büyüebilmeleri için %50 daha fazla kaloriye ihtiyaçları vardır (76). Venugopalan ve ark (77), KKH'lı çocukların %27'sinde akut, %24'ünde kronik malnutrisyon saptamışlar ve semptomatik olguların daha fazla etkilendiğini vurgulamışlardır.

Peterson ve ark (78), KKH'lı çocukların büyüme geriliği ile doğduklarını ve bu durumun süt çocukluğu döneminden ameliyata kadar sürdüğünü göstermişlerdir. Büyüme geriliği, postoperatif dönemde morbidite riskini arttırmakta, iyileşme sürecini uzatmaktadır. Ayrıca ciddi büyüme geriliği, ameliyat sonrası büyümenin yakalanmasını da sınırlamaktadır (78).

İlk olarak 1962'de Mehrizi ve Drash (79), 890 siyanotik ve asiyanotik olgudan oluşan geniş kapsamlı bir çalışmada olguların %55'inin boyunun, %52'sinin ağırlığının 16. persentilin altında; %27'sinin boy ve ağırlığının 3. persentilin altında olduğunu rapor etmişlerdir. Büyüme geriliği olan siyanotik KKH'lı çocuklarda vücut ağırlığı ve boyun aynı oranda etkilendiğini; soldan-sağa şantlı hastalarda daha çok ağırlığın, obstrüktif tip lezyonu olanlarda ise daha çok boyun etkilendiğini saptadıklarını bildirmişlerdir.

Düzeltilici ameliyatların büyümeyi olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir. Özellikle kalp yetmezliği olan VSD'li, PDA'lı, atrioventriküler septal defektli ve aort stenozlu hastalarda düzeltilici ameliyatlardan sonra lineer büyümede belirgin artış olmaktadır (80). KKH'lı çocuklarda ameliyat olma yaşı oldukça önemlidir. Geç opere olan çocuklarda beklenen büyümenin gözlenmediği bildirilmiştir (81).

Düzeltilici ameliyat yaşı ve zamanının, nutrisyonel iyileşme potansiyelini de etkilediği belirtilmiştir. Her ne kadar erken postoperatif dönemde hipermetabolik bir durum meydana gelse de, operasyon sonrası ilk 24 saatte total ve istirahat enerji tüketiminin düşük olduğu ve istirahat enerji tüketiminin 5. günde preoperatif düzeye döndüğü tespit edilmiştir. Düzeltilici ameliyatlar sonrası hastaların boy ve ağırlıklarının birkaç ay içerisinde önemli artış gösterdiği; düzelme göstermeyenlerde ise düşük doğum ağırlığı, mental retardasyon veya rezidüel defekt gibi problemlerin olduğu belirtilmiştir (82). Leitch ve ark (83) düzeltilici kalp ameliyatlarından ortalama 2.6 yıl sonra total enerji tüketiminin normale geldiği bildirilmiştir. Rosenthal ve ark (84)'na göre vücut ağırlığı birkaç ay içerisinde iyileşme gösterirken, boy'un normal değerlere ulaşması bir yılı bulmaktadır.

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak PDA'lı çocukların işlemden 1 ay sonra boy, kilo ve VKİ değerlerinde, işlem öncesi değerlerine göre anlamlı artış olduğu saptanmıştır.

Sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında; işlem öncesi hastalarda boy, ağırlık ve VKİ değerlerinin düşük bulunması, KKH'lı çocuklarda operasyon öncesi görülen büyüme geriliğini doğrular niteliktedir. Bu durumun malnutrisyona bağlı olması muhtemeldir.

Kontrol grubu ağırlık değerlerinin işlem sonrası ağırlık değerlerinden yüksek olması ise; hastaların vücut ağırlıklarının normale dönebilmesi için daha uzun zamana ihtiyaçları olduğunu düşündürmektedir.

Normal koşullar altında miyokardın oksidasyonda görevli ana yakıtları yağ asitleri, glukoz ve laktattan oluşmaktadır. Amino asitler ise oksidatif yakıt olarak oldukça küçük bir role sahiptir. Patolojik durumlarda ise, birçok amino asidin miyokardiyal alımında anlamlı artışlar meydana gelmektedir (85).

