

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

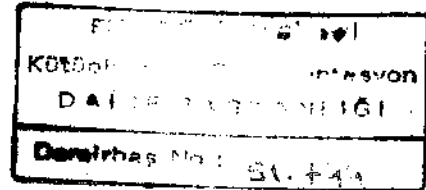
1989
535-3

GUATRLI HASTALARDA
SERUM ÜRE, KREATİNİN, ÜRİK ASİT VE
ERİTROSİT ARGİNAZ DÜZEYLERİ
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Kimyager
İnsan HALİFEOĞLU
F.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya
Anabilim Dalı

Firat Üniversitesi Merkez Kütüphanesi
0067808
255.07.02.03.00.00/08/0067808
TIP YL/1

YÜKSEK LİSANS TEZİ



ELAZIĞ-1989

38
7.6
535-3

İÇİNDEKİLER

I. BÖLÜM

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ	1
I.1- Araştırmanın Amacı	1
I.2- Tiroid	2
I.3- Tiroglobulin Sentezi	2
I.4- Tiroid Hormonlarının Biyosentezi	3
I.5- Tiroid bezinde iyot depolanması	6
I.6- T_3 ve T_4 Sekresyonu	6
I.7- T_3 ve T_4 ün taşınımı	6
I.8- Tiroid bezi hastalıkları	7
a- Hipertiroidizm (Tirotoksikoz)	7
b- Hipotiroidizm	8
I.9- Tiroid Hormonlarının etkileri	9
I.10- Organizma için toksik etkili amonyak	12
I.11- Amonyağın akibeti	12
I.12- Amino azotunun atılımı	14
I.13- Üre	14
I.13-a-Kanda Üre düzeyinin arttığı haller	19
I.13-b-Kanda üre düzeyinin azaldığı haller	19
I.14- Kreatinin	20
I.14-a-Kanda kreatinin'in arttığı haller	20
I.14-b- Kanda kreatinin'in azaldığı haller	22
I.15- Ürik Asit	22
I.15-a- Kanda Ürik asidin arttığı haller	22
I.15-b- Kanda Ürik asidin azaldığı haller	25
I.16- ARGİNAZ	25

II. BÖLÜM

MATERYAL VE METODLAR	30
II.1- Materyal	30
II.1.1-Örnek alınması, hazırlanması ve saklanması..	30
II.2- Metodlar	31

	<u>Sayfa</u>
1- Tiroid hormon düzeylerinin ölçülmesi	31
2- Serum üre tayini	39
3- Kreatinin ölçülmesi	42
4- Ürik asit ölçülmesi	44
5- Hemoglobin ölçülmesi	46
6- Eritrosit arginaz aktivitesinin ölçülmesi....	47

III. BÖLÜM

BULGULAR	52
III.1- Üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri	55
III.2- Eritrosit arginaz düzeyleri	63

IV. BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ	68
-------------------------	----

V. BÖLÜM

ÖZET	72
KAYNAKLAR	74
TEŞEKKÜR	80
ÖZGEÇMİŞİM	81
EKLER	82

TABLÖLAR

	<u>Sayfa</u>
1- İyot ihtiva eden tiroid bezi bileşikleri	5
2- Serum tiroid hormon düzeyleri	7
3- Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete bağlı olarak dağılımı	52
4- Tiroid hormon düzeyleri anormal bulunan kişilerin cinsiyete bağlı olarak dağılımı	53
5- Kontrol grubu tiroid hormon düzeyleri	54
6- Total T_3 düzeyleri 187 ng/dl üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri	55
7- Total T_3 düzeyleri 86 ng/dl altında bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri	56
8- Total T_4 düzeyleri 12,5 µg/dl üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri	58
9- Serbest T_3 düzeyleri 4,7 pg/ml üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri	59
10- Serbest T_4 düzeyleri 2,0 ng/dl üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri	60
11- Serum TSH düzeyleri 4,5 µIU/ml üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri	62
12- Total T_3 düzeyleri 187 ng/dl üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri	63
13- Total T_3 düzeyleri 86 ng/dl altında bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri	64
14- Total T_4 düzeyleri 12,5 µg/dl üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri	65
15- Serbest T_3 düzeyleri 4,7 pg/ml üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri	66

16- Serbest T ₄ düzeyleri 2,0 ng/dl üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri...	66
17- Serum TSH düzeyleri 4,5 µIU/ml üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri...	67

ŞEKİLLER

1- Tiroid hormonlarının etkisi	11
2- Üre biyosentezi	18
3- Kreatin'den kreatinin oluşması	21
4- Fosfokreatin'den kreatinin oluşması	21
5- Pürin türevlerinin birbirine dönüşümü	23
6- Ürik asit oluşumu	24

I. BÖLÜM

GİRİŞ

I.1- Araştırmanın Amacı :

Tiroid bezinden salgılanan hormonlar metabolizma ve büyüme üzerinde hücresel düzeyde etki yapmaktadırlar. Dolayısıyla bu hormonların büyüme, gelişme ve bazal metabolizma üzerinde belirgin etkileri etkileri vardır. Hipotiroidi durumlarda bazal metabolizma da düşme ve azotlu madde atılmasında azalma ve hipertiroidi durumlarda ise bazal metabolizmadaki artışla birlikte atılan azotlu madde miktarının da arttığı bildirilmektedir (1,2).

Tiroid bezinin büyümesine guatr adı verilir. Tiroid hormonlarının genellikle normal sınırlarda bulunduğu, iltihabi reaksiyon veya habis dejenerasyon göstermeyen tiroid bezi büyümeleri için ötiroid guatr veya toksik olmayan guatr deyimleri kullanılmaktadır. Ötiroid guatr, memleketimizde basit guatr olarak ta bilinmektedir (3).

Tiroid hormonlarının indüksiyon yolu ile üre döngüsü enzimlerinin sentezini arttırdığı ve tiroksine bağlı olarak karaciğer arginaz enzimi düzeyinde bir artışın meydana geldiği hayvan deneylerinde elde edildiği bildirilmiştir (4,5).

Arginaz (EC. 3.5. 3.1. L-Arginin üreohidrolaz) Krebs-Henseleit döngüsünün (üre döngüsü) son basamağını kataliz eden bir enzim olup arginini üre ve ornitine parçalar. En çok karaciğerde bulunurken diğer dokularda da daha düşük düzeyde bulunmaktadır. Eritrositlerde mevcut olan arginaz enzimi düzeyi serum arginaz düzeyinden çok daha fazladır (5-7).

Bu araştırmanın amacı ; tiroid hormon düzeyleri anormal bulunan kişilerin serum üre, kreatinin ve ürik asit ile eritrosit arginaz aktivitesi düzeylerini saptamak ve varsa aralarındaki ilişkiyi göstermektir.

I.2- Tiroid :

Endokrin bezlerinin en büyüğü olan tiroid, boynun ön tarafında larinksin altında ve trakeanın iki yanında yer almış olup bir ara kısımla birbirine bağlanmıştır. **Ortalama** olarak 20 ile 30 gram ağırlığı vardır ve normal tiroid bezi hemen hemen asimetric olup, sağ lob sol lobdan daha büyüktür(2,8,9,10).

Tiroid bezi bir çok küçük foliküllerden oluşmuştur. Bu foliküllerin içi epitelyal hücrelerle kaplı ve **kolloid** adı verilen bir madde ile doludur (11). Adı geçen folikülleri dolduran kolloid içerisinde molekül ağırlığı 660.000 olan ve globular glikoproteinden meydana gelen, tiroglobulin (Tg) olarak bilinen bir protein vardır. Tiroglobulin, memelilerde tiroidin % 75 ini teşkil etmekte olup çok sayıda tirozil artığı taşıyan özel bir proteindir (4,12).

Tiroid bezi, tiroksin ($3,5,3,5$ -L-tetraiyodotironin) olarak bilinen T_4 ile triiyodotironin ($3,5,3$ -L-triyyodotironin) denilen T_3 hormonlarının üretimini ve kana salınımını gerçekleştirir (13).

Tiroid hormonlarının başlıca etkisi vücut dokularının metabolik çalışmalarını arttırma şeklindedir. Hormon salınımının artması ile (beyin,dalak,testisler,akciğerler hariç) vücudun bazal metabolizmasında % 60 ile % 100 arasında bir yükselme görülür. Bazal metabolizma uyanık ve fakat tam istirahat halindeki bir şahsın sarfettiği oksijenle ölçülür. Başka bir deyişle bazal metabolizma vücudun m^2 si başına bir saat içerisinde sarfedilen oksijenin hacmi, veya meydana gelen ısı enerjisinin kilokalori cinsinden ifadesi demektir (2).

I.3- Tiroglobulin Sentezi :

Tiroglobulin (Tg), tiroid folikülleri tarafından sentez edilir. Foliküllerin içi jel gibi ve kolloid adı verilen bir madde ile doludur. Tg, tiroid bezinin normal bir salgısı olup serumdaki düzeyi fizyolojik ve pato-fizyolojik olarak değişmektedir. Tg'nin bu değişikliği ile ilgili çalışmalar sonucu fizyolojik fonksiyonu henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. Ancak artış durumu bazı tiroid hastalıklarından kaynaklanmaktadır. Örneğin Graves hastalığında Tg'nin serum düzeyinde artış meydana gelmektedir. Tiroid bezinin diğer fonksiyonları ve Tg'nin sentez hızının pituiter tirotropin (TSH) nin kontrolü altında olduğu bildirilmiştir (4,10,13,14).

T₃ ve T₄ ile fizyolojik aktivite gösteren iyotlu diğer ürünler tiroid bezi tarafından salgılanmaktadır. Ayrıca diğer iyotlu amino asitler yaklaşık % 1 oranında tiroid bezi içinde serbest halde bulunmaktadır. Mono ve diiyodotironin biyolojik olarak aktivite göstermezler (4).

I.4- Tiroid Hormonlarının Biyosentezi :

Tiroid hormonlarının sentez ve sekresyonu kandan iyodür alınma sürekliliğine bağlıdır (8). Diyetteki iyodürler ince barsaktan hızla emilirler. Doğadaki gıdalar, topraktaki iyot kapsamının çok düşük olduğu yerler hariç tutulursa, genellikle yeterli miktarda iyot kapsamaktadır. Ayrıca deniz ürünlerinin iyotça zengin olduğu bilinmektedir. Diyetle alınan iyodürün yaklaşık üçte biri tiroid tarafından tutulmakta ve geri kalan üçte ikisi ise böbrekler aracılığıyla atılmaktadır (4,10,11,13).

Bilindiği gibi dünyanın en önemli sağlık problemlerinin başında endemik guatr gelmektedir. Endemik guatrın oluşumunda iyot yetersizliği temel etkindir (15-17). Ancak zaman zaman diyetle alınan guatrojen maddeler organizmada tiroksin oluşumunu engelliyerek guatr oluşturabilmektedir (18).

Kandan iyodürün alınması üç aşamada olmaktadır:

1-İyodürün tiroid bezine girişi: Bu aşamada iyodürler ekstrasellüler sıvıdan tiroid bezine ve foliküle girerler.

Kandan alınan iyodürün tiroid bezinde yoğunlaştırılması aktif bir olay olan ve iyodür pompası adı verilen sistemle olmaktadır (10,11,19,20). Tiroid bezindeki iyot miktarı kanda bulunan iyot miktarından 25-40 misli daha fazladır (4,13). Ancak organizma tarafından tiroid hormonlarına fazla ihtiyaç duyulduğu zaman bu hormonları salgılayıcı epitelyal hücreler TSH (tiroidi stimüle eden hormon) tarafından uyarılarak tiroid bezindeki bu miktar kandakine nazaran yüzlerce misline çıkabilir (9,10,11,13,19). Tükürük bezleri, mide mukozası ve meme bezleri de iyot konsantre etme yeteneğine sahiptirler (9,19). Tiroid folikül hücrelerinde iyodun yoğunlaştırılması, bazal hücre membranında lokalize olan Na⁺, K⁺ gerektiren

ATP'az dan elde edilen enerjinin kullanıldığı aktif transport mekanizması ile sağlanmaktadır. Tiyosiyanat (SCN^-), perklorat (ClO_4^-) gibi mono-valant anyonlar iyodun tiroid folikül hücrelerine girişini inhibe ederler (4).

II- İyodürün iyoda oksitlenmesi : İyot, tiroid bezi içerisinde daha aktif olan iyoda oksitlenir. Mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte oksitlenme olayı, tiroid peroksidazı denilen bir enzim tarafından meydana geldiği sanılmaktadır. Bu enzimin molekül ağırlığı 60.000 dir. Oksitleyici faktör sitokrom C benzeri bir enzimin hazırladığı H_2O_2 ye gerek gösteren bir özel peroksidaz tarafından tiroide giren iyodür, organik iyoda, IO^- oksitlenir. Daha sonra tiroid hormonlarının öncüsü olarak bilinen tirozine transfer edilir (11).

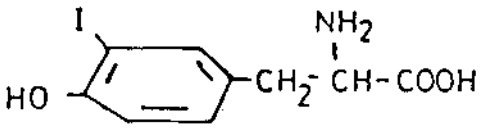
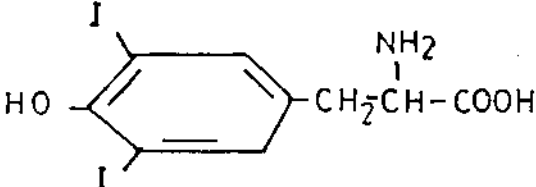
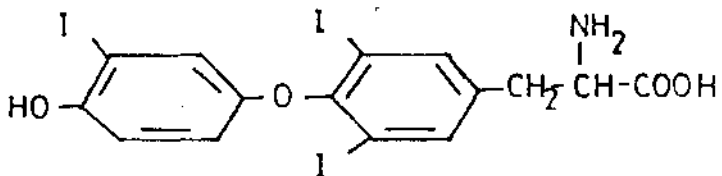
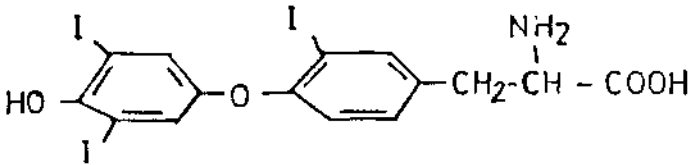
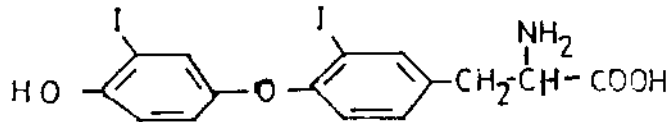
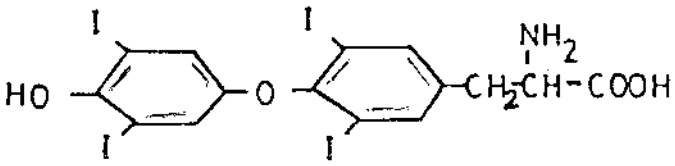
III- Tiroid hormonlarının proteolizis ile yıkımı ve sekresyonu :

Normal koşullarda iyodun % 90'ı organik şekle dönüşür. Ancak iyot oksidasyonu bu aşamada tiyotürasil tarafından engellenmektedir. Tiyosiyanat ise iyot alınmasını engeller (9). İyot, tiroid bezinde bulunan tiroglobulindeki tirozil artıkları tarafından tutulur. Tg'daki tirozinin aromatik halkasının önce 3 sonra da 5 pozisyonu iyodinizasyonu uğrar (6,9,10,11). Tg'de tiroksin (T_4) sentezi üç aşamada olmaktadır.

a- Tirozinin iyotlanması ile monoiyodotirozin (MIT),
b- MIT'in iyotlanması ile diiyodotirozin (DIT),
c- İki DIT'in bağlanması ile tetroiyodotironin (T_4 = tiroksin) veya bir MIT ile bir DIT in bağlanması ile tiroiyodotironin (T_3) meydana gelir (4,9). Tiroglobulindeki amino asitlerin iyodinizasyonu tiroid peroksidaz enzimi tarafından kataliz edilir. Tiroglobulin hormonal bir özelliğe sahip değildir. Sadece Tg'nin proteolizi sonucu iyodotironinler meydana gelir (4).

Tablo I-1 de iyot ihtiva eden tiroid bezi bileşikleri görülmektedir.

Tablo I-1- İyot ihtiva eden tiroid bezi bileşikleri (4)

Bileşik	Tiroid bezindeki yüzdeleri	T ₄ 'e göre aktivite oranı
 3-Monoiyodotirozin (MIT)	17 - 28	0
 3,5 - Diiyodotirozin (DIT)	25 - 42	0
 3,5,3' - Triiyodotironin (T ₃)	5 - 8	300-500
 3,3',5' - Triiyodotironin (revers T ₃ r T ₃)	< 1	5
 3,3' - Diiyodotironin	< 1	5-10
 3,5,3',5' - Tetraiyodotironin (T ₄ =Tiroksin)	35-40	100

I-5- Tiroid bezinde iyot depolanması :

Tiroid bezi, tiroid hormon sentezi için iyot depolar. Normal bir insanın tiroid bezinde 5-7 mg iyot bulunmaktadır. Bunun % 95'i Tg'deki kolloid içindedir. Günlük olarak diyetle bağlı olarak alınan iyot miktarı 200-300 µg kadardır. Ayrıca günlük olarak 60-70 µg iyot tiroid bezinden hormon şeklinde salgılanmaktadır. Tiroid bezinde iyodun % 45'i tiroksin, % 3 ü tirotriiodotiroininde dir. Geri kalan iyot miktarı ise diğer iyodotirozinler olarak kalmaktadır (4).

I-6- T_3 ve T_4 Sekresyonu :

Normal bir insanda günlük olarak oluşan tiroid hormon ürünlerinin başında 70-90 µg arasında T_4 ve 35 µg kadar T_3 gelir. Oluşan T_3 miktarının yaklaşık % 75-80'i T_4 ün hedef dokuda T_3 'e dönüşümü esnasında olmaktadır (4). T_3 , tiroksine kıyasla 5-10 kat daha fazla biyolojik aktiviteye sahiptir. Yüzde olarak T_3 'ün % 25-20 si ise tiroid tarafından meydana gelir (2,19).

Iyodürlerin yakalanması, iyoda çevrilmesi ve tiroid hormonlarının salınması ön hipofiz bezinden salgılanan tiroidi stimüle eden hormon tirotropin (TSH) tarafından yönetilir. TSH sekresyonu ise hipotalamik tirotropin salgılayıcı hormona (TRH) bağımlıdır. Dolayısıyla yüksek T_3 ve T_4 bulunması, hipofiz uygulanan feed-back yolu ile TSH sekresyonunun inhibe edilmesine neden olur (19).

I-7- T_3 ve T_4 ün taşınımı:

Tiroksin, karaciğer tarafından üretilen üç taşıyıcı protein vasıtasıyla taşınmaktadır. Öncelikle spesifik taşıyıcı bir polipeptitten oluşan ve molekül ağırlığı 55.000 olan, elektroforetik mobilitesi α_1 -globulin ile α_2 -globulin arasında yer alan tiroksin bağlayan globulin (TBG) dir. İkinci taşıyıcı ise tiroksin bağlayan pre-albumindir. Prealbumin, elektroforetik olarak albuminin hem önünde yürür. Bunlardan başka tiroksinin küçük bir kısmı da albumin tarafından taşınmaktadır.

Normal koşullarda T_4 'ün % 60'ı TBG, % 30'u pre-albumin ve % 10'u da albumin tarafından taşınır. T_3 ise TBG tarafından taşınmakta olup, T_4 'e göre bağlanma ilgisi % 10 kadardır. T_4 'ün kanda yarılanma ömrü 6-7 gün iken, T_3 'ün yarılanma ömrü ise 1 gündür (4,9,11,14,21).

Protein bağlı olmayan serbest T_3 (free, FT_3) ve serbest T_4 (FT_4) ün kandaki düzeyleri ise protein bağlı hormonlarla dengeli olarak FT_3 , total T_3 ün % 0,3 ü kadar ve FT_4 ise total T_4 'ün %0,03 ü kadardır (14).

Plazmada metabolik olarak aktif hormonlar serbest T_3 ve serbest T_4 'tür (4,12,13). Tiroid hormonlarının serum konsantrasyonları tablo I-2 de görülmektedir.

Tablo I-2- Serum tiroid hormon düzeyleri (4).

	T_4	T_3
Serum konsantrasyonları		
Total :	4.0-11.0 µg/dl	70-180 ng/dl
Serbest:	2.0 ng/dl	0,3 ng/dl
Total oluşma hızı :	70-90 µg/gün	~ 35 µg/dl
Tiroid tarafından oluşumu:	% 100	% 20-25

I-8- Tiroid bezi hastalıkları :

a- Hipertiroidizm (Tirotoksikoz) :

Tirotoksikoz olarak bilinen tiroid hiperfonksiyonu çoğu metabolik işlemlerin artmış oranları ile karakterizedir (4). Tiroid hormon fazlalığının yol açtığı sendrom kolaylıkla farkedilebileceği gibi uzun süre hiçbir kuşku duyulmadan da sürebilir. Burada anahtar belirti bazal metabolik hızın (BMR) normalden % 30-60 kadar artmasıdır. Yani tiroidle ilişkili bütün organların çalışmalarında artma görülmektedir. Dolayısıyla aşırı aktif, büyümüş tiroid bezi, guatrı oluşturur. Klinik belirtiler arasında hipokolesterolemi, hiperglisemi, glikozüri,

negatif azot dengesi, kalp vuruş sayısında artma, kan basıncında artma, yorgunluk, terleme, kaslarda titreme, idrarda azotlu madde artması ve diare ön sıralarda gelmektedir (1,2,4,8,9,10,11,12,13,18,21).

