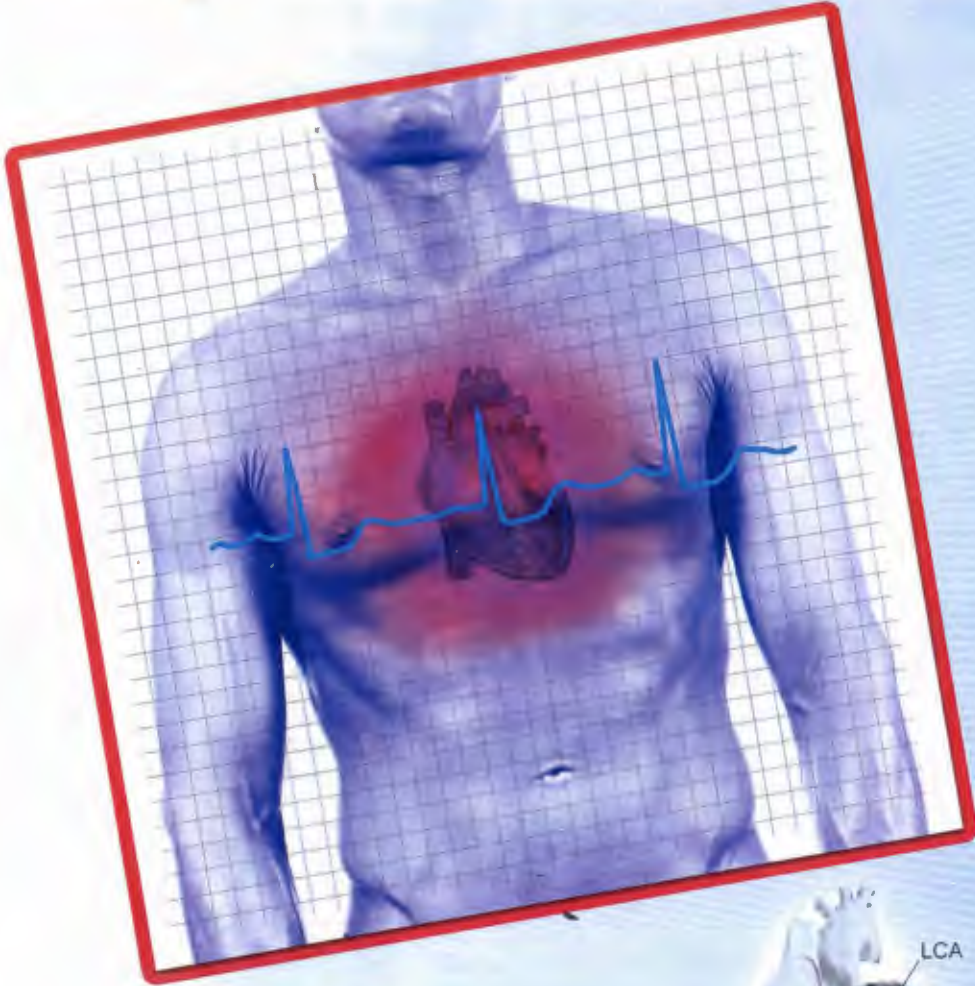


Kalp Krizinde Yeni Nesil Uyarı Sistemi



Şekil 1. Kalp krizinin oluşumu. Kalp atardamarı (1); kalp krizi sonucunda oluşan kalp kasındaki hasarlı bölge (2); RCA: sağ koroner atardamar; LCA: sol koroner atardamar.

Prof. Dr. Adil Denizli & Dr. Lokman Uzun
Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü

Kalp krizi (miyokardiyal enfarktüs), kalbin bir bölümüne kan beslemesinin kesildiği durumlarda ortaya çıkan ciddi bir sağlık sorunudur. Kalp krizinin en sık karşılaşılan türü, koroner atardamar yüzeyindeki birikintilerin yüzeyden ayrılarak kan akımını durdurması ile ortaya çıkmaktadır. Atardamar yüzeyindeki birikintiler, kolesterol gibi yağların damar duvarlarına yapışması ve kan hücrelerinden oluşmaktadır. Kan akımının durması, iske mi olarak adlandırılan kan beslemesinin kesilmesine ve oksijen yetersizliğine sebep olur. Bu duruma en kısa zamanda müdahale edilmezse; kalp kas dokusunda hasar ve/veya ölümler gerçekleşebilir.