İmmatür miyokard, erişkin miyokardına göre iskemiye daha dirençli gibi görünse de kalsiyum sensitivitesinin artması, serbest radikal inaktive edici enzim aktivitesinin azlığı ve siyanotik kalp defektlerinden kaynaklanan bazı bilinmeyen faktörlerin etkisi ile iskemiye karşı daha duyarlıdır (86). Özellikle immatür kalpte dallı zincirli amino asitler ile glutamatin, iskemi ve reperfüzyon durumlarında miyokardiyal enerji metabolizması ve protein sentezi için önemli substratlar olduğu bilinmektedir (56).

Amino asitler, azalmış oksijen tüketiminin hücrede oluşturduğu zararlı etkileri önleyen birçok biyokimyasal ve fizyolojik olayda kilit rol oynarlar. Bir takım amino asitler enerji üretimi için direkt substrat kaynağı olarak görev alırlar. Glukoz metabolizmasında bulunan bazı enzimlerin aktivitelerini modüle ederler. Miyokardta kontraktıl performansı artırıcı etki gösterirler. Amino asitler, radikal oksijen türlerinin etkilerini önleyerek oksidatif stresi iyileştirirler; glutatyon sentezinde prekürsör, nitrik oksit (NO) biyosentezinde substrat görevi görürler. Endotelyal fonksiyonda görevlidirler ve miyokard hücrelerinin protein sentezini arttırırlar (85).

Halliday ve ark (87), hipoplastik sol kalp sendromu (HLH) ve interrupted aortik arkı (IAA) olan 1-6 gün arası 8 yenidoğanın plazma amino asit seviyelerini, yaş ve doğum ağırlığı açısından benzer 40 kontrol yenidoğanla karşılaştırmışlar, bebeklerin dallı zincirli amino asit ile aromatik amino asit seviyelerini kontrollerden yüksek bulmuşlardır. Amino asitlerdeki artışları, hepatik konjesyona, hipoperfüzyona ve asit-baz dengesindeki değişikliklere bağlamışlardır.

Oladipo ve ark (88), 354 yenidoğan örneğinde prematür olan ve ciddi hastalığı bulunan bebeklerin fenilalanin, dallı zincirli amino asit, metiyonin, glutamin, glutamat, arjinin, lizin, α -aminoadipik asit ve β -aminoizobütirik asit medyan değerlerini, sağlıklı bebeklerin değerlerinden yüksek bulduklarını rapor etmişlerdir. Hertzgowitz ve ark (89), amino asit hemostazında akciğerlerin önemine dikkat çekmişler ve açık kalp cerrahisi sonrası 1. günde akciğerlerden glutamin ve alanin salınımının arttığını saptadıklarını bildirmişlerdir.

Amino asitlerin kardiyak operasyonlar sonrası erken dönemde esansiyel metabolik yakıt olarak kullanılmaları, özellikle anstabil dolaşımı olan hastalarda, henüz tam olarak anlaşılamamış etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir.

Václav ve ark (12), kardiyak operasyon geçiren 2-12 ay arası bebeklerin bir grubuna 24 saat boyunca sadece glukoz çözeltisi, diğer grubuna glukoz çözeltisinin yanında 0.8 ± 0.1 gr/kg/gün dozunda kristaloid amino asit solüsyonu vermişler; amino asit solüsyonu verilen grupta nitrojen dengesinin daha az negatif olduğunu; her iki grupta da nitrojen dengesi ile üriner 3-metil-histidin ekskresyonu arasında anlamlı, ters bir korelasyon bulduklarını rapor etmişlerdir. Postoperatif 2. günde sadece glukoz verilen grupta dallı zincirli amino asit, alanin, glisin ve prolin değerlerini düşük bulduklarını, ayrıca postoperatif 2. günde her iki grubun glutamin ve treonin değerlerinde anlamlı düşüş saptadıklarını bildirmişlerdir. Operasyon öncesinde ve erken postoperatif dönemde arjinin seviyelerini de düşük bulmuşlar, düşük arjinin seviyelerinin artmış pulmoner vasküler reaktivitesi olan çocuklarda önemli olabileceğini vurgulamışlardır. Operasyon sonrası erken dönemde saptadıkları hipoaminoasidemini, glutamin düşüşü dışında amino asit desteğiyle yerine konabileceğine dikkat çekmişlerdir.

