

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOBAYLARDA AMİGDALİNİN ELEKTROKARDİYOGRAM VE KAN
NİTRİK OKSİT DÜZEYİNE ETKİSİ**

Sadettin Mehmet SOYLU

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Meltem ŞİRELİ

2006 – ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı

Çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma, aşğıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 05 / 10 / 2006

Prof. Dr. Bahri EMRE
Ankara Üniversitesi
Başkan

Doç. Dr. Arzu YİĞİT
Kırıkkale Üniversitesi
Raportör

Prof. Dr. İlksin PİŞKİN
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Meltem ŞİRELİ
Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	v
Şekiller	vi
Çizelgeler	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Amigdalın	1
1.1.1. Amigdalının Farmakokinetiği	3
1.1.2. Siyanür	5
1.2. Nitrik Oksit	7
1.2.1. Yapısal Nitrik Oksit Sentaz (cNOS)	8
1.2.2. Uyarılabilen Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)	9
1.3. Nitrik Oksitin Kalp-Damar Sistemi Üzerine Etkileri	10
1.3.1. Damar Gevşetici Etki	10
1.3.2. Platelet ve Lökosit agregasyonunu ve Adezyonunu Önleyici Etki	12
1.3.3. Damar Düz Kas Hücrelerinin Proliferasyonunu Önleyici Etki	13
1.3.4. Nitrik Oksitin Kalp Üzerine Etkisi	13
2. GEREÇ VE YÖNTEM	19
2.1. Gereç	19
2.1.1. Hayvan Materyali	19
2.1.2. Deneyde Kullanılan Aygıtlar	19
2.1.3. Deneyde Kullanılan İlaçlar ve Solüsyonlar	19
2.2. Yöntem	20
2.2.1. İlaçların Uygulanması	20
2.2.2. Elektrokardiyogramın Yazdırılması	20
2.2.3. Serumda Nitrik Oksit Miktarının Belirlenmesi	20
3. BULGULAR	23
4. TARTIŞMA	28
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	32
ÖZET	33
SUMMARY	34
KAYNAKLAR	35
ÖZGEÇMİŞ	43

ÖNSÖZ

Amigdalın, kanser tedavisinde kullanılmakta olan bir siyanogenetik glikozittir.

Bu araştırmada, kanser tedavisinde kullanılan amigdalının vücutta kalp-damar sistemi üzerine olası etkilerinin nitrik oksit düzeyi ve elektrokardiyogramdaki değişimlerle ilişkilendirilerek incelenmesi amaçlanmıştır.

Doktoraya başlamanın konusunda beni teşvik eden ve tezimin her aşamasında ilgi ve desteğini eksik etmeyen danışmanım Prof. Dr. Meltem ŞİRELİ' ye, değerli zamanını ayırarak temel kavramları anlamam konusunda bana yardımcı olan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Bahri EMRE ve Öğretim Üyesi Prof. Dr. İlksin PİŞKİN' e, değerli katkı ve yardımlarından dolayı Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ' ye, laboratuvar çalışmalarında bilgi ve emeğini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL' e, tezimin hayvan denemeleri aşamasında deneyimi ve yardımları ile bana destek olan Uzm. Vet. Hek. Serap TÜRKMEN' e, her zaman ilgi ve desteğini gördüğüm tüm Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri' ne, Anabilim Dalı çalışanlarına, arkadaşlarıma ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AV	: Atriyoventriküler
cGMP	: Siklik 3,5 – guanozin monofosfat
cGMP-PK	: cGMP bağımlı protein kinaz
cNOS	: Yapısal nitrik oksit sentaz
EKG	: Elektrokardiyografi
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
GTN	: Gliseril trinitrat
GTP	: Guanozin trifosfat
HCl	: Hidroklorik asit
HCN	: Hidrojen siyanür
ISDN	: İzosorbit dinitrat
iNOS	: Uyarılabilir nitrik oksit sentaz
L-ADMA	: Asimetrik dimetil-L-arjinin
L-NAME	: Nitro-L-arjinin metil ester
L-NMMA	: N-monometil-L-arjinin
L-NNA	: Nitro-L-arjinin
mtNOS	: Mitokondriyal nitrik oksit sentaz
NEDD	: N-(1-naftil) etilendiamin
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
sGC	: Çözünebilir guanilat siklaz
SIN-1	: 3-morfolinosidonimin
SNP	: Sodyum nitroprussit
SNAP	: S-nitroso-N-asetilpenisilamin
TCA	: Triklor asetik asit
VCl ₃	: Vanadyum klorür

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Amigdalinin kimyasal yapısı	2
Şekil 2. 1. Sodyum nitrat konsantrasyonlarına karşı okunan absorbands değerleri ile elde edilen kalibrasyon eğrisi	22
Şekil 3. 1. Kontrol grubu kobaylarda elektrokardiyogram	25
Şekil 3. 2. 50 mg/kg amigdalin grubuna ait elektrokardiyogram	26
Şekil 3. 3. 100 mg/kg amigdalin grubuna ait elektrokardiyogram	26
Şekil 3. 4. 200 mg/kg amigdalin grubuna ait elektrokardiyogram	26
Şekil 3. 5. 200 mg/kg amigdalin grubunda (IV. grup) II° AV blok	27
Şekil 3. 6. 200 mg/kg amigdalin grubunda (IV. grup) S-T segmentinde yükselme	27
Şekil 3. 7. 200 mg/kg amigdalin grubunda (IV. grup) T dalgası amplitüdünde artış, S-T segmentinde kısalma ve III° AV blok	27

ÇİZELGELER

Çizelge 3. 1. Kontrol (I. grup), 50 mg/kg (II. grup), 100 mg/kg (III. grup) ve 200 mg/kg (IV. grup) amigdalin gruplarında belirlenen serum nitrik oksit düzeyleri	23
Çizelge 3. 2. Kontrol grubuna (I. grup) ve amigdalin verilerek oluşturulan II, III ve IV. gruplara (50, 100, 200 mg/kg) ait EKG değerleri	25

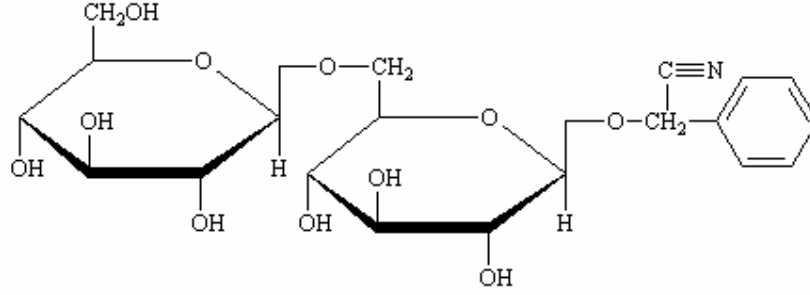
1. GİRİŞ

1.1. Amigdalın

Amigdalın (D-mandelonitrile- β -D-gentiobioside), doğada bol miktarda bulunan ve özellikle de meyve çekirdeği içlerinden (acıbadem, şeftali, kayısı, kiraz, v.s.) elde edilen siyanogenetik bir glikozittir. Yapılarında hidrojen siyanür (HCN) bulunduran ve bunu asidik veya enzimatik hidrolizle salıveren bitkiler siyanogenetik (siyanogenik) bitkiler olarak bilinirler. Glikozit terimi, şeker molekülünün glikozitik bağ ile bir başka maddenin oksijen atomuna bağlanarak şekillendirdiği bileşiğe verilen isimdir. Yapılarında bulunan şeker ve şeker olmayan kısımlar birbirlerine eter bağıyla (glikozitik bağ, oksijen köprüsü) bağlanır (Kaya ve ark., 1998). Molekülün şeker bölümü, glikozitik olarak şekersiz kısma (D-mandelonitril) bağlanmış, iki şekerden (gentiobiose ve 2-D-glikoz) oluşmaktadır (Dorr ve Paxinos, 1978). Amigdalının ağız yoluyla alınmasını takiben, sindirim sisteminde parçalanması sonucu diğer yan ürünlerle beraber oldukça zehirli olan HCN açığa çıkar (Haisman ve Knight, 1967). Bilinen en eski kullanımı, bu zehirliliğinden dolayı, eski Mısırlılar tarafından idam cezasını yerine getirmek (penalty of the peach) amacıyla zehir olarak kullanılmasıdır (Rauws ve ark., 1982). Bununla beraber amigdalın, tedavi edici bir madde olarak yüzyıllardır kronik alkolizmden hemoroite kadar birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır (Moertel ve ark., 1981). Kansere karşı kullanılmakta olan en etkili bitkisel kökenli maddelerden biri olan amigdalın, sağaltım için ilk olarak M.Ö. 2800 yıllarında bitki bilimci Pen Tsao tarafından kullanılmıştır. İbn-i Sina, dalak, uterus, mide ve karaciğer tümörlerine karşı acı badem yağının kullanılmasını önermiştir (Koepke, 1998). Amigdalın, 1830 yılında, Fransız kimyacılar Robiquet ve Boutron-Charlard tarafından, acı badem (*Prunus amygdalus*) çekirdeği içinden izole edilmiş ve 1837 yılında, Liebig ve Wöhler tarafından kapsamlı bir biçimde incelenmiştir. Detaylı kimyasal yapısı ise, 1923 yılında Haworth ve Wylam tarafından ortaya konmuştur (Rauws ve ark., 1982).

Amigdalın, aynı zamanda, piyasa adı *Laetrile* olarak bilinen bir kanser ilacının temel bileşenidir. Birçok kaynak, amigdalın ve *Laetrile* terimlerini birbirlerinin yerine kullanarak yanlışla yol açmaktadır. *Laetrile* numunelerinin kimyasal analizini yapmak için gerçekleştirilen bir çalışma sonucunda; % 87 – 98

oranında amigdalın ile beraber değişik miktarlarda sükröz, fenol ve di-isopropil amonyum (ekstraksiyon sürecinin bir kalıntısı) bulunduğu tespit edilmiştir (Dorr ve Paxinos, 1978).



Şekil 2.1. Amigdalinin kimyasal yapısı

Konu ile ilgili 1920'lerde Dr. Ernst T. Krebs birkaç öncü çalışma yaparak amigdalinin kanser hücrelerini yıkımlayıcı etkisinin olduğunu ve 1950'lerde de oğlu Ernest Krebs, Jr. amigdalinin bir antikanser ilacı olarak kullanılabileceğini bildirmiştir (Holmes ve Way, 1982). Krebs Jr. amigdalinin kimyasal formülünün baş ve son harflerinden esinlenerek (LAEvo-mandeloniTRİLE) "*Laetrile*" olarak adlandırdığı amigdalın tabletinin HCN oluşumuna neden olarak tümör hücrelerini öldürebileceğine değinmiştir. Hidrojen siyanür zehirli etkisini mitokondrideki elektron transport zincirinin son enzimine bağlanarak ve özellikle de ATP üretimini ve oksijen kullanımını durdurarak gösterir (Salkowski ve Penney, 1994). Daha ileriki yıllarda Krebs, amigdalinden salınan HCN' nin seçici olarak tümör hücrelerini öldürebileceğine dair bir teori oluşturmuş, siyanürü detoksifiye eden ve sağlıklı hücrelerde bol miktarda bulunan rodonaz enziminin kanser hücrelerinde yeteri kadar bulunmadığını ve bu yolla kanser hücrelerinin yıkımına neden olduğu savını öne sürmüştür (Koepke, 1998).

Literatürlerde amigdalinin kanserin tedavisinde etkili olup olmadığına dair çeşitli bildirimler vardır. Soffer (1976), neoplazilerin sağaltımında *Laetrile* kullanımının yararsız ve aynı zamanda, doğru tedavi seçeneklerini geciktireceği ve zehirli olması nedeniyle de tehlikeli olduğunu bildirmektedir. Hill ve ark. (1976), farelerde yaptıkları deneysel çalışma sonucunda, amigdalinin B16 melanoma ve BW5147 AKR lösemiye karşı tedavide etkisiz olduğunu bildirmektedirler. Chitnis ve

ark. (1985), P388 lenfositik lösemi ve P815 mast-hücre lösemisi olan BDF1 farelere, 200 mg/kg ile 2000 mg/kg dozunda uygulanan amigdalinin, farelerin yaşam sürelerini artırıcı bir etkisi olmadığını bildirmektedirler. Bununla beraber, Fukuda ve ark. (2003), amigdalinin tümör büyümesini inhibe edici ve tümör oluşumuna karşı koruyucu etkileri olduğunu bildirmektedirler.

Amigdalinin ağrı kesici (Zhu ve ark., 1994), öksürüğü önleyici (Miyagoshi ve ark., 1986) etkinliği olduğuna dair bildirimler de mevcuttur.

1.1.1. Amigdalinin Farmakokinetiği

Amigdalinin ağız yoluyla alınmasını takiben meyve çekirdeklerindeki lizozomlarda bulunan ve mekanik parçalanma ile açığa çıkan emülsin enzimi (Suchard ve ark., 1998) veya gastrointestinal sistemde bulunan ve buradaki bakteriler tarafından sentezlenen β -glikosidaz enzimi (Dorr ve Paxinos, 1978; Niesink ve ark., 1996) ile büyük oranda hidrolize uğratılması sonucunda prunasin, glikoz, gentobiyoz, mandelonitril, benzaldehid ve HCN açığa çıkar (Haisman ve Knight, 1967). β -glikosidaz enziminin hayvansal dokularda da bulunduğu bildirilmektedir (Freese ve ark., 1980; Hays ve ark., 1998). Ancak hayvansal dokularda, gastrointestinal sistemdeki kadar etkin bir hidrolizin meydana gelmediği ve amigdalinin bir kısmının değişmeden idrarla dışarı atıldığı, bu nedenle de parenteral uygulama sonrasında hücre içi hidrolizin meydana geldiğini söylemenin kesinkes doğru olamayacağı, çünkü amigdalinin geri emilimle bağırsaklara geçip, hidrolize uğradıktan sonra tekrar emiliyor olabileceği de belirtilmektedir (Adewusi ve Oke, 1985a).

Amigdalinin farmakolojik ve toksik etkisinden sorumlu son ürün HCN' dir. Amigdalinden HCN oluşumu birkaç aşamalı bir reaksiyon olup her basamakta farklı bir β -glikosidaz enzimi (amigdalın liyaz, prunasin liyaz, hidroksinitril liyaz) görev almaktadır (Haisman ve Knight, 1967).

Amigdalın esas olarak gastrointestinal sistemde hidrolize uğratıldığı için oral yolla alındığında daha fazla miktarda HCN açığa çıkmaktadır (Carter ve ark., 1980; Beamer ve ark., 1983).

Bir adet ticari kayısı çekirdeğinin yaklaşık 610 mg olduğu ve sindirilmesi sonucu 0,054 mg HCN açığa çıkacağı, 100 g yaş, kültür kayısı çekirdeğinin 8,9 mg,

Türkiye’ de yetişen 100 g yabani kayısı çekirdeğinin 217 mg ve Türkiye’ de yetişen kültür kayısı çekirdeklerinin 88 mg siyanür serbest bırakabilecekleri bildirilmektedir (Dorr ve Paxinos, 1978).

Amigdalın tabletinin (500 mg) 5,0 – 51,5 (ortalama 28,3) mg/g siyanür serbest bırakabildiği bildirilmektedir (Hall ve ark., 1986). İnsanlara parenteral olarak verilen 1-10 g amigdalının herhangi bir zehirlenme belirtisi meydana getirmediği, ancak ağız yoluyla uygulanan *Laetrile*’ in parenteral olarak uygulanandan 40 kat daha toksik olduğu ortaya konmuştur (Dorr ve Paxinos, 1978).

