

DOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE SAĞLAM ŞAHISLARDA İDRARLA ALFA AMİNO NİTROJEN İTRAHI (x)

Tevfik Aslan AKSU (xx)
Selma ÇEKİRDEK (xxx)
Gökhan TİMURALP (xxxx)
Hüseyin T. SESSİZ (xxxxx)

ÖZET

35 kadın, 95 erkek, total 130 sağlam şahısta günlük alfa amino nitrojen itrahi ölçüldü. Ayrıca alfa amino nitrojen'in tayininin önemi üzerinde duruldu. Tayinde kullanılan prensip ve metodlar münakaşa edildi.

Giriş :

İdrarda serbest amino asitlerin yapısındaki mevcut alfa amino nitrojen miktarının ölçülmesi, serbest amino asit itrahi hakkında yakından fikir verebilen bir kriterdir. Şüphesiz ki, amino asitlerle ilgili bir patolojinin tesbit edilmesinde en güvenilen yol amino asitlerin tek tek idantifiye edilip miktarlarının ölçülmesidir. Fakat bu yol, uygulaması oldukça pahalı ve zaman alıcı metodların kullanılmasını gerektirir. Günlük uygulamada ve özellikle tarama çalışmalarında önce kullanışlı bir metodla şüpheli vakaların bulunması ve sonra bunların özel metodlarla değerlendirilmesi zarureti vardır. İşte uygulama rahatlığı bakı-

mından idrarla alfa amino nitrojen itrahının ölçülmesi aminoasidopatili vakaların bir toplum içinden seçilmesinde büyük kolaylık sağlar.

İdrarda alfa amino nitrojen miktarının ölçülmesi için şimdiye kadar çeşitli metodlar kullanılmıştır. Bu metodların hepsinde genel prensip, ninhidrinin amino asitlerle birleştiği zaman mavimor bir renk vermesi ve CO₂ ortaya çıkması keyfietidir. Reaksiyonda esas itibariyle kuvvetli bir oksidan olan ninhidrin, amino asidi sıcak ortamda amino aside tekabül eden aldehide, NH₃ ve CO₂ te parçalar. Bu arada ninhidrin de hidrindantine dönüşür. Daha sonra hidrindantin ortamda mevcut NH₃ ın da katılmasıyla bir molekül ninhidrinle birleşir ve böylece mavi-

(x) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biokimya Bölümü çalışmalarından.-

(xx) Doç.Dr. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Doçenti Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biokimya Bölümü Öğretim Üyesi.

(xxx) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biokimya Bölümü Asistanı

(xxxx) Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uz. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biokimya Bölümü Ass.

(xxxxx) Biokimya Uzmanı.

mor renk teşekkül eder. Böylelikle alfa amino nitrojen ölçülmesi metodları reaksiyon ürünlerinin değerlendirilmesi ile isimlendirilecek duruma gelir. Eğer çıkan CO₂ ölçülüyorsa metod volumetrik, meydana gelen rengin intansitesi ölçülüyorsa metod kolorimetrik olur. Volumetrik olan Vən Slyke metodu alfa amino nitrojen ölçülmesi için çok spesifiktir. Çünkü bu metodla sadece karboksil ve serbest amino grubu taşıyan ve ninhidrinle muamele edildikleri zaman CO₂ açığa çıkaran maddeler, yani amino asitler ölçülür(1). Hâlbuki ninhidrin alfa amino grubundan başka, primer aminlerle peptid, pepton protein

ve NH₃ la da birleşir. Ancak bu kez renk teşekkül eder, fakat CO₂ meydana gelmez. Şu halde kolorimetrik metodlar amino asitlerden başka maddeleri de ölçtükleri için daha nonspesifiklerdir. Ancak kolorimetrik usullerde de uygun ilâvelerle interferens yapan maddeleri ortamdan uzaklaştırmak mümkündür(2, 3).

Bizim bu çalışmadaki amacımız, patolojik alfa amino nitrojen itrahatlarının değerlendirilmesine zemin teşkil etmek üzere bölgemizdeki sağlam şahıslarda günlük alfa amino nitrojen itrahatının tesbit edilmesidir.

Materyal ve Metod :

Çalışmamızda günlük idrar nümuneleri, 130 sağlam (35 kadın, 95 Erkek) şahıstan toplandı.

Alfa amino nitrojen tayini Szentirmai'nin kolorimetrik usulü ile yapıldı(4).

A. Reaktifler ve diğer lüzumlu maddeler :

1. EDTA % 0,5 lik :
Distile suda hazırlandı ve pH sı NaOH ile 7,2 ye ayarlandı.
2. Ninhidrin reaktifi :
200 mg. Ninhidrin
50 ml. absolu alkol.
50 ml. etilen glikol.
1 ml. glasiyal asetik asit.
3. Filtre kâğıtlarının hazırlanması :
Whatman No. 4 filtre kâğıtları 3x1,5 cm. ebadında kesildi.
% 66 lık etanolde hazırlanmış % 3 lük KOH solüsyonuna daldırıldı, çıkarıldı ve kurutuldu.

B. İşlem :

1. İdrar EDTA solüsyonu ile 1/1 oranında sulandırıldı.
2. Önceden hazırlanmış filtre kâğıdına 0,1 m. dilüe idrar emdirildi.
3. Filtre kâğıdı önceden 10 ml. ye kalibre edilmiş test tüpüne kondu ve 5 ml. ninhidrin reaktifi ilâve edildi.
4. Tüp kaynar suda, ağzı kapalı olarak 20 dakika tutuldu.
5. Oda sıcaklığında soğutuldu ve 10 ml.ye % 50 lık etanol ile tamamlandı.
6. Spektrofotometrede 570 milimikronda okundu.
7. Kör deney, idrarı konmamış filtre kâğıdı ile yapıldı.
8. Deneyde, kalibrasyon için glutamik asit standardı kullanıldı.