Çalışmamızda işlem sonrasında işlem öncesine ve kontrol grubuna göre yüksek bulunan arjinin seviyeleri, PDA'sı kapatılan çocuklarda NO sentezinde azalma gerçekleştiğini düşündürmektedir.

Villares ve ark (13), KKH nedeniyle opere olan 3 yaş altı çocuklarda preoperatif dönemde normal sınırlarda bulunan amino asit seviyelerinin postoperatif 1. günde düşme gösterdiğini; postoperatif 3. günde izolösin, alanin, arjinin, glisin, treonin ve glutamin seviyelerinin düşük olduğunu; postoperatif 7. günde glutamin dışında tüm amino asit seviyelerinin normale döndüğünü bildirmişlerdir. KKH'lı çocukların plazma aminogramlarının cerrahi öncesi normal aralıkta olduğu; cerrahi sonrası çoğu plazma amino asidinde anlamlı bir düşüş gözleendiği ve normalizasyonun dallı zincirli amino asitler ile özellikle glutamin açısından yavaş olduğu sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda işlem sonrasında kontrol grubunda göre düşük bulunan glutamin seviyeleri, literatürle uyumlu olarak glutaminin yavaş normalizasyonunu desteklemektedir.

Sheil ve ark (90), 24 KKH'lı çocuğun kardiyopulmoner bypass (KPB)'dan önce ve KPB sırasında plazma amino asit düzeylerini, yüksek performanslı sıvı

kromatografisi (HPLC) ile değerlendirmişler; operasyon sırasında plazma DOPA/tirozin oranlarını yüksek bulduklarını bildirmişlerdir. Yüksek DOPA/tirozin oranları nedeniyle çocukların protein yapılarında oksidatif hasar oluştuğunu ve bu durumun postoperatif morbidite ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda işlem sonrasında kontrol grubuna göre yüksek bulunan tirozin seviyeleri, PDA'sı kapatılan çocuklarda oksidatif hasarın düzeldiğini düşündürebilir. Ke X ve ark (14), 72 KKH'lı çocuklarda ve sağlıklı kontrollerde amino asit seviyelerini otomatik analizörle değerlendirmişler; cerrahi öncesinde KKH'lı çocukların esansiyel amino asit seviyelerini düşük bulduklarını raporlamışlardır. Küçük çocuklarda dallı zincirli amino asit seviyelerinin düşüklüğüne dikkat çekmişler ve operasyondan 1 ay sonra tüm amino asit seviyelerinin normale döndüğünü saptadıklarını bildirmişlerdir. KKH'lı çocuklarda cerrahi operasyonların, çocukların protein beslenme durumlarını düzelttiğini ifade etmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda da operasyondan 1 ay sonra hastaların %96'sında arjinin ve fenilalanin, %91'inde glutamin, %100'ünde glisin, izolösin, lösin, valin, prolin, treonin, tirozin, 3-metil-histidin düzeyleri normal sınırlar içerisinde bulundu.

Çalışmamızda işlem öncesi PDA'lı hastaların %27'sinde total protein; %23'ünde alanin; %27'sinde arjinin; %18'inde glutamin; %14'ünde glisin; %4'ünde izolösin; %18'inde lösin; %9'unda valin; %23'ünde fenilalanin; %4'ünde prolin; %9'unda treonin düzeyleri düşük bulundu. 1 hastanın (%4) arjinin, 2 hastanın (%9) glutamin ve 1 hastanın (%4) fenilalanin düzeylerindeki düşüklük işlem sonrasında da devam etti. İşlem sonrası hastalardan 5'inin (%23) alanin, 5'inin (%23) arjinin, 2'sinin (%9) glutamin, 3'ünün (%14) glisin, 1'inin (%4) izolösin, 4'ünün (%18) lösin, 2'sinin (%9) valin, 4'ünün (%18) fenilalanin, 1'inin (%4) prolin ve 2'sinin (%9) treonin düzeylerinin düzelmiş olması; arjinin düzeyi düşük olan 1 hastanın, glutamin düzeyleri düşük olan 2 hastanın ve fenilalanin düzeyi düşük olan 1 hastanın da zamanla düzelebileceğini düşündürdü.