Hipertiroidizm de en çok görülen ekzoftalmik guatr'dır. Buna Besedow veya Graves hastalığı da denir. Bu hastalık toksik difüz guatr olarakta bilinmektedir. Ekzoftalmik guatr'da bazal metabolizma normalin çok üstünde artar ve göz kürelerinin dışarı çıkması bu hastalığın tipik örneğidir (2,4,9,11,19). Daha çok kadınlarda rastlanan Graves hastalığı herhangi bir yaşta görülebilir (8,19).

Hipertiroidizm de serum total T_3 düzeyi yüksektir ve serum total T_4 düzeyleri ise normal veya biraz yüksektir. Bu hastalıkta serum TSH düzeylerinde düşme gözlenmektedir. Tri-toksikoz durumunda sadece total T_3 veya T_4 yükselmiş olup TSH düzeyi ise normal bulunabilir (11). Hipertiroidizm de serbest T_4 düzeyleri az da olsa yüksektir. Serbest T_3 düzeyleri hipertiroidizme FT_4 ten önce yükselmeye başlar (14).

b- Hipotiroidizm :

Tiroid hipofonksiyonu ; vücuda ait işlemlerde belirgin bir yavaşlama, BMR ve vücut ısısında azalma olarak görülmektedir. Hipofonksiyon doğumda veya doğumdan sonraki bir dönemde ortaya çıkabilir. Hipertiroidizm de sözü edilen belirtilerde yavaşlama veya azalma görülür (2,4,8,9,10,11,12,13,19). Hipotiroidizm doğumda mevcut ise yetersiz mental gelişme ile sonuçlanan kretinizm gelişir. Yetişkinlerde miksödem terimi, daha şiddetli hipotiroidi durumları anlatır (4). Yetişkinlerde ısının düşmesinden dolayı soğuğa karşı duyarlılığa, zeka geriliği ve deride mukopolisakarit birikimine miksödem denilmektedir (12).

Hipotiroidizm belirtileri, hipertiroidizm belirtilerinin tersidir. Metabolizmada genel bir yavaşlama, mental gerilik, şişmanlama, kan kolesterol seviyesinin artması, kuru cilt, boğuk ses ve kıl dökülmesi gibi belirgin belirtiler sayılabilir (2,4,9,11,19).

Hipotiroid, tiroid bezinden kaynaklanırsa primer, TSH sekresyonu yetersizliğinden meydana geliyorsa sekonder olarak bilinir. Hipotalamus kökenli hipotiroidizm ise tersiyer

hipotiroidizm olarak adlandırılmaktadır (4,11). Primer hipotiroidizm de TSH düzeyi yüksek; total T_3 , total T_4 , serbest T_3 ve serbest T_4 düzeyleri düşüktür (11). Sekonder hipotiroidizmde ise tiroid fonksiyonlarının yanında TSH seviyesinde de azalma görülür (8,11,13).

I-9- Tiroid Hormonlarının etkileri :

Tiroid hormonları hedef hücre membranını serbestçe geçerler ve yavaş etki göstererek bir sitosol taşıyıcıya bağlanır ve ilk etkilerini hedef hücrenin proteinini sentez eden mekanizma üzerinde çekirdekte yaparlar (4,9,21).

Normal konsantrasyonlarda tiroid hormonları anabolik bir etkiye sahiptirler. Bu suretle RNA ve protein sentezinin artmasına sebep olurlar. Bu etki bazal metabolizmanın artışından önce meydana gelir. Protein sentezini kolaylaştırması nükleer düzeyde yalnız RNA sentezinin artmasıyla meydana gelmez, aynı zamanda protein sentezinin meydana geldiği ribozomda, haberci RNA (mRNA), içinde bulunan mesajın çevrilişinin artışı şeklinde olmaktadır (9,21).

Tiroid hormonlarının genler üzerindeki etkisi sonucu protein sentezi artarken, hayvan deneylerinde tiroksin enjeksiyonu sonucu bazı enzimlerin aktivitelerinde artış meydana geldiği gözlenmiştir. Tiroid hormonlarının bu yol ile büyüme üzerinde etkili olduğu sanılmaktadır (4).

Yüksek konsantrasyonlarda, negatif azot dengesi gözlenir ve protein sentezi kısıtlanır. Kalsiyum ve lipid dönüşümü (turnover'i) artar ve kemikten kalsiyum mobilize olur. Tiroid hormonunun oksidatif fosforilasyonu çözücü ve mitokondrilerde şişmeyi artırıcı etkisinden dolayı, ATP şeklinde enerji depolanmaz ve ısı üretimi meydana gelir (9,21).

Protein sentezinin artması özellikle üre döngüsü enzimleri üzerinde etkili olmaktadır. Bu yüzden amonyotelizmden üreotelizme geçiş, üre döngüsü enzimlerinin artması ile birlikte olmaktadır. Hayvan karaciğer deneylerinde, enjekte edilen tiroksinin karbamoil fofat sentetaz I enzimi ile birlikte glutamat dehidrogenaz (GDH) enziminde de bir artış meydana

getirdiği gözlenmiştir. Ayrıca tiroksin miktarına bağlı olarak üre döngüsü enzimlerinden karaciğer arginazının fetal gelişme süresince arttığı belirtilmektedir. Tiroksin verilen gebe sıçanların yavrularının karaciğerinde gliserol kinaz, gliserol fofat dehidrogenaz, malik enzim ve glukokinaz enzimlerinde artış olduğu belirtilirken, tiroksinin in vitro olarak direkt etkisi bilinmemektedir (4).

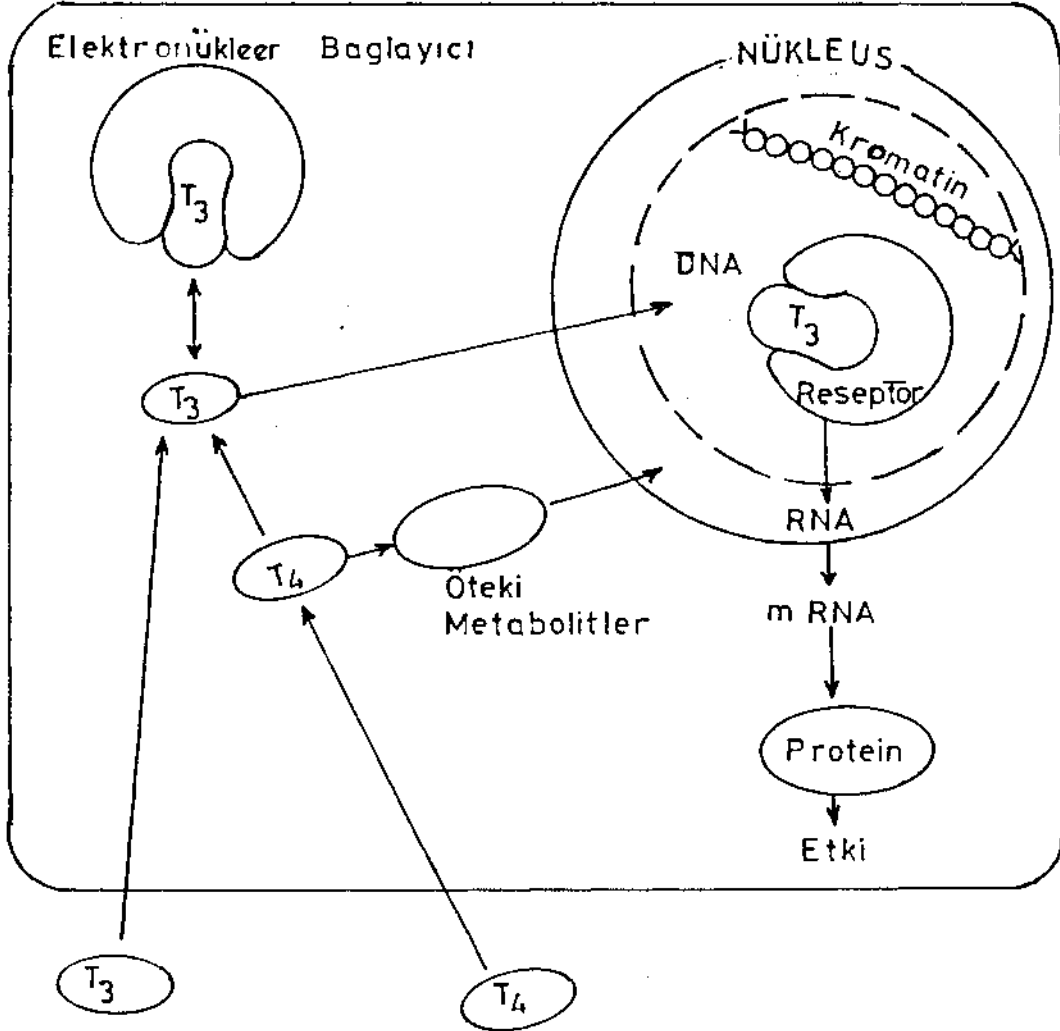
Kurbağalar üzerinde yapılan çalışmalarda tiroksinin metamorfoza sebep olduğu ve metamorfoz sırasında üre döngüsünü tüm enzimlerinin sentezlendiği ve tiroksin tarafından indüklendikleri tespit edilmiştir (12).

Tiroid hormonlarının üre biyosentezi üzerine etkileri hakkında araştırmacılar arasında ortak bir görüş birliği sağlanmıştır. Zira bu konuda yapılan çalışmalarda, ilginin ikna edici olmadığı veya zıt görüşler olduğu görülmektedir. 1988 yılında fareler üzerinde yapılan bir çalışmaya göre hipotiroidizm de üre sentez hızının arttığı ve serum üre düzeyinde bir artış olurken, hipertiroidizm de serum ve idrar üre düzeylerinde herhangi bir artışın olmadığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada hipotiroid farelerde idrar ürik asit atılımında artma görülürken, hipertiroidi farelerde değişiklik görülmemiştir (22).

Tiroid hormonlarının hücresel etkileri şekil 1-1- de özetlenmektedir.

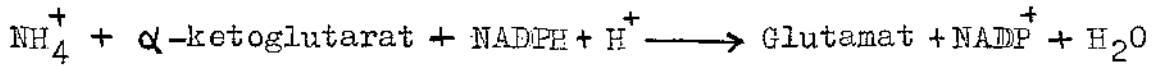
Şekil I-1- de görüldüğü gibi tiroid hormonları hedef dokuda hücre zarını geçerek direkt olarak non-histon proteinden oluşan nükleer kromotin reseptörüne bağlanırlar. T_3 'ün nükleer reseptöre bağlanma eğilimi T_4 'e göre 10 kat daha fazladır. Nükleer tiroid hormonunun % 85-90'ı T_3 , geri kalan ise T_4 tür. Nükleer T_3 , serum T_3 ile T_4 'ten deiyodinizasyon sonucu oluşan T_3 'tür. T_3 -nükleer reseptör kompleksi DNA üzerine etki ederek haberci RNA (mRNA) ve ribozomal RNA (rRNA) sentezini arttırır. mRNA ribozomlara gerekli bilgiyi aktararak protein sentezinin artmasını sağlar (13).

Şekil 1-1. Tiroid Hormonlarının Etkisi (13)

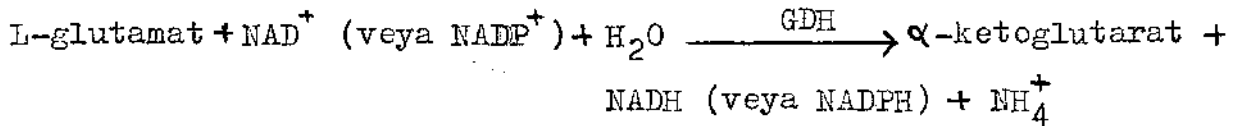


I-10- Organizma için toksik etkili amonyak :

Kaynağı amino asit metabolizmasında amino grupları olan amonyak (NH_3), vücutta bazı reaksiyonlar sonucu meydana gelmektedir (23). Mitokondri de glutamat dehidrogenaz enzimi sayesinde glutamattan amonyak oluşmaktadır. Amonyak, toksik etkisi dayısıyla küçük miktarlarda bile organizmada rahatlıkla koma oluşturabilir. Bu etkiden kurtulmak için oluşan amonyanın ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir. Amonyak, kan pH'sında hemen hemen tamamen % 98 oranında NH_4^+ şeklinde bulunur. Böylece NH_4^+ iyonları hücre ve mitokondri zarını geçemez. Halbuki serbest amonyak için bütün zarlar geçirgendir (23,24). Kandaki amonyanın % 1 kadarı serbest halde bulunur. Beyin hücrelerinde ve onların mitokondrilerine girdikten sonra amonyak, α -ketoglutarat ile birleşerek glutamat dehidrogenaz enzimini ters işletir ve glutamat oluşturur.



sonuçta, α -ketoglutarat beyin sitrik asit döngüsünden çekilerek çok yüksek ATP gereksinimi olan beyin hücrelerinde ATP oluşumu yavaşlatılmış veya bloke edilmiş olur (24). Böylece aşağıda yürümesi gereken reaksiyon ters işler ve amonyanın toksik etkisi görülür (25).

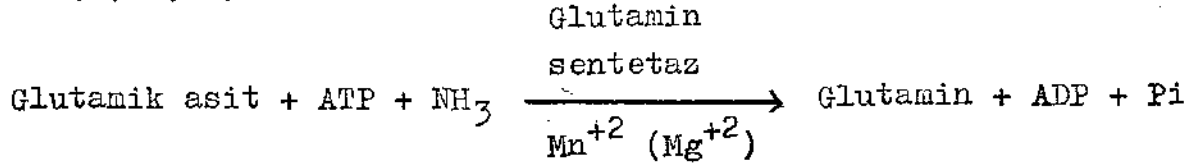


I-11- Amonyanın akıbeti :

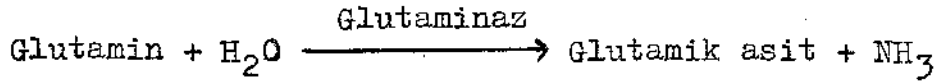
Amino asitlerin deaminasyonu veya pirimidinlerin yıkımı ile oluşan amonyanın başlıca kaynağı dokulardır. Kana ise ancak eser miktarda geçer (% 30-120 μg). Bağırsaktaki mikroorganizmaların da besin proteinlerini sindirmesi sonucu açığa çıkan amino asitlerin az olmayan bir kısmının yıkımı ile amonyak oluşturulur. Bu amonyak vena porta ile kana geçer (1).

Periferik dokularda ve organlarda oluşan toksik etkili amonyak, onu zararsız hale getirecek olan organa, yani

karaciğere glutamin aracılığıyla taşınır. Birçok dokular ve bu arada beyin de, amonyağı glutamat ile birleştirerek glutamin oluşturur (1,24,25).

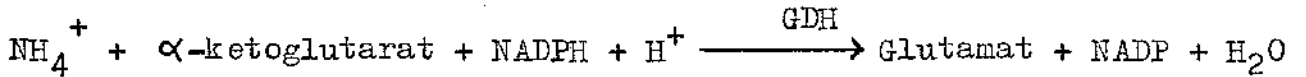


Bu reaksiyon sonucu oluşan glutamin, bazı araştırmacılara göre kanda amonyak yerine bulunur (1). Glutamin; nötral, toksik olmayan ve zarları kolaylıkla geçebilen bir moleküldür. Halbuki glutamat negatif yük taşıdığından hücre zarlarını geçemez. Karaciğere gelen glutamin, orada glutaminaz enzimi tarafından tekrar glutamat ve amonyağa hidroliz olur (1,24,25).

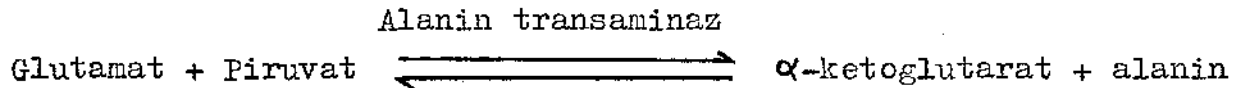


Kas dokularında oluşan amonyak ise, alanin aracılığı ile karaciğere taşınır. Alanin fizyolojik pH' da net yükü olmayan nötral bir amino asit olduğundan kolayca kana geçerek karaciğere taşınır. Olay şöyle olmaktadır :

KAS :



Böylece oluşan glutamat, amino grubunu kas dokularında bulunan piruvata transfer eder.



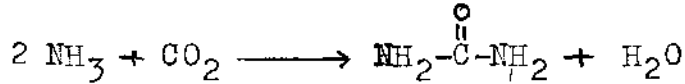
Karaciğerde alanin transaminaz enzimi vasıtasıyla amino grubu tekrar glutamata transfer edilir ve alanin piruvata daha sonrada glukoz dönüşerek kana karışır. Böylece kas dokusunun glukoz ihtiyacını karşılamak üzere kasa döner. Alaninin amonyağı karaciğere taşıması iki yönlü ekonomi sağlar : Birincisi iskelet kası amonyaktan kurtulur, ikincisi ise glukoliz sonucu oluşan piruvatı karaciğere göndererek tekrar glukoz olarak geri alır (1,24).

I-12- Amino azotunun atılımı :

Hayvanlar aleminde amino azotunun organizma dışına atılması üç şekilde olmaktadır : Amonyak olarak, üre olarak ve ürik asit olarak. Sularda yaşayan bir çok hayvan amino azotlarını amonyak olarak atarlar ve bunlara amonyotelik canlılar denir. Karada yaşayan canlıların büyük bir kısmı amino azotlarını üre olarak attıklarından bunlara da üreotelik canlılar adı verilir. Kuşlar, timsahlar ve yılanlar ise amino azotunu ürik asit olarak atarlar ve bu canlılar da ürikotelik canlılar olarak bilinirler (1,24,25).

I-13- ÜRE

Memelilerde, köpek balıklarında ve amfibilerde protein metabolizmasının son ürünü olarak deaminasyon sonucu oluşan amino azotu, karaciğerde üreye dönüştürülür (13). Üre, toksik olmayan, % 47 azot içeren ve suda çok iyi çözünen bir maddedir (14). Normal bir yetişkin, idrarla günde (24 saat) 30 gram kadar üre atar (2,25). Deaminasyon veya deimidasyon sonucu meydana gelen NH_3 ve metabolizma ürünü olarak kanda bulunan CO_2 birleşerek üreyi meydana getirirler (2).



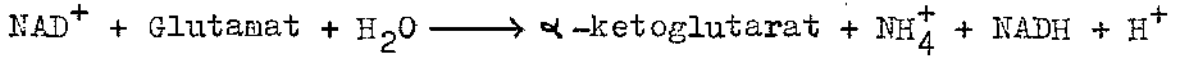
Görünüşte basit gibi olan bu reaksiyon, karaciğerde bir dizi reaksiyonlar zinciri sonucu oluşurki buna üre döngüsü denilmektedir. Krebs-Henseleit tarafından 1932 yılında keşfedildiği için Krebs-Henseleit döngüsü olarakta bilinir. Üre döngüsü, kısmen mitokondrilerde ve kısmen de sitoplazmada gerçekleşen bir çevirin üzerinden karaciğerde oluşur (1,12,26). Üre döngüsünde kullanılan amino gruplarından biri aspartat'tan, diğeri ise başlangıçta glutamattan karbamoil fosfat halinde döngüyle katılır (12,24).

Üre, yüksüz olup toksik değildir ve biyolojik membranlardan kolayca geçerek böbrek üzerinden kolayca dışarı atılabilir. Boşaltım bakımından tek sakıncası, boşaltımın oldukça büyük bir idrar hacmini zorunlu kılmasıdır. Sıcak iklimlerde

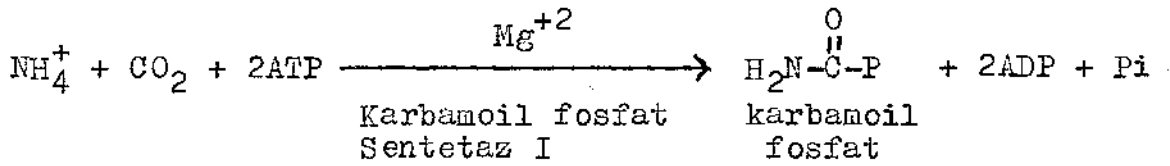
yaşıyan sürüngenler ve kuşlar bu nedenle üre değil de, üreye göre daha az çözünen ürik asit atarlar (12).

Yukarıda da bahsedildiği gibi açığa çıkan amonyağın üre oluşturmak üzere, solunum sonucu oluşan CO_2 ile birleştirmesini sağlayan organ karaciğerdir. Yani üre oluşturulması bir zehirsizleştirme olayıdır ve ayrıca üre oluşumu amino asit metabolizmasının kilit tepkimesidir (27).

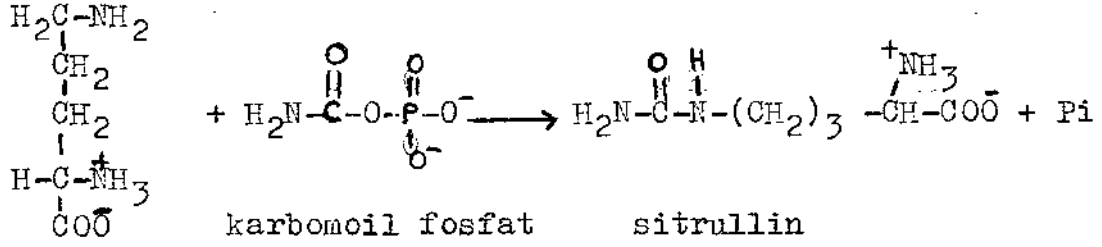
Üre döngüsüne giren ilk amino grubu, glutamatın oksidatif deaminasyonu ile açığa çıkan amonyak olarak katılır.