Bulgular :

Alfa amino nitrojen itrahının cinsiyete göre dağılımı Tablo I de gösterildi. Gruplar arasında, kg. başına itrah dışında istatistiksel olarak önemli bir fark tesbit edilemedi.

Tablo I. Günlük Alfa Amino Nitrojen İtrahının Cinsiyete Göre Dağılımı

	mg/günde	mg/kg	mg/mg kreatinin
Kadın n= 35	127.63±46.84	2.34±0.88	0.128±0.46
Erkek n= 95	120.50±43.10	1.98±0.81	0.092±0.34
Önemlilik	Önemsiz	p<0.04	Önemsiz

Tablo II. Muhtelif Yaş Gruplarında Günlük Alfa Amino Nitrojen İtrahı

Yaş Grubu	mg/günde	mg/kg	mg/mg kreatinin
10-19 n= 40	132.52±45.45	2.56±1.02	0.128±0.047
20-29 n= 68	122.45±44.91	1.86±0.70	0.086±0.035
30-39 n= 10	128.02±50.3	1.97±0.74	0.095±0.045
40 yaşın üstü n= 12	112.45±29.25	1.90±0.42	0.103±0.040

Tartışma :

Çalışmamızda elde ettiğimiz değerler, amino asitlerin ekskresyonları ile ilgili patoloji gösteren vakaların değerlendirilmelerinde kontrol grubu teşkil edecektir. Bu bakımdan, bilhassa tarama çalışmalarında patolojik vakaların tanınmasında önemli bir kıstas olacağı ümidindeyiz. Ancak alfa amino nitrojen ölçülürken, total serbest amino asit itrahı hakkında bir fikir elde edildiği

Tablo II de de muhtelif yaş gruplarında günlük total, kilo başına ve mg. kreatinin başına düşen alfa amino nitrojen miktarları görülmektedir.

daima hatırd tutulmalıdır. Muayyen bir amino asidin itrahında hafif bir değişme ile seyreden durumlarda alfa amino nitrojen miktarı bu değişikliği ortaya çıkaracak derecede hassas ve güvenilir değildir. Bu itibarla kliniğin bir amino asidopatiji ima ettiği ve alfa amino nitrojen itrahının önemli bir farklılık göstermediği vakalarda spesifik tayin metodlarına baş vurulmalıdır. Fakat

bu konuda laboratuvar yönünden memnuniyet verici bir taraf, aminosadopati mevcut olduğu zaman bunun genellikle bir veya birçok amino asitte yüksek bir itrah artışı ile beraber olmasıdır. Tabiiyle bu durumlarda yüksek bir alfa amino nitrojen itrahi tesbit edilir ve test amino asidopatilerin tanımında gayet yararlı olur.

Alfa amino nitrojen tayini için çok spesifik olan Van Slyke metodu araştırmamızda kullanılmamıştır. Zira bu metod zaman alıcı ve bu itibarla pratik olmayan bir methodur. Araştır-

mamızda kullandığımız Szentirmai metodu uygulaması çok kolay olan bir tekniktir. Bu methodda kullanılan KOH idrar amonyağını tutar. Ayrıca ninhidrin reaktifinin susuz bir ortamda hazırlanması ürenin interferensini önler. Böylelikle idrardaki alfa amino nitrojeninin oldukça izole bir şekilde değerlendirilmesi mümkün olur. Nitekim bizim sonuçlarımızla başka metodlar kullanılarak elde edilen sonuçlar kıyaslandığında aradaki benzerlik metodun güvenilirliğini ortaya koyması bakımından çok anlamlıdır, Tablo III.

Tablo III. Muhtelif Yazılara Göre Günlük Alfa Amino Nitrojen İtrahi

	mg/günde	mg/kg	mg/mg kreatinin
Bu çalışmada	Kadın 127.63±46.84	2.34±0.88	0.128±0.046
	Erkek 120.49±43.10	1.98±0.85	0.092±0.034
Jagenburg(5)	101 - 165	—	—
Clarkson(6)	160.00±35	2.19±0.40	0.078±0.019

Summary

DAILY URINARY EXCRETION OF ALPHA AMINO NITROGEN IN NORMAL INDIVIDUALS

Daily urinary alpha amino nitrogen excretion has been measured in 130 normal individuals. In addition, the importance of alpha amino nitrogen

determination has been emphasized and principle and methods which were used in measurement have been discussed.

Kaynaklar

1. Bernard, L.O.: Hawk's Physiological Chemistry, ed. 14, New York, McGraw-Hill Co., 1965, p. 1228.
2. Rubinstein, H.M. and Pryce, J.D.: The colorimetric estimation of alpha-

- amino nitrogen in tissue fluids. J. Clin. Pathol., 12:80, 1959.
3. Conway, E.J.: Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, ed 3, Lockwood and Son Ltd., London, 1950, p. 87.

4. Szentirmai, A. et al.: A rapid screening test for determination of total alpha amino acids in urine and serum. *Clin. Chim. Acta*, 7:459, 1962.
5. Jagenburg, O.R.: The urinary excretion of free amino acids and other amino compounds by the human. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 11 (Suppl 43) : 1, 1959.
6. Clarkson, T.V. et al.: A simple and rapid procedure for the determination of alpha-amino nitrogen and ammonia in urine. *Clin. Chem.*, 15:433, 1969.