İstatistiksel değerlendirmede işlem sonrası total protein, alanin, arjinin, glisin, treonin ve tirozin değerlerinde anlamlı artış tespit edilmesi, (boy, kilo ve VKİ değerleri de göz önüne alındığında) bu farkın KKH'lı çocuklarda görülen büyüme geriliği ve yetersiz beslenmeyle ilişkili olabileceğini veya PDA'lı kalpte bu aminoasitlerin tamir öncesi artmış kullanımlarının söz konusu olabileceğini düşündürebilir. İşlem öncesinde, işlem sonrası ve kontrol grubuna göre düşük bulunan esansiyel ve yarı-

esansiyel amino asit seviyeleri, PDA'lı kalpte bu amino asitlerin kullanımlarının artışı ile izah edilebilir.

Çalışmamız, çocuklarda perkütan transkateter yol ile PDA kapatılmasının plazma amino asit profili üzerine olan etkilerini inceleyen ilk araştırma olması yönüyle önem taşımaktadır. Operasyon uygulanan KKH'lı çocuklarda yapılmış çalışmalar dışında; PDA kapatılması ve amino asit ilişkisi inceleyen benzer bir çalışma bulunamadığından, literatürle kıyaslama yapılamamıştır. Amino asit düzeylerinde saptanan değişikliklerin, PDA'lı çocuklarda iyileşme ve normal büyümenin yakalanması açısından önem taşıyabileceği kanaatindeyiz. Konjenital kalp hastalığı bulunan çocukların operasyon öncesi alanin, arjinin, glutamin, glisin, valin, fenilalanin, prolin, treonin, tirozin amino asitlerinden zengin diyet veya solüsyonlarla beslenmelerinin, operasyon sonrası iyileşme ve hastanede kalış sürelerini kısaltabileceği ve büyüme hızlarını arttırabileceği düşünülebilir. Operasyon sonrası glutamin değerlerinin anlamlı olarak düşük olması nedeni ile kapatılma sonrası dönemin ilk aylarında PDA'lı çocuklara glutamin desteği verilmesi gerektiği söylenebilir. Çalışmamızın, perkütan transkateter yol ile PDA kapatılması ve beslenme ile ilgili daha geniş popülasyonlarda yapılacak çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

6. SONUÇLAR

PDA'lı hastalar ve sağlıklı kontroller üzerinde yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar:

- PDA'lı hastalardan PDA'ları kapatılmadan önce alınan plazma örneklerinde hastaların %23'ünde alanin, %27'sinde arjinin, %18'inde glutamin, %14'ünde glisin, %4'ünde izolösin, %18'inde lösin, %9'unda valin; %23'ünde fenilalanin, %4'ünde prolin, %9'unda treonin düzeylerinin düşük olduğu belirlendi. PDA'ları kapatıldıktan 30 gün sonra alınan plazma örneklerinde hastaların %4'ünün arjinin, %9'unun glutamin, %4'ünün fenilalanin düzeyleri düşük bulundu.
- Hastaların PDA kapatılması sonrası plazma total protein, alanin, arjinin, glisin, treonin ve tirozin düzeylerinin, PDA kapatılma öncesi düzeylerine göre anlamlı olarak yüksek olduğu; valin, lösin, izolösin, glutamin, fenilalanin, prolin ve 3-metil-histidin düzeyleri açısından iki grup arasında fark bulunmadığı tespit edildi.
- Kontrol grubu plazma total protein, alanin, glutamin, glisin, prolin, treonin, valin, 3-metil-histidin ve fenilalanin düzeylerinin, PDA kapatılma sonrası düzeylerden anlamlı olarak yüksek olduğu; arjinin, tirozin, lösin, izolösin düzeyleri açısından iki grup arasında fark olmadığı belirlendi.
- Hastaların PDA kapatılması sonrası plazma arjinin ve tirozin düzeyleri, kontrol grubu düzeylerinden anlamlı olarak yüksek bulundu. Kontrol grubu plazma glutamin ve 3-metil-histidin düzeylerinin, PDA kapatılma sonrası düzeylerden

anlamalı olarak yüksek olduğu belirlendi. Total protein, alanin, glisin, treonin, valin, lösin, izolösin, fenilalanin ve prolin düzeyleri açısından iki grup arasında fark saptanmadı.