Suchard ve ark. (1998), 30 adet kayısı içi yiyen, 41 yaşındaki bir kadının 20 dk içerisinde halsizlik ve dispne belirtileri gösterdiğini ve hastaneye ulaştırıldığında koma halinde, hipotermik ve asidozda olduğunu bildirmektedirler. Yazarlar, bir kayısı içinin 0,12 – 4,09 mg/g (yaygın bildirim 2,92 mg/g) siyanür içerdiğini ve insanlar için siyanürün bildirilen en düşük letal dozunun 0,56 mg/kg olduğunu belirtmektedirler.

Gastrointestinal mikrofloranın amigdalının zehirliliği üzerine etkilerini inceleyen Carter ve ark. (1980), normal bağırsak florasına sahip ratlara oral yolla 600 mg/kg dozunda amigdalın uyguladıkları çalışmalarında, letarji ve konvülsiyonların, 2 ve 5 saat içinde de ölümün şekillendiği ve bu hayvanların kanlarında yüksek miktarda HCN (2,6 – 4,5 µg/ml) belirlendiğini, öte yandan, normal bakteri florasına sahip olmayan ratlara aynı dozda amigdalın uygulandığında hiçbir semptom meydana gelmediğini ve kanlarındaki siyanür düzeylerinin de amigdalın verilmeyen normal bağırsak florasına sahip ratlarla aynı olduğunu belirtmektedirler. Araştırmacılar aynı zamanda, normal bağırsak florasına sahip ve bakteri florası olmayan ratlara ağız yoluyla, toksik olmayan dozda (50 mg/kg) amigdalın vererek hayvanların dışkılarındaki hidrolize uğramadan çıkan amigdalın miktarını ölçmüşler ve bakteri florası olmayan ratların dışkılarındaki parçalanmamış amigdalın miktarının bağırsak florasına sahip ratlardan daha yüksek düzeyde olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, yaptıkları bu çalışmanın sonuçlarına dayanarak, amigdalinden toksik miktarlarda siyanür açığa çıkabilmesi için gastrointestinal flora varlığının zorunlu olduğunu bildirmektedirler.

1.1.2. Siyanür

Siyanür, siyanogenetik glikozidler içeren bitki ekstraktlarının (acı badem, manyok, şeftali, kayısı) sindirilmesi sonucu açığa çıkmaktadır. Eski çağlardan beri bir zehir olarak kullanılmaktadır. Roma İmparatoru Neron' un, düşmanlarına hızlı bir ölümcül son hazırlamak için siyanür kullandığı bildirilmektedir. III. Napolyon, Fransız-Rus savaşı boyunca, askerlerinin süngülerini siyanür ile kaplatmıştır. Birinci Dünya Savaşı sırasında top mermilerine siyanür doldurularak kimyasal bir silah olarak kullanılmıştır. Naziler, II. Dünya Savaşı sırasında milyonlarca insanın hayatına siyanür ile son vermişlerdir. Yakın zamanda ise, Orta Doğu Bölgesi' nde gerçekleşen savaşlar sırasında kimyasal bir silah olarak siyanür kullanılmıştır (Baskin ve ark., 1992). Diğer siyanür kaynakları; plastiklerin veya nitril bazlı polimer fiberlerin pirolizi sonucu ve endüstride akımla kaplama işlemi sırasında açığa çıkan toksik gazlar, alifatik nitril bileşikler, fotoğraf işleme malzemeleri, fumigantlar, insektisidler, hidroksiüretran ve naylon yanığı artıkları, siyanür tuzları, operasyon sonrası oluşan şiddetli hipertansiyonun tedavisinde sıklıkla kullanılan sodyum nitroprussit ve günümüzde tıp alanında kanser tedavisinde alternatif bir ilaç olarak kullanılan *Laetrile*' dir (Beamer ve ark., 1983; Baskin ve ark., 1992).

Siyanürün etkidiği hedef enzim, mitokondriyal solunum zincirinin terminal oksidazı olan, sitokrom oksidazdır. Hücre ve mitokondri membranlarını doğrudan geçebildiğinden, hızla elektron transport sistemini ve oksijenli solunumu inhibe eder. Böylelikle hücrelerde histotoksik anoksiya oluşumuna neden olur (Ivankovich ve ark., 1980). Klinik bulgular, laboratuvar verileri ve hayvan çalışmalarına ait sonuçlar, siyanür zehirlenmelerinde sitokrom oksidaz inhibisyonu sonucu, ilerleyen histotoksik doku anoksisi meydana geldiğini göstermektedir (Baskin ve ark., 1992; Salkowski ve Penney, 1994).

Bilinç kaybı, konvülziyonlar, dispne, apne, midriyazis, mide bulantısı, kusma, elektrokardiyogramda iskemik değişimler, metabolik asidoz, bradikardi ve hipotansiyon siyanür zehirlenmesinin belli başlı belirtileridir. Hipoksik değişimlerin varlığında, siyanozun gözlenmemesi teşhis için önemli bir ipucudur (Baskin ve ark., 1992).

Vick ve Froehlich (1985) yüksek dozda siyanürün erken etkilerinin, pulmoner ve/veya kardiyak kan akımında meydana gelen değişikliklerden kaynaklanabileceğini, siyanürün kalbin pompalama gücünde zayıflama ve kalp debisinde azalmaya neden olacak derecede, pulmoner arteriollerde ve/veya koroner arteriollerde vazokonstriksiyona neden olabileceği fikrini öne sürmüşlerdir.

İntravenöz 2,5 mg/kg dozunda siyanür verilen 20 köpeğin 5-10 dk sonra öldükleri ve ölümün ani kan basıncı düşüşü, hiperventilasyon, merkezi venöz basınçta artış ve bradikardiyi takiben şekillendiği bildirilmektedir. Siyanür uygulamasından 3-5 dk sonra ise hayvanlarda solunum felcinin gözlenmesiyle birlikte kan basıncında artış tespit edildiği söylenmektedir. Bunu, terminal apne, ilerleyen hipotansiyon, derin bradikardi ve hipoksik EKG değişiklikleri takip etmiştir (Vick ve Froehlich, 1985).

Siyanürü vücuttan uzaklaştırmak için endojen olarak devreye giren mekanizma, mitokondriyal bir enzim olan rodonaz enzimi aracılığıyla, siyanürün göreceli olarak daha az zehirli bir bileşik olan tiyosiyanata dönüştürülmesi (Basu, 1983; Adewusi ve Oke, 1985b) ve bu yolla idrarla atılmasıdır (Salkowski ve Penney, 1994). Siyanür zehirlenmesinde kullanılan antidotların etki mekanizmalarının bilinenden çok daha karmaşık olduğu tahmin edilmektedir (Isom ve Borowitz, 1995). Rodonaz enzimi sülfür gruplarının varlığında işlevsel olabilir (Adewusi ve Oke, 1985b; Chin ve Calderon, 2000) ve bu nedenle de siyanür zehirlenmesi tedavisinde bir sülfür kaynağı olan tiyosülfat kullanılır. Tiyosülfat; endojen olarak sınırlı miktarda bulunan ve siyanürün daha az toksik bir bileşik olan tiyosiyanata enzimatik dönüşümü sırasında gerekli olan sülfür için eksojen bir kaynak sağlamaktadır (Chin ve Calderon, 2000). Rodonazın, tiyosülfata karşı yüksek derecede substrat spesifitesine sahip ve endojen olarak siyanürü metabolize etmekten sorumlu bir enzim olduğu bildirilmektedir. (Baskin ve ark., 1992). Tiyosülfatlar ve diğer sülfür donörleri değerli bir siyanür antidotu olmalarına rağmen, siyanür ile oluşturulan histotoksik anoksiya tablosundan en çok etkilenebilecek organ olarak bilinen beyine geçişleri sınırlıdır. Buna ek olarak, anyonik yüklerinden dolayı mitokondri membranına tutunma yetenekleri az ve bunun sonucu olarak da mitokondrinin kristalleri içerisinde bulunan rodonaz enzimine ulaşmaları da sınırlıdır (Way, 1984).

Siyanür zehirlenmesinin tedavisinde antidot olarak kullanılan bir diğer madde sodyum nitrittir. Sodyum nitrit kandaki methemoglobin miktarını artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Tedavide nitritlerin hemoglobine bağlanması ile methemoglobin oluşturulması ve siyanürün sitokrom oksidazdan ayrılarak seçici olarak methemoglobine bağlanması amaçlanmaktadır. Siyanürün ayrılmasıyla birlikte sitokrom oksidazın tekrar aktive edildiği bildirilmektedir (Baskin ve ark., 1992). Bununla beraber literatürlerde, nitritlerin siyanür zehirlenmesindeki tedavi edici etkilerinin yalnızca methemoglobin oluşumunu sağlamalarıyla değil, diğer farmakolojik etkilerinin de devreye girdiği bazı mekanizmalarla gerçekleşebileceği yorumuna yer verilmektedir (Cucinell ve ark., 1974; Isom ve Way, 1976; Baskin ve ark., 1996). Methemoglobin oluşumunun metilen mavisi uygulanarak önlendiği çalışmalarda sodyum nitritin siyanür zehirlenmesine karşı koruyucu etkisinin devam ettiği gözlenmiştir (Holmes ve Way, 1982; Way, 1983). Cucinell ve ark. (1974), nitritin siyanüre karşı koruyucu etkisinin belirgin miktarlarda methemoglobin oluşmadan önce şekillendiğini tespit etmişlerdir. Way (1984), siyanür uygulamasından önce sodyum nitrit verilerek kandaki methemoglobin düzeyinin artırılmasının, siyanürün öldürücü etkisini önlemede oldukça etkili olduğunu ancak normal koşullarda gözlemediği gibi, siyanür zehirlenmesini takiben uygulanan sodyum nitritin aynı derecede etkili olmadığını bildirmekte ve sodyum nitritin bu son durumda methemoglobin oluşumundan farklı bir farmakolojik mekanizmayla etkili olduğunu ifade etmektedir. Bu mekanizmanın da sodyum nitritin bilinen diğer bir farmakolojik özelliği olan damar genişletme yeteneğine bağlı olabileceği yorumuna yer verilmekte ve günümüzde sodyum nitritin damar genişletici etkinliğini kan NO miktarını artırarak meydana getirdiği bilinmektedir (Dejam ve ark., 2004; Thatcher ve ark., 2004).

1.2. Nitrik Oksit

Nitrik oksit iki atomlu bir gaz molekülüdür ve tanımlanan ilk gaz nörotransmitter maddedir (Baranano ve ark., 2001). Reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan kararsız radikaller topluluğunun bir üyesidir. Bir nitrojen atomunun kovalent bağ ile, yörüngesinde çiftleşmemiş bir adet elektron taşıyan oksijen atomuna bağlanmasıyla ile meydana gelmiştir (Ignarro, 1989). Vücutta; damar endoteli, kan pulcukları,

makrofajlar, miyokard, endokard ve sinir dokuları gibi birçok dokudan salınmaktadır (Kelly ve ark., 1996; Chowdary ve Townend, 1999). Ökaryotik hücrelerde nitrik oksit, yarı esansiyel bir aminoasit olan L-arjininin terminal guanidino gruplarında bulunan azot atomları kullanılarak, nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin katalizlediği bir reaksiyon sonucunda üretilir (Stuehr, 1999). Yan ürün olarak L-sitrülin açığa çıkar (Palmer ve Moncada, 1989). Bu enzimin bilinen üç izoformu vardır: nNOS (nöronal NOS, tip I NOS), iNOS (uyarılabilir NOS, tip II NOS) ve eNOS (endotelial NOS, tip III NOS) (Stuehr, 1999). Bu izoformlardan, nNOS ve eNOS fizyolojik koşullarda devamlı, az miktarda NO üretimi gerçekleştirdikleri için yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS) olarak da anılırlar (Kone, 2001). Nitrik oksitin en iyi bilinen etkisi endotel hücrelerinden salınarak damar düz kas hücrelerinde gevşemeye neden olmasıdır. Bunun dışında sinirsel iletim, plateletlerin agregasyon ve adezyonlarının önlenmesi, bağışıklık ve uyarı-salgılanma çiftlenimi gibi birçok fizyolojik mekanizmada görev almaktadır (Lohse ve ark., 1998).

1.2.1. Yapısal Nitrik Oksit Sentaz (cNOS):

Yapısal NOS, kofaktör olarak kalsiyum ve kalmoduline bağımlıdır. Hücrelerde kalsiyum miktarının artması sonucu kalmodulinin NOS' a bağlanması uyarılır ve kısa süreli etkili NO sentezi gerçekleştirilir. Substrat olarak L-arjinin, NADPH ve oksijen kullanılır. Yapısal NOS; endotelial (eNOS, NOS3 geni ile kodlanır) ve nöronal NOS (nNOS, NOS1 geni ile kodlanır) olmak üzere iki alt izoforma ayrılmaktadır. Endotelial NOS; damar endotel hücrelerinde, kalp kası hücrelerinde, kan pulcuklarında, nNOS ise; merkezi sinir sistemi nöronlarında, iskelet ve kalp kasında, pankreas adacıklarında, makula densada ve epitel hücrelerinde bulunmaktadır (Kelly ve ark., 1996; Stuehr, 1999; Vergely ve Rochette, 2002; Danson ve ark., 2005). Endotelial NOS tarafından sentezlenen endotel kaynaklı NO, endotel hücrelerinden sürekli salınarak damar duvarı gerginliğinin belli bir düzeyde tutulmasını sağlamaktadır. Aralıklarla ve az miktarda salınan nöronal NOS ise impuls iletiminde görevli NO' nun salınımından sorumludur. Endotel hücrelerinde, reseptör aracılı olarak asetilkolin, bradikinin, histamin, P maddesi gibi maddeler ve damarlardaki sürtünme stresi gibi fiziksel uyarılar da hücre içi kalsiyum miktarını artırarak NO sentezini artırır ve bu yolla damar gevşemesine neden

olurlar (Andrews ve ark., 2002). Kalp kası hücrelerinde nNOS ve eNOS' un varlığı ortaya konmuş ve bu enzimlerin kalbin fizyolojik işlevlerine aracılık eden NO' nun üretiminden sorumlu oldukları belirlenmiştir (Vergely ve Rochette, 2002).

1.2.2. Uyarılabilen Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)

Uyarılabilen nitrik oksit sentaz (iNOS, NOS2 geni ile kodlanır) kofaktör olarak kalsiyuma ihtiyaç duymamaktadır. Uyarılabilir NOS aracılığı ile L-arjininden NO sentezi; sitokinler (interferon- γ , IL-1 β ve TNF- α), endotoksinler, mikrobiyel ürünler ve/veya oksidatif stres ile uyarılmaktadır. Endotel, damar düz kas hücresi, makrofaj, nötrofil, kalp kası hücresi ve endokard gibi birçok hücrede bulunmaktadır (Schulz ve ark., 1992; Balligand ve ark., 1993). Bu yolla, mikroorganizmalar ve tümör hücreleri için sitotoksik etkili olan ve cNOS tarafından üretilen NO ile karşılaştırıldığında çok daha fazla miktarda ve uzun süre etkili NO üretimi sağlanmış olmaktadır. Endotelial NOS ve nNOS kısa bir süre için aktive edilir ve fizyolojik işlevlerin düzenlenmesinde görev alırlar, öte yandan iNOS, patojenlere karşı konak savunmasında yangı süresince devamlı olarak salınır. Bununla beraber, fazla miktarda NO üretimi patolojik damar genişlemesi ve oksidatif stresin artması ile şekillenen doku harabiyeti gibi istenmeyen sonuçlara da neden olmakla beraber iNOS'un istenmeyen etkileri glikokortikoidlerle engellenebilmektedir (Radomski ve ark., 1990; Vincent ve ark., 2000; Andrews ve ark., 2002).