Bu reaksiyondan elde edilen amonyak, mitokondri solunum sonucu oluşan CO_2 ve ATP ile karbamoil fosfat sentetaz I enzimi aracılığı ile karbamoil fosfatı oluşturur. Karbamoil fosfat sentetaz I enzimi mitokondrisel bir enzimdir. Ayrıca sitoplazmada bulunan ve pirimidin biyosentezinde görev alan karbamoil sentetaz II enzimi vardır ki bu enzim üre oluşumunda görev almaz. Karbamoil fosfat sentetaz I enzimi aracılığıyla karbamoil fosfat, aşağıdaki reaksiyona göre iki ATP harcanması ile oluşur (24).

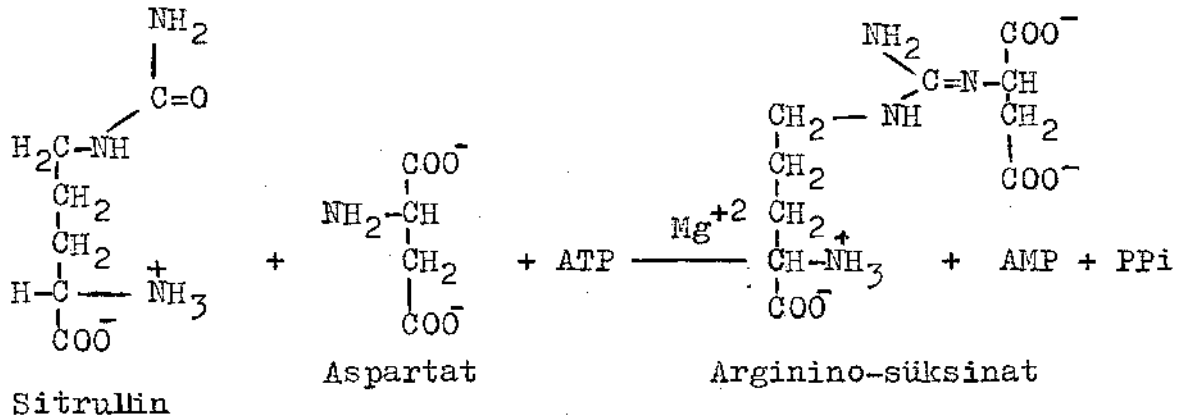


Bu reaksiyonu katalizleyen karbamoil fosfat sentetaz I enzimidir ve özellikle mitokondrilerde bulunur. Ayrıca bu enzim N-asetil glutamik aside ihtiyaç duymaktadır. Karbamoil fosfat mitokondrilerde ornitin ile reaksiyona girer ve karbamoil grubu ornitine transfer edilerek sitrullin molekülünü oluşturur. Bu reaksiyon da, Mg^{+2} gerektiren mitokondrisel bir enzim olan ornitin transkarbamilaz tarafından gerçekleşir.

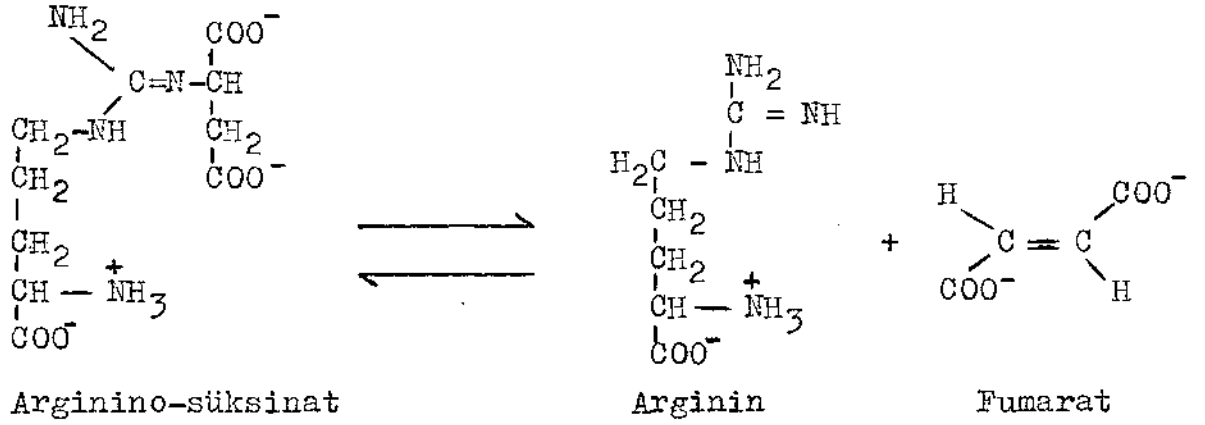


Ornitin

Bu şekilde oluşan sitrullin mitokondriyi terk eder ve karaciğer hücresinin sitoplazmasına geçer. İkinci amino grubu üre döngüsüne işte bu safhada aspartat üzerinden girer. Aspartatın amino grubu ile sitrullinin karbamil karbonu arasında bir kondensasyon sonucu sitrullin amino grubunu kazanır ve bu reaksiyon, Mg^{+2} bağımlı ve amino grubunun transferi için bir ATP'ye ihtiyaç duyan arginino-süksinat sentetaz enzimi tarafından gerçekleştirilerek arginino-süksinat meydana gelir.

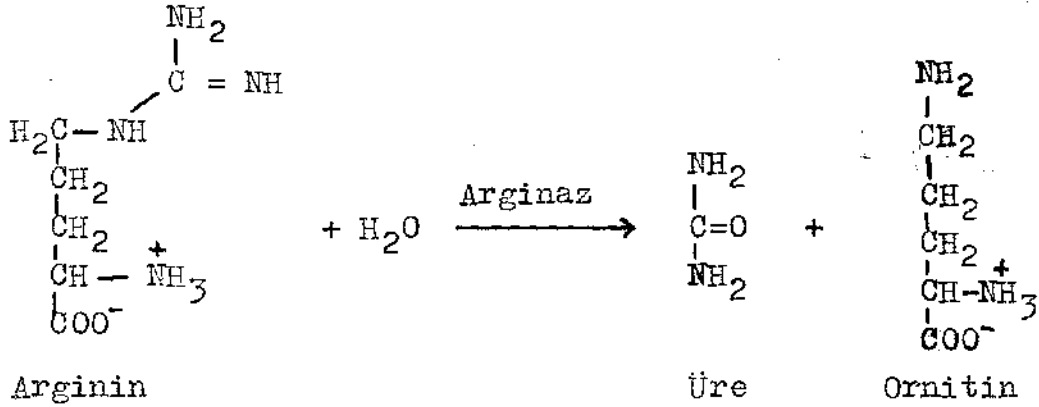


Bundan sonraki aşamada arginino-süksinat, arginino süksinat liyaz enzimi tarafından arginin ve fumarata bölünür.



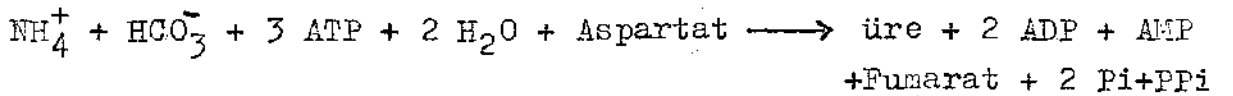
Burada oluşan fumarat sitrik asit ara ürünlerine karışır ve dolayısıyla bu noktada üre döngüsü ile sitrik asit döngüsü arasında bir bağlantı sağlanır.

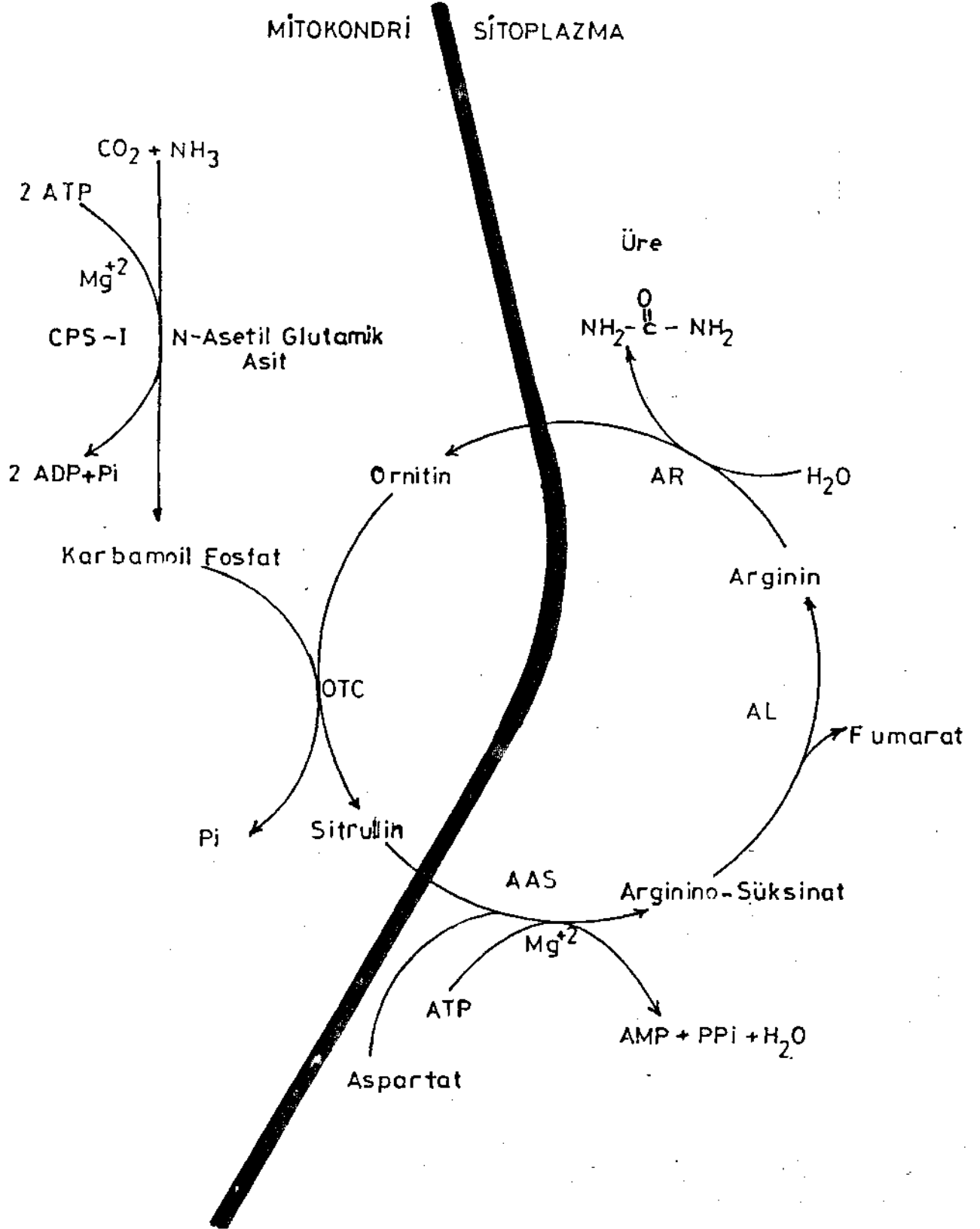
Üre döngüsünün son safhasında arginin, üre ve ornitin olarak arginaz enzimi tarafından parçalanır.



Bu bilgiler ışığında üre döngüsü şekil 11-2 de görüldüğü gibi şematik olarak gösterilebilir (12).

Bu şekilde oluşan ornitin yeni bir üre döngüsünde kullanılmak üzere tekrar sitoplazmadan mitokondriye girer. Üre döngüsünün tüm reaksiyonlarını tek bir denklem halinde aşağıdaki gibi gösterebiliriz :





Şekil 1-2 - Üre Biyosentezi (12). CPS-I - :Karbamoil fosfat sentetaz I, OTC: Ornitin transkarbamilaz, AAS: Arginino-süksinat sentetaz, AL: Argininosüksinat liyaz, AR: Arginaz.

Üre oluşumu için 3 ATP harcanmaktadır. Pirofosfat da iki inorganik fosfata hidroliz olmaktadır. Dolayısıyla bir molekül üre oluşturmak için toplam 4 ATP'ye denk enerji harcanmış olur. Üre oluşumu, organizmanın yüksek konsantrasyonlarda amonyak toplanmasını önleyen oldukça pahalı bir işlemdir (1,4,12,23,24,25).

1961 yılında yapılan bir çalışmada protein alımına bağlı olarak üre oluşumunda bir artış meydana geldiği ve bu artışın sebebinin üre döngüsü enzim aktivitelerinde meydana gelen artıştan kaynaklandığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada üre döngüsü enzimlerinin fazla karbonhidrat alımıyla azaldığı, az alınan karbonhidrat sonucu üre döngüsü enzimlerinde bir artışın görüldüğü rapor edilmiştir (28).

1980 yılında yapılan bir çalışmada ; karaciğer ornitin düzeyinin mevcut serbest amino asit varlığına bağlı olarak üre biyosentezi üzerinde etkili olduğu ve üre sentezini arttırdığı bildirilmiştir (29).

Kanda üre tayini üre azotu (BUN) ve üre olarak yapılabilmektedir. Azotlu maddelerin metabolizmasının son ürünü olan üre, böbrekler kanalıyla çıkarıldığı için böbrek bozuklukları derecesini anlamada faydalar sağlamaktadır (30).

I-13-a- Kanda üre düzeyinin arttığı haller :

- 1- İdrar yollarının tıkanması,
- 2- Akut ve kronik böbrek yetmezlikleri,
- 3- Konjestif kalp hastalıkları,
- 4- Kusma, diyare, fazla terlemeye bağlı su ve tuz kaybı,
- 5- Protein katabolizmasının arttığı haller,
- 6- Yanıklar, şok,
- 7- Yüksek protein diyetleri.

I-13-b- Kanda üre düzeyinin azaldığı haller :

- 1- Düşük protein, yüksek karbonhidrat diyeti,
- 2- Ağır karaciğer harabiyeti,
- 3- Gebeliğin son ayları,

- 4- Akromegali,
- 5- İlaç zehirlenmeleri.

I-14- KREATİNİN

Kreatin ; karaciğerde arginin, glisin ve metiyoninden sentezlenir. Daha sonra kas hücrelerine taşınan kreatin, burada fosforilasyona uğrayarak kreatin fosfat oluşturur. Kreatin fosfat kas dokularının başlıca enerji kaynağını teşkil etmektedir (8). Ayrıca memelilerin kas dokularının yanında beyinlerinde yüksek enerjili kreatin fosfat bulunmaktadır (25).

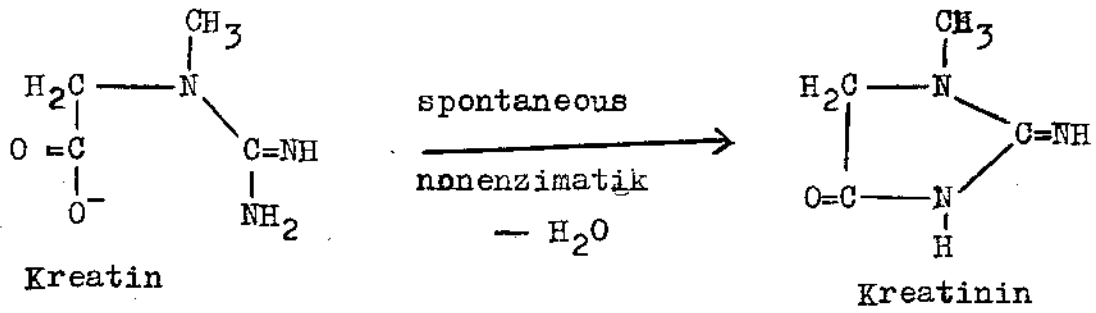
Fosfokreatin gerektiğinde fosforik asidini vererek halkalı bir yapı oluşturur ki bu son yapıya kreatinin adı verilmektedir (2). Ayrıca kreatin'de bir mol su kaybederek halkalı yapıli kreatinini oluşturur.

Kreatinin idrarla dışarı atılır. İnsanda kreatinin yapımı o kimsenin kas kitlesi ile doğru orantılıdır. Alınan besinsel azot ile ilişkili değildir (2). Kas kreatin'in % 2 si günlük olarak kreatinin'e dönüşür (13). Bir gün içinde vücudun her kg'ı başına düşen dışarı atılan mg cinsinden kreatinine "kreatinin koefisiyânı" denilir. Normal olarak erkeklerde bu değer 20-26 mg, kadınlarda ise 14-22 mg arasındadır. İdrarla atılan kreatin ise kreatinin % 6'sı kadardır. Gebelikte, ileri derecede açlıkta, karbonhidrat metabolizması bozukluğunda, bazı kas hastalıklarında, enfeksiyon hastalıklarında ve hipertiroidi'de kreatin atımında artma, hipotiroidi de ise azalma görülür (2,21).

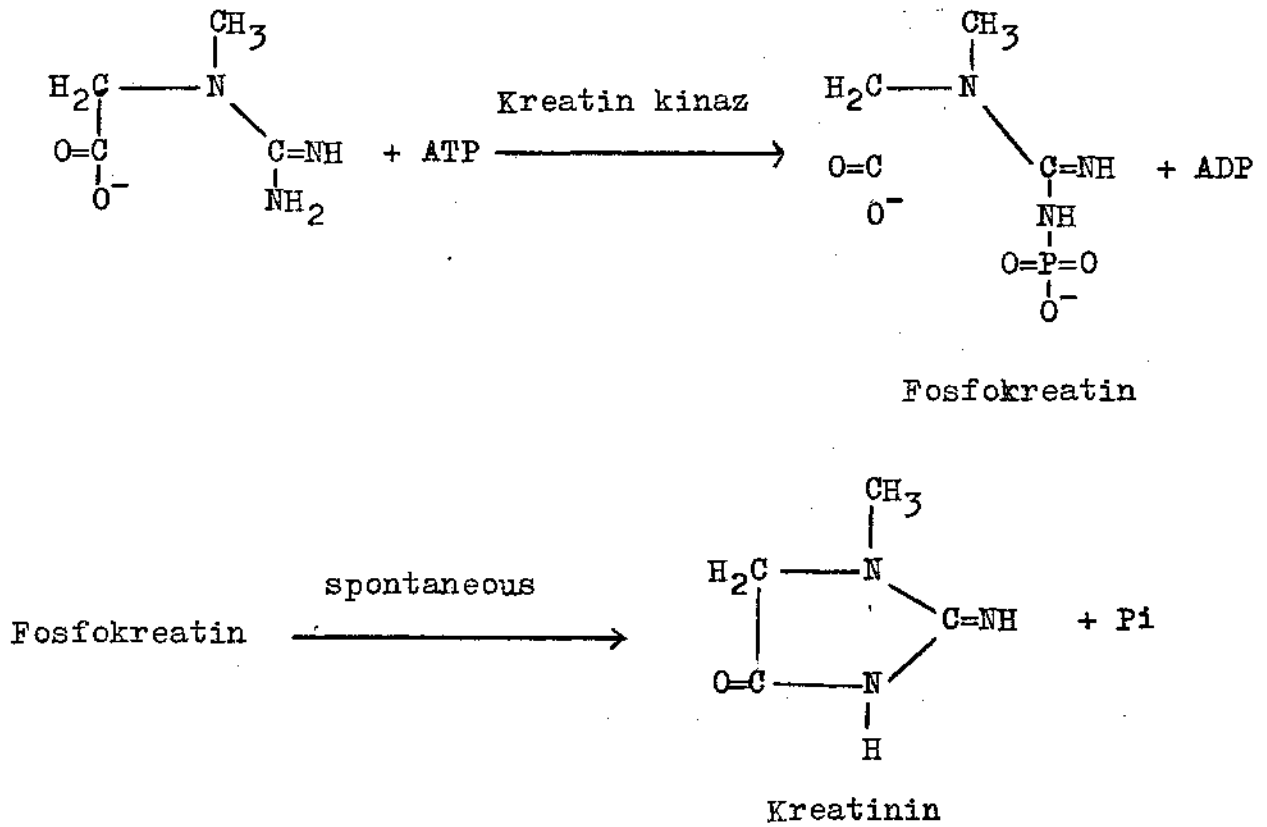
Kreatinin, böbreklerden idrarla atılır ve diyetten etkilendiği için böbrek fonksiyonunun göstergesi olarak üreden daha anlamlıdır. Aynı amaçla kreatinin klirensi'de sağlıklı sonuçlar almak için kullanılır (30).

I-14-a- Kanda kreatinin'in arttığı haller :

- 1- Böbrek bozuklukları
- 2- İdrar akımını engelleyen idrar yolu tıkanıkları,
- 3- Hipertiroidi,
- 4- Gigantizm.



Şekil 1-3 : Kreatin' den kreatinin oluşması



Şekil 1.4 : Fosfokreatin' den kreatinin oluşması

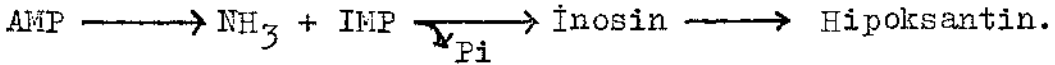
I-14-b- Kanda kreatinin'in azaldığı haller :

- 1- Kas distrofisi,
- 2- İleri yaşlılık,
- 3- Gebelik.

I-15- ÜRİK ASİT

İnsanlarda ve birçok memelilerde pürin metabolizmasının son yıkım ürünü ürik asittir. Bazı hayvanlarda ise ürik asit ürikaz enzimi vasıtasıyla allantoin ve balıklarda ise allantoinik asit ve üreye çevrilir (2,23,31).

Memelilerde adenilik asit (AMP), adenilik asit deaminaz ile deamine olur. Bu enzim kaslarda ve diğer dokularda bulunur (31). AMP-deaminaz enzimi vasıtasıyla AMP'den IMP meydana gelir. IMP'nin hidrolizi sonucunda ise inosin oluşur ki, inosin hipoksantine dönüşür (23).