Kalp krizinin erken teşhisi için hazırlanan test kiti hem daha ekonomik hem de tekrar kullanılabilirliği için çevreye daha duyarlı.

Kalp krizi belirtilerini kademeli olarak gösterir. Bu süre bir kaç dakika devam eder, bazı durumlarda anlık olarak kaybolur. Göğüs ağrısı, akut dönemdeki kalp krizi belirtilerinin en yaygın olanıdır ve burulma, baskı veya sıkıma hissi olarak tanımlanır. Göğüs ağrısı, iske mi'ye bağlıdır. Bu ağrılar, genellikle sol kolü etkiler. Ayrıca, çene, banyun, sağ kol, sırt ve karın bölgelerinde de görülebilir.

Nefes darlığı, kalpte oluşan hasar dolayısıyla sol karıncığın kan pompalayamadığı durumlarda gözlenir. Diğer belirtiler ise; halsizlik, sersemlik hissi, terleme, mide bulantısı, kusma ve çarpanlı olarak sayılabilir. Yorgunluk, uyku düzensizliği ve nefes darlığı, kalp krizinin oluşumundan bir ay kadar önce kendini göstermeye başlar. Kalp krizlerinin yarısı hiç belirti olmadan da ortaya çıkabilir.

Kalp krizleri, tüm dünyada en önemli ölüm nedeni olarak bilinmektedir. Kalp krizleri için önemli risk faktörleri olarak; yaş (erkekler için > 40; kadınlar için > 50), sigara, trigliserit ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL, kötü kolesterol) gibi yağ değerlerinin yüksekliği, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL, iyi kolesterol) değerinin düşükluğu, şeker hastalığı, yüksek kan basıncı, ağır kilo, kronik böbrek hastalığı, kalp yetmezliği, ağır alkol tüketimi, tıyıştırıcı kullanımı ve kronik yüksek stres seviyesi sayılabilir.

Kalp krizinden çözümlenilen hastalara ilk tedavi olarak oksijen takviyesi, aspirin ve statin ilaçlar verilmektedir. Ayrıca, ağrı kesici kullanımı da önerilmektedir.

Kalp Krizinin Teşhisi

Kalp krizinin teşhisi elektrokardiyografi ve kalp kas hücre hasarını gösteren işaret proteinlerinin kandaki miktarının tayini ile yapılmaktadır. Ayrıca koroner anjiyografi ile kalp damarlarındaki daralma ve tıkanmalar belirlenmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından kalp krizinin teşhisinde 3 kriter belirtilmektedir:

- 20 dakikadan uzun süreli göğüs ağrısı;
- Elektrokardiyografide gözlenen anormal değişiklik;
- İşaret proteinlerinin miktarının artması veya azalması.

Kalp Krizini Teşhinde Kullanılan İşaret Proteinleri

Kalp krizi işaret proteinleri (enzimsel) hasarlı kalp kas hücrelerinden kan akımına salınan proteinlerdir. Serum glutamik oksalobütirik transaminaz ve laktat dehidrojenaz, 1990'lı yıllara kadar kullanılan işaret proteinleridir. Günümüzde işaret proteini olarak kreatin kinaz, kalp troponin-I ve miyogloblin daha seçici işaret proteinleri olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2. Kalp krizinin belirtileri (görülen ağrı bölgeleri). Ön görünüm (a); arkadan görünüm (b).

Kreatin Kinaz

Bu enzim, kalp kasları için hızlı enerji üretiminde görev almaktadır. Fakat kreatin kinaz, sadece kalp kas hücrelerinde değil beyin ve akciğer de dahil vücuttaki tüm kas hücrelerinde bulunmaktadır. İskelet kas dokusundaki hasarlardan, karaciğer ve böbrek hastalıklarından kaynaklanan farklı kreatin kinaz türlerinin miktarında artış görülebilmektedir. Kalp krizi sonucu oluşan kalp kas dokusundaki hasarın belirlenmesi amacıyla, kreatin kinaz kas B (CK-MB) olarak adlandırılan kreatin kinaz türünün miktarındaki artış takip edilmektedir.