Aynı zamanda, mitokondride de NOS enzimi (mitokondriyal NOS, mtNOS) bulunduğu dair bildirimler mevcuttur (Ghafourifar ve Richter, 1997; Lopez-Figueroa ve ark., 2000). Mitokondriyal NOS sitokrom oksidaz üzerinde, oksijen ve NO' nun fizikokimyasal özelliklerinin benzer olması sayesinde oksijen molekülüne spesifik bağlanma yüzeyine bağlanarak oksijen tüketimini inhibe eder. Oksijen tüketiminin NO tarafından inhibe edilmesi fizyolojik NO konsantrasyonlarında gözlenen, yarışmalı, geri dönüşümlü ve doza bağımlı bir reaksiyondur. Ayrıca mtNOS' un apoptozisi destekleyici ve engelleyici yönde aktivitelerinin olduğu bildirilmektedir (Ghafourifar ve Cadenas, 2005).

Biyolojik olarak NO, NOS' un etkisiyle L-arjininden veya organik nitratların denitrasyonuyla üretilir (Thatcher ve ark., 2004; Low, 2005). Sadece birkaç saniye

yarı ömrü olan NO, hidrofobik özelliği sayesinde, hücre membranlarını ve hücre dışı boşluğu geçerek hedef hücrelere ve buralardaki hedef enzim olan, hem içeren çözünebilir guanilat siklaza (sGC) ulaşır. Guanozin trifosfattan (GTP) siklik 3',5'-guanozin monofosfatın (cGMP) oluşumunu katalizleyen bu enzim, NO tarafından uyarılır. Sonuçta oluşan cGMP, üç önemli efektör protein sınıfını düzenler: cGMP-bağımlı protein kinazlar, cGMP aracılı iyon kanalı protein kinazları ve fosfodiesterazlar. Bunlar sırasıyla, protein fosforilasyonunu, plazma membranından katyon içeri akışını ve siklik nükleotid katabolizmasını düzenlerler (Lohse ve ark., 1998).

Nitrik oksit, oksijen ve demir taşıyan moleküllerle (hem) yüksek derecede reaksiyona girme eğilimindedir (Ignarro, 1989). Bu nedenle, hem bakımından zengin dokularda (kan ve kas dokusu) varlığını koruyabilmesi oldukça güçtür ve biyolojik etkinliğini ancak salındığı yerin yakınındaki bölgelerde gösterebilmektedir. Bununla beraber, NO yağda rahatlıkla çözünebilmekte ve biyolojik membranlardan rahatlıkla geçebilmektedir. Bu özelliği sayesinde parakrin olarak bilinen biyolojik etkilerini göstermektedir (Danson ve ark., 2005).

Hem cNOS, hem de iNOS kaynaklı NO sentezi N-monometil-L-arjinin (L-NMMA), asimetrik dimetil-L-arjinin (L-ADMA), nitro-L-arjinin (L-NNA) ve nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME) tarafından baskılanabilmektedir (Böger ve ark., 1996).

1.3. Nitrik Oksitin Kalp-Damar Sistemi Üzerine Etkileri

Nitrik oksit dolaşım sistemi homeostazisinde oldukça önemli bir role sahiptir. Nitrik oksitin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri; damar gevşetici (Moncada ve ark., 1988), platelet adezyonu (Radomski ve ark., 1987) ve agregasyonu (Faint, 1992) ile nötrofil adezyonunu önleyici (Armstrong, 2001) ve damar düz kas hücresi proliferasyonunu önleyici (Gewaltig ve Kojda, 2002) etkiler şeklinde sıralanabilir.

1.3.1. Damar Gevşetici Etki

Lokal olarak damar endotel hücrelerinde; 5-hidroksitriptamin, asetilkolin, trombin, Ca^{+} iyonoforu, araşidonik asit, bradikinin, histamin, P maddesi, adenin nükleotitleri

gibi kimyasal faktörler ile arteriyel basınçta meydana gelen değişiklikler, damarlarda artan kan akımıyla birlikte meydana gelen sürtünme stresi ve elektriksel uyarım gibi fiziksel etkiler aracılığıyla nitrik oksit salınımı uyarılır (Moncada ve ark., 1991).

Nitrik oksit salınımı; çözünebilir sGC' yi etkinleştirerek damar düz kas hücrelerinde, plateletlerde, sinir hücrelerinde ve diğer hücrelerde, hücre içi bir haberci olan cGMP' nin artışına yol açmaktadır (Ignarro ve Kadowitz, 1985). Nitrik oksit ile damar düz kaslarında meydana getirilen gevşeme, hücre içi kalsiyum miktarının azaltılması mekanizmasına dayanmaktadır. Bilindiği gibi NO için endojen reseptör, sGC'nin hem içeren bölgesidir. Nitrik oksitin sGC'ye bağlanmasıyla hemin demiri ayrılarak enzimde yapısal bir değişiklik meydana gelmekte ve böylece katalitik yüz etkinleştirilmektedir (Ignarro, 1992). Düz kas hücrelerinde gevşeme, cGMP artışı takiben hücre içi kalsiyum miktarında azalmaya neden olan farklı mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Kalsiyum miktarındaki azalma, aktin-miyozin ATPase etkinliğinin düzenlenmesinde görevli miyozin hafif zincir kinazını (Myosin light chain kinase-MLCK) fosforile eden bir enzim olan cGMP bağımlı protein kinazın katıldığı farklı bir takım işlemlerle gerçekleştirilmektedir (Hathaway ve ark., 1985).

Damar düz kas hücrelerinde cGMP aracılığı ile oluşturulan düz kas gevşemesinin; cGMP ve cGMP bağımlı protein kinazın agonistlerle uyarılmış fosfolipaz C oluşumunu inhibe etme yeteneğiyle inositol trifosfat üretiminin inhibisyonu, kalsiyumun hücre dışına atılımının uyarılması, miyozinin inaktif formunu stabilize eden miyozin hafif zincirinin defosforilasyonunun artırılması, membran Ca^{+2} -ATPase' nin uyarılması, reseptörle kontrol edilen Ca^{+2} kanallarının inhibe edilmesi ve K^{+} kanalları yoluyla K^{+} geçirgenliğinde artış şekillenmesi sonucu membranın hiperpolarize olması ve voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının kapanması mekanizmalarıyla şekillendiği öne sürülmektedir (Marin ve Rodriguez-Martinez, 1997).

İzole arterlerde, arteriyollerde, venalarda, venüllerde, kılcal damarlarda ve lenf damarlarında endotel bağımlı gevşeme oluşmaktadır. Yine izole arterlerde kontraksiyon ise NOS' un bir NOS inhibitörü olan L-NMMA ile inhibisyonu sonucu meydana gelmektedir. Bu olay da endotelyumdan sürekli bir NO salınımının

olduğunu ve bu sayede de normal damar gerginliğinin korunduğunu ortaya koymaktadır (Calver ve ark., 1993).

Damar endotel hücreleri bazal düzeyde NO üretmekte ve böylece damar gerginliğinin belli bir düzeyde tutulması sağlanmaktadır. Venalardaki bazal NO üretimi arterlere oranla çok daha azdır. Deney hayvanlarına ve gönüllü insanlara, L-NMMA'nın sistemik enjeksiyonlarını takiben arteriyel basınçta bir artış meydana gelmiş fakat venöz basınçta bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu bulgular NO'nun damar düz kas hücrelerinin gerginliğini ve periferel direnci düzenlediğini ve böylece kan basıncının kontrolüne önemli bir katkıda bulunduğunu göstermektedir (Ignarro, 1989).

Nöronal NOS tarafından üretilen NO'nun da kan basıncının düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Rat beyinlerine küçük dozlarda NOS inhibitörlerinin uygulanması hayvanların kan basıncını, böbreğin sempatik uyarımını ve kalp atım sayısını artırmıştır. Diğer yandan beyinden salınan NO'nun, damarlarda sempatik tonusu azaltarak kan basıncının düzenlenmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Sinirsel aktivitenin lokal kan akımında bir artışa yol açtığı ve bu cevabın NOS inhibitörleriyle önlendiği bildirilmiştir (Li ve Förstermann, 2000).

Endotel hücrelerinde NO oluşumu çeşitli fiziksel ve kimyasal uyarıcılarla artırılabilir. Kan akımıyla oluşturulan sürtünme stresi bu uyarıcıların en önemlilerinden biridir. Egzersiz sırasında, kan akımı artışına bağlı damar gevşemesi gözlenir. Akut fiziksel egzersiz canlıda NO sentezi için güçlü bir uyarıcıdır. Sağlıklı bir insanda, otuz dakikalık yoğun bir egzersizden sonra NO'nun parçalanma ürünü olan nitrat ve NO'nun hücre içi etkinliklerine aracılık eden cGMP'nin idrardaki yoğunluğunun iki katına çıktığı görülmüştür (Böger ve ark., 1996).

1.3.2. Platelet ve Lökosit Agregasyonunu ve Adezyonunu Önleyici Etki

Endotel hücreleri nontrombojenik yüzey sağlarlar. Plateletlerin ve diğer kan hücrelerinin yapışmasını engelleyerek pıhtılaşmanın aktif hale geçmesini engellerler. Endotelial hücrelerin başlıca fonksiyonu damar koruyucu ve pıhtılaşmayı engelleyici moleküllerin üretimidir. Bazı moleküller, yapısal olarak sürekli salınırken, bazıları ise bir uyarana cevap olarak üretilir. Nitrik oksit, endotel hücre

yüzeyinden salınan ve platelet agregasyonunu baskılayan önemli bir moleküldür. Nitrik oksit, trombus oluşumunun kontrolü ve kan akışkanlığının sağlanmasında oldukça önemli bir rol oynar (Benjamin ve ark., 1991). İn vitro uygulanan NO, kan pulcuğundan zengin plazmada ve tam kanda çeşitli pıhtılaşma faktörlerinin uyardığı kümeleşmeyi engellemektedir. Nitrik oksit, kümeleşmiş kan pulcuklarının dağılmalarına neden olmakta, kan pulcuklarının (Yoshimoto ve ark., 1999), nötrofillerin adezyonlarını inhibe etmekte ve kemotaksislerini düzenlemektedir (Armstrong, 2001). Kan akımının sağlanması ve trombozdan kaçınılması için kan pulcuklarının kümeleşme ve homeostatik tıkaç oluşturma özellikleri çok iyi dengelenmelidir. Damar lümenine doğru salınan NO difüzyonla plateletlere girerek sGC' yi aktive eder ve damar düz kas hücrelerindeki benzer biçimde platelet içi kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak platelet adhezyonunu, aktivasyonunu ve agregasyonunu inhibe etmektedir (Palmer ve Moncada, 1989).

1.3.3. Damar Düz Kas Hücrelerinin Proliferasyonlarını Önleyici Etki

Damar boşluğuna, damarların düz kas hücrelerinin çoğalmalarını engelleyici ve uyarıcı aracı maddeler salınmaktadır. Fizyolojik koşullarda, çoğalmayı engelleyici maddeler sayesinde endotel kalınlığının sabit kalması sağlanmaktadır. Nitrik oksit damar düz kas hücrelerinin çoğalmalarını engelleyen güçlü bir inhibitördür. Damar lümeninde, aynı zamanda damar düz kas hücrelerinin çoğalmalarını uyaran epidermal büyüme faktörü, kan pulcuğu kökenli büyüme faktörü ve anjiyotensin II gibi çeşitli büyüme faktörleri de bulunmaktadır. Nitrik oksit gibi hücre çoğalmalarını engelleyici maddelerin eksikliğinde çoğalmayı baskılayıcı etki ortadan kalkmakta ve endotel hücreleri miktarında artış meydana gelmektedir. Bu durum, damar boşluğunun daralmasıyla birlikte şekillenen kalp-damar hastalıklarının temelini oluşturmaktadır (Cannon, 1998; Gewaltig ve Kojda, 2002).

1.3.4. Nitrik Oksitin Kalp Üzerine Etkisi

Fizyolojik ve patolojik koşullarda nitrik oksit kalp kası kasılmasının kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır (Shah, 1996). Guanilat siklazın, NO'nun kalp kası hücresindeki temel hedefi olduğu ve cGMP'nin NO'nun kasılma üzerine olan

etkilerine aracılık ettiği bilinmektedir (Stamler, 1994; Kojda ve ark., 1996). Nitrik oksit salınımı sGC' yi etkinleştirerek hücre içi cGMP miktarında artışa yol açmaktadır (Ignarro ve Kadowitz, 1985). Nitrik oksit tarafından cGMP üretiminin uyarılması cGMP bağımlı protein kinazlar (cGMP-PK) ve cGMP ile uyarılan ve inhibe edilen fosfodiesterazlar (PDE2 ve PDE3) gibi bazı protein aktivitelerinin düzenlenmesine öncülük etmektedir (Méry ve ark., 1997; Musialek ve ark., 1997). Nawrath (1977), çözünebilir sGC' nin uyarılması sonucu oluşan cGMP'nin, izole ventrikül kalp kası hücrelerinde kalsiyumun hücre içerisine girişini azalttığı ortaya konulmuş ve bu olaya cGMP-bağımlı protein kinazın aracılık ettiği belirtilmektedir (Méry ve ark., 1997).

Nitrik oksitin kalp kası hücreleri üzerine etkileri, önceleri sodyum nitroprussit (SNP), gliseril trinitrat (GTN), izosorbit dinitrat (ISDN), S-nitroso-N-asetilpenisilamin (SNAP) ve 3-morfolinosidonimin (SIN-1) gibi organik nitratlar (eksojen NO salıcıları) ve NO üretimini inhibe eden ajanlar kullanılarak incelenmiştir. Çünkü organik nitratların kalp kası hücrelerinde NO' ya dönüşmesiyle NO miktarı yüksek modeller oluşması sağlanırken, NO inhibe edicilerin kullanılmasıyla da NO miktarı düşük modellerin oluşturulması ve bu modellerde şekillenen fizyolojik etkilerin incelenmesi mümkün kılınmıştır (Dejam ve ark., 2004).

İzole kobay sinoatrial düğümü ve atrium preparatlarına yüksek dozlarda (milimolar) SNP uygulamasının kalbin kasılma gücünde ve kalp atım sayısında bir azalmaya yol açtığı, öte yandan düşük dozların (nanomolar, mikromolar) pozitif inotropik ve kronotropik etkiler oluşturduğu bildirilmektedir (Musialek ve ark., 1997; Sarkar ve ark., 2000; Lagodych, 2001; Danson ve ark., 2005). Kojda ve ark. (1996), yüksek dozda NO donörleriyle oluşturulan fazla miktarda cGMP artışının, cGMP-bağımlı protein kinazın aktive edilmesiyle kalbin kasılım cevabında bir azalmaya neden olduğunu, az miktarda uygulanan organik nitratların ise cGMP miktarında orta derecede bir artışa yol açtığını ve bunun da cAMP miktarını artırarak ve cAMP-bağımlı protein kinazı aktive ederek kalbin kasılım cevabını artırdığını ifade etmektedirler. Yapılan çalışmalar sonucunda, NO salıcılarının kalbin inotropik ve kronotropik özellikleri üzerine olan etkilerinin bifazik olduğu görülmüştür (Kojda ve ark., 1996; Danson ve ark., 2005).