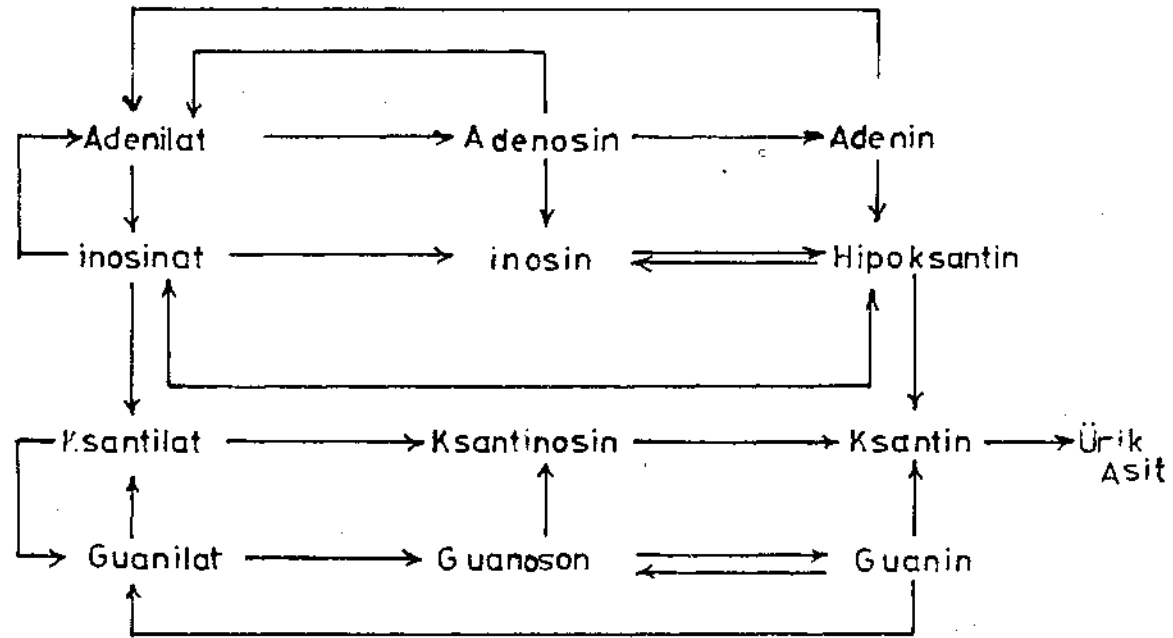


GMP (guanosin monofosfat)'ın deaminasyonu sonucunda ise guanosin oluşmaktadır. İnosin ve guanosin uygun nükleosid fosforilazlar tarafından hipoksantine ve guanine dönüşürler. İnosinden açığa çıkan hipoksantin, ksantin oksidaz aracılığı ile ksantine oksitlenmektedir. Guanosinden meydana gelen guanine ise guanaz enzimi tarafından ksantine çevrilmektedir (23, 24,25,31).

Görüldüğü gibi gerek adenin ve gerekse guanine ortak bir ürün olan ksantine düşmektedirler (31). Her iki yol ile oluşan ksantin, karaciğerde ve intestinal mukozada bir flavin enzimi olan ksantin oksidaz tarafından oksitlenerek pürin metabolizmasının son ürünü olan ürik asidi oluştururlar (1,8,13,23,24, 31).

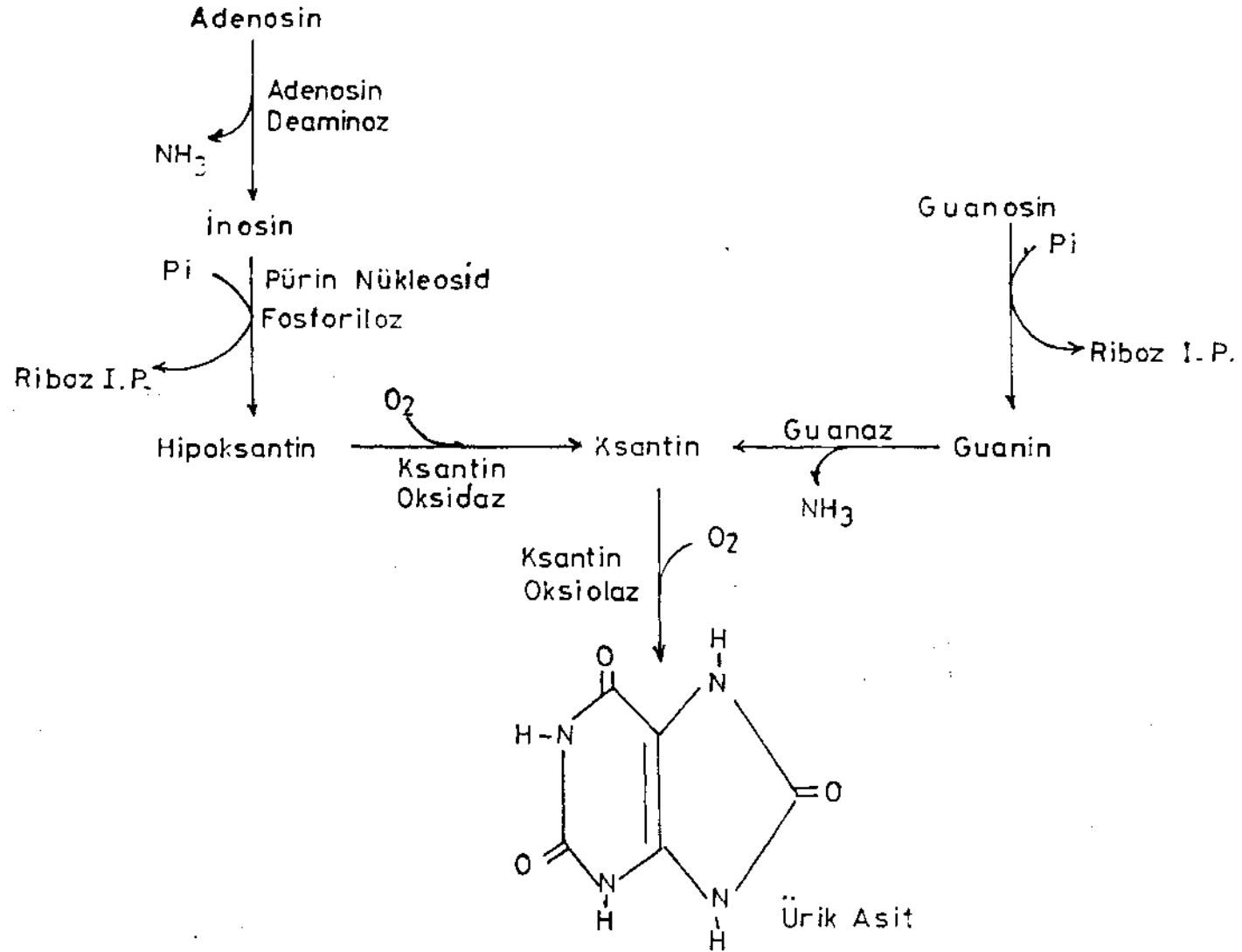
I-15-a- Kanda ürik asidin arttığı haller :

- 1- Gut (damla) hastalığı,
- 2- İleri böbrek hastalıkları,
- 3- Lösemi,



Sekil 1-5- Pürin Türevlerinin Birbirine Dönüşümü (25)

Şekil 1-6: Ürik asit oluşumu



- 4- Multipl miyelom,
- 5- Işın tedavisi,
- 6- Akut enfeksiyonlar,
- 7- Hemolitik anemiler,
- 8- Pernisiyöz anemiler,
- 9- Hipoparatiroidi,
- 10- Kurşun zehirlenmeleri,
- 11- Tip III. hiperlipoproteinemi,
- 12- Primer ve sekonder polisitemi,
- 13- Primer hiperoksalüri.

I-15-b- Kanda ürik asidin azaldığı haller :

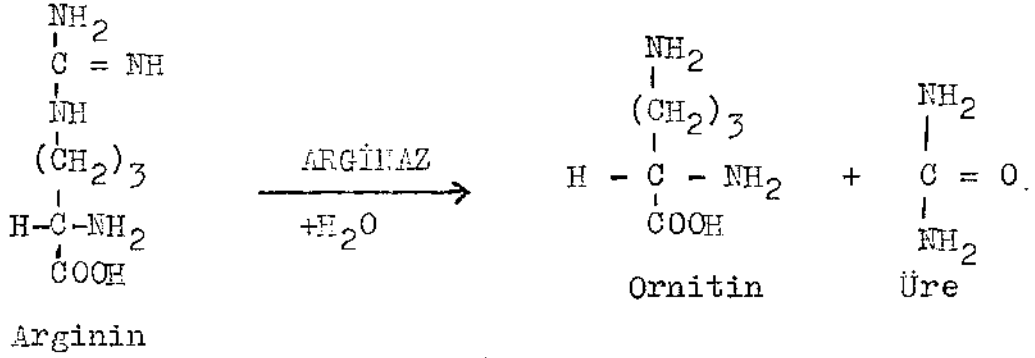
- 1- Wilson hastalığı,
- 2- Falconi sendromu,
- 3- Akreomegali,
- 4- Hodgkin hastalığı.

Ayrıca allopurinol, dicumarol, kortizon, fenilbutazon, salisilatlar gibi ilaçların alınması da serum ürik asit düzeyini düşürür (30).

I-16- ARGİNAZ

Arginaz (L-Arginin amidinohidrolaz, EC. 3.5 3.1), üre döngüsünün son enzimi olup, arginini üre ve ornitine hidroliz eder (6,7,32,33). 40 yıldan fazla bir süreden beri arginazın çeşitli özelliklerini tespit etmek için laboratuvarlarda çalışmalar yapılmaktadır. Bu yüzden kinetik verilerde bir çok ayrılıklar mevcuttur. Aynı şekilde dokulardaki arginaz kinetiği üzerinde de farklı kinetik veriler elde edilmiştir (32).

1904 yılında Kossel ve Dakin tarafından keşfedilen arginaz sitoplazmik ve enzim olup, aşağıdaki reaksiyon ile arginini üre ve ornitine hidroliz eder (7,32,33).



Anakaynağı üre döngüsünün bulunduğu karaciğer olan arginaz enzimi diğer dokularda da daha düşük düzeylerde bulunur. Bu dokuların başında eritrosit, lokosit, trombosit, iskelet ve kalp kası, beyin, bağırsak, böbrek, tükürük bezleri, placentada ve testisler gelmektedir (7,33,34). Karaciğer arginaz aktivitesinin beslenmeye ve hormonal etkiye bağlı olduğu araştırmacılar tarafından belirtilmektedir. Normal insan serumunda çok düşük düzeyde arginaz bulunmaktadır. Eritrosit arginaz düzeyinin serum arginaz düzeyinden 200 kat fazla olduğu artık bilinmektedir (7). Arginaz enzimi sadece üreotelik canlılarda bulunmaz. Bunun yanı sıra bazı ürikotelik canlılarda da arginazın varlığı tespit edilmiştir (6,34).

Gerek fareler ve gerekse insan dokularında yapılan çalışmalarda arginaz enziminin beş izoenziminin olduğu, immünelektroforez ile double diffüzyon testleri sonucu bu izoenzimler A_1 , A_2 , A_3 , A_4 ve A_5 diye simgelenmiştir (35,36). Çoğu anyonik olan bu izoenzimlerin organlara dağılımı ise aşağıdaki şekilde bulunmuştur (35).

Karaciğer	Böbrek	Tükürük bezi
A_1, A_2, A_3, A_5	A_1, A_4	A_2, A_3

Bir çalışma sonucu fare barsak ve beyin arginaz izoenzimlerinin katyonik A_1 ve anyonik A_4 olduğu bildirilmiştir (37). Bugün insan dokularında bulunan beş izoenziminin molekül ağırlıklarının 120.000 civarında olduğu, farklı elektroforetik mobilité, izoelektrik nokta ve immunokimyasal özellikler gösterdiği saptanmıştır (36).

İnsan eritrositlerinde ise arginazın iki şekli olduğu ve bunların A_2 ile A_4 olarak tespit edildiği bilinmektedir. Eritrosit arginazlarının böbrek A_4 ile karaciğer A_2 arginaz izoenzimleri ile benzer immunolojik özellikler gösterdiği ve molekül ağırlıklarının yaklaşık olarak 120.000 ± 5000 olduğu bildirilmektedir (38).

Sağlıklı kişilerin kan serumlarında arginaz aktivitesi oldukça düşüktür (6,36,39). Halbuki miyokard enfarktüsü geçiren kişilerde, ilk koroner ağrıdan bir kaç saat sonra serum arginaz aktivitesinde yükselme görülmüş ve bu yükselmenin 3-5 gün sonra normale döndüğü tespit edilmiştir. Buradan hareketle serum arginaz aktivite düzeyinin MI da erken teşhis için önemli bilgiler verdiği kanaatine varılmıştır (39).

Argininin hidrolizi için uygun pH'nın 9,4-9,8 arasında olduğu ve çift valanslı metal iyonları Co^{+2} , Ni^{+2} , Cd^{+2} , V^{+2} , ye nazaran Mn^{+2} nin maksimum aktiviteyi $55^{\circ}C$ de preinkübasyonla gösterdiği arginazın bilinen önemli özelliklerindendir (7, 32,33,34). Ayrıca hidroliz olayını, üre döngüsü ürünlerinden sadece ornitinin inhibe ettiği ve ağır metallerden Ag^{+2} ile Hg^{+2} nin de inhibitör özelliği taşıdığı literatür bilgilerinden anlaşılmaktadır (7). Ayrıca ornitinden başka lizinin de arginaz inhibitörü olduğu bilinmektedir.

Karaciğerden saflaştırılan arginazın spesifik aktivitesinin saflaştırılmayan enzim aktivitesinden 410 kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca eritrosit arginaz aktivitesinin $(NH_4)_2 SO_4$ ile çöktürüldükten sonra 520 kat arttığı bilinmektedir. Karaciğer arginazının molekül ağırlığı 107.000 olarak bulunmuştur (40)

Fetal hayat başlangıcında karaciğer arginaz düzeyi oldukça yüksektir. Gelişmeye bağlı olarak GDH, timidilat kinaz enzimleriyle birlikte arginaz enzim aktivitesinin düştüğü çalışmalar sonucu meydana çıkartılmıştır. Arginazın fetal hayat-taki izoenzimlerine nazaran, karaciğerde ikinci bir izoenzim gelişmektedir. Yaşa bağlı olarak yeni izoenzimlerin türeyişinin gen aktivitesinin gelişimine bağlı olduğu bildirilmiştir (41).

Fareler üzerinde metiltiyourasil (MTU)'in kronik kullanıma bağlı olarak yapılan bir çalışmada, tiroid arginaz aktivitesi incelenmiştir. Bu çalışmaya göre, poliamin biyosentezinin yapıldığı tiroid bezinde arginaz aktivitesinin MTU tedavisinden sonra arttığı gözlenmiştir. Ayrıca artan TSH, T_4 verilerek süprase edilmiştir. Bu çalışmadan tiroid arginazının dolaşımdaki TSH ile bağlantılı olduğu, artan poliaminin sentezinin arginaz aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir (42). Ayrıca arginaz aktivitesinin tiroksine bağlı olduğu bildirilmiştir (4).

Tiroksin verilen fareler üzerinde yapılan çalışmada barsak arginaz yanıtının erken oluştuğu, böbrek arginaz aktivitesinin çok az yükseldiği fakat beyin arginazının tiroksinden etkilenmediği görülmüştür (5). Hipertiroidi ve hipotiroidi fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise hipotiroidi durumlarda karaciğer arginaz aktivitesinin çok arttığı, hipertiroidi durumlarda ise karaciğer arginaz aktivitesinin çok az yükseldiği bulunmuştur (22).

İnsan arginazı için iki farklı gen lokusu bulunmaktadır (6,43,44). Kromozomlarda bulunan 2 adet gen lokuslarından birinin karaciğer ve eritrosit arginazı sentezinden sorumlu olduğu fikri ağır basmaktadır. Bu lokusun kaybolması sonucu arginaz eksikliği olarak bilinen hiperargininemi meydana gelir(43). Hiperargininemi'de plazma arginin konsantrasyonu artar veya normalin biraz üstüne çıkar (45). Klinik belirtiler olarak zeka geriliği, gelişme bozukluğu görülür (6,45,46). Ayrıca beyin muhtelif alanları arasındaki potansiyel farkını gösteren elektroensifalogram (EEG)'de anormal pik elde edilmesi de akut hiperargininemi olarak değerlendirilir. Yapılan çalışmada hiperargininemisinin belli miktarlarda esansiyel amino asit, yağ, karbonhidrat, mineral ve vitaminden oluşmuş yarı sentetik diyetlerle tedavi edilebileceği görülmüştür (45).

Eritrosit arginaz aktivitesi, kötü sonuçlara sebep olan bir çeşit kansızlık (pernicious anemia) ve telessemi (Akdeniz anemisi) de artmaktadır (47). Miyokard enfarktüsünde (33,39), hepatit, siroz gibi hastalıklarda da eritrosit arginazının artma gösterdiği tespit edilmiştir. Bunların dışındaki karaciğer hastalıklarında ise artma olmadığı bildirilmektedir (33).

Ayrıca kurşunlu ortamda çalışan kişilerin eritrosit arginazının arttığı başka bir çalışmada belirtilmiştir (47).

Beslenme ile arginaz ilişkisi incelendiğinde ; protein alımının enzim kinetiğini değiştirmedeği, enzim molekül miktarını arttırdığı görülmüştür. Enzim aktivitesinin alınan proteine bağlı olarak değişimi, memeli sistemde spesifik enzim proteininin sentez ve yıkımına sebep olan bir adaptasyon mekanizması sonucu olmaktadır (28,34). Bu adaptasyon sonucu üre oluşumundaki paralel değişiklik, konsantrasyondaki değişiklikten değil de, enzim aktivite düzeyinin değişiminden ileri gelir. Ayrıca üre döngüsü enzimleri fazla karbonhidrat alımıyla azalmakta, karbonhidrat alımı azaldığında üre döngüsü enzimleri artmaktadır (28).

II. BÖLÜM

MATERYAL VE METODLAR

II-1- MATERYAL

Çalışma materyalini oluşturan kan örnekleri Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarına tiroid hormon düzeyleri tespit edilmek üzere başvuran 350 kişi arasında tiroid hormon düzeyleri anormal bulunan 66 kişiden, kontrol grubu materyali ise hiçbir şikayeti olmayan 54 sağlıklı kişiden sağlandı.

II-1-1- Örnek alınması, hazırlanması ve saklanması :

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan kişilerden 10 ml kan alındı. Bu kanın 2 ml'si hemolizat hazırlamak için oksalatlı tüplere aktarıldı. Geriye kalan 8 ml kandan ise serum elde edildi.

Serum elde etme : Pıhtılaşmaya bırakılan kanlar, daha sonra Hettich-Universal marka santrifüjde 10 dakika 3000 rpm de santrifüj edildi. Elde edilen serum ikiye ayrıldı.

a- Tiroid hormon düzeylerin tespiti için 1,5 er ml serum ağız kapaklı polipropilen tüplere alınarak daha sonra kullanılmak üzere -20°C de BOSCH marka derin dondurucuya alındı. Bu ısıda serumlar bir ay saklanabilir (11).

b)- Serum üre, ürik asit ve kreatinin düzeyleri tespiti için ise 1,5 er ml serum ayrıldı. Hemen kullanıldı veya ertesi gün kullanılmak üzere $+4^{\circ}\text{C}$ de buzdolabında saklandı.

Hemolizat hazırlanması : Kan alımından bir kaç gün önce antikogulanlı tüpler aşağıdaki şekilde hazırlandı : Santrifüj tüplerine 0,5 ml 0,1 N sodyum oksalat kondu ve bu tüpler Nüve marka etüvde 160°C de 3 saat bekletilerek suyun uçması sağlandı. Soğuyan tüplerin ağız parafilm ile kapatıldıktan sonra ileride kullanılmak üzere saklandı. Hemolizat, aşağıdaki işlemler takip edilerek hazırlandı : Hasta ve kontrol grubu kişilerden alınan kanın 2 ml si antikogulanlı

(oksalatlı) tüpe aktarıldı. Tüpün ağzı parafilm ile kapatıldıktan sonra alt-üst edilerek pıhtılaşma önleildi. Tüpteki kanın hacmi cam yazar kalem ile işaretlendikten sonra Hettich-Universal marka santrifüjde 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden alındıktan sonra üstteki plazma otomatik pipet ile itinalı bir şekilde alındı ve orijinal hacim kadar serum fizyolojik (% 0,9 NaCl) ilave edilerek tekrar santrifüj edildi. Bu işlem üç kez tekrar edildi. Son yıkamadan sonra orijinal hacme kadar soğuk 2,5 mM $MnCl_2$ ilave edildi. Alt-üstü edildikten sonra tam hemoliz olması için buzdolabının buzluğunda 10 dakika bekletildi. Tam hemoliz sağlandıktan sonra materyal hemen kullanıldı veya ileride kullanılmak üzere $+4^{\circ}C$ de buzdolabında saklandı.

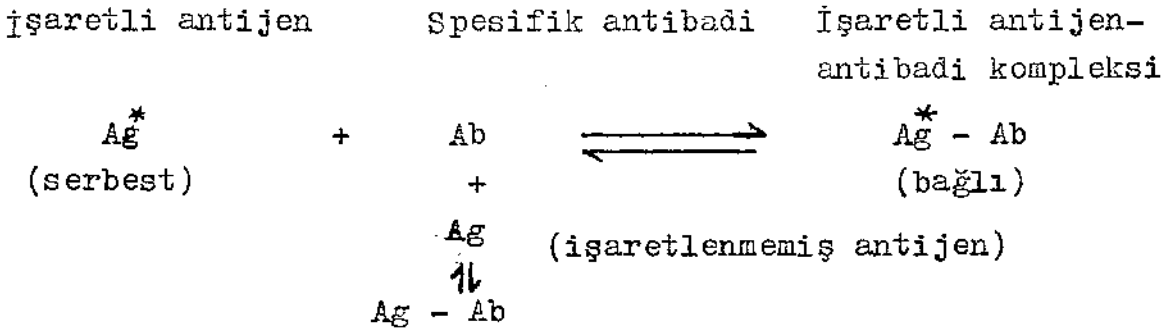
Hazırlanan hemolizat buz dolabında $+4^{\circ}C$ de 7 gün aktivite kaybı olmaksızın saklanabilir.