Kalp krizinden sonra CK-MB seviyelerindeki artışın izlenmesi önemli klinik veriler sunmaktadır. CK-MB seviyesindeki artış, kalp krizinden sonra 3-6 saat içerisinde yükselmeye başlamaktadır. Krizden sonraki 12-24 saat içerisinde ise, en yüksek seviyesine ulaşmaktadır. Krizden sonraki 12-48 saat içerisinde normal seviyesine tekrar düşmektedir. Hastalığın başlangıç aşamasında belirli zamanlarda alınan kan örneklerinde bu testin yapılması gerekmektedir.

Troponinler

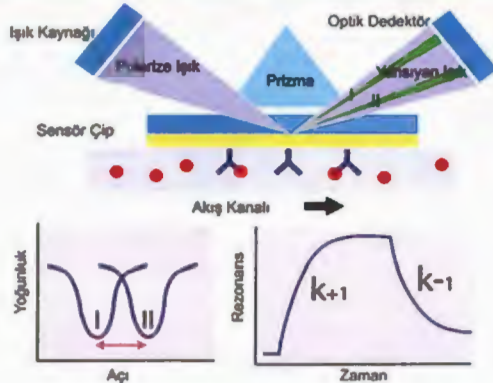
Troponinler, kalp kası iplikçiklerinin bir bileşenidir. Kalp krizinin izlenmesinde troponin seviyesi önemli klinik veri oluşturmaktadır. Kalpte oluşan oksijen yetersizliği dolayısıyla, kalp kas hücreleri hasar görmekte ve kas iplikçiklerine ait bileşenler kan akımında görülmeye başlanmaktadır. Krizden sonraki 3-4 saat içerisinde iki tür troponinin (cTnI ve cTnT) seviyesi kanda yükselmeye başlamaktadır. Troponin seviyesi 12-16 saat içerisinde en yüksek değere ulaşmakta ve 2 hafta kadar yüksek seviyede seyretmektedir. Göğüs ağrısı ile hastaneye başvuran hastalarda troponin seviyesi belirlenmekte ve her 4-6 saat aralıkla kontrol edilmektedir. Troponin seviyesindeki artış, kalpte oluşan hasarla doğru orantılıdır.

Miyogloblin

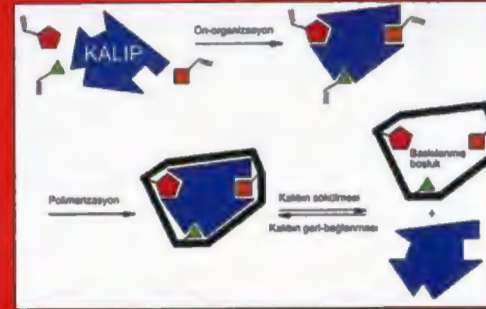
Miyogloblin, iskelet ve kalp kas dokusunda bulunan bir proteindir. Miyogloblin, kas dokusuna oksijen taşımadan sorumlu proteindir. Kas dokusunda herhangi bir sorun olmadığı durumlarda; kan miyogloblin seviyesi oldukça düşüktür. Kalp krizi oluştuğunda, oldukça yüksek miktarda miyogloblin kana geçerek kan miyogloblin miktarı kısa sürede artmaktadır. Bu özelliği ile miyogloblin,

kalp krizinin erken teşhisinde önemli bir işaret proteindir. Miyogloblin seviyesi, kalp krizinin ilk 2 saati içerisinde artmakta (bazı durumlarda ilk 30 dakikada) ve 8-12 saat içerisinde en yüksek seviyesine ulaşmaktadır. Kalp krizinden sonra 24-36 saat içerisinde normal seviyesine geri dönmektedir. Kalp krizi şüphesi ile hastaneye başvuran hastalarda ilk izlenen testlerden biri olan miyogloblin testi, 2-3 saatlik aralıklarla tekrar edilmektedir. Miyogloblin seviyesinin normal düzeyde seyretmesi, kalp kas dokusunda hasar olmadığını göstermektedir. Miyogloblin, böbreklerde üreye dönüştürülerek atılır. Bundan dolayı, kandaki aşırı düzeydeki miyogloblin miktarı, böbrekler üzerinde toksik etki göstermektedir. Miyogloblin seviyesinin izlenmesi, hem kalp krizinin boyutu hakkında bilgi vermekte hem de böbrek fonksiyonlarının izlenmesinde önemli bilgiler sunmaktadır.