Paulus ve ark. (1994), sol ventrikül koroner arter yataklarına SNP verilen hastalarda; sol ventrikül kasılma eğrisinin en yüksek düzeye çıktığı noktada ve sistol sonu basınçta belirgin bir azalma olduğunu, sol ventrikül izovolümik gevşemesinin daha erken başladığını ve sol ventrikülün diyastolde daha fazla gevşediğini bildirmektedirler. Buna ek olarak Paulus (2000), NO' nun sol ventrikül gevşemesini hızlandırıcı ve sol ventrikül esnekliğini artırıcı etkileri olduğunu bildirmektedir. Ayrıca, Weidong ve ark. (2002) broylerlere bir NOS inhibitörü olan L-NAME uygulanmasıyla kalbin kasılma yeteneğinin azaldığını ve aynı hayvanlara SNP uygulamasını takiben anılan etkinin ortadan kalktığını ifade etmektedirler.

Chesnais ve ark. (1999) izole kurbağa kalbi kası preparatlarına SNP, SNAP ve SIN-1 uyguladıkları çalışmaları sonucunda cGMP bağımlı negatif inotropik bir etki elde ettiklerini bildirmekte ve bu etkinin NO aracılı olduğunu öne sürmektedirler.

Joa ve ark. (2000), izole kobay sinoatrial düğümlerine SNP verildiğinde kalp atım sayısının doza bağımlı bir biçimde arttığını ($197,2 \pm 6,1$ 'den $221,4 \pm 9,7$ 'e), repolarizasyon süresinde bir azalma meydana geldiğini bildirilmektedirler. Ayrıca bu etkilerin, NO-cGMP' nin eşlik ettiği bir mekanizmayla, yavaş işleyen K^+ kanalları ve diyastolde yavaş içeri akımdaki bir artıştan kaynaklanabileceği yorumuna gidilmektedir.

Nitrik oksit ve katekolaminler kalp kasılımı üzerine antagonist etkilidirler. Endotelyal NOS kaynaklı NO bir β blokör gibi katekolaminlerin β -adrenerjik etkisini sınırlamaktadır (Belge ve ark., 2005). Köpeklere NOS inhibitörleri verildiğinde, kalbin sol ventrikülünde sempatik sinir sistemi tarafından oluşturulan pozitif inotropik etkinin arttığı gözlenmektedir (Takita ve ark., 1998). Nöronal NOS' un, kalbi innerve eden presinaptik nöronlardan asetilkolin salınımını kolaylaştırdığı (Herring ve Paterson, 2001; Mohan ve ark., 2002) ve sempatik sinir tellerinden katekolaminlerin salınımını azalttığı bildirilmektedir (Paton ve ark., 2002). Endotelyal NOS kaynaklı NO' nun, kalp kası hücrelerinde katekolaminlerin β -adrenerjik etkilerini azaltıcı fonksiyonuna ek olarak asetilkolinin postsinaptik gücünü kuvvetlendirici bir etkisinin de olduğu (Balligand ve ark., 1993; Massion ve ark., 2003) ve ayrıca katekolaminlerle uyarılmış kalp kası hücrelerinde asetikoline cevabı

güçlendirdiği ortaya konmuştur (Champion ve ark., 2004; Massion ve ark., 2004). Bu deneysel gözlemlere dayanarak, nNOS' un presinaptik düzeyde, eNOS' un ise postsinaptik düzeyde optimal bir sempatovagal denge oluşturmak üzere bir arada etki ettikleri yorumuna da değinmişlerdir (Belge ve ark., 2005).

Kalp kası hücrelerinde bulunan β_1 ve β_2 adrenerjik reseptörlerin katekolaminlerle uyarılması, kalbin kasılma gücü ve frekansında artışa neden olmaktadır. Gauthier ve ark. (1996), bu reseptörlere ek olarak insan kalbinde, bir üçüncü β adrenerjik reseptörün bulunduğunu (β_3 adrenerjik reseptör) ve bu reseptörün uyarılması sonucu β_1 ve β_2 adrenerjik reseptörlerin uyarılması sonucu oluşan etkiye zıt yönde bir etki oluşarak kalbin kasılma gücü ve frekansında azalma meydana geldiğini belirtmektedirler. Ayrıca β_3 adrenerjik reseptörün anılan etkilerini NOS enziminin aracılık ettiği bir mekanizmayla gerçekleştirdiğini öne sürmektedirler (Gauthier ve ark., 1998).

Feron ve ark. (1996) tarafından, nNOS' un kalp düzeyinde, kalbi innerve eden sempatik ve parasempatik sinir tellerinde ve kalp kası sarkoplazmik retikulumunda; eNOS' un endotel hücreleri ve kalp kası hücresi membranında bulunan kaveolalarda ve T-tübülü ile sarkoplazmik retikulumun bulunduğu noktada lokalize oldukları bildirilmektedir. Kaveolalar, endotel ve kalp kası hücre yüzeylerinde bulunan membran invaginasyonlarıdır. Kaveolinlerden zengin kaveola bölgeleri NOS enzimi ve diğer birçok molekül için tutunma bölgeleridir ve NOS enzimi burada kaveolin izoformlarına bağlı biçimde bulunur. Kaveolinlerin, NOS için Ca^{+2} ile yarışarak NO biyosentezini inhibe ettikleri belirtilmektedir (Michel ve ark., 1997).

İzole yenidoğan ve yetişkin kalp kası hücreleri üzerinde yapılan bir çalışma sonucunda, muskarinik kolinerjik ve β -adrenerjik uyarımın endojen NOS son ürünleriyle yönlendirildiği fikri öne sürülmektedir (Balligand ve ark., 1993).

Kalpte uyarı oluşturma yeteneğine sahip dokularda, L-tipi kalsiyum kanallarının kolinerjik inhibisyonunda NO' nun önemli bir rol oynadığı bilinmekte (Han ve ark., 1994) ve buna ek olarak NO' nun, atrioventriküler nodal hücrelerde muskarinik kolinerjik uyarım aracılığıyla L-tipi kalsiyum kanallarındaki iyon

akışının azaltılmasında rol aldığı ve bu etkinin de muhtemelen cGMP ile uyarılmış fosfodiesteraz aracılığı ile gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Han ve ark., 1996).

Nitrik oksitin, baroreseptörlerden köken alan afferent sinir tellerinin beyinde sonlandıkları yer olan *nucleus tractus solitarius*'ta sinirsel aktiviteyi artırdığı belirlenmiştir (Tagawa ve ark., 1996).

β -adrenerjik reseptörleri bloke edilmiş gelincik kalplerinde NOS inhibisyonu sonucunda vagal sinir uyarımının kalp atım sayısını azaltıcı etkisinin zayıfladığı görülmektedir (Conlon ve ark., 1996)

İzole kobay atriyumlarına nano ve mikromolar düzeylerinde NO salıcıları (SNP ve SIN-1) uygulandığında NO-cGMP hücre içi haberleşme sisteminin aktive olması ve hiperpolarizasyonla aktive olan akımın (*If*) uyarılması sonucu kalp atım sayısı artmaktadır (Musialek ve ark., 1997). Bununla beraber, NO salıcılarının norepinefrin salınımını (Schwarz ve ark., 1995) ve sempatik sinir uyarımına bağlı şekillenen kalp atım sayısındaki artışı azalttığı yönünde bildirimler mevcuttur (Choate ve Paterson, 1999).

Endojen olarak üretilmiş olan iNOS, izole kalp kası hücrelerinde cGMP'nin de görev aldığı bir mekanizmayla, β -adrenerjik uyarıma cevap olarak artan cAMP miktarını azaltmaktadır (Joe ve ark., 1998).

Kalbe ait otonom sinirleri kesilmiş ve β -adrenerjik reseptörleri bloke edilmiş anestezi altındaki tavşanlara NO salıcıları (SNP ve SIN-1) uygulandığında az miktarda ancak anlamlı bir pozitif kronotropik etki gözlenmiştir (Hogan ve ark., 1999a). Kalp içi gangliyonlarda, vagal sinirin uyarılması sırasında salınan nNOS' un (Herring ve ark., 2000) bradikardinin şiddetini artırdığı ve asetilkolin salınımını kolaylaştırdığı tespit edilmiştir (Herring ve Paterson, 2001). Ayrıca NO'nun, insanlarda vagal kontrolün etkinliğini artırdığı ifade edilmektedir (Chowdhary ve ark., 2000).

Fosfodiesteraz 3 inhibisyonu sonucunda, vagal sinir uyarımına cevap olarak şekillenen asetilkolin salınımı artmaktadır. Nitrik oksit salıcıların vagus siniriyle uyarılmış bradikardinin şiddetini değiştirebilme yetenekleri PDE2 ve protein kinaz G inhibisyonundan etkilenmemektedir, ancak protein kinaz A blokörleri ve N-tipi kalsiyum kanal blokörleri tarafından engellenmektedir (Herring ve Paterson, 2001).

Bu araştırmada, kanser tedavisinde kullanılan amigdalinin vücutta kalp-damar sistemi üzerine olası etkilerinin nitrik oksit düzeyi ve elektrokardiyogramdaki değişimlerle ilişkilendirilerek incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Hayvan Materyali

Çalışmada 3-5 aylık, 400-600 gram ağırlığında 32 erkek albino kobay kullanıldı. Hayvanlar her grupta sekizer hayvan olmak üzere, bir kontrol ve geri kalan üç grup deney grupları olacak şekilde dört gruba ayrıldı ve özel bölmelere konularak bir hafta süreyle ortama alışmaları için beklendi. Hayvanlara çalışma süresince su, pelet ve yeşil yem *ad libitum* olarak verildi. Araştırma etik kurallara uygun olarak gerçekleştirildi.

2.1.2. Deneyde Kullanılan Aygıtlar

Araştırmada, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalındaki elektrokardiyograf (Nihon-Kohden, Cardiofax ECG-6851 K) ve spektrofotometre (Shimadzu Spectrophotometer , UV-150-02 Kyoto-Japan) kullanıldı.

2.1.3. Deneyde Kullanılan İlaçlar ve Solüsyonlar

Araştırmada kullanılan amigdalın (Sigma, A6005), % 99 saflıkta ve toz haldedir. 1 g amigdalın 12 ml distile su içerisinde çözündürülerek (Budavari, 1996) stok solüsyon hazırlandı.

Vanadyum klorür (VCl_3) solüsyonu, 1 M 50 ml hidroklorik asitin (HCL, Sigma H-7020) içerisine 400 mg VCl_3 (Merck 112393) eklenerek hazırlandı

Sülfanilamid çözeltisi, 2 g sülfanilamid (Merck 111799), % 2' lik HCl ile 100 ml' ye tamamlanarak hazırlandı.

N-(1-naftil) etilenediamin (NEDD) çözeltisi distile su ve NEDD (Merck 106237) % 0,1 oranında karıştırılarak elde edildi.

2.2. Yöntem

2.2.1. İlaçların Uygulanması

Bir haftalık adaptasyon dönemi sonunda, hayvanlar ilaç uygulamasından önce 16 saat süre ile aç bırakıldı (Rauws ve ark., 1982). Bu sürenin sonunda bütün hayvanların tartımı yapıldıktan sonra, bir grup kontrol grubu olarak ayrıldı ve diğer gruplarla aynı stres şartlarına sahip olmaları için mide sondası yardımıyla ağızdan 1 ml distile su verildi. II. gruba 50 mg/kg, III. gruba 100 mg/kg, IV. gruba 200 mg/kg dozunda olacak şekilde distile su içerisinde çözündürülmüş olan amigdalın (Budavari, 1996) tek doz olacak şekilde yine sonda aracılığı ile mideye verildi.

2.2.2. Elektrokardiyogramın Yazdırılması

İlacın verilmesinin üzerinden bir saat geçtikten sonra elektrokardiyografi çekimleri yapıldı (Hill ve ark., 1980; Frakes ve ark., 1986). Bunun için hayvanlar kendilerini güvende hissedebilecekleri, doğrudan gün ışığı almayan, sessiz bir ortama alındılar. Kobaylara elektrokardiyografi çekimi sırasında, anestezi maddelerinin elektrokardiyogram üzerine etkileri olduğu bilindiği için herhangi bir anestezi madde uygulanmadı (Pişkin ve ark., 1999). Kobaylar yüzükoyun özel bir tahta üzerine yatırılarak kol ve ayakları tespit edildi ve bu pozisyonda ortama alışabilmeleri için bir süre beklendi. Derinin direncini düşürmek ve dokularla elektrotlar arasında akım geçişini kolaylaştırmak için elektrotların yerleştirileceği bölgelere jel (Ber-kim, Sonotact, Ultrasound jeli) sürüldü. Elektrot olarak, dişleri törpü ile körleştirilmiş timsah ağızlı kısaç elektrotlar kullanıldı. Elektrotlar ön bacaklarda dirsek eklemine üzerine, arka bacaklarda ise diz eklemine üst bölgesine tutturuldu. Elektrokardiyografi cihazı 50 mm/sn kağıt çıkış hızına ayarlandı (Pişkin, 1994; Akdağ, 2004).

Elde edilen elektrokardiyogramların sadece II. derivasyonlarındaki P dalgası süresi, QRS kompleksi süresi, T dalgası süresi, P-R aralığı, Q-T aralığı süreleri, P, R ve T dalgalarının amplitüdları ve kalp atım sayıları belirlendi. Ayrıca QTc değerleri Fridericia tarafından önerilen formülünden yararlanılarak hesaplandı. Bu amaçla, arkaya 10 kalp atım siklusunda oluşan Q-T ve R-R aralıkları belirlenerek

ortalamaları alındı ve ortalama Q-T aralığı değerin küp kökü, ortalama R-R aralığına bölünerek QTc değeri hesaplandı (Hamlin ve ark., 2003).

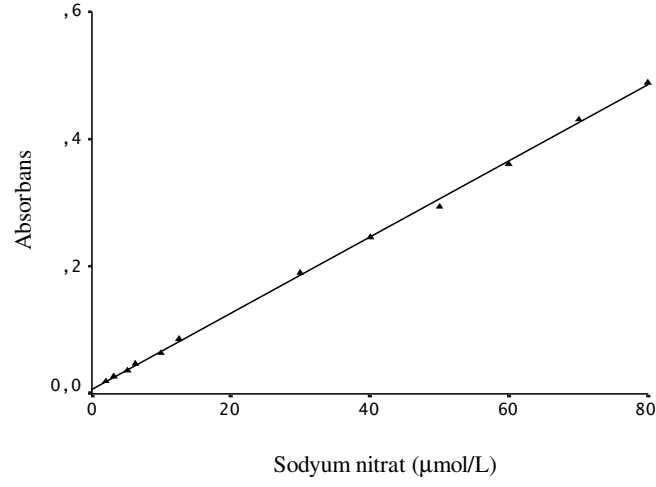
2.2.3. Serumda Nitrik Oksit Miktarının Belirlenmesi

Elektrokardiyografi çekiminden hemen sonra kan alma işlemini gerçekleştirmek amacıyla kobaylar sırt üstü sabit bir konumda olacak şekilde tutuldular. Hayvanların kalplerinden siyah uçlu enjektör ile 1 ml kan alınarak hemolize neden olmamak için yavaşça ependorf tüplerine aktarıldı. Kan örnekleri pıhtılaşana kadar beklendikten sonra santrifüj aletine konularak 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Elde edilen serumlar NO miktarının belirleneceği zamana kadar -20 °C’ de muhafaza edildi.