7. KAYNAKLAR

1. Schneider DJ, Moore JW. Patent ductus arteriosus. Circulation 2006; 114:1873-82.
2. Hillman ND, Mavroudis C, Backer CL. Patent ductus arteriosus. In: Mavroudis C, Backer CL (eds). Pediatric Cardiac Surgery (3rd ed). Philadelphia, Mosby 2003, pp. 223-33.
3. Bokenkamp R, DeRuiter MC, van Munsteren C, et al. Insights into the pathogenesis and genetic background of patency of the ductus arteriosus, Neonatology 2010; 98: 6-17.
4. Cotton RB, Stahlman MT, Bender HW, et al. Randomized trial of early closure of symptomatic patent ductus arteriosus in small preterm infants. J Pediatr 1978; 93: 647-51.
5. Peckham GJ, Miettinen OS, Ellison RC, et al. Clinical course to 1 year of age in premature infants with patent ductus arteriosus: Results of a multicenter randomised trial of indomethacin. J Pediatr 1984; 105: 285-91.
6. Ergün Çil. Yenidoğan ve prematürelerde patent duktus arteriyozus. Güncel Pediatri 2006; 3: 69-71.
7. Jadhav P, Parimi PS, Kalhan SC. Parenteral amino acid and metabolic acidosis in premature infants. JPEN J Parenter Enteral Nutr 2007 ; 31(4): 278-83.
8. Kirklin JK. Prospects for understanding and eliminating the deleterious effects of cardiopulmonary bypass. Ann Thorac Surg 1991; 51: 529-31.

9. Siegel JH, Goodzari S, Gaudelupi P, et al. The host defense to trauma and sepsis: multiple organ failure as a manifestation of host defense failure disease. In: Schlag G, Redl H (eds). *Pathophysiology of Shock, Sepsis, and Organ Failure*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag 1993, pp. 627-64.
10. Silberbach M, Shumaker D, Menashe V, et al. Predicting hospital charge and length of stay for congenital heart disease surgery. *Am J Cardiol* 1993;72: 958-63.
11. Mitchell IM, Logan RW, Pollock JCS, et al. Nutritional status of children with congenital heart disease. *Br Heart J* 1995;73: 277-83.
12. Chaloupecký V, Hučín B, Tláskal T, et al. Nitrogen balance, 3-methylhistidine excretion, and plasma amino acid profile in infants after cardiac operations for congenital heart defects: The effect of early nutritional support. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997;114: 1053-60.
13. Villares JM, Leal LO, Díaz IS, et al. Plasma aminogram in infants operated on complex congenital heart disease. *Nutr Hosp* 2008; 23(3): 283-87.
14. Ke X, Yang M, Xue P. Changes in serum levels of total amino acids in young children with congenital heart diseases. *Chinese Jour Prev Med* 1998; 32(6): 356-58.
15. Horne JV. *Opera Omnia Medica et Chirurgica Botalli*. In: Leonardo B (eds). Leiden, Gaasbeeck 1660.
16. Harvey W. *Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus*. Frankfurt, W. Fitzer 1628.
17. Highmore N. *Corporis Humani Disquisitio Anatomica*. The Hague, Samuel Broun 1651.
18. Munro J.C. Ligation of the ductus arteriosus. *Ann Surg* 1907; 46: 335-38.
19. Gibson GA. *Disease of the Heart and Aorta*. Edinburg, Pentland 1898, pp. 61, 303, 310–312.
20. Gross RE, Hubbard JP. Surgical ligation of a patent ductus arteriosus. A report of first successful case. *JAMA* 1939; 112: 31-72.
21. Porstman W, Wierny L, Warnke H. Closure of persistent ductus arteriosus without thoracotomy. *Ger Med Mon* 1967; 12: 259-61.
22. Rashkind WJ, Cuaso CC. Transcatheter closure of a patent ductus arteriosus: successful use in a 3.5 kg infant. *Pediatr Cardiol* 1979; 1: 63.