Son yıllarda Yüzey Plazmon Rezonansı (SPR) sensörler, antibiyotikler ve protein-DNA etkileşimlerinin izlenmesinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. SPR etkileşimleri gerçek zamanlı ölçülebilir ve yüzey seçiciliğinin yüksek olması gibi eşsiz özelliklere sahiptir. SPR sensörler, kimya ve biyokimyanın birçok farklı alanında yüzeylerin karakterize edilmesi ve etkileşimlerin izlenmesi için kullanılmaya başlanmıştır. Yüzey duyarlı analitik bir teknik olan SPR, metal film yüzeyindeki yansıma açısındaki değişimlerin ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Optik yoğunluğu yüksek olan bir ortamdan çıkan p-polarize ışık, daha seyreltik bir ortama girdiğinde, ışımın geliş açısı kritik değerden büyük ise tam yansıma olarak adlandırılan bir olay gerçekleşmektedir. Tam yansıma ile birlikte seyreltik ortamda geçici bir dalga oluşumu söz konusudur. Bu geçici dalga seyreltik ortamdaki elektronlar ile birleştiğinde, yansıyan ışığın yoğunluk değerinde bir azalma gerçekleşmektedir. Bu durum yüzey plazmon rezonansı olarak adlandırılmaktadır. SPR uygulamalarında genellikle altın veya gümüş film yüzeyindeki polanton dalgalanının uyarılması gerçekleştirilmektedir. Yansıma miktarı (Reflektivite, R), ışığın geliş açısının bir fonksiyonu olarak izlenmektedir. Belirli bir açı değerinde (rezonans açısı) R değeri minimum olmaktadır. Bu açı değerinde yüzeydeki yoğunluk değişiminin izlenmesi ile birlikte nitel ve nicel analizler gerçek zamanlı, yüksek seçicilik ve duyarlılıkta gerçekleştirilebilmektedir (Şekil 3).



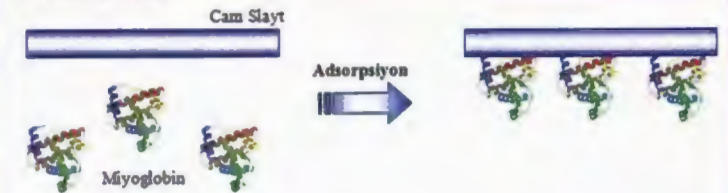
Şekil 3. Yüzey plazmon rezonans sensörünün genel prensipleri.



Şekil 4. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi. **BASAMAK I: Ön-kompleksleşme:** Fonksiyonel grupları içeren polimerleşebilir uygun monomerler, kalıp molekülüne kovalent veya non-kovalent etkileşimlerle bağlanarak kompleks oluşturur. Bu basamakta kalıp üzerinde fonksiyonel monomerin bağlandığı bir yapı oluşumu söz konusudur. Bu etkileşimde hedef molekülün üç boyutlu yapısı ve kimyasal özellikleri önemli bir yer tutar. **BASAMAK II: Polimerleşme:** Monomer-kalıp kompleksi, uygun bir çapraz bağlayıcıyla fonksiyonel monomer üzerinden polimerleştirilir. **BASAMAK III: Kalıp (KALIP) molekülün uzaklaştırılması:** Yapıda hedef molekülün yerini alacak boşlukları oluşturulması amacıyla, kalıp molekülü polimerden uzaklaştırılır. Uygun koşullar altında, bu boşluklar kalıp molekülün boyutunu, yapısını ve fizikokimyasal özelliklerini tanımlayan, seçil ve etkin olarak kalıp molekülü bağlar.