Kan serumlarını proteinden arındırmak amacıyla Calapai ve ark. (2000) tarafından bildirilen yöntemden yararlanıldı. Her 500 µl serum numunesine 1 ml % 10’ luk triklor asetik asit (TCA, Sigma T-9159) eklenip, beş dakikada bir karıştırılarak toplam yarım saat oda ısısında beklendi. Bu süre sonunda numuneler 15000 devirde, 15 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan kısım ayrıldı.

Serumda NO miktarının belirlenmesi amacıyla Griess reaksiyonundan yararlanıldı (Miranda ve ark., 2001). Nitritin asidik ortamda primer bir aromatik aminle (sülfanilamit) diazotizasyonu ve NEDD ile renkli bir azo türevi oluşturması olarak bilinen Griess reaksiyonu sonucu oluşan renk indeksindeki değişimler spektrofotometrik olarak belirlendi. Elde edilen veriler önceden hazırlanmış kalibrasyon eğrilerine bakılarak NO miktarı tayin edildi. Bu kapsamda, kan serumlarından hazırlanan proteinden arındırılmış 100 µl örnek üzerine, 100 µl VCl₃ çözeltisi eklendi. Bunun üzerine 50 µl sülfanilamit çözeltisinden ve 50 µl % 0.1’ lik NEDD çözeltisinden ilave edildi. Örnekler 37°C’ de 30 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra kültür plağı okuyucusuna (Titerteks-Multiskan, M.C., Finlandiya) yerleştirilerek 550 nm’ de okundu. Sonuçlar, literatürde gösterilen (Miranda ve ark., 2001) ve daha önce 0,75 - 100 µmol/l konsantrasyonlardaki sodyum nitratın (Merck 106535) absorbans değerlerine göre hazırlanan kalibrasyon eğrisi (Şekil 2.1) kullanılarak değerlendirildi.

Şekil 2. 2. Sodyum nitrat konsantrasyonlarına karşı okunan absorban değerleri ile elde edilen kalibrasyon eğrisi



Gruplar arasında fark olup olmadığının belirlenmesinde Tek Yönlü Varyans Analizi, farkın hangi gruplardan kaynaklandığını ortaya koymak için ise Duncan testi yapıldı (MS Windows için SPSS 10.0 paket programı).

3. BULGULAR

Bu çalışmada, kobaylara ağız yoluyla 50, 100, 200 mg/kg dozlarında verilen amigdalinin elektrokardiyogram ve serum nitrik oksit düzeyi üzerine etkileri incelendi.

İlaç uygulamasını takiben bir saat sonra elektrokardiyogram kayıtları alınıp ölçümler ve değerlendirmeler yapıldı. Serum NO seviyeleri de tespit edildikten sonra tüm gruplarda elektrokardiografi verileri ve serum NO düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi.

Serum NO düzeyleri I. grup olan kontrol grubunda $15,82 \pm 1,93 \mu\text{mol/l}$, II. grup olan 50 mg/kg amigdalin grubunda $21,82 \pm 1,13 \mu\text{mol/l}$, III. grup olan 100 mg/kg amigdalin grubunda $24,97 \pm 1,89 \mu\text{mol/l}$ ve IV. grup olan 200 mg/kg amigdalin grubunda $31,29 \pm 2,93 \mu\text{mol/l}$ olarak belirlendi. Serum NO miktarının kontrol grubuna göre sırasıyla II., III. ve IV. gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ($p<0,05$) arttığı görüldü. Ayrıca yine IV. gruba ait serum NO miktarının II. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu belirlendi.

Çizelge 3. 3. Kontrol (I. grup), 50 mg/kg (II. grup), 100 mg/kg (III. grup) ve 200 mg/kg (IV. grup) amigdalin gruplarında belirlenen serum nitrik oksit düzeyleri

	I. grup (n=8)	II. grup (n=8)	III. grup (n=8)	IV. grup (n=8)
	Kontrol	50 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg
	$X \pm Sx$	$X \pm Sx$	$X \pm Sx$	$X \pm Sx$
Serum nitrik oksit düzeyi ($\mu\text{mol/l}$)	$15,82 \pm 1,93^a$	$21,82 \pm 1,13^b$	$24,97 \pm 1,89^{bc}$	$31,29 \pm 2,93^c$

EKG değerleri incelendiğinde Q-T aralığı süresi ve kalp atım sayısı verileri dışında diğer değerler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

P dalgasının amplitüdü I. grupta $0,192 \pm 0,010$ mV, II. grupta $0,218 \pm 0,021$ mV, III. grupta $0,175 \pm 0,016$ mV, IV grupta $0,206 \pm 0,013$ mV olarak tespit edildi.

P dalgasının süresi I. grupta $0,030 \pm 0,001$ sn, II. grupta $0,031 \pm 0,001$ sn, III. grupta $0,028 \pm 0,001$ sn, IV. grupta $0,030 \pm 0,000$ sn olarak belirlendi.

P-R aralığının süresi I. grupta $0,073 \pm 0,002$ sn, II. grupta $0,071 \pm 0,002$ sn, III. grupta $0,068 \pm 0,002$ sn, IV. grupta $0,070 \pm 0,003$ sn olarak tespit edildi.

R dalgasının amplitüdü I. grupta $1,000 \pm 0,085$ mV, II. grupta $0,900 \pm 0,114$ mV, III. grupta $0,812 \pm 0,091$ mV, IV. grupta $0,781 \pm 0,050$ mV olarak tespit edildi.

QRS kompleksinin süresi I. grupta $0,02 \pm 0,000$ sn, II. grupta $0,02 \pm 0,000$ sn, III. grupta $0,02 \pm 0,000$ sn, IV. grupta $0,02 \pm 0,000$ sn olarak belirlendi.

T dalgasının amplitüdü I. grupta $0,187 \pm 0,027$ mV, II. grupta $0,150 \pm 0,032$ mV, III. grupta $0,112 \pm 0,012$ mV, IV. grupta $0,162 \pm 0,024$ mV olarak ölçüldü.

T dalgasının süresi I. grupta $0,042 \pm 0,007$ sn, II. grupta $0,036 \pm 0,006$ sn, III. grupta $0,032 \pm 0,001$ sn, IV. grupta $0,036 \pm 0,005$ sn olarak belirlendi.

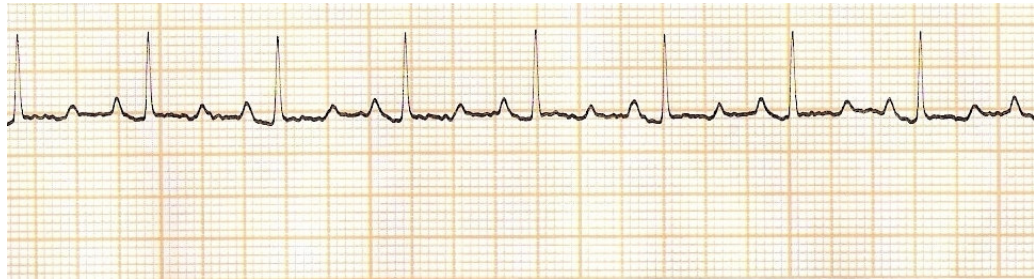
Q-T aralığı süresi; kontrol grubunda $0,156 \pm 0,009$ sn ve 50 mg/kg amigdalin verilen grupta $0,147 \pm 0,004$ sn olarak belirlenirken, 100 mg/kg ($0,126 \pm 0,006$ sn) ve 200 mg/kg ($0,120 \pm 0,001$ sn) amigdalin verilen gruplarda istatistiksel açıdan anlamlı bir biçimde kısalldığı ($p < 0,05$) görüldü.

Kalp atım sayısı kontrol grubunda 205 ± 12 adet/dk ve 50 mg/kg amigdalin verilen hayvanlarda 208 ± 12 adet/dk olarak kaydedilirken, 100 mg/kg ve 200 mg/kg amigdalin verilen hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde ($p < 0,05$) sırasıyla 246 ± 11 adet/dk ve 253 ± 12 adet/dk' ya kadar yükselme belirlendi.

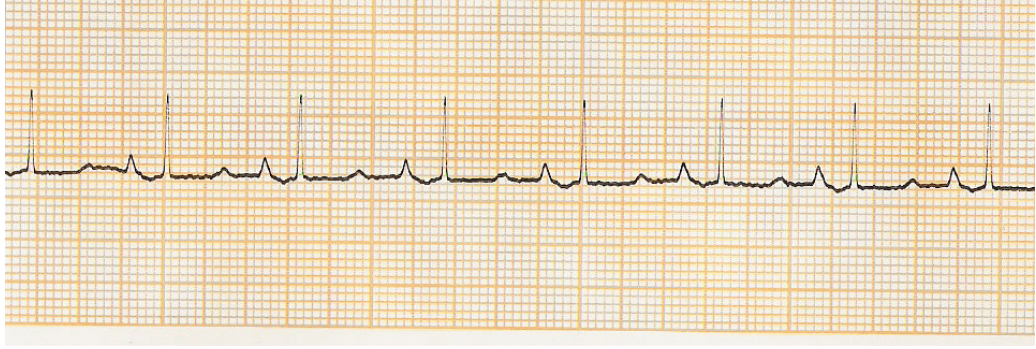
100 mg/kg ve 200 mg/kg dozunda amigdalin verilen hayvanların Q-T aralığı sürelerindeki kısalmanın, anılan gruplardaki dakika kalp atım sayısındaki artışa bağlı olup olmadığını belirleyebilmek amacıyla Fridericia düzeltme formülü kullanılarak tüm gruplarda QTc değerleri hesaplandı, ancak gruplar arasında QTc değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. QTc değeri I. grupta $0,527 \pm 0,038$, II. grupta $0,560 \pm 0,025$, III. grupta $0,490 \pm 0,020$, IV. grupta $0,488 \pm 0,015$ olarak hesaplandı.

Çizelge 3. 4. Kontrol grubu (I. grup) ile amigdalin verilerek oluşturulan II, III ve IV. gruplara (50, 100, 200 mg/kg) ait EKG değerleri.

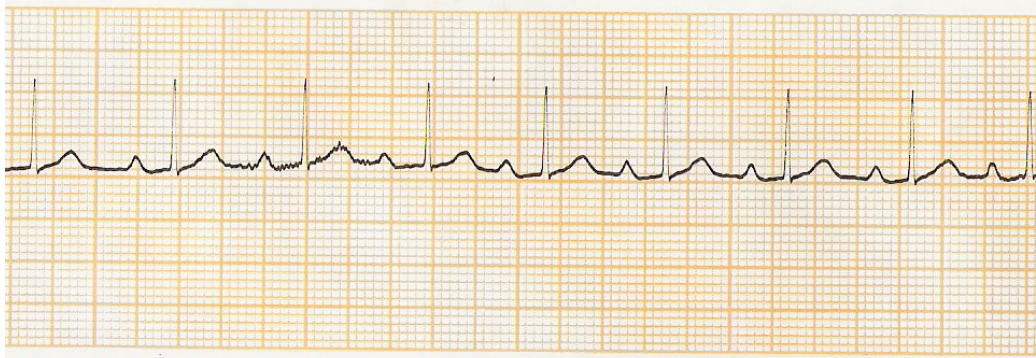
	I. grup (n=8)	II. grup (n=8)	III. grup (n=8)	IV. grup (n=8)
	Kontrol X ± Sx	50 mg/kg X ± Sx	100 mg/kg X ± Sx	200 mg/kg X ± Sx
P dalgası amplitüdü (mV)	0,192 ± 0,010	0,218 ± 0,021	0,175 ± 0,016	0,206 ± 0,013
P dalgası süresi (sn)	0,030 ± 0,001	0,031 ± 0,001	0,028 ± 0,001	0,030 ± 0,000
P-R aralığı süresi (sn)	0,073 ± 0,002	0,071 ± 0,002	0,068 ± 0,002	0,070 ± 0,003
R dalgası amplitüdü (mV)	1,000 ± 0,085	0,900 ± 0,114	0,812 ± 0,091	0,781 ± 0,050
QRS kompleksi süresi (sn)	0,02 ± 0,000	0,02 ± 0,000	0,02 ± 0,000	0,02 ± 0,000
Q-T aralığı süresi (sn)	0,156 ± 0,009 ^a	0,147 ± 0,004 ^a	0,126 ± 0,006 ^b	0,120 ± 0,001 ^b
QTc değeri	0,527 ± 0,038	0,560 ± 0,025	0,490 ± 0,020	0,488 ± 0,015
T dalgası amplitüdü (mV)	0,187 ± 0,027	0,150 ± 0,032	0,112 ± 0,012	0,162 ± 0,024
T dalgası süresi (sn)	0,042 ± 0,007	0,036 ± 0,006	0,032 ± 0,001	0,036 ± 0,005
Dakika kalp atım sayısı	205 ± 12 ^a	208 ± 12 ^a	246 ± 11 ^b	253 ± 12 ^b



Şekil 3. 6. Kontrol grubu kobaylarda elektrokardiyogram (50 mm/sn, 1mV=10mm)



Şekil 3. 7. 50 mg/kg amigdalin grubuna (II. grup) ait elektrokardiyogram (50 mm/sn, 1mV=10 mm)



Şekil 3. 8. 100 mg/kg amigdalin grubuna (III. Grup) ait elektrokardiyogram (50 mm/sn, 1mV=10 mm)



Şekil 3. 9. 200 mg/kg amigdalin grubuna (IV. grup) ait elektrokardiyogram (50 mm/sn, 1mV=10 mm)

Üçüncü deney grubu olan 200 mg/kg amigdalin grubunda % 25 oranında P dalgasından sonra QRS kompleksinin oluşmaması ile karakterize II° AV (Atriyovenriküler) blok tespit edildi (Şekil 3.5). Yine aynı grupta % 25 oranında S-T segmentinde yükselme görüldü (Şekil 3.6 ve Şekil 3.7). Ayrıca % 12,5 oranında, istatistiksel olarak bir farklılık saptanmamasına karşın, T dalgası amplitüdünde artış,

T dalgasının QRS kompleksinin içersine kaynadığı bir S-T segmenti kısalması ve QRS kompleksinden daha fazla sayıda P dalgası oluşumu ve P dalgaları ile QRS komplekslerinin birbirlerinden bağımsız olarak şekillenmeleri ile karakterize III° AV blok tespit edildi (Şekil 3.7).



Şekil 3. 10. 200 mg/kg amigdalin grubunda (IV. grup) II° AV blok (50 mm/sn, 1mV=10 mm)



Şekil 3. 6. 200 mg/kg amigdalin grubunda (IV. grup) S-T segmentinde yükselme (50 mm/sn, 1mV=10 mm)



Şekil 3. 7. 200 mg/kg amigdalin grubunda (IV. grup) T dalgası amplitüdünde artış, S-T segmentinde kısalma ve III° AV blok (50 mm/sn, 1mV=10 mm)

4. TARTIŞMA

Kanser tedavisinde kullanılan amigdalinin kan nitrik oksit seviyesi ve elektrokardiyogram üzerine etkilerini araştırmak üzere kobaylara ağız yolu ile amigdalın verilerek anılan parametrelerdeki değişimler incelenmiştir.

Elektrofizyolojik ve kardiyovasküler parametrelerin incelendiği deneysel modeller için çok uygun deney hayvanları olarak kabul edildikleri (Hamlin ve ark., 2003; Hauser ve ark., 2005), bakımları kolay ve ucuz olduğundan dolayı çalışmada kobayların kullanılması tercih edilmiştir.