II-2- METODLAR

1- Tiroid hormon düzeylerinin ölçülmesi :

Hasta ve kontrol grubundaki tüm kişilerin serum tiroid hormon düzeyleri RIA (Radioimmunoassay) metodu ile ölçüldü.

RIA metodunun prensibi : Bir izotopla işaretli antijenin, işaretlenmemiş antijenle rekabete girerek antikorla bağlandığı bir kompetatif bağlanma yöntemidir. İşaretlenmemiş antijen, standard veya bilinmeyen örnek türündendir (10,11,48,49).



İşaretlenmemiş antijen-antibadi kompleksi

Genel olarak RIA yöntemi ile hormon analizleri beş kademeden meydana gelir (49).

1- Örnek ve reaktifin pipetlenmesi ve karıştırılması : Örnek hazırlama işlemi standartların, bilinmiyenin ve reaktiflerin pipetlenmesidir. Birkaç standart dilüsyon hazırlanır. Hasta serumu ve standarttan eşit hacimlerde deney tüplerine alınır. Daha sonra her tüpe belli hacimde anti serum ve işaretli antijen ilave edilir ve iyice karıştırılır. Bütün işlemlerde otomatik pipet kullanıldı.

2- İnkübasyon : İnkübasyon süresi denge haline gelmek için gereken süredir. Bu sürede işaretlenmiş ve işaretlenmemiş antijenler antikordaki bağlanma yerleri için rekabete girerler. Denge halinde gelme süresi ölçülecek antijene bağlı olarak değişebilir.

3- Bağlanmış ve bağlanmamış antijenin ayrılması : Kaplanmış tüp tekniği bir ayırma yöntemi olup, antikora bağlanmış antijenin bağlanmamış fraksiyondan ayrılmasında kullanılır. Bu amaçla iç cidarı antikor ile kaplanmış polipropilen tüp kullanılır. Bu sistemde antijen-antikor kompleksi katı fazda, serbest antijen ise sıvı fazda bulunur.

4- Radyoaktivitenin ölçümü : Ölçümler, SESA marka Uniscaler I/S model gama sayıcı ile birer dakikadaki sayım olarak alındı.

5- Standart eğri çizimi ve hesaplama : Bu çalışmadaki hormon düzeyleri logit-logit eğri çizimi kullanılarak hesaplandı. Logaritmik grafik kağıdının y eksenini % bağlanma ve x eksenini konsantrasyonu göstermektedir. Eğri noktaları lineer regresyon eğrisini meydana getirir. Yüzde bağlanma aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı. Burada NSB (non spesifik bağlanma), işaretli antijen ile spesifik olarak bağlanacak antikor içermeyen örnektir. % B/Bo (yüzde bağlanma) hesaplanırken standartların ve bütün örneklerin cmp olarak sayımlarından NSB tüpünün cmp sayımının farkı alınır ve sıfır konsantrasyon ihtiva eden A standartının cmp'inden NSB tüpünün cmp'nin çıkarıl-

ması ile elde edilen değere bölünerek bulunur. Bunu formül ile şu şekilde gösterebiliriz :

$$\text{Yüzde bağlanma } (B/B_0) = \frac{\text{Örnek (cmp)} - \text{NSB (cmp)}}{A \text{ (cmp)} - \text{NSB (cmp)}} \times 100$$

A : Sıfır konsantrasyon ihtava eden % 100 bağlanma gösteren standarttır.

TOTAL T₃ ÖLÇÜMÜ

DPC (Diagnostic Products Corporation) firmasının kaplanmış tüp tekniği RIA yöntemine göre total T₃ ölçümü aşağıdaki şekilde yapıldı.

Ayırıcılar :

1- Total T₃ antikor kaplı pembe renkli tüpler : Tüpler 2-8°C de bir yıl dayanıklıdır.

2- Tampon (I¹²⁵) Tiridiyodotironin çözeltisi : 1 şişe liyofilize tampon 110 ml distile su içinde çözülür. 10 dakika bekletildi ve sonra alt-üst edilerek iyice karıştırıldı. Çözülükten sonra buz dolabında 2-8°C bir ay dayanıklıdır.

3- Total T₃ Standartları : A'dan F'e kadar farklı konsantrasyonlarda insan serum total T₃ standartları kullanılır. A standardı 2.0 ml, B'den F'e kadar diğer standartlar ise 1,0 ml distile suda çözülür. Standartlar açıldıktan sonra 2-8°C de 30 gün dayanıklıdır. Standart konsantrasyon değerleri aşağıdaki gibidir.

A : 0 ng/dl	D : 100 ng/dl
B : 20 "	E : 200 "
C : 50 "	F : 600 "

İşlem :

1- Pembe renkli antikor kaplanmış tüpler standartlar ve örnekler için, polipropilen tüpler ise NSB için kullanılmak üzere numaralandı. NSB, standart ve örnekler çift olarak çalışıldı.

2- Standart çözeltilerinden kendi tüplerine, örneklerden de örnek tüplerine 0,100 ml kondu. NSB tüplerine ise sıfır konsantrasyonlu A standardından 0,100 ml kondu.

3- Bütün tüplere 1,0 ml total T_3 tamponu ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Tüplerin ağzı parafilm ile kapatıldı.

4- Bütün tüpler 37°C de 120 dakika inkübe edildi.

5- Bu süre sonunda süpernatantlar döküldü ve ters çevrilerek süzölmeye bırakıldı.

6- Her tüp gamma sayıcıda 1 dakika sayılarak, yüzde bağlanmalar hesaplandı ve sonuçlar standard ağıriden bulundu.

Normal değerler : 86-187 ng/dl. Total T_3

TOTAL T_4 ÖLÇÜMÜ

DPC kaplanmış tüp tekniği RIA yöntemine göre yapıldı.

Ayırıcılar :

1- Total T_4 antikor kaplı açık yeşil renkli tüpler $2-8^{\circ}\text{C}$ de bir yıl süreyle saklanabilir.

2- Tampon (I^{125}) tiroksin çözeltisi : 1 şişe liofilize tampon 110 ml distile su içinde çözülür. 10 dakika bekletildikten sonra alt üst edilerek karıştırılır. Bu çözelti $2-8^{\circ}\text{C}$ de buz dolabında 30 güne kadar saklanabilir.

3- Total T_4 standartları : A'dan F'e kadar farklı konsantrasyonlarda insan serum T_4 standartları kullanılır. A standardı 2,0 ml, diğerleri 1,0 ml distile suda çözülür. Standartlar açıldıktan sonra buzdolabında $2-8^{\circ}\text{C}$ de 30 gün dayanıklıdır. Standartların konsantrasyonu aşağıdaki gibidir.

A : 0 $\mu\text{g/dl}$	D : 10 $\mu\text{g/dl}$.
B : 1 "	E : 16 "
C : 4 "	F : 24 "

İşlem :

Açık yeşil renkli antikor kaplanmış tüpler standartlar ve örnekler, polipropilen tüpler ise NSB için kullanılmak üzere numaralandı. NSB, standart ve örnekler çift çalışıldı.

2- Standart çözeltilerinden standart tüplerine, örneklerden örnek tüplerine ve A standardından NSB tüplerine 0,025 ml kondu.

3- Her tüpe total T_4 tampon çözeltisinden 1,0 er ml ilave edildi, iyice karıştırıldı ve tüplerin ağzı parafilm ile kapatıldı.

4- Bütün tüpler 37°C de 60 dakika inkübe edildi.

5- Bu süre sonunda süpernatantlar döküldü ve tüpler ters çevrilerek süzölmeye bırakıldı.

6- Her tüp gamma sayıcıda 1 dakika sayılarak yüzde bağlanma hesaplandı ve sonuçlar standart eğri den bulundu.

Normal değerler : 4,5-12,5 $\mu\text{g/dl}$ Total T_4

SERBEST T_3 (FT_3) ÖLÇÜMÜ

DPC kaplanmış tüp tekniği RIA yöntemi ile FT_3 ölçümü aşağıdaki gibi yapıldı.

Ayırıcılar :

1- Deniz mavisi renkli antikor kaplı serbest T_3 tüpleri buzdolabında $2-8^{\circ}\text{C}$ de kullanılmak üzere bir yıl dayanıklıdır.

2- Serbest T_3 (I^{125}) tamponu : Bir şişe liyofilize tampon 110 ml distile su içinde çözülür. 10 dakika bekletildikten sonra alt-üst edilerek karıştırılır. Hemen kullanılır veya $2-8^{\circ}\text{C}$ de 30 gün içinde kullanılmak üzere saklanır.

3- Serbest T_3 standartları : A'dan G'ye kadar farklı konsantrasyonlarda liyofilize standartlar kullanılır. A standardı 2,0 ml, diğerleri ise 1,0 ml distile suda çözülür. Standartlar çözüldükten sonra $2-8^{\circ}\text{C}$ de 30 gün saklanabilir.

Standard konsantrasyonları aşağıdaki gibidir.

A : 0 pg/ml	E : 7,0 pg/ml
B : 0,5 "	F : 21,0 "
C : 1,6 "	G : 42,0 "
D : 3,5 "	

İşlem :

1- Deniz mavisi antikor kaplanmış serbest T_3 tüpleri standartlar ve örnekler, polipropilen tüpler ise NSB için kullanılmak üzere numaralandı. NSB, standard ve örnekler çift çalışıldı.

2- Standart çözeltilerinden standart tüplerine, örneklerden örnek tüplerine ve A standardından NSB tüplerine 0,100 ml kondu.

3- Her tüpe I^{125} serbest T_3 tampon çözeltisinden 1,0 er ml ilave edildi ve iyice karıştırıldıktan sonra bütün tüpler parafilm ile kapatıldı.

4- Bütün tüpler $37^{\circ}C$ de 3 saat inkübe edildi.

5- Bu süre sonunda süpernatantlar döküldü ve tüpler ters çevrilerek filtre kağıdı üzerinde süzölmeye bırakıldı.

6- Her tüp gamma sayıcıda 1 dakika sayıldı ve yüzde bağlanma hesaplanarak sonuçlar standard eğriden bulundu.

Normal değer : 1,4-4,7 Pg/ml FT_3

SERBEST T_4 (FT_4) ÖLÇÜMÜ

DPC kaplanmış tüp tekniği RIA yöntemi ile FT_4 aşağıdaki şekilde ölçüldü :

Ayıracılar :

1- Açık sarı renkli antikor kaplı serbest T_4 tüpleri buzdolabında $2-8^{\circ}\text{C}$ de kullanılmak üzere bir yıl dayanıklıdır.

2- Serbest T_4 (I^{125}) tamponu : Bir şişe liyofilize tampon 110 ml distile suda çözüldükten sonra 10 dakika bekletilir. İyice alt-üst edilir. Hemen kullanılır veya kullanılmak üzere buzdolabında $2-8^{\circ}\text{C}$ de 30 gün saklanabilir.

3- Serbest T_4 standartları : A'dan G'ye kadar farklı konsantrasyonlarda liyofilize standartlar kullanılır. A standardı 2,0 ml, diğerleri 1,0 ml distile suda çözüldükten sonra hemen kullanılır veya $2-8^{\circ}\text{C}$ de 30 gün saklanabilir. Standard konsantrasyonları aşağıdaki gibidir :

A : 0	ng/dl	E : 2,2	ng/dl
B : 0,1	"	F : 4,8	"
C : 0,5	"	G : 10,0	"
D : 1,3	"		

İşlem :

1- Açık sarı renkli antikor kaplı serbest T_4 tüpleri standartlar ve örnekler, polipropilen tüpler ise NSB için kullanılmak üzere numaralandı. NSB, standard ve örnekler çift çalışıldı.

2- Standart çözeltilerinden standart tüplerine, örneklerden örnek tüplerine ve A standardından NSB tüplerine 0,05 ml kondu.

3- Her tüpe serbest T_3 tampon çözeltisinden 1,0 er ml ilave edildi ve iyice karıştırıldıktan sonra tüplerin ağzı parafilm ile kapatıldı.

4- Bütün tüpler 37°C de 60 dakika inkübe edildi.

5- Bu süre sonunda süpernatantlar döküldü ve tüpler ters çevrilerek filtre kağıdı üzerinde süzölmeye bırakıldı.

6- Her tüp gamma sayıcıda 1 dakika sayıldı ve yüzde

bağlanma hesaplandıktan sonra sonuçlar standard eğriden bulundu.

Normal değerler : 0,8 - 2,0 ng/dl.

TSH ÖLÇÜMÜ

Serum TSH (tiroid stimulan hormon) düzeyi, çift antikor tekniği ile tayin edildi. Ölçüm tüpü olarak polipropilen tüp kullanıldı.

Çift antikor tekniği ile antijen-antikor kompleksi, ikinci bir antikor ile çöktürülerek serbest antijenden ayrılır. Birinci antikor ile meydana gelen kompleks çözünabilir bir komponent ise çok yüksek devirli santrifüj ile daha çöktürülemez. İkinci antibadi ilavesinde meydana gelen kompleks santrifüj ile ayrılabilir ise, çift antikor yönteminde ikinci antikor ilavesinden sonra karışım santrifüj edilerek antikor-antijen kompleksinin ayrılması sağlanır.

AYIRACILAR

1- TSH antiserum : Bir şişe liyofilize TSH antiserumu 10 ml distile suda çözülür. Çözöldükten sonra hemen kullanılır veya 30 gün içinde kullanılmak üzere 2-8°C de buzdolabında saklanır.

2- TSH tampon (I^{125}) çözeltisi : Bir şişe liyofilize I^{125} TSH tamponu 10 ml suda çözöldü. Çözöldükten sonra hemen kullanılır veya 2-8°C de 30 gün saklanabilir.

3- TSH standartları : A'dan G'ye kadar farklı konsantrasyonlarda liyofilize standartlar kullanılır. Standartlar kullanılmadan en az 30 dakika önce çözölmüş olmalıdır. A standardı 6,0 ml, diğerleri ise 3,0 ml distile suda çözöldü. Standartlar çözöldükten sonra 2-8°C de 30 gün saklanabilir. Standart konsantrasyonları ise aşağıdaki gibidir :

A : 0	µIU/ml	E : 10	µIU/ml
B : 0,5	"	F : 20	"
C : 1,5	"	G : 60	"
D : 4,0	"		

4- Çöktürme solusyonu : Anti tavşan gamma globulin içeren bu solusyon, tuz içinde polietilen glikol ile sulandırılmıştır. 2-8°C de 30 gün saklanabilir ve soğuk olarak kullanılmalıdır.

İşlem :

1- NSB, standart ve örnek tüpleri olarak polipropilen tüpler kullanılarak çift çalışma yapıldı.

2- NSB ve A tüplerine A standardından 0,200 ml, diğer standartlardan standart tüplerine ve örneklerden de örnek tüplerine 0,200 ml kondu.

3- NSB tüplerinin dışında bütün tüplere 0,100 ml TSH antiserum ilave edildi ve iyice karıştırıldı.

4- Tüpler parafilm ile kapatıldı ve 37°C de 120 dakika inkübasyona alındı.

5- Bütün tüplere 0,100 ml I¹²⁵ TSH tamponu ilave edildi ve iyice karıştırıldı.

6- Tüpler 37°C de 1 saat tekrar inkübe edildi.

7- Bütün tüplere soğuk çöktürme solusyonundan 1,0 er ml ilave edildi ve iyice karıştırıldı.

8- Tüpler Hettich-Universal Marka soğutmalı santrifüje alındı ve 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edildi.

9- Süpernatantlar döküldü ve filtre kağıdı üzerinde süzölmeye bırakıldı. Çökelekler aspire edilmemelidir.

10- Her tüp gamma sayıcıda 1 dakika sayıldı ve yüzde bağlanma hesaplanarak, sonuçlar standart eğriden faydalanılarak bulundu.

Normal değerler : 0,3-4,5 μ IU/ml.

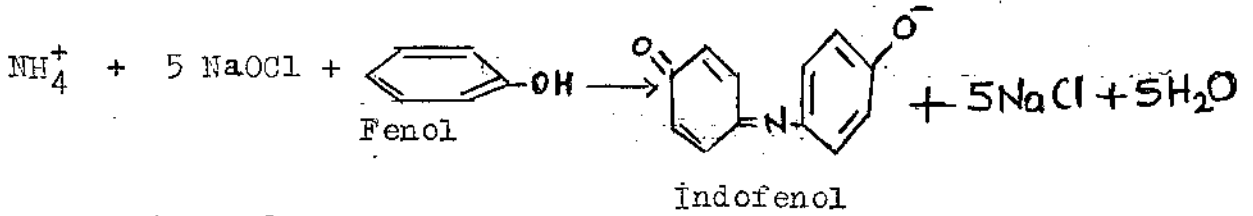
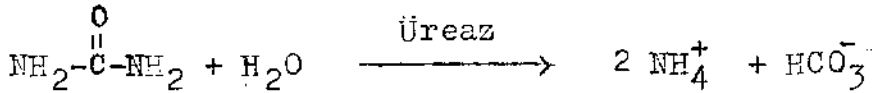
2- Serum Üre Tayini :

Serum üre düzeyleri Üreaz-Berthelot metodu ile saptandı.

Metodun prensibi : Üre, üreaz tarafından amonyum ve karbonata hidroliz olur. A monyum iyonu ise nitroprusiyat katali-

zörlüğünde fenol ve hipoklorit ile mavi renkli indofenol'u oluşturur. Mavi rengin şiddeti örnekteki üre miktarına paralel olarak artar. Reaksiyon amonyuma karşı duyarlı olduğundan, bütün basamaklarda kullanılan suyun amonyumdan temizlenmiş olması gerekir. Bunun için iyon değiştirici reçinelerden geçirilmiş su kullanılmalıdır (8,13,50).

Üreaz-Berthelot reaksiyonu aşağıdaki gibi yürür.



Ayrıraçlar :

1- Alkali hipoklorit : 12,5 gr. NaOH 400 ml distile suda çözülür. Bunun üzerine 20 ml sodyum hipoklorit eklenir. (piyasadaki ağartıcılar, çamaşır suları % 5,25 klorür içerir. Hipoklorit olarak 20 ml çamaşır suyu kullanıldı). Sonra son hacim 500 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti buzdolabında +4°C de saklanır. Porsiyonlara bölünerek kullanılır.

2- Fenol : 25 gr fenol ve 0,13 gr sodyum nitroprusiyat bir miktar suda çözüldükten sonra son hacim 500 ml'ye tamamlanır. Buzdolabında +4°C de saklanır ve porsiyonlara bölünerek kullanılır.

3- EDTA tamponu : EDTA-disodyum tuzundan 5,0 gr. alınarak 250 ml suda çözüldükten sonra üzerine 200 ml gliserin ilave edildi. % 4 lük NaOH ile pH ayarı 6,5'e ayarlandıktan sonra son hacim 500 ml ye tamamlanır ve gerektiğinde kullanılmak üzere +4°C de buzdolabında saklanır.

4- Üreaz : 30 mg üreaz 100 ml EDTA tamponunda çözülür. Üreaz kolloidal olarak kaldığından kullanılmadan önce çalkalanarak iyice karıştırılmalıdır.

5- Benzoik asit (0,016 M) : 2 gr. benzoik asit kaynar su banyosundan faydalanılarak 100 ml suda çözülür ve 0,8 ml konsantre H_2SO_4 ilave edilerek iyice karıştırılır. Buzdolabında $0-4^{\circ}C$ de saklanmalıdır.

6- Stok üre standardı : 30 mg üre 100 ml benzoik asit içinde çözülür. Bu standard 30 mg/dl üre içerir ve buzdolabında $0-4^{\circ}C$ de saklanır.

7- Sulandırılmış üre standardı : Stok standard 1/10 oranında (1 ml stok standard + 9 ml benzoik asit) sulandırılarak deneyde kullanılır. Bu standard 3 mg/dl üre içerir. Buzdolabında $+4^{\circ}C$ de saklanır.

İşlem :

Serum örnekleri, serum fizyolojik ile 1/10 oranında (0,1 ml serum + 0,9 ml serum fizyolojik) sulandırıldı. Deneyde örnek olarak bu sulandırılmış örnek kullanıldı. Hesaplama sonucu 10 ile çarpılarak gerçek sonuç bulunmalıdır.

Bu ön hazırlıktan sonra üre tayini aşağıdaki işlem takip edilerek bulundu.

	Kör	Std	Örnek
Üreaz (ml) :	0,5	0,5	0,5
Std (ml) :	-	0,2	-
Serum (ml) :	-	-	0,2
Distile su (ml):	0,2	-	-

İyice karıştırıldı ve $37^{\circ}C$ de 15 dakika inkübe edildi.

Fenol (ml) :	1,0	1,0	1,0
Hipoklorit (ml):	1,0	1,0	1,0

İyice karıştırıldı ve $37^{\circ}C$ de tekrar 15 dakika inkübe edildi.

Distile su (ml):	10,0	10,0	10,0
------------------	------	------	------

Tüpler tekrar karıştırıldı ve standart ile örnek tüplerinin absorbanları, kör tüpüne karşı 580 nm de Spektronic 21 spektrofotometresinde okundu.

Hesaplama :

$$\text{mg/dl üre} = \frac{\text{Örnek absorbanı}}{\text{Std. absorbanı}} \times 3 \times 10$$

Eğer örneğin absorbanı çok yüksek ise örnek ikinci kez sulandırılmalı ve deney tekrar edilmelidir. Sonuç sulandırma faktörleri ile çarpılıp bulunmalıdır.

Normal değer : 10 - 50 mg/dl üre.

3- KREATİNİN ÖLÇÜLMESİ

Serum kreatinin miktarı Jaffe tepkimesi ile ölçüldü.