23. Bash SE, Mullins CE. Insertion of patent ductus arteriosus occluder by transvenous approach: a new technique . Circulation 1984; 70: II-285.
24. Cambier PA, Kirby WC, Wortham DC, et al. Percutaneous closure of the small (2.5 mm) patent ductus arteriosus using coil embolization. Am J Cardiol 1992; 69: 815- 16.
25. Krichenko A, Benson LN, Burrows P, et al. Angiographic classification of the isolated, persistently patent ductus arteriosus and implications for percutaneous catheter occlusion. Am J Cardiol 1989; 63: 877-79.
26. İrdem A, Kervancıoğlu M, Başpınar O, et al. Çocuklarda patent duktus arteriyozus ve transkateter yolla duktus kapatılması. Gaziantep Tıp Derg 2012; 18(3): 132-38.
27. Christenson RH, Azzazy HM. Amino asitler. Burtis C, Ashwood ER (ed.) (Çev. ed. Aslan D). Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler (5. baskı). Palme yayıncılık, Ankara 2005, ss. 300-25.
28. Önel P, Gürdöl F. Amino Asitler, peptid ve proteinler. Onat T, Emerk K, Sözmen EY (ed). İnsan Biyokimyası. Palme yayıncılık, Ankara 2002, ss. 81-127.
29. Taylor WR. The classification of amino acid conservation. J Theor Biol 1986; 119: 205-18.
30. Velíšek J, Cejpek K. Biosynthesis of food constituents: amino acids: 2. The alanine-valine-leucine, serine-cysteine-glycine, and aromatic and heterocyclic amino acids groups - a review. Czech J Food Sci 2006; 24: 45-58.
31. Koletzko B, Goulet O, Hunt J, et al. Parenteral Nutrition Guidelines Working Group; European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 41 (Suppl 2): 12-18.
32. The Merck Index. In: O'Neal MJ, Heckelman PE, Koch CB, et al. (eds). An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals (14th ed); Merck & Co.: Whitehouse Station, NJ 2006.
33. Brown TA. Molecular Biology LabFax, Bios Scientific Publishers Ltd., Oxford (14th ed) 1991, pp. 29.
34. Bongiovanni B, Feinerman J. Amino acid profiling clinical guidelines for determination of preferred specimen choice. Townsend Letter for Doctors and Patients 2003; 245: 38-42.

35. Blau N, Duran M, Gibson M. Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics 2008; 2: 74.
36. Cynober L, Dinh FN, Blonde F, et al. Plasma and urinary amino acid pattern in severe burn patients: evolution throughout the healing period. Am J Clin Nutr 1982; 36: 416-25.
37. Friedman RB, Young DS. Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests (2nd ed), American Association for Clinical Chemistry, Washington DC 1989.
38. Freund H, Atamian S, Holyroyde J, et al. Plasma amino acids as predictors of the severity and outcome of sepsis. Ann Surg Nov 1979: 571-76.
39. Cynober L, Dinh FN, Saizy R, et al. Plasma amino acid levels in the first few days after burn injury and their predictive value. Intensive Care Med 1983; 9: 325-31.
40. Jain KM, Rush BF, Seelig RF, et al. Changes in plasma amino acid profiles following abdominal operations. Surg Gynecol Obstet 1981; 152: 302-06.
41. Apple FS, Aslanzadeh J, Broussard L, et al. Genel klinik testler. Wu AHB (ed) (Çev. ed. Emerk K). Tietz Laboratuvar Testleri Klinik Klavuzu (4. baskı). Güneş tıp kitabevi, Ankara 2011, ss. 916-17.
42. Chace DH, Hillman SL, Millington DS, et al. Rapid diagnosis of maple syrup urine disease in blood spots from newborns by tandem mass spectrometry, Clin Chem 1996; 42: 349-55.
43. Johnson P, Harris CI, Perry SV. 3-Methylhistidine in actin and other muscle proteins. Biochem J 1967; 105: 361-70.
44. Iapichino G, Radrizzani D, Solca M, et al. Influence of total parenteral nutrition on protein metabolism following acute injury: assessment by urinary 3-methylhistidine excretion and nitrogen balance. J P E N 1985; 9: 42-46.
45. Utku T. Enteral ve Parenteral Nutrisyonun Takibi. 2011; 24: 26-33
46. Baylor College of Medicine. Biochemical Genetics Laboratory: Test Catalog. Houston, TX 1992.
47. Safer B. The metabolic significance of the malate-aspartate cycle in heart. Circ Res 1975; 37: 527-33.
48. Modi P, Suleiman MS, Reeves BC, et al. Free amino acids in hearts of pediatric patients with congenital heart disease: the effects of cyanosis, age, and pathology. Ann Thorac Surg 2006; 81: 943-49.