Amigdalın hayvansal dokularda, gastrointestinal sistemdeki kadar etkin bir hidrolize uğratılamadığından (Adewusi ve Oke, 1985a) parenteral uygulamalarda daha etkin sonuç alabilmek için çok daha yüksek dozlarda kullanılması gerekmektedir (Rauws ve ark., 1982). Bu nedenle, ilacın ağız yoluyla uygulanması tercih edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında amigdalinin kobaylardaki oral dozu ile ilgili bir bilgiye ulaşamadığından uygulanacak doz belirlenirken diğer kemirgenlerde önerilen dozlardan yola çıkılarak doz tespiti yapılmıştır. Hamsterlerde amigdalinin oral deney dozunun 250 mg/kg (Willhite, 1982) ve 0,44 mmol/kg (hesap: 200 mg/kg) (Frakes ve ark., 1986) olduğu bildirilirken, ratlarda ilaç oral yol ile uygulandığında LD50 dozunun 395 mg/kg ve farelerde 450 mg/kg olduğu ifade edilmektedir (Pulido ve Rio, 1980). Bu verilerden yola çıkarak kobaylara ağız yolu ile, tek sefer 50 mg/kg, 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında amigdalın verilmesi uygun görülmüştür.

Elektrokardiyografi çekimi ve kan örneklerinin alınacağı zaman olarak, oral amigdalın uygulamasını takiben amigdalinin enzimatik parçalanması sonucu açığa çıkan HCN' nin kanda en yüksek düzeye ulaştığı zaman aralığı tercih edildi. Frakes ve ark. (1986), oral amigdalın uygulamasını takiben bir saat içinde kan HCN konsantrasyonunun en yüksek değerine ulaştığını ve uygulamadan üç saat sonrasına kadar yüksek seviyede kaldığını bildirirken, farelere oral amigdalın uygulayan Hill ve ark. (1980), kandaki HCN konsantrasyonunun uygulamayı takiben 1,5 - 2 saat içerisinde en yüksek değere ulaştığını ifade etmektedirler. Bu verilere dayanarak ağız yolu ile amigdalın uygulamasını takiben birinci saat sonunda elektrokardiyografi

çekimleri yapıldı ve hemen ardından serum NO miktarının tespiti için kan örnekleri alındı.

Elektrokardiyogram incelenirken, Q-T aralığının kalp atım sayısındaki değişikliklerden bağımsız olarak değerlendirilmesini mümkün kılan QTc değerinin hesaplanmasında iki ayrı formül bildirilmektedir (Hamlin ve ark., 2003). Literatürlerde anestezi altındaki kobyaylara ait değerlerin hesaplanmasında Bazett veya Fridericia formüllerinin kullanılması önerilirken (Hayes ve ark., 1994; Hauser ve ark., 2005), anesteziye alınmamış kobyaylarda Fridericia tarafından önerilen formülün daha doğru sonuçlar verdiği bildirilmektedir. Bu nedenle çalışma sonunda QTc hesaplaması yapılırken Fridericia formülü kullanılmış ve arka arkaya 10 kalp atım siklusunda oluşan Q-T ve R-R aralıkları belirlenerek ve ortalamaları alınarak hesaplamalar yapılmıştır (Hamlin ve ark., 2003).

Bu araştırmada, kobyaylara 50 mg/kg, 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında ağız yolu ile amigdalin uygulamasını takiben bir saat sonra alınan kan örneklerinde, serum NO miktarında doz artışına paralel bir artış gözlenmiştir. Amigdalin uygulanan tüm gruplarda belirlenen serum NO düzeyi kontrol grubuna göre ve 200 mg/kg amigdalin uygulanan grupta belirlenen değer en düşük doz grubuna (50 mg/kg) göre istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde fazla bulunmuştur. Yapılan taramalarda amigdalin uygulamasını takiben serum NO miktarında nasıl bir değişim meydana geldiğine dair literatür verisine rastlanmamıştır. Bu çalışmada amigdalin uygulamasını takiben gruplarda doz artışına paralel olarak serum NO düzeyinde bir artışın gözlenmesi amigdalinin kanda NO miktarını artırma eğiliminde olan bir farmakolojik ajan olduğunu göstermektedir. Diğer yandan amigdalin preparatı (*Laetrile*) kullanan hastalarda yan etki olarak hipotansiyon meydana geldiğine dair bildirimler de mevcuttur (Navarro, 1959; Leor ve ark., 1986). Septik şokta (Calver ve ark., 1993; Marin ve Rodriguez-Martinez, 1997) ve organik nitratların kullanıldığı durumlarda kan NO düzeyinin artmasıyla beraber NO' nun damar düz kas hücreleri üzerine olan gevşetici etkisi sonucu kan basıncında azalma şekillendiği bildirilmektedir (Cederqvist ve ark., 1994). Bu bildirimler ve çalışmada elde edilen sonuç bir arada ele alındığında amigdalinin kan basıncını düşürücü etkisini, kan NO miktarını artırarak şekillendirdiği söylenebilir. Her ne kadar amigdalinin Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından kullanımı onaylanmamış olsa da farklı

formlarda satışı yapılmakta olup (Metabolic products, 2006) kan basıncını düşürücü etkisinden dolayı internet sitelerinde, hipertansiyon tedavisinde alternatif bir tedavi seçeneği olarak sunulmaktadır (Chem-online, 2006; Healing Daily, 2006; Sallamender Concepts, 2006).

Elektrokardiyogramın II. derivasyonunda saptanan değerler karşılaştırıldığında P dalgasının amplitüdü, P dalgasının süresi, QRS dalgasının süresi, R dalgasının amplitüdü, T dalgasının süresi, P-R aralığının süresi, T dalgasının amplitüdü ve QTc değeri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Q-T aralığı süresi ve kalp atım sayısı incelendiğinde kalp atım sayısının 100 mg/kg ve 200 mg/kg amigdalin uygulanan gruplarda, kontrol ve 50 mg/kg amigdalin uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ve bu farka paralel olarak Q-T aralığı süresinin 100 mg/kg ve 200 mg/kg amigdalin uygulanan gruplarda, kontrol ve 50 mg/kg amigdalin uygulanan gruplara göre yine istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde daha kısa olduğu tespit edilmiştir. Hogan ve ark. (1999a), *in vivo* olarak NO salıcı maddeler uygulandığında kanda NO miktarının yükselmesi sonucu damarlarda genişleme şekillendiğini, böylece kan basıncının düştüğünü, bu basınç azalmasının baroreseptörler tarafından algılanmasıyla beraber refleks mekanizmaların aktive olması sonucu kalp atım sayısının arttığını ifade etmektedirler. Bu çalışmada da serum NO miktarının artışı ile beraber kalp atım sayısında artış şekillenmesi bulgusunun literatürde söz edilen mekanizmayla açıklanabileceği düşünülmektedir. Öte yandan bizim çalışmamızda en yüksek doz gruplarında serum NO konsantrasyonundaki artışa paralel şekillenen pozitif kronotropik etki bulgusu, izole kalp preparatlarına NO salıcıları ve NO' nun ön maddesi L-arjinin uygulanması sonucu pozitif kronotropik etki gözlemlendiğini yine NOS inhibitörleri uygulandığında ise negatif kronotropik etki meydana geldiğini bildiren literatür verileriyle (Kojda ve ark., 1997; Musialek ve ark., 1997; Müller-Strahl, 2000) uyum içersindedir.

Literatürlerde, siyanid zehirlenmelerinde sitokrom oksidazın siyanid tarafından bağlanmasıyla hipoksik EKG değişimleri olarak tanımlanan S-T segmenti değişimleri, S-T segmenti yükselmesi, T dalgasında büyüme, T dalgasının QRS kompleksinin içersine kaydacağı bir S-T segmenti kısalması, AV blok ve AV iletim değişimleri olduğu bildirilmektedir (Ivankovich, 1980; Haddad ve Winchester,

1983; Salkowski ve Penney, 1994; Chin ve Calderon, 2000, Sanchez ve ark., 2001). Nitekim çalışmada da en yüksek doz uygulanan grupta az sayıda hayvanda; P dalgalarından sonra QRS komplekslerinin oluşmamasıyla karakterize II° AV blok ve QRS kompleksinden daha fazla sayıda P dalgası oluşumu ve P dalgaları ile QRS komplekslerinin birbirlerinden bağımsız olarak şekillenmeleri ile karakterize III° AV blok (Edwards, 1987), T dalgası amplitüdlerinde artış, S-T segmentinde yükselme ve S-T segmenti kısılmasıyla beraber T dalgasının QRS kompleksi içerisine kaynaması gibi bulguların gözlenmesi bu gruptaki hayvanlarda hipoksik bir durumun oluştuğunu düşündürmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kobaylarda amigdalinin 50, 100, 200 mg/kg dozlarında ağız yoluyla uygulanması sonrasında serum NO düzeyinde yükselme, 100 ve 200 mg/kg dozunda ilaç uygulanan gruplarda kalp atım sayısında artış ve Q-T aralığında kısalma tespit edilmiştir. Özellikle 200 mg/kg'lık doz uygulaması sonrasında kalp-damar sistemi üzerine doğrudan etkisi olduğu, gerek kan NO düzeyindeki artış, gerekse S-T segmenti yükselmesi, T dalgasında büyüme ile birlikte II° ve III° AV blok bulgularıyla tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, kanser tedavisinde yaygın kullanım alanı bulan bu ilacın, kalp-damar sistemi üzerine güçlü yan etkilerinin göz ardı edilmemesi gerektiği düşünülmektedir.

ÖZET

Kobaylarda Amigdalinin Elektrokardiyogram ve Kan Oksit Düzeyine Etkisi

Bu araştırmada amigdalinin kobaylarda elektrokardiyogram ve kan nitrik oksit (NO) düzeyleri üzerine etkileri incelendi.

Çalışmada 3-5 aylık, 400-600 gram ağırlığında 32 erkek, albino kobay kullanıldı.

Hayvanlar bir kontrol ve geri kalan üç grup deney grupları olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Tüm hayvanların tartımı yapıldıktan sonra kontrol grubuna mide sondası yardımıyla ağızdan 1 ml distile su verildi. II. gruba 50 mg/kg, III. gruba 100 mg/kg, IV. gruba 200 mg/kg dozunda, distile su içerisinde çözündürülmüş olan amigdalin, tek doz olacak şekilde yine sonda aracılığı ile mideye verildi. İlacın verilmesinin üzerinden bir saat geçtikten sonra elektrokardiyografi çekimleri yapıldı ve hemen arkasından serum NO miktarını belirlemek amacıyla kanları alındı. Nitrik oksit konsantrasyonları spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlendi.

Serum NO düzeyleri, kontrol grubunda $15,82 \pm 1,93$ $\mu\text{mol/l}$, II. grup olan 50 mg/kg amigdalin grubunda $21,82 \pm 1,13$ $\mu\text{mol/l}$, III. grup olan 100 mg/kg amigdalin grubunda $24,97 \pm 1,89$ $\mu\text{mol/l}$ ve IV. grup olan 200 mg/kg amigdalin grubunda $31,29 \pm 2,93$ $\mu\text{mol/l}$ olarak belirlendi. Serum NO miktarının kontrol grubuna göre sırasıyla II., III. ve IV. gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0,05$) görüldü. Ayrıca yine IV. gruba ait serum NO miktarının II. gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde ($p<0,05$) yüksek olduğu belirlendi.

Elektrokardiyogramlar incelendiğinde, P dalgası süresi ve amplitüdü, QRS kompleksi süresi, R dalgası amplitüdü, T dalgası süresi ve amplitüdü, ve P-R aralığı süresi açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık saptanmadı. Q-T aralığı süresinin 100 mg/kg ($0,126 \pm 0,006$ sn) ve 200 mg/kg ($0,120 \pm 0,001$ sn) amigdalin uygulanan gruplarda, kontrol grubu ($0,156 \pm 0,009$ sn) ve 50 mg/kg amigdalin ($0,147 \pm 0,004$ sn) uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde azaldığı ($p<0,05$) görüldü. Kalp atım sayısı kontrol grubunda 205 ± 12 adet/dk ve 50 mg/kg amigdalin verilen hayvanlarda 208 ± 12 adet/dk olarak kaydedilirken, 100 mg/kg ve 200 mg/kg amigdalin verilen hayvanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde ($p<0,05$) sırasıyla 246 ± 11 adet/dk ve 253 ± 12 adet/dk'ya kadar yükseldi.

Öte yandan, 200 mg/kg amigdalin grubunda % 25 oranında II° AV blok, % 25 oranında S-T segmentinde yükselme, istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmemesine rağmen % 12,5 oranında T dalgası amplitüdlerinde artış, % 12,5 oranında T dalgasının QRS kompleksi içerisine kaynadığı bir S-T segmenti kısalması ve III° AV blok tespit edildi.

Sonuç olarak, amigdalin uygulamasından sonra kan NO seviyesinin ve kalp atım sayısının artması, Q-T aralığının kısalması ve elektrokardiyogramda değişimlerin gözlenmesi ilacın kardiyovasküler problemlere yol açabileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Amigdalin, elektrokardiyogram , nitrik oksit, kobay

SUMMARY

The Effect of Amygdalin on Electrocardiogram and Blood Nitric Oxide Levels in Guinea Pigs

In this study the effects of amygdalin on electrocardiogram and blood nitric oxide (NO) levels in guinea pigs were investigated.

The study subjects were 32 male, albino guinea-pigs aging between 3 and 5 months and weighing between 400 and 600 grams.

Animals were randomly assigned to one control and three experiment groups. Guinea pigs were weighted at the beginning of the experiment. One milliliter distilled water was given via oral route, using gastric catheter to the control group. One doses of 50 mg/kg, 100 mg/kg and 200 mg/kg amygdalin dissolved in distilled water were given to the second, third and fourth groups using gastric cathater. One hour after the drug administration, electrocardiography measurements were recorded and simultaneously the blood samples were collected in order to determine the serum NO levels. The serum NO levels were determined using spectrophotometric method.

The observed serum NO levels were $15,82 \pm 1,93 \mu\text{mol/l}$ in the control group, $21,82 \pm 1,13 \mu\text{mol/l}$ in the second group (50 mg/kg amygdalin), $24,97 \pm 1,89 \mu\text{mol/l}$ in the third group (100 mg/kg), and $31,29 \pm 2,93 \mu\text{mol/l}$ in the fourth group (200 mg/kg). As the group numbers increases, the observed serum NO levels were also increased. When the serum NO levels of the second, third, and fourth groups were compared to the serum NO level of the control group, each of the differences was found statistically significant ($p < 0,05$). Moreover, the serum NO level of the fourth group was statistically significantly different from the second group ($p < 0,05$).

After examining the electrocardiograms, no statistically significant difference was observed among the groups in regards to the P wave duration and amplitude, the QRS duration, the R wave amplitude, the T wave duration and amplitude, and the P-R interval duration. A statistically significant decrease was observed in the Q-T interval durations of 100 mg/kg ($0,126 \pm 0,006 \text{ sn}$) and 200 mg/kg ($0,120 \pm 0,001 \text{ sn}$) amygdalin administred groups as they were compared to the control ($0,156 \pm 0,009 \text{ sn}$) and to the 50 mg/kg ($0,147 \pm 0,004 \text{ sn}$) amygdalin administred groups. The heart rates were $205 \pm 12 \text{ bpm}$ in the control group and $208 \pm 12 \text{ bpm}$ in the 50 mg/kg amygdalin administred group. The heart rate increased statistically significantly in 100 mg/kg ($246 \pm 11 \text{ bpm}$) and 200 mg/kg ($253 \pm 12 \text{ bpm}$) amygdalin administred groups when they were compared to the control and to the second groups.