1) Protein Baskısı



2) Polimerleşme



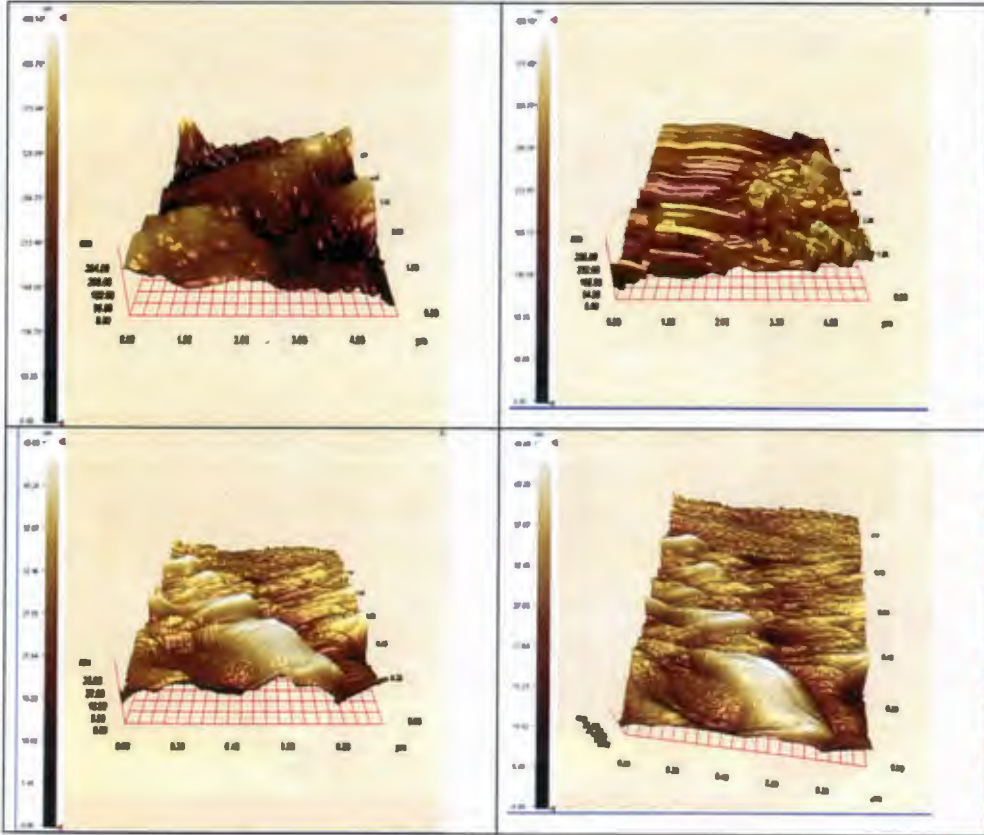
3) Kalıbın Sökülmesi



Şekil 5. Mikrotomas baskılama ile monomerlerin polimerleşmesi ve polimer film oluşturulması.

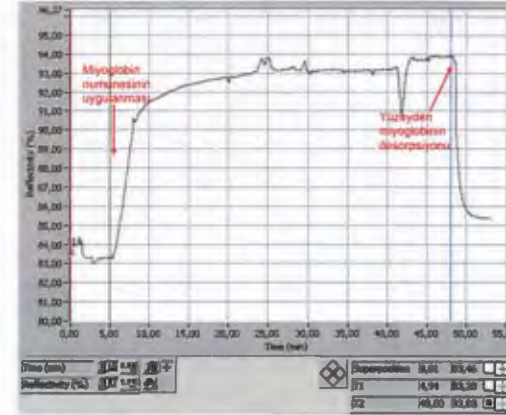
Moleküler baskılanmış polimerler, klinik analizler, teşhis-tedavi, çevre görüntüleme ve ilaç taşıma sistemleri gibi birçok alanda kullanım potansiyeline sahiptirler. Moleküler baskılama teknolojisi ile doğal reseptörlerle karşılaştırılabilir bağlanma sabitine sahip ve yüksek sıcaklık, basınç, yüksek pH ve organik çözücülere direnç gibi daha sert koşullarda çalışabilen sentetik reseptörler veya moleküller hazırlamak mümkündür. Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanmasında farklı yaklaşımlar söz konusudur. Mikrotomas baskılama yöntemi bu yöntemlerden en dikkat çekenlerden bir tanesidir. Mikrotomas baskılama, 3 aşamadan oluşmaktadır: i) kalıp molekülün modifiye edilmiş cam slayt üzerine tutturulması; ii) monomer çözeltisinin cam slayt ile teması; iii) fotopolimerizasyon ile polimerik film oluşumu (Şekil 5).