49. Drake KJ, Sidorov VY, McGuinness OP, et al. Amino acids as metabolic substrates during cardiac ischemia. *Exp Biol Med* 2012; 237: 1369-78.
50. Unger R, DeKleermaeker M, Gidding SS, et al. Improved weight gain with dietary intervention in congenital heart disease. *AJDC* 1992; 146: 1078-84.
51. Rogers EJ, Gilbertson HR, Heine RG, et al. Barriers to adequate nutrition in critically ill children. *Nutrition* 2003; 19: 865-68.
52. Lin MT, Kung SP, Yeh SL, et al. The effect of glutamine supplemented total parenteral nutrition on nitrogen economy depends on severity of diseases in surgical patients. *Clin Nutr* 2002; 21: 213-18.
53. Berger MM, Revelly JP, Cayeux MC, et al. Enteral nutrition in critically ill patients with severe hemodynamic failure after cardiopulmonary bypass. *Clin Nutr* 2005; 24: 124-32.
54. Griffiths RD, Allen KD, Andrews FJ, et al. Infection, multiple organ failure, and survival in the intensive care unit: influence of glutamine-supplemented parenteral nutrition on acquired infection. *Nutrition* 2002; 18: 546-52.
55. Chua B, Siehl DL, Morgan HE. Effect of leucine and metabolites of branched chain amino acids on protein turnover in heart. *J Biol Chem* 1979; 254: 8358-62.
56. Svedjeholm R, Svensson S, Ekroth R, et al. Trauma metabolism and the heart: studies of heart and leg amino acid flux after cardiac surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 38: 1-5.
57. Taegtmeier H, Peterson MB, Ragavan VV, et al. De novo alanine synthesis in isolated oxygendeprived rabbit myocardium. *J Biol Chem* 1977; 252:5010-18.
58. Lorente JA, Landin L, De Pablo R, et al. Arginine pathway in the sepsis syndrome. *Crit Care Med* 1993; 21: 1287-95.
59. Baudner S, Haupt H, Hubner R. Manufacture and characterization of a new reference preparation for 14 plasma proteins/CRM 470 = RPPHS lot 5. *J Clin Lab Anal* 1994; 8: 177-90.
60. Akbay A, Öztaş Y, Bozdayı G. Klinik Laboratuvarda Temel Kavramlar, Ankara Üniversitesi 2000, ss. 54.
61. Liu Z, Barrett EJ. Human protein metabolism: its measurement and regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283: 1105-12.

62. Ward-Cook KM, Lehmann CA, Schoeff LE, et al. Clinical Diagnostic Technology: The Total Testing Process 2003, pp. 73.
63. Pearlman AS, Gardin JM, Martin RP, et al. Guidelines for optimal physician training in echocardiography. Recommendations of the American Society of Echocardiography Committee for Physician Training in Echocardiography. *Am J Cardiol* 1987; 60: 158–63.
64. Andersen BD, Wise BL. Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia: WB Saunders Company 1986, pp. 197-08.
65. Cooks RG, Busch KL, Glish GL. Mass spectrometry: analitical capabilities and potentials. *Science* 1983; 21: 222(4621): 273-91.
66. Lehrer M. In Kaplan LA (eds). Mass spectrometry. St. Louis: Mosby Company 1996, pp.167-84.
67. Biberoğlu G. Kütle spektrometresi ve tıp alanında kullanımı. *T Klin J Med Sci* 2003; 23: 491-98.
68. Chace DH, Adam BW, Smith SJ, et al. Validation of accuracy-based amino acid reference materials in dried-blood spots by tandem mass spectrometry for newborn screening assays. *Clin Chem* 1999; 45: 1269-77.
69. Naylor EW, Chace DH. Automated tandem mass spectrometry for mass newborn screening for disorders in fatty acid, organic acid and amino acid metabolism. *J Child Neurol* 1999; 14: 4-8.
70. Winnik WM, Kitchin KT. Measurement of oxidative stress parameters using liquid chromatography-tandem mass spectroscopy (LC–MS/MS). *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 233: 100-06.
71. Lifshitz F, Tarım Ö. Nutritional growth retardation. In: Lifshitz F (eds). *Pediatric Endocrinology* (4th ed). New York, Marcel Dekker Inc 1996, pp. 103-120.
72. Krovetz LJ. Weight gain in children with patent ductus arteriosus. *Dis Chest* 1963; 44: 274-83.
73. Jackson M, Poskitt EM. The effects of high-energy feeding on energy balance and growth in infants with congenital heart disease and failure to thrive. *Br J Nutr* 1991; 65(2): 131-43.
74. Varan B, Tokel K, Yilmaz G. Malnutrition and growth failure in cyanotic and acyanotic congenital heart disease with and without pulmonary hypertension. *Arch Dis Child* 1999; 81(1): 49-52.

