

3386

THALASSEMİALİ VE KARACİĞER SİROZLU HASTALARIN
KAN ELEMANLARINDA VE SAÇLARINDA ÇİNKO TAYINI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
(KİMYA)

FADİME NAZLI DİNÇER

EYLÜL 1987

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu
onaylarım.

20. 8. 1987
Ahmet Yaşar

Yrd.Doç.Dr. Ahmet Yaşar

Danışman

Sınav Jürisi

Başkan:

Prof. Dr. Ayten Arasçay

Üye

: Doc. Dr. Süleyman Akman

Üye

: Yrd. Doç. Dr. Ahmet YAŞAR

Bu Tez Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Tez Yazım Esaslarına Uygundur.

Ahmet Yaşar

Babam Ahmet Tevfik Dinger'in

Anısına



THALASSEMİALİ VE KARACİĞER SİROZLU HASTALARIN
KAN ELEMANLARINDA VE SAÇLARINDA ÇİNKO TAYINI

(Yüksek Lisans Tezi)

Fadime Nazlı DİNÇER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EYLÜL 1987

ÖZET

Bu çalışmada, insan organizmasında önemli eser elementlerden biri olan çinko, kronik çinko eksikliği gösteren iki hasta grubunda, thalassemia ve karaciğer sirozunda incelenmiştir. İncelenen bu iki hasta grubunun çeşitli kan elemanları (plazma,eritrosit,serum,lökosit) ve saçlarında çinko düzeyleri ile çinko içeren enzimlerden biri olan alkali fosfatazin serumdaki aktivitesi ölçülmüş ve vücudun çinko durumunu göstermesi bakımından hangilerinin iyi indikatörler olabileceği karşılaştırılmıştır.

Yapılan deneylerin ve elde edilen değerlerin korelasyon analizi sonucunda organizmanın çinko durumunu göstermesi bakımından serum, plazma ve saç çinko düzeylerinin ölçülmesinin iyi birer indikatör olabileceği sonucuna varılmıştır.Ancak birbirini destekleme ve karar vermede daha etkili olması bakımından bunlardan en az ikisinde çinko

düzeylelerinin ölçülmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, insan organizmasının çinko durumunu saptamak amacıyla, plazma ve/veya serum çinko düzeylerinin yanısıra saç çinko düzeylerinin de ölçülmesi gerekmektedir.



ZINC DETERMINATION OF DIFFERENT BODY
COMPARTMENTS IN THALASSEMIA AND CIRRHOSIS

(M. Sc. Thesis)

Fadime Nazlı DİNÇER

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

September 1987

ABSTRACT

The purpose of this study was compare hair, serum, plasma erythrocyte, leucocyte zinc levels which is essential trace element in thalassemia and cirrhosis. This survey was performed in two groups of patients : Thalassemia and cirrhosis both of which cause zinc deficiency.

We try to find out which is the best indicator in the body for the determination of zinc levels.

Correlation analysis was performed with the data obtained in the experiment. We concluded that serum, plasma and hair are the best indicators for measuring the zinc levels.

In order to have more accuracy and decide more easily at least two different compartments must be considered i.e. plasma and/or serum; hair.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı yapmama izin verdikleri için Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Dekan Yardımcısı Sayın Prof.Dr. Namık Kemal Tunalı'ya ve Kimya Bölümü başkanı Sayın Prof.Dr. Güler Somer'e öncelikle teşekkür etmek isterim.

Çalışmalarım sırasında karşılaştığım sorunların çözülmesinde, çalışmalarımın planlanması ve yürütülmesindeki katkılarından dolayı Sayın Yrd.Doç.Dr. Ahmet Yaşar'a ve Sayın Doç. Dr. Süleyman Akman'a teşekkürü borç bilirim.

Bana böyle bir araştırma yapma olanağını sağlayan, çalışma boyunca değerli katkı ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof.Dr. Ayten Arcasoy'a ve Sayın Prof.Dr.Ayhan O. Çavdar'a teşekkür ederim.

Özellikle lökositlerin ayrılması konusunda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Doç.Dr. Jale Erten'e ve çalışmalarım süresince benden yardım ve anlayışını esirgemeyen çalışma arkadaşım Teknisyen Nurdihan Yeşil'e teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında bana anlayış gösteren, büyük destek olan annem Saide Dinger'e, kardeşlerim Süleyman L. Dinger ve A. Tefik Dinger'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GZET.....	IV
ABSTRACT.....	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
TABLoların Listesi.....	XI
ŞEKİLLERİN Listesi.....	XIII