In the 200 mg/kg amygdalin administred group, we observed II° AV block at the rate of 25 %, S-T segment elevation at the rate of 25 %, an increase in T wave amplitudes at the rate of 12,5 %, though those observations were not found statistically significantly different, shortened S-T segment with fusion of the T wave into QRS complex and III° AV block at the rate of 12,5 % .

In conclusion, the increases in blood NO levels and heart rate, a decrease in Q-T interval duration, and changes in electrocardiogram, all of which occur after the admigdaline administration, reveal that the drug can cause cardiovascular problems.

Key Words: Amygdalin, electrocardiogram, nitric oxide, guinea-pig

KAYNAKLAR

- ADEWUSI, S.R., OKE, O.L. (1985a). On the metabolism of amygdalin. 1. The LD₅₀ and biochemical changes in rats. *Can. J. Pharmacol.* **63**: 1080-83
- ADEWUSI, S.R., OKE, O.L. (1985b). On the metabolism of amygdalin. 2. The distribution of beta-glucosidase activity and orally administered amygdalin in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **63(9)**: 1084-7
- AKDAĞ, E. (2004). Salmon kalsitonin ve verapamilin elektrokardiyogram üzerine etkileri. Doktora tezi, Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- ANDREWS, K.L., TRIGGLE, C.R., ELLIS, A. (2002). NO and the vasculature: Where does it come from and what does it do?. *Heart Failure Reviews*, **7**: 423-445
- ARMSTRONG, R. (2001). The physiological role and pharmacological potential of nitric oxide in neutrophil activation. *International Immunopharmacology*, **1**: 1501-1512
- BALLIGAND, J.L., KELLY, R.A., MARSDEN, P., SMITH, T.M., MICHEL, T. (1993). Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**: 347-351
- BARANANO, D.E., FERRIS, C.D., SNYDER, S.H. (2001). Atypical neural messengers. *Trends in Neurosciences*, **2**: 99-106
- BASKIN, S.I., HOROWITZ, A.M, NEALLEY, E.W. (1992). The antidotal action of sodium nitrite and sodium thiosulfate against cyanide poisoning. *J. Clin. Pharmacol.*, **32**: 368-375
- BASKIN, S.I., NEALLEY, E.W., LEMPKA, J.C. (1996). The effects of EDRF/NO releasers or calcium ionophore A23187 on cyanide toxicity in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **139**: 349-355
- BASU, T.K. (1983). High-dose ascorbic acid decreases detoxification of cyanide derived from amygdalin (laetrile): studies in guinea pigs. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **61**: 1426-1430
- BEAMER, W.C., SHEALY, R.M., PROUGH, D.S. (1983). Acute cyanide poisoning from laetrile ingestion. *Annals of Emergency Medicine*, **12(7)**: 449-451
- BELGE, C., MASSION, P.B., PELAT, M., BALLIGAND, J.L. (2005). Nitric oxide and the heart. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1047**: 173-182
- BENJAMIN, N., DATTON, J.A.E., RIITER, J.M. (1991). Human vascular smooth muscle cells inhibit platelet aggregation when incubated with glyceryl trinitrate: evidence for generation of nitric oxide. *Br. J. Pharmacol.*, **102**: 847-850
- BÖGER, R.H., BODE-BÖGER, S.M., FRÖLICH, J.C. (1996). The L-arginine nitric oxide pathway: role in atherosclerosis and therapeutic implications. *Atherosclerosis*, **127**: 1-11
- BUDAVARI, S. (1996). The Merck Index. 12th Edition. Whitehouse Station, NJ.: Merck & CO., INC., p.: 639
- CALAPAI, G., MARCIANO, M.C., CORICA, F., ALLEGRA, A., PARISI, A., FRISINA, N., CAPUTI, A.P., BUEMI, M. (2000). Erythropoietin protects against brain ischemic injury by inhibition of nitric oxide formation. *Eur. J. Pharmacol.*, **401(3)**: 349-356
- CALVER, A., COLLIER, J., VALLANCE, P. (1993). Nitric oxide and cardiovascular control. *Experimental Physiology*, **703**: 303-326

- CANNON, R.O. (1998). Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on endothelium. *Clinical Chemistry*, **44(8B)**: 1809-1819
- CARTER, J.H., MCLAFFERTY, M.A., GOLDMAN, P. (1980). Role of the gastrointestinal microflora in amygdalin (laetrile) - induced cyanide toxicity. *Biochemical Pharmacology*, **29**: 301-304
- CASADEI, B., SEARS, C.E. (2003) Nitric-oxide-mediated regulation of cardiac contractility and stretch responses. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, **82**: 67-80
- CEDERQVIST, B., PERSSON, M.G., GUSTAFSSON, L.E. (1994). Direct demonstration of NO formation in vivo from organic nitrites and nitrates, and correlation to effects on blood pressure and to in vitro effects. *Biochem Pharmacol.*, **47(6)**:1047-53
- CHAMPION, H.C., GEORGAKOPOULOS, D., TAKIMOTO, E. ISODA, T, WANG, Y., KASS, D.A. (2004). Modulation of in vivo cardiac function by myocyte-specific nitric oxide synthase-3. *Cir. Res.*, **94**: 657-663
- CHEM-ONLINE (2006). Generic Pharmaceuticals. Erişim: [<http://www.chem-online.org/generic-pharmaceutical.htm>]. Erişim tarihi: 08.09.2006
- CHESNAIS, J.M., FISCHMEISTER, R., MERY, P.F. (1999). Positive and negative inotropic effects of NO donors in atrial and ventricular fibres of the frog heart. *J. Physiol.*, **518**: 449-461
- CHIN, R.G., CALDERON, Y. (2000). Acute cyanide poisoning: A case report. *J. Emer. Med.*, **18(4)**: 441-445
- CHITNIS, M.P., ADWANKAR, M.K., AMONKAR, A.J. (1985). Studies on high-dose chemotherapy of amygdalin in murine P388 lymphocytic leukaemia and P815 mast cell leukaemia. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **109(3)**: 208-9
- CHOATE, J. K., PATERSON, D.J. (1999). Nitric oxide inhibits the positive chronotropic and inotropic responses to sympathetic nerve stimulation in the isolated guinea-pig atria. *J. Auton. Nerv. Syst.*, **75**: 101-108
- CHOWDHARY, S., TOWNEND, J. (1999) Role of nitric oxide in the regulation of cardiovascular autonomic control. *Clin. Sci.*, **97**: 5-17
- CHOWDHARY, S., HARRINGTON, D., BONSER, R.S., COOTE, J.H., TOWNEND, J.N. (2002). Chronotropic effects of nitric oxide in the denervated human heart. *Journal of Physiology*, **541(2)**: 645-651
- CHOWDHARY, S., VAILE, J.C., FLETCHER, J., ROSS, H.F., COOTE, J.H., TOWNEND, J.N. (2000). Nitric Oxide and Cardiac Autonomic Control in Humans. *Hypertension*, **36**: 264-269
- CONLON, K., COLLINS, T., KIDD, C. (1996). Modulation of vagal actions on heart rate produced by inhibition of nitric oxide synthase in the anaesthetized ferret. *Exp. Physiol.* **81**: 547-550
- CUCINELL, S.A., GROFF, W.A., VICK, J.A., WEGER, N. (1974). Treatment of cyanide poisoning. *Fed. Proc.*, **33**: 234
- DANSON, E.J., CHOATE, J.K., PATERSON, D.J. (2005). Cardiac nitric oxide: Emerging role for nNOS in regulating physiological function. *Pharmacology & Therapeutics*, **106**: 57-74
- DEJAM, A., HUNTER, C., SCHECHTER, A.N., GLADWIN, M.T. (2004). Emerging role of nitrite in human biology. *Blood cells, Molecules, and Diseases*, **32**: 423-429

- DORR, R.T., PAXINOS, J. (1978). The current status of laetrile. *Annals of Internal Medicine*, **89**: 389-397
- EDWARDS, N.J. (1987). Bolton's Handbook of Canine and Feline Electrocardiography. W.B. Saunders Company, p.: 107-114
- FAINT, R.W. (1992). Platelet-neutrophil interactions: their significance. *Blood Rev.*, **6(2)**: 83-91
- FERON, O, BELHASSEN, L, KOBZIK, SMITH, T.W., KELLY, R.A., MICHEL, T. (1996). Endothelial nitric oxide synthase targeting to caveolae. Specific interactions with caveolin isoforms in cardiac myocytes and endothelial cells. *J. Biol. Chem.*, **271**: 22810-22814
- FRAKES R.A., SHARMA, R.P., WILLHITE, C.C. (1986). Comparative metabolism of linamarin and amygdalin in hamsters. *Food Chem. Toxicol.*, **24(5)**: 417-420
- FREESE, A., BRADY, R.O., GALL, A.E. (1980). A β -glucosidase in feline kidney that hydrolyzes amygdalin (laetrile). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **201(2)**: 363-368
- FUKUDA, T., ITO, H., MUKAINAKA, T., TOKUDA, H., NISHINO, H., YOSHIDA, T. (2003). Anti-tumor Promoting Effect of Glycosides from *Prunus persica* seeds. *Biol. Pharm. Bull.*, **26(2)**: 271-273
- GAUTHIER, C., LEBLAIS, V., KOBZIK, L., TROCHU, J.N., KHANDOUDI, N., BRIL, A., BALLIGAND, J.L., MAREC, H.L. (1998). The negative inotropic effect of β_3 -adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *J. Clin. Invest.*, **102(7)**: 1377-1384
- GAUTHIER, C., TAVERNIER, G., CHARPENTIER, F., LANGIN, D., MAREC, H.L. (1996). Functional β_3 -adrenoceptor in the human heart. *J. Clin. Invest.* **98**:556-562
- GEWALTIG, M.T., KOJDA, G. (2002). Vasoprotection by nitric oxide: mechanisms and therapeutic potential. *Cardiovasc Reserch*, **55**: 250-260
- GHAFOURIFAR, P., CADENAS, E. (2005). Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends in Pharmacological Sciences*, **26(4)**: 190-195
- GHAFOURIFAR, P., RICHTER, C. (1997). NO synthase activity in mitochondria. *FEBS Lett.*, **418**: 291-296
- HADDAD, L.M., WINCHESTER, J.F. (1983). Clinical management of poisoning and drug overdose. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co., pp.: 745
- HAISMAN, D.R., KNIGHT, D.J. (1967). The enzymic hydrolysis of amygdalin. *Biochem. J.*, **103**: 528-34
- HALL, A.H., LINDEN, C.H., KULIG, K.W., RUMACK, B.H. (1986). Cyanide poisoning from laetrile ingestion: role of nitrite therapy. *Pediatrics*, **78(2)**: 269-272
- HAMLIN, R.L., KIJTAWORNAT, A., KEENE, B.W., HAMLIN, D.M. (2003). QT and RR intervals in conscious and anesthetized guinea pigs with highly varying RR intervals and given QTc-lengthening test articles. *Toxicological Sciences*, **76**: 437-442
- HAN, X., KOBZIK, L., BALLIGAND, J.L., KELLY, R.A., SMITH, T.W. (1996). Nitric oxide synthase (NOS3)-mediated cholinergic modulation of Ca^{2+} current in adult rabbit atrioventricular nodal cells. *Circ. Res.*, **78(6)**: 998-1008
- HAN, X., Y. SHIMONI, AND W. R. GILES. (1994). An obligatory role for nitric oxide in autonomic control of mammalian heart rate. *J. Physiol. Lond.*, **476**: 309-314

- HATHAWAY, D.R., KONICKI, M.V., COOLICAN, S.A. (1985). Phosphorylation of myosin light chain kinase from vascular smooth muscle by cAMP and cGMP dependent protein kinases. *J. Moll. Cell Cardiol.*, **17**: 841-850
- HAUSER, D.S., STADE, M., SCHMIDT, A., HANAUER, G. (2005). Cardiovascular parameters in anaesthetized guinea pigs: A safety pharmacology screening model. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, **52**: 106-114
- HAYES, E., PUGSLEY, M.K., PENZ, W.P., ADAIKAN, G. AND WALKER, M.J. (1994). Relationship between QaT and RR intervals in rats, guinea pigs, rabbits, and primates. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **32**: 201-7
- HAYS, W.S., WHEELER, D.E., EGHTEHAD, B., GLEW, R.H., JOHNSTON, D.E. (1998). Expression of cytosolic β -glucosidase in guinea pig liver cells. *Hepatology*, **28**: 156-163
- HEALING DAILY (2006). Vitamin B-17 - Laetrile - Anti-Cancer Properties?. Erişim: [<http://www.healingdaily.com/detoxification-diet/vitamin-b-17-laetrile.htm>]. Erişim tarihi: 08.09.2006
- HERRING, N., GOLDING, S., PATERSON, D.J. (2000). Pre-synaptic NO-cGMP pathway modulates vagal control of heart rate in isolated adult guinea pig atria. *J Mol Cell Cardiol.*, **32**: 1795–1804
- HERRING, N., PATERSON, D.J. (2001). Nitric oxide cGMP pathway facilitates acetylcholine release and bradycardia during vagal nerve stimulation in the guinea-pig in vitro. *J. Physiol.*, **535**: 507-518
- HILL, G.J., SHINE, T.E., HILL, H.Z., MILLER, C. (1976). Failure of amygdalin to arrest B16 melanoma and BW5147 AKR leukemia. *Cancer Research*, **36**: 2102-2107
- HILL, H.Z., BACKER, R., HILL, G.J. (1980). Blood cyanide levels in mice after administration of amygdalin. *Biopharm. Drug Dispos.*, **1(4)**: 211-20
- HOGAN, N., CASADEI, B., PATERSON, D.J. (1999a). Nitric oxide donors can increase heart rate independent of autonomic activation. *J. Appl. Physiol.*, **87**: 97–103
- HOGAN, N., KARDOS, A., PATERSON, D.J., CASADEI, B. (1999b). Effect of exogenous nitric oxide on baroreflex function in humans. *Am. J. Physiol.*, **277**: H221–H227
- HOLMES, R.K., WAY, J.L.(1982). Mechanism of cyanide antagonism by sodium nitrite. *Pharmacologist*, **24**: 182
- IGNARRO, L.J. (1989). Endothelium-derived nitric oxide: actions and properties. *FASEB J.*, **3**: 31-36
- IGNARRO, L.J. (1992). Haem-dependent activation of cytosolic guanylate cyclase by nitric oxide: a widespread signal transduction mechanism. *Biochem. Soc. Trans.*, **20**: 465-469
- IGNARRO, L.J., KADOWITZ, P.J. (1985). The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **25**: 171-191
- ISOM, G.E., BOROWITZ, J.L. (1995). Modification of cyanide toxicodynamics: mechanistic based antidote development. *Toxicology Letters*, **82(83)**: 759-799
- ISOM, G.E., WAY, J.L (1976). Lethality of cyanide in the absence of inhibition of liver cytochrome oxidase. *Biochem. Pharmacol.*, **25**: 605-608
- IVANKOVICH, A.D., BRAVERMAN, B., KANURU, R.P., HEYMAN, H.J., PAULISSIAN, R. (1980). Cyanide antidotes and methods of their administration in dogs. *Anesthesiology*, **52**: 210-216