Anadolu Üniversitesi'nden Prof. Dr. Rıdvan Say ve Uludağ Üniversitesi'nden Prof. Dr. Necati Beşirli ve Doktora öğrencisi Bilgen Osman ile ortak yürüttüğümüz projede; kandaki miyoglobin miktarının teşhis edilmesi için mikrotemas baskılama yöntemiyle SPR temelli teşhis kiti geliştirilmiştir. Bu amaçla ilk basamakta; miyoglobin cam slayt yüzeyine tutturulmuş, daha sonra mikrotemas baskılama yaklaşımı ile SPR kit yüzeyinde miyoglobinin yapısına uygun kuytucuklar içeren polimerik film elde edilmiştir. SPR kit yüzeyi, atomik kuvvet mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu ile incelenerek karakterize edilmiştir. Hazırlanan bu SPR kiti önce miyoglobin içeren protein karışımlarından; daha sonra kalp krizi riski olan hasta plazmalarından miyoglobin bağlanması incelenmiştir. Yapılan deneylerde hazırlanan sensörlerin miyoglobine karşı yüksek seçicilikte cevap verdiği belirlenmiştir.

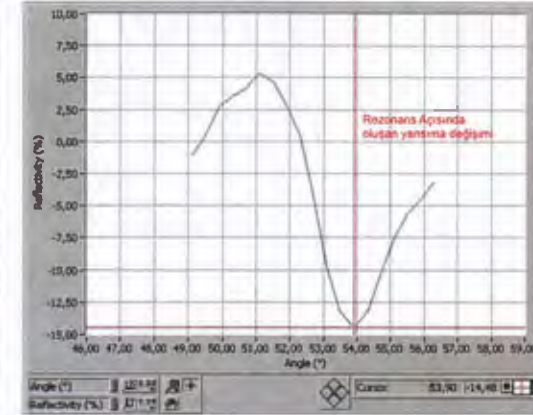


Şekil 6. Mikrotemas baskılama yaklaşımı ile miyoglobin baskılanmış sensörün atomik kuvvet mikroskop görüntüleri.

Kalp krizi, kalbin bir bölümüne kan beslemesinin kesildiği durumlarda ortaya çıkan bir sağlık sorunu.



Şekil 7. Yüzey plazmon rezonans sensör ile miyoglobin teşhisi.



Şekil 8. Mikrotemas baskılama yaklaşımı ile hazırlanan miyoglobin baskılanmış sensördeki rezonans açısında oluşan değişim.

Konu hakkındaki çalışmaların devam ettiği araştırma sonucunda, kalp krizinin erken teşhisinde kullanım potansiyeli olan yeni nesil bir test kiti geliştirilmiş olacaktır. Uygulanan yaklaşımın iki önemli avantajı bulunmaktadır: (i) kalp krizinin erken teşhisi için kullanılmakta olan teşhis kiti alternatif, daha ucuz ve daha duyarlı bir kit geliştirilmiş olacaktır; (ii) mikrotemas yaklaşımıyla hazırlanan sensörler kullanılarak hem çoklu analiz (aynı hastada birden çok parametrenin belirlenmesinde) hem de birden çok numunenin (farklı hastalardan alınan örneklerin) gerçek zamanlı izlenmesi mümkün olacaktır. SPR teşhis kiti belirlenmesi gereken önemli avantajlarından biri de, tekrar kullanım potansiyelidir. Bu özelliği maliyetin düşmesini sağlamaktadır. Ayrıca, SPR teşhis sistemleri günümüzde kullanılmakta olan teşhis sistemlerine göre; radyoaktif işaretlemeye ve immünizasyona (geleneksel sistemlerde kullanılan antijenlerin büyük çoğunluğunun hayvan kaynaklı olup; gerekli antijenlerin üretimi aşamasında hayvanlara antijen verilmektedir) gerek olmaması hem hayvan hakları hem de çevresel güvenlik açısından önemli avantajlara sahiptir.