BÖLÜM 1

GİRİŞ.....	1
------------	---

BÖLÜM 2

ÇİNKO İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Çinkonun Biyokimyasal Fonksiyonları.....	3
2.1.1. Enzimlerle İlgisi.....	3
2.1.2. Hormonlarla İlgisi.....	6
2.1.3. DNA (Deoksiribonükleik asit) RNA (Ribonükleik asit) ve Protein Metabolizmaları ve Sentezleri ile İlgisi.....	9
2.1.4. Vitamin Metabolizması ile İlgisi.....	11
2.1.5. Diğer önemli Biyokimyasal Fonksiyonlarla İlgisi.....	11
2.2. Çinko Eksikliğinin Sebepleri.....	11
2.3. Çinkonun Gıdalarda Dağılımı ve Günlük İhtiyaç.....	13
2.4. Çinko Absorpsiyonu.....	13
2.5. Çinko Absorpsiyonunun Düzenlenmesi (Regülasyonu).....	15
2.6. Çinko Absorpsiyonunu Etkileyen Faktörler.....	17
2.7. Çinko Eksikliğinin Belirtileri.....	18
2.7.1. Deney Hayvanlarında Çinko Eksikliğinin Belirtileri.....	18
2.7.2. İnsanlarda Çinko Eksikliğinin Belirtileri.....	18

	<u>Sayfa</u>
2.8. İnsanda Çinko Eksikliğini Belirleyen Kriterler.....	19
2.9. Kronik Karaciğer Hastalığı ve Thalassemia ile Çinkonun İlişkisi.....	21

BÖLÜM 3

BIYOLOJİK ÖRNEKLERDE ESER ELEMENT ANALİZİ.....	23
3.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi.....	25
3.1.1. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi...	27
3.1.1.1. Işık Kaynakları.....	28
3.1.1.2. Atomlaştırıcılar.....	28
3.1.1.3. Monokromatörler.....	31
3.1.1.4. Alıcı ve Kaydediciler.....	31
3.1.2. Analitik Yöntemler.....	32
3.1.3. Atomik Absorpsiyonda Karşılaşılan Girişimler.....	34
3.1.3.1. Kimyasal Girişimler.....	34
3.1.3.2. Fiziksel Girişimler.....	35
3.1.3.3. İyonlaşma Girişimleri.....	35
3.1.3.4. Zemin Absorpsiyonu.....	35

BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	37
4.1. Örneklerin Analize Hazırlanması.....	37
4.1.1. Çözeltilerin Hazırlanması.....	37
4.1.2. Plazma örneğinin Hazırlanması.....	39
4.1.3. Eritrosit örneğinin Hazırlanması.....	40
4.1.4. Serum örneğinin Hazırlanması.....	40
4.1.5. Lökosit örneğinin Hazırlanması.....	40
4.1.6. Saç örneğinin Hazırlanması.....	41
4.2. Çinko Düzeylerinin Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresiyle Tayini ve Hesaplanması..	42
4.2.1. Plazma ve Serum örneklerinde Çinko Derişimlerinin ölçülmesi.....	42
4.2.2. Eritrosit örneğinde Çinko Derişiminin ölçülmesi.....	44
4.2.3. Saç örneğinde Çinko Derişiminin ölçülmesi.....	44
4.2.4. Lökosit örneğinde Çinko Derişiminin ölçülmesi.....	45
4.3. Serum Alkali Fosfataz Aktivitesinin Tayini.....	45

Sayfa

BÖLÜM 5

SONUÇLAR.....	47
---------------	----

BÖLÜM 6

TARTIŞMA.....	56
KAYNAKLAR.....	62



TABLOLARIN LİSTESİ

<u>TABLO</u>		<u>Sayfa</u>
2.1	Çinko Metalloenzimleri.....	5
2.2	İnsanda Çinko Eksikliğinin Klinik Belirtileri...	20
3.1	Biyolojik örneklerde Çinko Tayini için Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi, X-ışını Spektroskopisi ve Nötron Aktivasyon Analizinin Karşılaştırılması.....	24
5.1	Thalassemialı Hastalarda Çinko Düzeyleri ve Serum Alkali Fosfataz Aktiviteleri.....	49
5.2	Karaciğer Sirozlu Hastalarda Çinko Düzeyleri ve Serum Alkali Fosfataz Aktiviteleri.....	50
5.3	5-15 Yaşlar Arasındaki Sağlıklı Çocuklarda Lökosit Çinko Düzeyleri.....	51
5.4	25 Yaşından Büyük Sağlıklı Kişilerde Lökosit Çinko Düzeyleri.....	51
5.5	Thalassemialı Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grupunda Plazma Çinko Düzeyleri Ortalamaları....	52
5.6	Thalassemialı Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grupunda Eritrosit Çinko Düzeyleri Ortalamaları.	52
5.7	Thalassemialı Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grupunda Serum Çinko Düzeyleri Ortalamaları.....	52
5.8	Thalassemialı Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grupunda Saç Çinko Düzeyleri Ortalamaları.....	53

TABLOSayfa

5.9	Thalassemialı Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grubunda Lökosit Çinko Düzeyleri Ortalamaları...	53
5.10	Thalassemialı Hastalarda Serum Alkali Fosfataz Aktiviteleri Ortalamaları.....	53
5.11	Karaciğer Sirozlu Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grubunda Plazma Çinko Düzeyleri Ortalamaları.....	54
5.12	Karaciğer Sirozlu Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grubunda Eritrosit Çinko Düzeyleri Ortalamaları.....	54
5.13	Karaciğer Sirozlu Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grubunda Serum Çinko Düzeyleri Ortalamaları.....	54
5.14	Karaciğer Sirozlu Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grubunda Saç Çinko Düzeyleri Ortalamaları.....	55
5.15	Karaciğer Sirozlu Hastalarda ve Sağlıklı Kontrol Grubunda Lökosit Çinko Düzeyleri Ortalamaları.....	55
5.16	Karaciğer Sirozlu Hastalarda Serum Alkali Fosfataz Aktiviteleri Ortalamaları.....	55