Metodun prensibi : Kreatinin alkali pikrat çözeltisi ile turuncu bir kompleks oluşturur. Bu renk aynı işlemi gören standart kreatinin eriyiği ile karşılaştırılır (50,51).

AYIRIÇLAR

1- % 10 luk sodyum tungustat : 10 gram sodyum tungustat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) bir miktar distile suda çözüldükten sonra son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Oda ısısında saklanır.

2- $\frac{2}{3}$ N H_2SO_4 : Konsantre H_2SO_4 'ten hesaplanarak hazırlanır. Kullanılmadan önce bir baza karşı titre edilir ve oda ısısında saklanır.

3- % 10 luk NaOH (2,5 N) : Doymuş NaOH'ten hesaplanarak hazırlanır. Dikkatlice titre edildikten sonra kullanılır. Bu çözelti oda ısısında saklanır.

4- Doymuş pikrik asit : 12 gr saf pikrik asit 1000 ml sıcak arık suda çözülür. Bu çözeltinin 10 ml'si 0,10 N NaOH ile titre edilir. Kullanılan NaOH miktarı 5,2-5,4 ml arasında olmalıdır. Oda ısısında bir ay bekletilebilir.

5- Stok kreatinin standardı : 0,1 gr kreatinin 100 ml 0,1 N HCl içinde çözülür. Bu çözelti 100 ml/dl kreatinin içerir ve buzdolabında +4°C de uzun süre bekleyebilir.

6- Günlük kreatinin standardı : 5,0 ml stok kreatinin standardına 1,0 ml 1,0 N HCl eklenir ve arık su ile 100 ml'ye tamamlanır. Bu standard 5,0 mg/dl kreatinin içerir ve günlük olarak hazırlanır.

7- Alkali pikrat çözeltisi : 25 ml doymuş pikrik asit 5,0 ml 2,5 N NaOH ile karıştırılarak kullanılma anında hazırlanır.

İşlem :

Proteinden arındırma : Bir erlene 7 ml arık su ve 1 ml serum konur. Bunun üzerine 1 ml % 10'luk sodyum tungustat ilave edilir ve karıştırılır. Bu karışım üzerine 1 ml 2/3 N H₂SO₄ damla damla eklenerek karıştırılır. 10 dakika bekletildikten sonra 2500 rpm de 10 dakika santrifüj edilir (51).

Elde edilen süpernatant aynı zamanda ürik asit ölçümünde örnek olarak kullanıldı.

Yeteri kadar deney tüpü numaralandıktan sonra aşağıdaki şekilde kreatinin ölçümü yapıldı.

	KÖR	STD.	ÖRNEK
Günlük Std. (ml) :	-	1,0	-
Süpernatant (ml) :	-	-	5,0
Arık Su (ml) :	5,0	4,0	-
Alkali pikrat (ml) :	2,5	2,5	2,5

Tüpler vorteksle iyice karıştırıldı ve karanlıkta 20 dakika bekletildi. Bu süre sonunda bütün tüplerin absorbanları köre karşı, Spetronic 21 spektrofotometresinde, 510 nm. de okundu.

Hesaplama :

$$\text{mg/dl kreatinin} = \frac{\text{Örnek absorbansı}}{\text{Std. absorbansı}} \times 5 \times 2$$

Burada 2,örneğin sulandırılma faktörüdür.

Normal değer : 0,6 - 1,3 mg/dl kreatinin.

Kreatinin tayininde serum ve plazma kullanılabilir.

Askorbik asit, BSP, diüretikler kreatinin düzeyini etkiler(52).

4- ÜRİK ASİT ÖLÇÜLMESİ

Serum ürik asit miktarı, fosfotungustik asit yöntemi ile tayin edildi.

Metodun prensibi : Ürik asit, fosfotungustik asidi oda ısısında redüksiyona uğratar ve bunun sonucu mavi bir renk meydana gelir. Meydana gelen mavi rengin şiddeti, mevcut ürik asit miktarıyla düz orantılıdır. Kan hücreleri bu reaksiyonu bozan maddeleri ihtiva ettiğinden ürik asit miktar tayinleri tercihen kan serumu kullanılarak yapılmalıdır (53).

AYIRIÇLAR

1- % 10 luk sodyum tungustat : 10 gr. sodyum tungustat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) bir miktar suda çözüldükten sonra son hacim distile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Oda ısısında saklanır.

2- $\frac{2}{3}$ N H_2SO_4 : Konsantre H_2SO_4 'ten hesaplanarak hazırlanır ve kullanılmadan önce baza karşı titre edilir. Oda ısısında saklanır.

3- Üre-karbonat solusyonu (2 hacim A + 1 hacim B) :

A solusyonu : 30 gr. sodyum karbonat bir miktar distile su içinde çözülür ve 100 ml'ye tamamlanır.

B solusyonu : 45 gr. üre bir miktar distile suda çözülür ve 100 ml'ye tamamlanır.

2 hacim A solusyonu ile 1 hacim B solusyonu karıştırılır ve kullanılmak üzere oda ısısında saklanır.

4- Folin-Denis (Fosfotungustik asit) : 100 gr. molibdat-sız sodyum tungustat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), bir miktar distile suda çözüldükten sonra 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözeltiye 80 ml % 85 lik fosforik asit ilave edildikten sonra geri soğutucu altında iki saat kaynatılır. Soğuduktan sonra distile su ile litreye tamamlanır. Buzdolabında $+4^\circ\text{C}$ de saklanır.

5- Stok ürik asit standardı : Saf ürik asit, bir gece boyunca 100°C lik fırında kurutulduktan sonra desikatörde soğutulur. 1,0 gr. ürik asit ve 0,6 gr. lityum karbonat 150 ml arık suda çözülür. Bunun üzerine 20 ml % 40 lik formaldehit ve 500 ml distile su ilave edilir. İyice karıştırılır ve bunların üzerine 25 ml 1,0 N H_2SO_4 eklendikten sonra litreye tamamlanır ve buzdolabında $+4^\circ\text{C}$ de saklanır.

6- Sulandırılmış ürik asit standardı : 1,0 ml stok ürik asit distile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Bu standart 1 mg/dl ürik asit içermektedir.

İŞLEM

Çalışmada kullanılan proteinden arındırılmış süpernatant, kreatinin ölçümünde kullanılan süpernatant'tan alındı.

	KÖR	STD.	ÖRNEK
Süpernatant (ml) :	-	-	0,2
Sulandırılmış Std (ml) :	-	2,0	-
Distile su (ml) :	3,0	1,0	1,0
Üre-karbonat (ml) :	0,8	0,8	0,8
Folin-Denis (ml) :	0,2	0,2	0,2

Tüpler iyice karıştırıldı ve oda ısısında 10 dakika bekletildi. Daha sonra 690 nm'de köre karşı diğer tüplerin absorbansları okundu. Okumalar ilk on dakika içinde olmalıdır. Çünkü zamanla bulanıklık oluşmaktadır.

Hesaplama :

$$\text{mg/dl ürik asit} = \frac{\text{Örnek absorbansı}}{\text{Std. absorbansı}} \times 10$$

Normal değerler :

Erkek : 3,4 - 7,0 mg/dl ürik asit
Kadın : 2,4 - 5,7 " " "

5- HEMOGLOBİN ÖLÇÜMÜ

Ferrisiyanür, hemoglobindeki demiri oksitleyerek iki değerden üç değerli demire çevirir ve methemoglobine dönüşmesini sağlar. Bunu takiben potasyum siyanid ile stabil bir pigment olan siyanmethemoglobin meydana gelir. Siyanmethemoglobinin absorbansı 546 nm'de spektrofotometrede okunur (34,36,47).

Ayıracılar :

1- Drabkin Çözeltisi : 50 mg KCN,
200 mg $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$
1 gr. NaHCO_3

bir miktar distile suda çözülükten sonra litreye tamamlanır. Drabkin çözeltisi koyu renkli şişede bir yıl boyunca oda ısısında ağzı sıkıca kapatılarak saklanabilir.

2- Hemoglobin Standardı : Sigma firmasının 18 gr. liyofilize hemoglobin standardı 100 ml distile suda çözülür. Bu standard 18 gr/dl Hemoglobin içerir.

İşlem :

	KÖR	STD	ÖRNEK
Drabkin çözeltisi (ml) :	5,0	5,0	5,0
Hemoglobin Std. (ml) :	-	0,02	-
Hemolizat (ml) :	-	-	0,02

Tüpler iyice karıştırılır ve oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra 546 nm'de köre karşı diğer tüplerin absorbansı okunur.

Hesap :

$$\text{gr/dl Hemoglobin} = \frac{\text{Örnek absorbansı}}{\text{Std. absorbansı}} \times 18$$

Normal değerler :

Erkek : % 14 - 18 gr, Kadın : % 12 - 16 gr.

6- Eritrosit arginaz aktivitesinin ölçülmesi

Eritrosit arginaz aktivitesi, tiyosemikarbozid-Diasetil-monoksim-üre (TDMU) metodu ile ölçüldü (54). TDMU, kolorimetrik olarak üre düzeyini ölçen bir methodur. Bu metod, Schimke metodundan daha duyarlıdır. Tek dezavantajı 0,3 µmol/ml üre kullanılmasıdır. Bu değerın üstündeki üre miktarları Beer kanunundan sapmalara sebep olmaktadır (55).

AYRAÇLAR

1- Renk ayırıcı : (DAM - TSC) karışımı. Bu karışım 0,0036 M tiyosemikarbazid ve 0,0617 M diasetil monoksim içermektedir. 6,23 gr. Diasetilmonoksim (DAM) ve 0,328 gr. tiyosemikarbazid (TSC) bir miktar suda çözüldükten sonra distile su ile litreye tamamlanır. Koyu renkli şişede ve oda ısısında saklanır.

2- Asit karışımı :

a- 0,120 M FeCl_3 / % 56,7 H_3PO_4

3,24 gr. FeCl_3 bir miktar distile suda çözüldükten sonra üzerine 66,7 ml % 85 lik H_3PO_4 ilave edilir. Daha sonra su ile 100 ml'ye tamamlanır.

b- a çözeltisinden 1,0 ml alınır ve 999 ml % 20 (V/V) lik H_2SO_4 'e ilave edilir. Deney aşamasında asit karışımı olarak bu solusyon kullanılır. Oda ısısında saklanır.

3- 2,5 mM MnCl_2 çözeltisi :

0,4946 gr. $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ bir miktar distile suda çözülür ve son hacim distile su ile litreye tamamlanır. Buzdolabında $+4^\circ\text{C}$ de saklanır.

4- 40 mM Arginin : 0,84264 gr. L- Arginin 85-90 ml distile suda çözülür. pH ayarı 9,7'ye ayarlandıktan sonra distile su ile 100 ml'ye tamamlanır. Buzdolabında $+4^\circ\text{C}$ de saklanır.

5- Karbonat tamponu : 40 mM $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$

a- 0,424 gr Na_2CO_3 bir miktar distile suda çözüldükten sonra pH ayarı 9,7 ye ayarlanır ve son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

b- 0,336 gr. NaHCO_3 bir miktar distile suda çözülür ve pH ayarı 9,7 ye ayarlandıktan sonra distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

Karbonat tamponu için 100 ml 40 mM Na_2CO_3 üzerine 40 mM NaHCO_3 ilavesiyle pH 9,7 'ye ayarlanır.

6- Üre standardı : 0,1 μM üre/ml

3 mg üre 100 ml 0,016 M benzoik asit içinde çözülür. Stok olarak kullanılan bu üre çözeltisi deney esnasında 1/5 oranında sulandırılarak 0,1 μM üre/ml (0,6 mg/dl) üre standardı buzdolabında $+4^\circ\text{C}$ de saklanır.

İşlem :

İki deney düzenneği kuruldu. Birinci düzenekte numarandırılmış deney tüpleri, ikinci düzenekte standart, kör ve sıfır zaman tüpleri konuldu. Her iki düzenekte bütün tüpler

çift ve ağızları kapatılabilir burgulu tüpler kullanıldı.

2- Deney ve sıfır zaman tüplerine oda ısısına gelmiş 0,4 ml 40 mM Arginin ve 0,4 ml 40 mM karbonat tamponu, standart tüpüne 0,1 μ mol/ml üre standardından 1,0 ml (0,2 ml 3 mg/dl üre + 0,8 ml distile su) ve kör tüpüne de 1,0 ml distile su kondu.

3-Daha önce hazırlanmış hemolizat, oda ısısına gelmiş $MnCl_2$ ile 1/100 oranında, enzim kaynağı olarak kullanılmak üzere, sulandırıldı.

4- Enzim kaynağı 55°C lik su banyosunda 5 dakika pre-inkübasyona bırakıldı.

5- Bu süre sonunda enzim kaynağı ve deney tüplerinin bulunduğu düzenekler 37°C de 3 dakika bekletilerek aynı ısıya gelmeleri sağlandı.

6- 37°C ye gelmiş enzim kaynağından deney tüplerine 0,2 ml hemolizat pipetlendikten sonra karıştırıldı ve 37°C de 8 dakika inkübasyon için bekletildi.

7- 37°C'ye bırakılmayan sıfır zaman tüplerine 0,2 ml hemolizat eklendi ve reaksiyonu engellemek için 3 ml asit karışımı hemen ilave edildi. Standart ve kör tüplerinede 3'er ml asit karışımı ilave edildi.

8- 37°C de 8 dakika bekleyen deney düzeneği buradan alındı ve hemen deney tüplerine, reaksiyonu durdurmak için 3'er ml asit karışımı ilave edildi.

9- Her iki düzenekteki tüplere 2'şer ml renk ayırıcı ilave edildi ve tüplerin ağzı kapakları ile kapatıldı ve vorteksle iyice karıştırıldı.

10- Ağızı kapalı tüplerin hepsi kaynar su banyosuna alındı ve burada 10 dakika tutularak reaksiyonun tamamlanması sağlandı.

11- 10 dakika sonunda tüpler kaynar su banyosundan alınarak, daha önce hazırlanan buzlu su banyosuna daldırıldı ve burada 5 dakika bekletildi.

12- Bu süre sonunda 520 nm'de bütün tüplerin absorbansları kör tüpüne karşı okundu.

HESAPLAMA

1- Her deney tüp absorbansından kendi sıfır zaman absorbansı çıkartılarak net absorbans elde edildi.

2- Daha önce hemolizatlara ait ve gr/dl olarak bulunan hemoglobin değerleri gr-Hb/ml hemolizat'a çevrildi.

3- Okunan standart absorbansı, enzim kaynağının sulandırılması ve üre standart değerinden faydalanarak bir faktör bulundu. Faktör hesaplanması şu şekilde yapıldı.

0,1 μ mol/ml üre standardının absorbansı 0,38 olarak okundu.

$$\text{Faktör} = \frac{(0,1 \text{ umol üre/ml}) \times (100 \times 5) / 8 \text{ dakika}}{0,38} = 16.447$$

Burada :

100 sayısı, enzim kaynağının sulandırılma sayısını,

5 sayısı, örnek ve standardın 1/5 oranında sulandırılma derecesini,

8 dakika, 37°C de reaksiyonun yürüme süresini,

0,38 ise standart ürenin absorbansını göstermektedir.

4- Örnek absorbansları 16.447 faktörü ile çarpılarak (μ mol üre/ml hemolizat) / dakika cinsinden enzim aktivitesi elde edildi.

5- Enzim aktivitesini gr.Hb/ml cinsinden bulmak için bulunan enzim aktivitesi gr.Hb/ml değerine bölündü ve enzim aktivitesi U/gr.Hb/dakika birimi ile tarif edildi.

Enzim aktivitesi : Çalışmamızda bulunan bir ünite enzim aktivitesi, 1 dakikada 37°C de arginin substratından 1 μ mol üre oluşturan enzim aktivitesinin gr. Hb cinsinden tarifidir.

Çalışmada enzim kaynağı olarak kullanılan hemolizat arginaz aktivitesi $+4^{\circ}\text{C}$ de 1 hafta aktivite değişimi. olmadan saklanabilir (33,34,56).

Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin hepsi Merck firmasına ait olup analitik saflıktadırlar.

Sonuçların değerlendirmesinde istatistiki hesaplamalar Student-t testi uygulanarak yapıldı (57,58).

III. BÖLÜM

BULGULAR

Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarına tiroid hormon düzeylerinin tespiti için başvuran 350 kişi arasında 66 kişinin tiroid hormon düzeyleri anormal bulundu. Bu 66 kişi çalışmamızın deney grubunu oluşturdu. Kontrol grubu olarak, hiç bir şikayeti olmayan 54 sağlıklı kişiden çalışma materyali sağlandı. Hasta ve kontrol gruplarını oluşturan kişilerin tiroid hormon düzeyleri (Total T₃, Total T₄, Serbest T₃, Serbest T₄ ve TSH), serum üre, kreatinin, ürik asit ve eritrosit arginaz düzeyleri tespit edildi. Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete göre dağılımı tablo I de görülmektedir.

Tablo I : Kontrol ve hasta gruplarının cinsiyete bağlı olarak dağılımı.

GRUPLAR	K	%	E	%	T
KONTROL	36	66,67	18	33,33	54
HASTA	44	66,67	22	33,33	66

K : Kadın, E : Erkek, T : Toplam

Tiroid hormon düzeylerinin tespiti için laboratuvarımıza başvuran kişiler daha çok kadın olduğundan deney grubunda kadın çoğunluktadır. Kontrol grubu da aynı düşünce ile oluşturuldu. Tiroid hormon düzeyleri anormal bulunan 66 hastanın cinsiyete bağlı olarak dağılımı tablo II'de görülmektedir.

Tablo II : Tiroid hormon düzeyleri anormal bulunan kişilerin cinsiyete bağlı olarak dağılımı.

	K	%	E	%	T
Tiroid hormon düzeyleri normalden yüksek bulunan	31	65.96	16	34.04	47
Tiroid hormon düzeyleri normalden düşük bulunan	13	68.42	6	31.58	19

Tablo II'den anlaşıldığı gibi tiroid hormon düzeyleri normalden yüksek bulunan 47 hastanın % 65.96'sı kadın ve % 34.04'ü erkektir. Hormon düzeyleri normalin altında bulunan 19 hastanın % 68.42 sini kadınlar ve % 31.58 ini ise erkekler oluşturmaktadır. Toplam 66 hastanın 47'sinde (% 71.21) hormon düzeyleri normalin üstünde ve 19'unda (28.79) ise normalin altında bulundu. Toplam 66 hastanın % 66.67 sini kadın ve % 33.33'ünü de erkekler oluşturmaktadır (Tablo I).

Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı kişilerin tiroid hormon düzeyleri tablo III. te görülmektedir.

Tablo III : Kontrol grubu tiroid hormon düzeyleri

	Total T ₃ ng/dl	Total T ₄ µg/dl	Serbest T ₃ pg/ml	Serbest T ₄ ng/dl	TSH µIU/ml
K	128.61 ± 18.52 n: 36	7.36 ± 1.56 n: 36	3.84 ± 0,61 n: 33	1,16 ± 0,20 n: 33	1,9 ± 1,64 n: 33
E	127.17 ± 17.9 n: 18	8.45 ± 1.76 n: 18	4.27 ± 0.64 n: 18	1.43 ± 0.23 n: 18	2.33 ± 1.60 n: 18
T	128.13 ± 18.17 n: 54	7.9 ± 1.66 n: 54	3,99 ± 0.65 n: 51	1.26 ± 0,25 n: 18	2.06 ± 1.62 n: 51

III-I- ÜRE, KREATİNİN VE ÜRİK ASİT DÜZEYLERİ

Total T_3 düzeyi normal değerler üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri tablo IV'de görülmektedir.

Tablo IV : Total T_3 düzeyleri 187 ng/dl üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri.

ANALİZ	GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
Üre (mg/dl)	K	22.4 $\pm$ 7.13 n: 36	21.84 $\pm$ 5,61 n: 31	0,358	> 0,1
	E	26.94 $\pm$ 4.52 n: 18	22.4 $\pm$ 5.32 n: 16	2,66	< 0,05
	T	23.91 $\pm$ 6.69 n: 54	22.0 $\pm$ 5.46 n: 47	1,580	> 0,1
Kreatinin (mg/dl)	K	0,90 $\pm$ 0,134 n: 36	0,88 $\pm$ 0,27 n: 31	0,37	> 0,1
	E	0,922 $\pm$ 0,130 n: 18	0,95 $\pm$ 0,15 n: 16	0,58	> 0,1
	T	0,890 $\pm$ 0,158 n=54	0,90 $\pm$ 0,14 n=47	0,34	> 0,1
Ürik Asit (mg/dl)	K	3,77 $\pm$ 0,96 n: 36	4,12 $\pm$ 1,19 n: 31	1,31	> 0,1
	E	5,3 $\pm$ 1,42 n: 18	4,10 $\pm$ 0,84 n: 16	3,037	< 0,01
	T	4,28 $\pm$ 1,34 n: 54	4,11 $\pm$ 1,07 n: 47	0,708	> 0,1

Tablo IV incelendiğinde :

a- Üre düzeyleri : Sadece erkek gruplar arasındaki

fark önemlidir ($P < 0.05$). Kadın ve toplam gruplar arasında anlamlı bir farklılık yoktur. Ayrıca hasta grubu üre düzeylerinde bir azalma görülmektedir.

b- Kreatinin düzeyleri : Tabloda görüldüğü gibi T_3 düzeyleri normalin üstünde bulunan hastaların serum kreatinin düzeyleri ile kontrol grupları (kadın,erkek,toplam) arasında önemli bir farklılık yoktur ($P > 0.1$).

c- Ürik asit düzeyleri : Tablo IV'te kontrol kadın ve toplam grupları ile hasta kadın ve toplam grupları arasında anlamlı bir farklılık yok iken ($P > 0.1$), erkek grupları arasında farkın önemli olduğu görülmektedir ($P < 0.01$)

Total T_3 düzeyleri normal değerler altında bulunan hastaların üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri tablo V'de verilmiştir.