- JOA, J.C., TSAI, L.M., YANG, S.N., WU, H.L., LIU, D.D., YANG, J.M. (2000). Sodium nitroprusside increases pacemaker rhythm of sinoatrial nodes via nitric oxide-cGMP pathway. *Chin. J. Physiol.*, **43**(3): 113-117
- JOE, E.K., SCHUSSHEIM, A.E., LONGROIS, D., MAKI, T., KELLY, R.A., SMITH, T.W., BALLIGAND, J.L. (1998). Regulation of cardiac myocyte contractile function by inducible nitric oxide synthase (iNOS): mechanisms of contractile depression by nitric oxide. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **30**: 303-315
- KAYA, S., PİRİNÇÇİ, İ., TRAŞ, B., BİLGİLİ, A., BAYDAN, E., AKAR, F., DOĞAN, A. (1997). Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Ankara: Medisan. s.:319
- KELLY, R.A., BALLIGAND, J.L., SMITH, T.W. (1996). Nitric oxide and cardiac function. *Circulation Research*, **79**: 363-380
- KOEPKE, R. Amygdalin: Facts and Fallacies (1998). Erişim: [<http://www.ansci.cornell.edu/courses/as/625/1998term/Koepke/amygdalin.html>]. Erişim tarihi: 29.07.2002
- KOJDA, G., CHENG, Y.C., BURCHFIELD, J., HARRISON, D.G. (2001). Dysfunctional regulation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression in response to exercise in mice lacking one eNOS gene. *Circulation*, **103**(23): 2839-44
- KOJDA, G., KOTTENBERG, K., NIX, P., SCHLÜTER, K.D., PIPER, H.M., NACK, E. (1996). Low increase in cGMP induced by organic nitrates and nitrovasodilators improves contractile response of rat ventricular myocytes. *Circulation Res.*, **78**: 91-101
- KOJDA, G., KOTTENBERG, K., NOACK, E. (1997). Inhibition of nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase induces cardiodepressive effects in normal rat hearts. *Eur. J. Pharmacol.*, **334**(2-3):181-90
- KONE, B.C. (2001). Molecular biology of natriuretic peptides and nitric oxide synthases. *Cardiovasc. Res.*, **55**: 429-441
- LAGODYCH, T.S. (2001). Effect of nitric oxide donors on myocardial contractile activity. *Fiziol. Zh.*, **47**(1): 34-38
- LEOR, R., MICHAELI, J., BREZIS, M., STESSMAN, J. (1986). Laetrile intoxication and hepatic necrosis: a possible association. *South. Med. J.*, **79**(2): 259-60
- LI, H., FÖRSTERMANN, U. (2000). Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J. Pathol.*, **190**: 244-254
- LOHSE, M.J., FÖRSTERMANN, U., SCHMIDT, H.H.H.W. (1998). Pharmacology of NO:cGMP signal transduction. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **358**: 111-112
- LOPEZ-FIGUEROA, M.O., CAAMANO, C., MORANO, M.I., RONN, L.C., AKIL, H. WATSON, S.J. (2000) Direct evidence of nitric oxide presence within mitochondria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **272**: 129– 133
- LOW, S.Y. (2005). Application of pharmaceuticals to nitric oxide. *Molecular Aspects of Medicine*. **26**: 97-138
- MARIN, J., RODRIGUEZ-MARTINEZ, M.A. (1997). Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. *Pharmacol. Ther.*, **75**: 111-134
- MASSION, P.B., DESSY, C., DESJARDINS, F., PELAT, M., HAVAUX, X., BELGE, C., MOULIN, P., GUIOT, Y., FERON, O., JANSSENS, S., BALLIGAND, J.L. (2004). Cardiomyocyte-restricted overexpression of endothelial nitric oxide synthase (NOS3) attenuates β -adrenergic stimulation and reinforces vagal inhibition of cardiac contraction. *Circulation*, **110**: 2666-2672

- MASSION, P.B., FERON, O., DESSY, C., BALLIGAND, J.L. (2003). Nitric oxide and cardiac function: ten years after and continuing. *Cir. Res.*, **93**: 388-398
- MERY, P.F., GERGES, N.A., VANDECASTEELE, G., JUREVISCIUS, J., FISCHMEISTER, R. (1997). Muscarinic regulation of the L-type calcium current in isolated cardiac myocytes. *Life Science*, **60**: 1113-1120
- METABOLIC PRODUCTS (2006). Erişim: [<http://www.amygdalin.co.uk/index.htm>]. Erişim tarihi: 08.09.2006
- MICHEL, J.B., FERON, O., SASE, K., PRABHAKAR, P., MICHEL, T. (1997). Caveolin versus calmodulin. Counterbalancing allosteric modulators of endothelial nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.*, **272**(41): 25907-25912
- MINAMI, N., IMAI, Y., HASHMOTO, J., ABE, K. (1995). The role of nitric oxide in the baroreceptor-cardiac reflex in conscious Wistar rats. *Am. J. Physiol.*, **269**: H851-855
- MIRANDA, K.M., ESPEY, M.G., WINK, A.D. (2001). A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, **5**(1): 62-71
- MIYAGOSHI, M., AMAGAYA, S., OGIHARA, Y. (1986). Antitussive effects of L-ephedrine, amygdalin, and makyokansekito (Chinese traditional medicine) using a cough model induced by sulfur dioxide gas in mice. *Planta Med.*, **4**: 275-8
- MOERTEL, C.G., AMES, M.M., KOVACH, J.S., MOYER, T.P., RUBIN, J.R., TINKER, J.H. (1981). A pharmacologic and toxicologic study of amygdalin. *JAMA*, **245**(6): 591-594
- MOHAN, R.M., HEATON, D.A., DANSON, E.J., KRISHNAN, S.P.R., CAI, S., CHANNON, K.M., PATERSON, D.J. (2002). Neuronal nitric oxide synthase gene transfer promotes cardiac vagal gain of function. *Circ. Res.*, **91**: 1089-1091
- MONCADA, S., PALMER, R.M., HIGGS, E.A. (1988). The discovery of nitric oxide as an endogenous nitrovasodilator. *Hypertension*, **12**(4): 365-72
- MONCADA, S., PALMER, R.M.J., HIGGS, E.A. (1991). Nitric oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacological Reviews*, **43**(2): 109-142
- MUSIALEK, P., LEI, M., BROWN, H.F., PATERSON, D.J., CASADEI, B. (1997). Nitric oxide can increase heart rate by stimulating the hyperpolarization-activated inward current, *I(f)*. *Circ. Res.*, **81**(1): 60-68
- MÜLLER-STRAHL, G., KOTTENBERG, K., ZIMMER, H.G., NOACK, E., KOJDA, G. (2000). Inhibition of nitric oxide synthase augments the positive inotropic effect of nitric oxide donors in the rat heart. *J. Physiol.*, **522**: 311-320
- NAVARRO, M.D. (1959). Five years experience with laetrile therapy in advanced cancer. *Acta Unio. Int. Contr. Cancrum.*, **15**(suppl 1): 209-21
- NAWRATH, H. (1977). Does cyclic GMP mediate the negative inotropic effect of acetylcholine in the heart? *Nature*, **267**: 72-74
- NIESINK, R.J.M., VRIES, J., HOLLINGER, V.A. (1996). Toxicology: Principles and Applications. USA: CRC Pres. s.: 832
- PALMER, R.M.J., MONCADA, S. (1989). A novel citrulline forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Commun*, **158**: 348-352
- PATON, J.F., KASPAROV, S., PATERSON, D.J. (2002). Nitric oxide and autonomic control of heart rate: a question of specificity. *Trends Neurosci.*, **25**: 626-631

- PAULUS, W.J. (2000). Beneficial effects of nitric oxide on cardiac diastolic function: The flip side of the coin. *Heart Failure Reviews*, **5**: 337-344
- PAULUS, W.J., VANTRIMPONT, P.J., SHAH, A.M. (1994). Acute effects of nitric oxide on left ventricular relaxation and distolic distensibility in humans. *Circulation*, **89(5)**: 2070-2077
- PİŞKİN, İ. (1994). Kobaylarda akut flor zehirlenmesinin elektrokardiyogram üzerine etkileri. Doktora tezi, Ankara Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- PİŞKİN, İ., ŞİRELİ, M., SAĞMANLIGİL, V., EMRE, B. (1999). Kobaylarda bazı anesteziik maddelerin elektrokardiyogram üzerine etkileri. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, **23 (Ek Sayı 1)**: 161-166
- PULIDO, J.E.C., RIO, M.N.D. (1980). Summary of some of the preclinical studies performed with kemdalin (100% amygdalin). Erişim: [<http://www.worldwithoutcancer.org.uk/analysis7.html>]. Erişim tarihi: 09.09.2006
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M., MONCADA, S. (1987). Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*, **7(2)**:1057-8
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.J., MONCADA, S. (1990). Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **87**: 10043-10047
- RAUWS, A.G., OLLING, M., TIMMERMAN, A. (1982). The pharmacokinetics of amygdalin. *Arch. Toxicol.*, **49**: 311-319
- SAĞMANLIGİL, V., ŞİRELİ, M., PİŞKİN, İ., EMRE, B., İRİADAM, M. (1998). Kobaylarda akut sodyum nitrit zehirlenmesinin elektrokardiyogram üzerine etkileri. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi*, **10(4)**: 20-24
- SALKOWSKI, A., PENNEY, D.G. (1994). Cyanide poisoning in animals and humans: a review. *Veterinary and Human Toxicology*, **35(5)**: 455-456
- SALLAMENDER CONCEPTS (26.08.2006). Erişim:[<http://www.anyvitamins.com/index.htm>] Erişim tarihi: 08.09.2006
- SANCHEZ, C.P., SANCHEZ, E.P., ABAD, F.F. (2001). Acute myocardial infarction after cyanide poisoning. *Clinical Intensive Care*, **12(4)**: 177-179
- SARKAR, D., VALLANCE, P., AMIRMANSOUR, C., HARDING, S.E. (2000). Positive inotropic effects of NO donors in isolated guinea-pig and human cardiomyocytes independent of NO species and cyclic nucleotides. *Cardiovasc. Res.*, **48(3)**:430-9
- SCHULZ, R., NAVA, E., MONCADA, S. (1992). Induction and potential biological relevance of a Ca²⁺-independent nitric oxide synthase in the myocardium. *Br. J. Pharmacol.*, **105**: 575-580
- SCHWARZ, P., DIEM, R., DUN, N.J., FORSTERMANN, U. (1995). Endogenous and exogenous nitric oxide inhibits norepinephrine release from rat heart sympathetic nerves. *Circ. Res.*, **77**: 841-848
- SHAH, A. M. (1996). Paracrine modulation of heart cell function by endothelial cells. *Cardiovascular Research*, **31**: 847-867
- SHESELY, E.G., MAEDA, N., KIM, H.S., DESAI, K.K.M., KREGGE, J.H., LAUBACH, V.E., SHERMAN, P.A., SESSA, W.C., SMITHIES, O. (1996). Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**: 13176-13181

- SOFFER, A. (1976). Chihuahuas and Laetrile, chelation therapy, and honay from boulder, colo. *Arch. Intern. Med.*, **136**: 865-66
- STAMLER, J. S. (1994). Redox signalling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide. *Cell*, **78**: 931-936
- STUEHR, D.J. (1999). Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim. Biophys. Acta*, **1411**: 217-330
- SUCHARD, J.R., WALLACE, K.L., GERKIN, R.D. (1998). Acute cyanide toxicity caused by apricot kernel ingestion. *Annals of Emergency Medicine*, **32**: 6
- TAGAWA, T., IMAIZUMI, T., HARADA, S., ENDO, T., SHIRAMOTO, M., HIROOKA, Y., TAKESHITA, A. (1996). Nitric oxide influences neuronal activity in the nucleus tractus solitarius of rat brainstem slices. *Circ Res.*, **75**: 70-76
- TAKITA, T., IKEDA, J., SEKIGUCHI, Y., DEMACHI, J., LI, S.L., SHIRATO, K. (1998). Nitric oxide modulates sympathetic control of left ventricular contraction in vivo in the dog. *Journal of the Autonomic Nervous System*, **71**: 69-74
- THATCHER, G.R.J., NICOLESCU, A.C, BENNETT, B.M., TOADER, V. (2004). Nitrates and NO release: contemporary aspects in biological and medicinal chemistry. *Free Radical Biology & Medicine*, **37(8)**: 1122-1143
- VERGELY, C., ROCHETTE, L. (2002). Le point sur les NO synthases au niveau cardiovasculaire périphérique. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, **51**: 109-116
- VICK, J.A., FROEHLICH, L. (1985). Studies of cyanide poisoning. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **273**: 314-322
- VINCENT, J.L., ZHANG, H., SZABO, C., PREISER, J.C. (2000). Effects of nitric oxide in septic shock. *Am. J. Res.r. Crit. Care. Med.*, **161**: 1781-1785
- WAY, J.L. (1983). Cyanide antagonism. *Fun. Appl. Toxicol.* **3**: 383-386
- WAY, J.L. (1984). Cyanide intoxication and its mechanism of antagonism. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **24**: 451-481
- WEIDONG, S., XIAOLONG, W., JINYONG, W., RUIPING, X. (2002). Pulmonary arterial pressure and electrocardiograms in broiler chickens infused intravenously with L_NAME, an inhibitor of nitric oxide synthase, or sodium nitroprusside (SNP), a nitric oxide donor. *Br. Poult. Sc.*, **43(2)**: 306-312
- WILLHITE, C.C. (1982). Congenital malformations induced by laetrile. *Science*, **215**: 1513
- YOSHIMOTO, H.,SUEHIRO, A., KAKISHITA, E. (1999). Exogenous nitric oxide inhibits platelet activation in whole blood. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, **33(1)**: 109-115
- ZANZINGER, J.,CZACHURSKI, J., SELLER, H. (1996). Lack of nitric oxide sensitivity of carotid sinus baroreceptors activated by normal blood pressure stimuli in cats. *Neurosci. Lett.* **208**: 121-124
- ZHU, Y.P., SU, Z.W., LI, C.H. (1994). Analgesic effect and no physical dependence of amygdalin. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.*, **19(2)**:105-7, 128

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı: Sadettin Mehmet

Soyadı: SOYLU

Doğum yeri ve tarihi: Ankara, 15.10.1977

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu:

Eserköy Sitesi 8-A-5 Ümitköy-Ankara

0312- 235 49 38

II. Eğitimi

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi (1995-2001)

Ankara Anadolu Lisesi (1989-1995)

Ankara Özel Tevfik Fikret Lisesi (Hazırlık) (1988-1989)

Ankara Özel Yükseliş Koleji (1985-1988)

Salih Alptekin İlkokulu (1983-1985)

Yabancı dili: İngilizce, Fransızca

III. Ünvanları

Veteriner Hekim

IV. Mesleki Deneyimi

2002 – 2006 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Araştırma Görevlisi

V. Üye olduğu Bilimsel Kuruluşlar

-

VI. Bilimsel İlgi Alanları

1. Soylu, S.M., Şireli, M. Farelerde flunixin-megluminin hematolojik parametreler üzerine etkisi. Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi (Baskıda).
2. Bülbül, A., Soylu, S.M. Nitrik oksitin dolaşım sistemi üzerine etkileri. Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi (Baskıda).
3. Soylu, S.M. Atlarda görme duyusu (Çeviri). Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi (Baskıda).
4. Bülbül, A., Soylu, S.M., Filazi, A., Şireli, M. The effects of amitraz poisoning on certain hematologic parameters and enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase in rabbit. 32. Fizyoloji Bilimleri Kongresi, 18-22 Eylül 2006, Denizli (Poster).