Kaynaklar

- Alpert, J.S., Thygesen, K., Antman, E., Bassand, J.P. "Myocardial infarction redefined—a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction". *J. Am. Coll. Cardiol.*, 36 (2000) 959.
- Apple, F.S., Wu, A.H., Meir, J., et al. "Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome". *Clin. Chem.*, 51 (2005) 810.
- Aviles, R.J., Askari, A.T., Lindahl, B. et al., "Troponin T levels in patients with acute coronary syndromes, with or without renal dysfunction". *N. Engl. J. Med.*, 346 (2006) 2047.
- Bax, L., Algra, A., Mali, W.P., Edlinger, M., Beutler, J.J., van der Graaf, Y. "Renal function as a risk indicator for cardiovascular events in 3218 patients with manifest arterial disease". *Atherosclerosis*, 200(2008) 184.
- "Blood Tests for Rapid Detection of Heart Attack." AmericanHeart.org. 2008. American Heart Association. <<http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=4477>>.

- Brennan, C.B., Weber, L.S.S.G. "Investigations of prussian blue films using surface plasmon resonance" *Sens. Actuators B*, 72 (2001) 1.
- Carlo, J.G., Goldberg, R.J., Hand, M.M., et al. "Symptom presentation of women with acute coronary syndromes: myth vs reality". *Arch. Intern. Med.*, 167 (2007) 2405.
- Denizli, A., Yavuz H., "Biyolojik terör saldırılarına karşı yeni yöntem", *Popüler Bilim*, Sayı 179, 42-47, Ocak 2009.
- Denizli, A., Yavuz H., "Talasemi tedavisinde alternatif yöntem: moleküler baskılama", *Popüler Bilim*, Sayı 180, 37-41, Şubat 2009.
- Eisenman, A. "Troponin assays for the diagnosis of myocardial infarction and acute coronary syndrome: where do we stand?". *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.*, 4 (2006) 509.
- Erhardt, L., Herlitz, J., Bossaert, L., et al. "Task force on the management of chest pain". *Eur. Heart J.*, 23 (2002) 1153.
- Ersöz, A., Dilemiz, S.E., Özcan, A.A., Denizli, A., Say, R. "Synergie between molecular imprinted polymer based on solid-phase extraction and quartz crystal microbalance technique for 8-OHdG sensing", *Biosens. Bioelectron.*, 24 (2008) 742.
- Euma, N.S., Lee, S.H., Lee, D.R., et al. "K⁺-ion sensing using surface plasmon resonance by NIR light source", *Sens. Actuators B*, 96 (2003) 446.
- Kosuge, M., Kimura, K., Ishikawa, T et al. "Differences between men and women in terms of clinical features of ST-segment elevation acute myocardial infarction". *Circulation Journal*, 70(2006) 222.
- Kurihara, K., Nakamura, K., Hirayama, E., Suzuki, K. "An absorption-based surface plasmon resonance sensor applied to sodium ion sensing based on an ion-selective optode membrane", *Anal. Chem.*, 74 (2002) 8323.
- Lin, H.Y., Hsu, C.Y., Thomas, J.L., Wang, S.E., Chen, H.C., Chou, T.C. "The microcontact imprinting of proteins: The effect of cross-linking monomers for lysozyme, ribonuclease A and myoglobin", *Biosens. Bioelectron.*, 22 (2006) 534.
- Marcus, G.M., Cohen, J., Varosy, P.D., et al. "The utility of gestures in patients with chest discomfort". *Am. J. Med.*, 120 (2007) 83.
- McSweeney, J.C., Cody, M., O'Sullivan, P., Elbersson, K., Moser, D.K., Garvin, B.J. "Women's early warning symptoms of acute myocardial infarction". *Circulation*, 108 (2003) 2619.
- Pearte, C.A., Furberg, C.D., O'Meara, E.S., et al. "Characteristics and baseline clinical predictors of future fatal versus nonfatal coronary heart disease events in older adults: the Cardiovascular Health Study". *Circulation*, 113 (2006) 2177.
- The World Health Report - Changing History. World Health Organization. 2004.
- Uzun, L., Sey, R., Onal, S., Denizli, A. "Production of surface plasmon resonance based assay kit for hepatitis diagnosis". *Biosens. Bioelectron.*, 2009, baskıda.®