Tablo V : Total T_3 düzeyleri 86 ng/dl altında bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri.

ANALİZ	GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
Üre (mg/dl)	K	22.4 $\pm$ 7,13 n: 36	26.07 $\pm$ 6,28 n: 13	1,748	$< 0,1$
	E	26.94 $\pm$ 4,52 n: 18	27.0 $\pm$ 5.29 n: 6	0.025	> 0.1
	T	23.91 $\pm$ 6.69 n: 54	26.37 $\pm$ 5.85 n: 19	1.52	> 0.1
Kreatinin (mg/dl)	K	0.90 $\pm$ 0.134 n: 36	0.88 $\pm$ 0.18 n: 13	0.366	> 0.1
	E	0.922 $\pm$ 0.13 n: 18	0.93 $\pm$ 0.21 n: 6	0.09	> 0.09
	T	0.89 $\pm$ 0.158 n: 54	0.90 $\pm$ 0.19 n: 19	0.205	> 0.1
Ürik Asit (mg/dl)	K	3.77 $\pm$ 0.96 n: 36	3.92 $\pm$ 1.139 n: 13	0.360	> 0.1
	E	5.3 $\pm$ 1.42 n: 18	4.35 $\pm$ 0.92 n: 6	1.843	< 0.1
	T	4.28 $\pm$ 1.34 n: 54	4.05 $\pm$ 1.26 n: 19	0.673	> 0.1

Tablo V incelendiğinde :

a- Üre düzeyleri : Kontrol kadın grubu ile hasta kadın grubu arasında önemli bir farklılık vardır ($P < 0.1$). Erkek ve toplam gruplar arasında ise bir farklılık görülmemektedir ($P > 0.1$). Genelde hasta üre düzeylerinde bir artışın varlığı tablodan anlaşılmaktadır.

b- Kreatinin düzeyleri : Tablo V de görüldüğü gibi her üç grupta da kreatinin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık yoktur ($P > 0.1$) ve sayısal bir değişiklik mevcut değildir.

c- Ürik asit düzeyleri : Kadın ve toplam gruplar arasında herhangi bir farklılık görülmezken ($P > 0.1$), erkek gruplar arasında ise anlamlı bir farklılıktan bahsedilebilir ($P < 0.1$). Ürik asit düzeylerinde erkeklerde gözle görülür bir azalma varken, kadın grubunda herhangi bir değişiklik yoktur.

Total T_4 düzeyleri 12,5 $\mu\text{g/dl}$ üzerinde bulunan hastalarda üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri tablo VI da görülmektedir.

Tablo VI : Total T₄ düzeyleri 12,5 µg/dl üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri.

ANALİZ	GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
Üre (mg/dl)	K	22.4 ± 7.13 n: 36	24.55±9.79 n: 11	0.676	> 0.1
	E	26.94 ± 4.52 n: 18	30.0 ±4.24 n: 2	-	-
	T	23.91 ± 6.69 n: 54	23.85±9.53 n: 13	0.021	> 0.1
Kreatinin (mg/dl)	K	0.90 ± 0.134 n: 36	0.95 ± 0.24 n: 11	0.66	> 0.1
	E	0.922 ± 0.13 n: 18	0.8 ± 0.14 n: 2	-	-
	T	0.98 ±0.158 n: 54	0.92 ± 0.23 n: 13	0.446	> 0.1
Ürik Asit (mg/dl)	K	3.77 ± 0.96 n: 36	4.62 ± 1.02 n: 11	2.452	< 0.05
	E	5.3 ± 1.42 n: 18	4.2 ± 1.41 n: 2	-	-
	T	4.28 ± 1.34 n: 54	4.55 ± 1.03 n: 13	0.796	> 0.1

Tablo VI da ; kontrol ve hasta grupları üre ve kreatinin düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık görülmez iken (P>0.1), ürik asit düzeylerinde, sadece kadın gruplar arasındaki farkın önemli olduğu görülmektedir (P<0.05). Aynı tabloda erkek hasta sayısı yeterli sayıda olmadığından değerlendirilmeye alınmadı.

Serbest T₃ düzeyleri normal sınırlar üstünde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri tablo VII de görülmektedir.

Tablo VII : Serbest T₃ düzeyleri 4.7 pg/ml üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri.

ANALİZ	GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
Üre (mg/dl)	K	22.4 ± 7.13 n: 36	22.08±5.60 n: 34	0.21	> 0.1
	E	26.94 ± 4.52 n: 18	22.56±5.59 n: 9	1.09	> 0.1
	T	23.91 ± 6.69 n: 54	22.4 ±5.62 n: 43	1.048	> 0.1
Kreatinin (mg/dl)	K	0.90 ±0.134 n: 36	0.87 ±0.155 n: 34	0.864	> 0.1
	E	0.922 ± 0.13 n: 18	0.98 ±0.26 n: 9	0.631	> 0.1
	T	0.98 ± 0.158 n: 54	0.90 ±0.19 n: 43	0.278	> 0.1
Ürik Asit (mg/dl)	K	3.77 ± 0.96 n: 36	3.85 ±1.28 n: 34	0.294	> 0.1
	E	5.3 ± 1.42 n: 18	4.64 ±0.66 n: 9	1.650	> 0.1
	T	4.28 ± 1.34 n: 54	4.09 ± 1.09 n: 43	0.770	> 0.1

Tablo VII ya göre ; üre, kreatinin ve ürik düzeyleri arasındaki fark önemli değildir (P>0.1).

Serbest T₄ düzeyleri normalin üzerinde bulunan hastaların elde edilen üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri tablo VIII de verilmiştir.

Tablo VIII de görüldüğü gibi üre ve kreatinin düzeyleri arasındaki fark önemli değil iken ($P > 0.1$), ürik asit

Tablo VIII : Serbest T_4 düzeyleri 2.0 ng/dl üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri.

ANALİZ	GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
Üre (mg/dl)	K	22.4 $\pm$ 7.13 n: 36	19.83 $\pm$ 4.73 n: 12	1.420	> 0.1
	E	26.94 $\pm$ 4.52 n: 18	28.0 $\pm$ 6.25 n: 3	-	-
	T	23.91 $\pm$ 6.69 n: 54	21.47 $\pm$ 5.88 n: 15	1.379	> 0.1
Kreatinin (mg/dl)	K	0.90 $\pm$ 0.134 n: 36	0.95 $\pm$ 0.37 n: 12	0.49	> 0.1
	E	0.922 $\pm$ 0.13 n: 18	0.97 $\pm$ 0.115 n: 3	-	-
	T	0.89 $\pm$ 0.158 n: 54	0.95 $\pm$ 0.33 n: 15	0.683	> 0.1
Ürik Asit (mg/dl)	K	3.77 $\pm$ 0.96 n: 36	4.83 $\pm$ 1.184 n: 12	2.809	< 0.01
	E	5.3 $\pm$ 1.42 n: 18	5.33 $\pm$ 0.115 n: 3	-	-
	T	4.28 $\pm$ 1.34 n: 54	4.93 $\pm$ 1.07 n: 15	1.964	< 0.1

düzeyleri kadınlarda, total T_4 'ü yüksek olan hastalarda olduğu gibi, oldukça anlamlı bir farklılık göstermektedir ($P < 0.01$). Toplam grupta, istatistiki açıdan çok önemli olmasada yine önemli bir farklılıktan bahsedilebilir ($P < 0.1$). Tabloda üre düzeylerinde bir artış ve kreatinin ile ürik asit düzeylerinde az da olsa bir artış görülmektedir.

Tablo IX da TSH düzeyleri normal sınırlar üzerinde bulunan hastalardan elde edilen üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri görülmektedir. Bu tablodan anlaşıldığı gibi, üre düzeyleri arasında sadece erkek gruplar arasında anlamlı bir farklılık vardır ($P < 0.001$). Serum kreatinin düzeyleri arasındaki fark önemli değil iken ($P > 0.01$), erkek gruplarının ürik asit düzeyleri arasındaki fark önemlidir ($P < 0.01$). Ayrıca erkeklerde kreatinin düzeyleri arasındaki önemli farklılık düşme yönündedir.

Tablo IX : Serum TSH düzeyleri 4,5 μ IU/ml üzerinde bulunan hastaların serum üre, kreatinin ve ürik asit düzeyleri.

ANALİZ	GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
Üre (mg/dl)	K	22.4 $\pm$ 7.13 n: 36	22.95 $\pm$ 6.66 n: 20	0.289	> 0.1
	E	26.94 $\pm$ 4.52 n: 18	20.24 $\pm$ 4.89 n: 17	4.203	< 0.001
	T	23.91 $\pm$ 6.69 n: 54	21.7 $\pm$ 5.99 n: 37	1.648	> 0.1
Kreatinin (mg/dl)	K	0.90 $\pm$ 0.134 n: 36	0.925 $\pm$ 0.28 n: 20	0.376	> 0.1
	E	0.922 $\pm$ 0.13 n: 18	0.86 $\pm$ 0.14 n: 17	1.356	> 0.1
	T	0.89 $\pm$ 0.158 n: 54	0.90 $\pm$ 0.22 n: 37	0.238	> 0.1
Ürik Asit (mg/dl)	K	3.77 $\pm$ 0.96 n: 36	4.22 $\pm$ 1.23 n: 20	1.414	> 0.1
	E	5.3 $\pm$ 1.42 n: 18	4.03 $\pm$ 0.75 n: 17	3.333	< 0.01
	T	4.28 $\pm$ 1.34 n: 54	4.13 $\pm$ 1.03 n: 37	0.603	> 0.1

III-2- ERİTROSİT ARGİNAZ DÜZEYLERİ

Tiroid hormon düzeyleri anormal bulunan hastalardan elde edilen eritrosit arginaz aktivite düzeyleri aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Total T_3 düzeyleri normal değerler üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri tablo X da görülmektedir.

Tablo X : Total T_3 düzeyleri 187 ng/dl üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri.

GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
K	44.33 $\pm$ 6.928 n: 36	44.65 $\pm$ 11.88 n: 31	0.132	> 0.1
E	42.11 $\pm$ 10.0 n: 18	38.65 $\pm$ 12.8 n: 16	0.880	> 0.1
T	43.6 $\pm$ 8.07 n: 54	42.8 $\pm$ 12.4 n: 47	0.378	> 0.1

Tablo X'a göre, total T_3 düzeyleri normal sınırlar üzerindeki hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri (U/gr.Hb/dakika) ile kontrol grubu eritrosit arginaz aktivite düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık yoktur ($P > 0.1$). Ancak erkek grubunda eritrosit arginaz aktivitesinin düştüğü aynı tabloda görülmektedir.

Total T_3 düzeyleri normal değerler altında bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri tablo XI de verilmiştir.

Tablo XI : Total T_3 düzeyleri 86 ng/dl altında bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri.

GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
K	44.33 $\pm$ 6.928 n: 36	47.23 $\pm$ 14.54 n: 13	0.690	> 0.1
E	42.11 $\pm$ 10.0 n: 18	49.7 $\pm$ 16.37 n: 6	0.071	> 0.1
T	43.6 $\pm$ 8.07 n: 54	48.0 $\pm$ 14.73 n: 19	1.239	> 0.1

Bu tabloya göre hasta eritrosit arginaz aktivite düzeyleri ile kontrol kişilerin eritrosit arginaz aktivite düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($P > 0.1$). Ancak bu tabloda sayısal olarak hasta eritrosit arginaz aktivite düzeylerinde belirgin bir artış görülmektedir.

Total T_4 düzeyleri normal değerlerden yüksek bulunan hasta kişilerin eritrosit arginaz aktivite düzeyleri tablo XII de verilmiştir.

Tablo XII : Total T_4 düzeyleri 12,5 $\mu\text{g/dl}$ üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri.

GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
K	44.33 $\pm$ 6.928 n: 36	42.36 $\pm$ 11.42 n: 11	0.542	> 0.1
E	42.11 $\pm$ 10.0 n: 18	33.5 $\pm$ 7.78 n: 2	-	-
T	43.6 $\pm$ 8.07 n: 54	41.0 $\pm$ 11.7 n: 13	0.759	> 0.1

Tablo XII den görüldüğü gibi total T_4 düzeyleri normalden yüksek bulunan hasta grupları ile kontrol grupları arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamasına rağmen ($P > 0.1$), eritrosit arginaz düzeylerinde bir azalma vardır. Erkek hasta sayısı yeterli sayıda olmadığından erkek gruplar arasındaki farklılık değerlendirmeye alınmadı.

Serbest T_3 düzeyleri normal değer (4,7 $\mu\text{g/ml}$) üzerinde bulunan hasta kişilerin eritrosit arginaz aktivite düzeyleri tablo XIII te görülmektedir.

Tablo XIII : Serbest T_3 düzeyleri 4,7 pg/ml üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz düzeyleri.

GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
K	44.33 ± 6.928 n: 36	44.35 ± 11.6 n: 34	0.008	> 0.1
E	42.11 ± 10.0 n: 18	40.0 ± 7.83 n: 9	0.60	> 0.1
T	43.60 ± 8.07 n: 54	43.44 ± 10.97 n: 43	0.08	> 0.1

Tablodan anlaşıldığı gibi serbest T_3 düzeyleri normalin üstünde bulunan hasta grupları ile kontrol grupları arasındaki fark önemli değildir ($P > 0.1$).

Tablo XIV de serbest T_4 düzeyleri normalin üstünde bulunan kişilerin eritrosit arginaz düzeyleri görülmektedir.

Tablo XIV : Serbest T_4 düzeyleri 2,0 ng/dl üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri

GRUP	KONTROL	HASTA	t	P
K	44.33 ± 6.928 n: 36	42.83 ± 9.16 n: 12	0.527	> 0.1
E	42.11 ± 10.0 n: 18	34.0 ± 5.29 n: 3	-	-
T	43.6 ± 8.07 n: 54	41.07 ± 9.13 n: 15	0.973	> 0.1

Tablo XIV de görüldüğü gibi serbest T_4 düzeyleri normal değerlerden yüksek bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık yoktur ($P > 0.1$). Ancak hasta eritrosit arginaz aktivitelerinde bir düşüş görülmektedir.

Serum TSH düzeyleri normal değerden yüksek bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri tablo XV de verilmiştir.

Tablo XV : Serum TSH düzeyleri 4,5 μ IU/ml üzerinde bulunan hastaların eritrosit arginaz aktivite düzeyleri.

GURUP	KONTROL	HASTA	t	P
K	44.33 $\pm$ 6.928 n: 36	51.1 $\pm$ 14.33 n: 20	1.988	< 0.1
E	42.11 $\pm$ 10.0 n: 18	40.41 $\pm$ 11.6 n: 17	0.463	> 0.1
T	43.6 $\pm$ 8.07 n: 54	46.19 $\pm$ 14.0 n: 37	1.015	> 0.1

Tablo da görüldüğü gibi kadın grupları arasında fark önemli iken ($P < 0.1$), erkek ve toplam gruplar arasındaki fark önemli değildir ($P > 0.1$). Genelde eritrosit arginaz aktivitelerinde artıştan bahsedilebilir.

IV. BÖLÜM

TARTIŞMA VE SONUÇ

Hipofiz bezinden salgılanan TSH etkisiyle tiroid bezinden sentezlenerek dolaşıma salınan tiroid hormonları (T_3, T_4), vücutta birçok organda metabolik olayların kontrolünü yapmaktadır (1,2,4,9,10,11,13). Tiroid hormonları tarafından yapılan bu kontrol hücressel düzeyde olmaktadır. Hormonlar stoplazmik reseptörler aracılığı ile çekirdekte genler üzerine etki yapmakta ve mRNA ile tRNA üzerinden protein sentezini arttırmaktadır (4,9,13,21). Bunu da metabolik yollarda etkili enzimlerin sentezini arttırmak suretiyle sağlamaktadırlar. Metabolik etkinin diğer yanı da, proteinlerin konsantrasyonunu arttırmadan inaktif formdan aktif forma geçirecek enzim sistemlerini etkileyerek yapmasıdır. Bu genel etki hormonların enzim sentezini indüksiyon yolu ile arttırması olarak bilinir (4,9,10).

Amino asitlerin deaminasyonu ve pirimidinlerin yıkımı sonucu oluşan toksik etkili amonyak, perifer doku ve organlarda meydana gelir. Bu dokulardan amonyak glutamin, kas dokusundan ise alanin aracılığı ile karaciğere taşınmaktadır (1,24,25). Karaciğer, vücutta detoksifikasyon yapan organların başlıcalarından olması dolayısıyla diğer zehirli metabolik artıklar gibi amonyağın da non-toksik üreye çevrildiği yerdir. Karaciğerde üre, üre-döngüsü aracılığı ile oluştuğuna göre, bir seri enzim bu yolda etkili olmaktadır (6,24,25).

Tiroid hormonlarının üre döngüsü enzimlerinin aktivitesini arttırdığı bir çok kaynaklarda belirtilmektedir (4,5,22). Adı geçen enzimin aktiviteye değişimi daha çok karaciğer dokusu kullanılarak yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (5,22,41). Plazma üre düzeyinin artışının sadece enzim aktivite yada sentezindeki artıştan ileri gelip gelmediğinin tam olarak gösterebilmek için amonyak üreticisi aminoasitlerin düzeyleride araştırılmıştır (22). Bazı kaynaklarda üre artışına

neden olan faktörün, sadece hormonal etkiye bağılı olarak meydana gelen enzim indüksiyonu olduğu belirtilmektedir (12).

Yapılan çalışmalarındaki görülen ortak görüş, tiroid hormonlarının protein metabolizması üzerindeki etkilerinin anabolik ve katabolik olarak bir arada olduğudur (22).

Bizim çalışmamızın amacı da insanda tiroid hormonları değişimlerinin üre, üre döngüsü son enzimi arginaz üzerine etkisini incelemek, bunun yanında diğer azotlu maddelerin de değişimlerini göstermek idi. Ancak kaynak araştırmasında ; yapılan çalışmaların hemen hepsinin deney hayvanlarıyla gerçekleştirilmesi, insanlar üzerinde benzer çalışmaların olmaması, bulduğumuz sonuçların kaynaklarla karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır. Arginaz enzimi aktivitesi ölçümünde kullandığımız eritrosit sağlamadaki kolaylığa karşın, nükleus içermediği için hormonal etkilere, diğer hücrelere oranla, daha duyarsız bir kaynak oluşturmaktadır.

Çalışmamızda dikkati çeken noktalardan birinin ; tiroid hormon analizleri için laboratuvarımıza başvuran hastaların çoğunluğunu kadınların oluşturması olduğu tablo I'de görülmektedir. % 66.67 lik bu oran laboratuvara başvuran hastalarda kadınların fazla olması yanı sıra, tiroid bozukluklarının erkeklerle oranla kadınlarda daha fazla görülmesiyle açıklanabilir. Bulgumuz bu konuda yapılan çalışmalarla uygunluk göstermektedir (11). Aynı oran tablo II için de sözkonusudur.

Tiroid hormon düzeyleri ayrı ayrı alınarak (total T_3 , total T_4 , FT_3 , FT_4 ve TSH) artan ve azalan hormon düzeylerinde serum üre düzeyleri incelendiğinde düşük T_3 düzeylerinde üre düzeyinde artış, yüksek T_3 düzeylerinde ise düşme görülmektedir (Tablo IV, V). Elde ettiğimiz bu bulgularımız aynı amaç için hipotiroidizm oluşturulan farelerde serum üre düzeyindeki elde edilen bulgulara uymaktadır (22). Ancak yüksek hormon düzeylerinde (T_3 , T_4), hormon-enzim etkileşimi ve üre oluşumu arasında net bir sonuca, bu konudaki araştırmacılar da, varamamışlardır. Çünkü tiroid hormonlarının etkisini hem anabolik, hem katabolik olarak bir arada olması ve dengenin hangi yönde baskın olacağı belirleyen açıklayıcı bir görüş ortaya konamamıştır.

Kasta en büyük enerji kaynağı olan kreatinfosfat'ın yıkım ürünü olan kreatinin, tablolar incelendiğinde görülebileceği gibi, tiroid hormon düzeylerinin değişiminden etkilenmektedir. Üre ve kreatinin gibi azotlu maddelerin kan düzeyleri, metabolik oluşum hızı yanında bu artık maddelerin kanda temizlenmeleri (klerens) ve bu artık maddelerin vücut dışına atıldığı organların çalışmasıyla yakından ilgilidir. Örneğin metabolik hıza bağlı olarak kanda biriken azotlu maddeler, böbreğin bunları kandan artan hızda temizleme yeteneğinin yerinde olmasıyla, kan düzeylerinde değişim gözlenmemesine neden olabilmektedir. Daha önce bu konuda yapılan bir çalışmada artan hormona bağlı olarak kan üre ve ürik asit düzeylerinde fazla bir değişiklik gözlenmemesine karşın, idrarla atılan miktarlarda artış gösterilmiştir (22).

Bizim çalışmamızda ; hormon düzeylerine bağlı olarak ürik asit düzeylerinde gözlenen değişimlere bakıldığında, kadınlardaki ürik asit artışının total T_4 ve serbest T_4 düzeylerindeki artışa paralel olduğu görülmektedir. T_3 değişimlerinden ise erkek grubu etkilenmektedir.

Ürik asidin sağlıklı kişilerdeki değerinde cinsiyete bağlı olarak değiştiği göz önüne alındığında, hormona metabolik yanıtın cinsiyete bağlı olabileceği kanısını uyandırmaktadır. Üre ve kreatinin de olduğu gibi ürik asidin kan düzeyi de böbreğin kompensasyon mekanizması ile ilişkili olarak düşünülmelidir.