75. Hansen SR, Dørup I. Energy and nutrient intakes in congenital heart disease. *Acta Paediatr* 1993; 82(2): 166-72.
76. Salzer HR, Haschke F, Wimmer M, et al. Growth and nutritional intake of infants with congenital heart disease. *Pediatr Cardiol* 1989; 10(1): 17-23.
77. Venugopalan P, Akinbami FO, Al-Hinai KM, et al. Malnutrition in children with congenital heart defects. *Saudi Med J* 2001; 22(11): 964-67.
78. Peterson RE, Wetzel GT. Growth failure in congenital heart disease: where are we now? *Curr Opin Cardiol* 2004; 19(2): 81-83.
79. Mehrizi A, Drash A. Growth disturbance in congenital heart disease. *J Pediatr* 1962; 61:418-29.
80. Weintraub RG, Menahem S. Early surgical closure of a large ventricular septal defect: influence on long-term growth. *J Am Coll Cardiol* 1991; 18(2): 552-58.
81. Sholler GF, Celermajer JM. Cardiac surgery in the first year of life: the effect on weight gains of infants with congenital heart disease. *Aust Paediatr J* 1986; 22(4): 305-08.
82. Nydegger A, Bines JE. Energy metabolism in infants with congenital heart disease. *Nutrition* 2006; 22(7-8): 697-04.
83. Leitch CA, Karn CA, Peppard RJ, et al. Increased energy expenditure in infants with cyanotic congenital heart disease. *J Pediatr* 1998; 133(6): 755-60.
84. Rosental A, Castaneda AR. Growth and development after cardiovascular surgery in infants and children. *Prog Cardiovasc Dis* 1975; 27: 27-37.
85. Marazzi G, Rosanio S, Caminiti G, et al. The role of amino acids in the modulation of cardiac metabolism during ischemia and heart failure. *Curr Pharm Des* 2008;14(25): 2592-04.
86. Saçar M, Güler A. Kalp cerrahisinde myokardiyal koruma yöntemleri. *Anatol J Clin Investig* 2008; 2(1): 47-57.
87. Halliday HL, Moore R, O'hara D. Plasma amino acids in interrupted aortic arc and the hypoplastic left heart syndrome. *Biol Neonate* 1987; 51: 198-03.
88. Oladipo OO, Weindel AL, Saunders AN, et al. Impact of premature birth and critical illness on neonatal range of plasma amino acid concentrations determined by LC-MS/MS. *Mol Genet Metab* 2011; 104(4): 476-79.
89. Herskowitz K, Plumley DA, Martin TD, et al. Lung glutamine flux following open heart surgery. *J Surg Res* 1991; 51(1): 82-86.

90. Sheil ML, Luxford C, Davies MJ, et al. Protein oxidation injury occurs during pediatric cardiopulmonary bypass. J Thorac Cardiovas Surg 2005; 130: 1054-61.

TC.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Araştırma Görevlisi Dr. Melike Sinem SÖYLEMEZ'e ait "Patent Duktus Arteriozus Kapatılmasının Plazma Amino Asit Profili Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması" adlı çalışma 06.05.2013 tarihinde aşağıdaki jürimiz tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Biyokimya Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU (Başkan).....İmza

Prof. Dr. Figen NARİN (Danışman)İmza

Prof. Dr. Kazım ÜZÜM.....İmza

Prof. Dr. Mustafa KULA.....İmza

Doç. Dr. Aysun ÇETİN.....İmza