Metabolik olarak oluşan amanyağın karaciğer de üre döngüsü aracılığıyla üre meydana getirmesi sırasında kullanılan diğer enzimlerin yanında arginini üre ve ornitine parçalayan arginaz enziminde tiroid hormonlarından etkilendiği daha önce bu konuda yapılan çalışmalarda ve kaynak kitaplarında gösterilmiştir (4,5,22,42). Ancak yapılan çalışmalarda hormon düzeylerine bağlı olarak doku ve organlardaki yanıtın farklı olduğu gösterilmiştir. Tiroksin verilen farelerde barsak arginazının en erken yanıt vererek arttığı, böbrek arginazının çok az yükseldiği ve beyin arginazının tiroksinden etkilenmediği bildirilmiştir (5). Daha çok karaciğer arginazıyla çalışılan hormon etkileri daima hayvan deneyleriyle

gösterildiğinden bizim bulgularımızı daha önceki verilerle karşılaştırma zorluğu ortaya çıkmaktadır.

Tablolar incelendiğinde görülebileceği gibi, eritrosit arginazı ektivite düzeyi istatistiki açıdan önemli derecede farklılık göstermemesine rağmen, sayısal olarak hormon düzey değişimlerine paralel olarak değişmektedir. Bu değişme yüksek T_3 , T_4 düzeylerinde eritrosit arginaz aktivitesinde azalma, düşük T_3 ve yüksek TSH da ise artma şeklindedir. Arginaz aktivitesinde elde edilen bu bulgular, kan üre düzeylerinde elde edilen bulgularla paralellik içerisindedir. Hipertiroidli hastaların tiroid bezindeki arginaz aktivite düzeyinin yüksek bulunduğu bir çalışmada, bunun daha çok poliamin sentezi yönünde önemli olduğu gösterilmiştir (42). Ancak insanlarda tiroid hormonları ile eritrosit arginazı arasındaki ilişkiyi gösteren daha önce yapılmış bir çalışmaya literatürde rastlayamadığımız için karşılaştırma olanağından yoksunuz. Hipotiroidizm yaratılan farelerde düşük karaciğer arginaz aktivitesi elde edilen çalışma (22) ile doku farklılığı bir yana bırakılırsa uyum içinde olan bulgularımız, tiroid hormonlarının bir denge içerisinde hem anabolik ve hemde katabolik etkiyi aynı anda yaptığı teorisiyle açıklanabilir kanaatindeyiz.

Bu çalışmanın sonuçlarını şu şekilde özetleyebiliriz:

1- Serum azotlu madde düzeyleri tiroid hormon düzeylerine bağlı olarak değişme göstermektedir.

2- Üre ve ürik asitte ; bazı tiroid hormon düzey değişimlerinde cinsiyete bağlı olarak istatistiki açıdan önemli bir değişiklik elde edilmiştir.

3- Kreatinin düzeylerinde ise tiroid hormonları düzeylerine bağlı olarak bir değişme gözlenmemiştir.

4- Eritrosit arginaz aktivite düzeyi de, tiroid hormon düzeylerine bağlı olarak önemli bir farklılık göstermemiştir.

5- Azotlu maddelerin serum düzeyleri ile birlikte idrar düzeylerinin de saptanmasının bu konuda daha aydınlatıcı bilgi vereceği kanısındayız.

V. BÖLÜM

ÖZET

Tiroid hormonları vücuttaki bir çok metabolik olayı etkiler ve bunları hızlandırır. Bu hormonların varlığı normal gelişme, mental gelişim ve cinsel olgunlaşma için oldukça önemlidir. Çünkü TSH etkisiyle tiroid bezinden dolaşıma salınan tiroid hormonları, metabolik olaylar üzerinde hücressel düzeyde etkili olmaktadır.

Hayvan dokularında yapılan çalışmalarda tiroid hormonlarının azotlu maddeler üzerindeki etkileri incelenmiş ve toksik etkili azotlu maddelerin düzeyleri hakkında araştırmacılar arasında net bir görüş birliği sağlanamamıştır. Ancak tiroid hormonlarının protein sentezin de hem anabolik ve hem de katabolik etkiyi bir denge içerisinde aynı anda yaptığı fikri ağır basmaktadır.

Çalışmamızda insanda tiroid hormonları değişimlerinin üre, üre-döngüsü enzimlerinden arginazın eritrositlerdeki aktivitesini inceledik. Bunun yanında diğer azotlu maddelerin (ürik asit ve kreatinin) değişimlerini ele aldık. Bunun için Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya laboratuvarına tiroid hormon düzeyleri tespit edilmek üzere başvuran 350 hasta içinde, tiroid hormon düzeyleri anormal bulunan 66 kişi ile hiçbir şikayeti olmayan 54 sağlıklı kişiden çalışma materyali sağlandı ve her kişinin serum total T_3 , total T_4 , serbest T_3 , serbest T_4 ve TSH düzeyleri RIA yöntemi ile saptandı. Aynı kişilerin serum üre, ürik asit ve kreatinin düzeyleri ile eritrosit arginaz düzeyleri uygun metotlarla tespit edildi. Kaynak araştırmasında; yapılan çalışmaların deney hayvanlarıyla gerçekleştirilmesi, insan üzerinde benzer çalışmaların olmaması bulduğumuz sonuçların karşılaştırmasını zorlaştırdı. Buna rağmen bulgularımız bazı çalışmalardaki bulgularla doku farklılığı bir yana bırakılırsa uyum içindedir.

Laboratuvara başvuran kişilerin çoğunlukla kadın

olması, tiroid hastalığının daha çok kadınlar arasında yaygın olduğu fikrini güçlendirmektedir. Ayrıca bulgularımızdan elde edilen sonuca göre, tiroid hormon düzeyleri ayrı ayrı alınarak (T_3 , T_4 , TSH), düşük T_3 düzeylerinde üre düzeylerinde artış, yüksek T_3 düzeylerin de ise üre düzeylerinde bir düşme görülmektedir. Kreatinin düzeyinin tiroid hormonlarından etkilenmediği, cinsiyete bağlı olarak üre ve ürik asidin bazı hormon düzey değişikliklerinden etkilendiği görülmektedir. Ayrıca eritrosit arginaz aktivitesinin, hormonal değişime bağlı olarak, istatistiki açıdan değişim göstermemesine rağmen sayısal olarak az da olsa bir değişim gösterdiği de söylenebilir.

KAYNAKLAR

- 1- Yenson, M. İnsan Biyokimyasına Giriş. Beta Basım A.Ş. İstanbul, 427 - 731, 1984.
- 2- Bingöl, G. Biyokimya. Hacettepe - TAŞ Kitapçılık, Ankara, 184 - 343, 1983.
- 3- Koloğlu, S. Ötiroid Guatr. Türkiye Klinikleri Cilt : 4 Sayı : 4, 299 - 312, 1984.
- 4- Smith, El., Hill, R.L., Lehman, IR., Lefkowitz, R., Handler, P., white, A. : Principles of Biochem: Mammalian Biochem. Mc Grew-Hill Book Comp. 197-440. 1983.
- 5- Konarska, L., Tomaszewski, L., Rulczyk, U.: Studies on L-Arginase in Developing Rat Small Intestine, Brain and Kidney : II-Effect of Hydrocortisone and Tyroxine. Biochem. Med. and Metabolic Bio. 35 : 170-178, 1986.
- 6- Jacson, M.J., Beaudet, AL., O'Brien, wE. : Mammalian Urea Cycle Enzym. Ann. Rev. Genet. 20 : 431-464. 1986.
- 7- King, J.: Arginase. Practical Clinical Enzymology. D. Von Nostraund Comp. London. 220 - 225, 1965.
- 8- Bishop, ML., Duben - Von Laufen, J.L., Fondy, E.P. Clinical Chemistry. Prenciples, Procedures, Correlations. J.B. Lippincott Comp. Philadelphia. 411-481, 1985.
- 9- Aras, K., Erşen, G.: Tıbbi Biyokimya-Hormonlar. Ankara Üni. Tıp Fak. Yayınları Sayı: 307. Ankara. 108-118, 1974.
- 10- wilson, D.J., Foster, Dw. : Texbook of Endocrinology. w.B. Sounders Comp. Philadelphia. 682-815, 1985.
- 11- İlhan, N.: Elazığ ili Palu ilçesindeki Endemik Guatr Bölgesinde Yaşayan Kişilerde Tiroid Hormon Düzeyleri Üzerine Araştırmalar (İhtisas Tezi), 1987.

- 12- Karlson, P. Kurzes Lebruch der Biochemie (Tıp ve Fen Bilimleri için Biyokimya). Türkçe çeviri. Arkadaş Tıp Kitapları. İstanbul, 167 - 369, 1988.
- 13- Tietz, N.w.: Texbook of Clinical Chemistry. w.B. Saunders Comp. Philadelphia. 1009 - 1288, 1985.
- 14- Takuma Hashimoto, M.D. Test of Thyroid Function. Labmedica. 3:(5). 55 - 63, 1986.
- 15- Koutras, D.A., Souvatzelou., A., Pandos, P.G., Papachristou, D.N., Piperlingas, G.D., Sfontouris, J. Iodide Organification defect in iodine deficiency endemic Goiter. J. Clin. Endocrinol. Metab. 47 : (3). 610-614, 1978.
- 16- Santisteban, P., Obregon, Mj. et al : Are Iodine-Deficient Rat Euthroid?. Endocrinology. Vol : 110. No: 5. 1780 - 1789, 1982.
- 17- Eltom, M., Karlsson, A.F., Kamal, M.A., Boström, H., and Dahlberg, PA. : The effectiveness of oral iodized oil in the treatment and prophylaxis of endemic goiter. J. Clin. Endocrinol. Metab. 61: 6. 1112 - 1117, 1985.
- 18- Ünal, A. : Sivas Yöresi Endemik Guatr Sıklığında Serum TSH, T_4 ve T_3 Normaliteleri ve Bu Hormonların Tanıda Önemi. C.Ü. Tıp Fak. Dergisi Cilt 8, Sayı: 1-2. 83 - 94, 1986.
- 19- Zilva, J.F., Pannall, PR. : Clininical Chemistry in Diagnosis and Treatment (Sempton ve Teshiste Laboratuvar). Türkçe çevirisi. 2 ci Baskı. Güven Kitapevi Yayınları. Ankara, 128 - 142, 1975.
- 20- Guyton, A.C.: Texbook of Medical Physiology. Fifth edition. Türkçe Çevirisi. Güven Kitapevi. Ankara 3. 329-350, 1976.
- 21- Harper, H.A. : Review of Physiological Chemistry. 14. Baskı. Türkçe Çevirisi. İzmir. 585-595, 1976.

- 22- Martı, J., Portoles, M. and et all. Effect of Thyroid Hormones on Urea Biosynthesis and Related Processes in Rat Liver. *Endocrinology*. 1923: 2167-2174, 1988.
- 23- Newsholme, E.A., Leech, A.R. *Biochemistry for the Medical Sciences*. 481 - 506, 1983.
- 24- Lehninger, A.L.: *Prenciples of Biochemistry*. worth Publishers Inc. 531 - 539. 1982.
- 25- Smith, E.L., Hill, R.L., Lehman, IR., Lefkowitz, R., Handler, P., white, A.: *Principles of Biochemistry. General Aspects*. McGrew-Hill Book Comp. Singapore. 613 - 690, 1983.
- 26- Stryer, L.: *Biochemistry*. w.H. Freeman and Comp. Newyork. 500 - 502, 1988.
- 27- Pasternak, C.A. İnsan Biyokimyasına Giriş. Çeviri: Ciliv G., Emerk, K., Karan, A. Hacettepe Üni. Yayınları p: 236. 1980.
- 28- Schimke, R.T., Adaptive Charasteristics of Urea Cycle Enzymes in the Rat. *J. Biological Chem*. Vol. 237. No: 2, 459 - 468, 1962.
- 29- Hayese, K., Yokogoshi, H., Yoshida, A.: Effect of Dietary Proteins and Amino Acid Deficiencies on Urinary Excretion of Nitrogen and the Urea Synthesizing System in Rat. *J. Nutr*. 110 : 1327 - 1337, 1980.
- 30- Vural, S., Çetin, ET., Tuzlacı, U., Tağ, T. Klinik Teğhiste Laboratuvar. Nurettin Uycan Cilt ve Basım Sanayii A.Ş. İstanbul. 75 - 127, 1986.
- 31- Yüregir, G. Temel Biyokimya II. Çukurova Üni. Tıp Fak. Yayınları No: 9, Adana 82 - 83, 1983.

- 32- Gargnata, C.L., Bond, J.S. Assay and Kinetic of Arginase. *Analy. Biochem.* 154 : 388 - 394, 1986.
- 33- Mallerup, B. : Colorimetric Method for Rabbit Determination of Serum Arginase. *Clinical Chemistry.* 13 : 10. 900 - 908, 1967.
- 34- Colombo, J.P., Konarska, L. : Arginase. In Bergmayer, H.U. ed. *Methods of Enzymatic Analysis.* 3 rd. ed. weinheim : Verlag Chemie. 285 - 294, 1984.
- 35- Porembaska, Z., Zamecka, E. : Immunological Properties of Rat Arginases. *Acta Biochem. Polon* 31: 2. 223 -227, 1987.
- 36- Zamecka, E., Porembaska, Z. : Five Forms of Arginase in Human Tissues. *Biochem. Med. and Metab . Biol.* 39 : 258 - 266, 1988.
- 37- Konarska, L., Tomaszewski, L. : Studies L-Arginase in Developing Rat Small Intestine, Brain and Kidney. I. Ontogenic Evolution of Arginase Izoenzymes. *Biochem. Med. and Metab. Bio.* 35 : 156 - 169, 1986.
- 38- Luboinska, M.K., Zamecka, E., Porembaska, Z. The Isolation and Immunological Properties of Two Arginase Forms From Human Erythrocytes. *Biochem. Med. and Metab. Biol.* 39 : 247 - 257, 1988.
- 39- Porembaska, Z., Kedra, M. : Early Diagnosis of Myocardial Infarction by Arginase Activity Determination. *Clinic. Chemica Acta.* 60o: 355 - 361, 1975.
- 40- Berüther, J., Colombo, J.P., Bachmann, C.: Purification and Properties of Arginase from Human Liver and Erythrocytes. *Biochem. J.* 175 : 449 - 454, 1978.
- 41- Herzfeld, A., Rosenoer, V.M., Raper, S.M. Glutamat Dehydrogenase, Alanine Aminotransferase, Thymidine Kinase, and Arginase in Fetal and Adult Human and Rat Liver. *Pediat. Res.* 10 : 960 - 964, 1976.

- 42- Matsuzaki, S., Suzuki, M., Hamana, K. : A Possible role of arginase in the regulation of polyamin biosynthesis in rat thyroid. Acta Endocr. 98 : 57 - 61, 1981.
- 43- Spector, E.B., Rica SCH., Cederbaum, D. : Immunologic Studies of Arginase in Tissues of Normal Human Adult and Arginase-Deficient patients. Pediat. Res. 17 : 12. 941-944, 1983.
- 44- Spector, E.B., Rice, S.C.H., Moedjano, S., Bernard, B., Cederbaum, S.D. : Biochemical properties of Arginase in Human Adult and Fetal Tissues. Biochem. Med. 28 : 165-175, 1982.
- 45- Cederbaum, S.D., Moedjono, S.J. : Treatment of Hyperargininaemia due to Arginase Deficiency with a Chemically Defined Diet. J. Inher. Metab. Dis. 5: 95 - 99, 1982
- 46- Orfanos, A.P., Naylor, E.W. and Guthrie, R.: Fluorometric Micromethod for Determination of Arginase Activity in Dried Blood Spots of filter paper. Clin. Chem. 26 : 8. 1198 - 1200, 1980.
- 47- Fukumato, K., Karai, I., Nishikawa, Y., Horiguchi, S.: Erythrocyte arginase activity as an Indicator of lead exposure. Brit. J. of Indust. Med. 40 : 106-110, 1983.
- 48- Ashkar, S.F. : Radiobioassays. CRC. Press. Inc. Florida. Vol : I. 97 - 110, 1983.
- 49- Hatemi, H., Urgancıoğlu, I., Benli, M. : RIA Seminerleri. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Nükleer Tıp Ana Bilim Dalı Yayınları No: 6. 11 - 26, 1982.
- 50- Bauer, J.D.: Clinical Laboratory Methods. ninth ed. The C.V. Mosby Comp. St. Louis. Missouri. 485-491, 1982.
- 51- Yüregir, G. : Klinik Hayatî Kimya Teknik ve Uygulamaları. Kemal Basımevi. Adana S. 68, 1968.

- 52- Eastham, R.D. : Biochemical Values in Clinical Medicine. Year Book Medical Publishers. Chicago, P : 67, 1975.
- 53- Aras, H., Erşen, G. : İlinik Biyokimya. Beşinci basım Ankara Üniversitesi Basımevi Ankara. 591 - 593, 1975.
- 54- Gayer, J.W., Dabich, D. : Rapid Method for Determination of Arginase Activity in Tissue Homogenates. Analyt. Biochem. 39 : 412 - 417, 1971.
- 55- Özdemir, Y., Ozan, S., Özdemir, N., Gürsü, F., Halifeoğlu, İ., Gülen, Ş. : The Evaluation of Methods Used For The Measurement of Arginase Activity. I. Marmara Tıp Günleri. Biyokimya Seksiyonu. S. 11. 26 - 30 Eylül 1988.
- 56- Konarska, L., Tomaszewski, L. : A Simple quantitative micromethod of Arginase assay in Blood Spots dried on filter paper. Clin. Chim. Acta. 154: 7 - 18, 1986.
- 57- Velicangil, S. : Bioistatistik. Filiz Kitapevi. İstanbul. 161 - 168, 1984.
- 58- Özdamar, K. Biyoistatistik. Bilim Teknik Yayınları. İstanbul. 290 - 314, 1983.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez konum seçiminde ve çalışmalarım sırasında yakın ilgilerini esirgemeyen hocam Sayın Doç.Dr. Yüksel Özdemir'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımia yakından ilgilenen ve gerekli yardımlarını esirgemeyen sayın Prof.Dr. Şendoğan Gülen'e, yardımlarını unutmayacağım Biyokimya Uzmanı Necip İlhan'a, Araştırma Görevlileri Dr. Ümit Sondaç'a, Dr. Metin Gezici'ye ve Biyokimya bölümü çalışanlarına çok teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞİM

1956 yılında Van'ın Erciş ilçesinde doğdum. İlk okul, Orta okul ve Liseyi Erciş'te bitirdikten sonra Ankara Hacettepe Üniversitesi Kimya Fakültesine girdim. 1981 yılında bu fakülteden kimyager olarak mezun olduktan sonra Vatani görevimi yapmak üzere askere alındım. 1985 yılından beri Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde Kimyager olarak görev yapmaktayım. Evli ve üç çocuk babasıyım.

Ek : 1

İstatistiksel karşılaştırmaya bir örnek.

Kontrol grubundaki kişi sayısı : 36

Kontrol grubu eritrosit arginaz aktivitesi aritmetik ortalaması : 43,6.

Kontrol grubu eritrosit arginaz aktivitesi standart sapması:8.07

Hasta grubundaki kişi sayısı : 19

Hasta grubu eritrosit arginaz aktivitesi aritmetik ortalaması : 48.0

Hasta grubu eritrosit arginaz aktivitesi standart sapması:14.73
ise bu iki grubun t değerini bulalım.

$$t = \frac{|x_1 - x_2|}{\sqrt{(Sx_1)^2 + (Sx_2)^2}}$$

Burada $\bar{x}_1$ ve $\bar{x}_2$ aritmetik ortalamaları $S\bar{x}_1$ ve $S\bar{x}_2$ ise standart hatadır.

$$\text{Standart hata } S\bar{x} = \frac{\text{Standard Sapma (sd)}}{\sqrt{n}}$$

$$\text{Buna göre } S\bar{x}_1 = \frac{8.07}{\sqrt{36}} = 1.345$$

$$S\bar{x}_2 = \frac{14.73}{\sqrt{19}} = 3.379$$

$$t = \frac{43.6 - 48.01}{\sqrt{(1.345)^2 + (3.379)^2}} = 1.210$$

$$\text{Serbestlik derecesi} = n_1 + n_2 = 36 + 19 - 2 = 53$$

53 serbestlik derecesine karşı ek 2 deki tablodaki önem seviyesi, $p = 0.1$ de 1.671 dir. $t < t$ tablo olduğundan test sonucu istatistiksel olarak anlamsızdır. Yani iki grup arasındaki fark önemli değildir.

Ek : 2

STUDENT - t DAĞILIMININ KRİTİK DEĞER TABLOSU

P Sd	0,90	0,50	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0.158	1.000	3.028	6.314	12.706	31.821	63.657	636.619
2	0.142	0.816	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	31.598
3	0.137	0.765	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	12.924
4	0.134	0.741	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	8.610
5	0.132	0.727	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	6.869
6	0.131	0.718	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.959
7	0.130	0.711	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	5.408
8	0.130	0.706	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	5.041
9	0.129	0.703	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.781
10	0.129	0.700	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.587
11	0.129	0.697	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.437
12	0.128	0.695	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	4.318
13	0.128	0.694	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	4.221
14	0.128	0.692	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	4.140
15	0.128	0.691	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	4.073
16	0.128	0.690	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	4.015
17	0.128	0.689	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.965
18	0.127	0.688	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.922
19	0.127	0.688	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.883
20	0.127	0.687	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.850
21	0.127	0.686	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.819
22	0.127	0.686	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.792
23	0.127	0.685	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.769
24	0.127	0.685	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.745
25	0.127	0.684	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.725
26	0.127	0.684	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.707
27	0.127	0.684	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.690
28	0.127	0.683	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.674
29	0.127	0.683	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.659
30	0.127	0.683	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.646
40	0.126	0.681	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.551
60	0.126	0.679	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	3.460
120	0.126	0.677	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617	3.373
∞	0.126	0.674	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.291