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

<u>ŞEKİL</u>		<u>Sayfa</u>
2.1	Çinkonun Dokudan Mobilizasyonu.....	8
3.1	Bir Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinin Basit Şeması.....	27
3.3	Kalibrasyon Grafiği.....	32
3.4	Standart Ekleme Grafiği.....	33



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Yeryüzünde var olan elementlerden bazıları insan organizmasında da bulunmaktadır. Bu elementlerden bir kısmının fonksiyonları bilinmekte ve insan organizması için esansiyel (elzem) oldukları kabul edilmektedir (demir, bakır, çinko, magnezyum, kalsiyum, fosfor, mangan, molibden, krom, sodyum, potasyum, iyot). Bazılarının ise insandaki rolleri henüz tam olarak bilinmemekte ve bu sebeple bu elementler esansiyel olmayan elementler (lityum, rubidyum, gümüş, baryum, kurşun, kalay vb.) olarak kabul edilmektedir (1).

Dokularda çok az bulunmasına rağmen , hayatın sürdürülmesi, büyüme ve gelişme için gerekli olan çinko, esansiyel eser elementler arasında bulunmakta ve son yıllarda üzerinde en çok durulan eser elementlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. İlk olarak, Raulin tarafından asperigillus niger (siyah ekmek mantarı)(2), daha sonra Maze tarafından daha yüksek yapılı bitkiler için gerekliliği ortaya konmuştur (3). 1934' de Todd ve arkadaşları (4) çinkonun sıçanların gelişmesinde esas elementlerden olduğunu göstermişlerdir.

İnsanlarda çinko eksikliğinin klinik önemi, ilk kez Prasad ve arkadaşları tarafından gözlenmiş ve bunu izleyen

alışmalar, gelişme geriliği, anemi ve seksüel gelişme geriliği (hipogonadizm) ile çinko eksikliği arasındaki yakın ilişkiyi göstermiştir (5,6).

Böylece, mikro organizmalardan ve mantarlardan başlayarak, daha gelişmiş bitkilere ve sonunda memeli hayvanlara kadar erişen, çinkonun canlıların büyüme ve gelişmesindeki rolünün araştırılması, giderek, özellikle 1961'den itibaren insan organizması üzerinde yoğunlaşmıştır.

İnsanlarda inko seviyesini saptamak üzere, dünyada ve ülkemizde çok sayıda araştırmalar yapılmıştır. Ülkemizde insan dokusu ve vücut sıvılarında çinko düzeyleri ile ilgili bir çok çalışma vardır. Bu alışmalar, serum, plazma, saç, eritrosit ve idrar çinko düzeylerini içermektedir (7-15).

Bu çalışmada ise, plazma, eritrosit, serum ve saç çinko düzeylerinin yanı sıra, kanın beyaz hücrelerinin (lökositlerin) ayrılması, bunların çinko düzeylerinin saptanması ile çinko içeren enzimlerden alkali fosfatazın serumdaki aktivitesinin ölçülmesi ve sonuçların laboratuvar ve klinik uygulanabilirliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

ÇİNKO İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER

2.1. Çinkonun Biyokimyasal Fonksiyonları

2.1.1. Enzimlerle ilgisi

Çinko en az 80 metalloenzimin fonksiyonu için gereklidir. Çinkoya bağlı enzimlerin aktivitesi dokudaki çinko seviyesi ile düzenlenir. Çinko, bu enzimlerin yapısal bütünlüğünün devamını sağlar, düzenleyici ve katalitik rol oynar (16,17).

Metalloenzimler, biyolojik olarak aktif olan, sıkı bağlı metal atomları ihtiva ettiklerinden, katalitik olarak etkin olan metalloproteinlerdir. Çinko karbonhidrat ve lipid metabolizmasında önemli rolleri bulunan muhtelif dehidrogenazlar, aldolaz, peptidaz, fosfataz, izomeraz, fosfolipaz gibi enzimlerin yapısında da bulunan bir metaldir (18). Ayrıca pyridin nükleotidlerine bağlı enzimlerde de fazla miktarda bulunduğu gibi, bir çok enzimlerde de ko-faktör olarak rol oynar.

Çinko eksikliğinin enzimler üzerine etkisi her organda aynı değildir. Bazı organ ve dokularda aktivite azalırken, bazılarında artmış ya da normal seviyede kalmıştır. Çinko eksikliği meydana getirilen farelerde, alkali fosfataz aktivitesi serumda azaldığı halde karaciğer dokusunda aktivitede değişiklik olmamış, ince barsakta ise azaldığı

gözlenmiştir (19).

Çinko eksikliğinin olduğu durumlarda, alkol dehidrogenaz aktivitesinin cevabı da çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir (19). Farelerde , karaciğer , kemik, testis, böbrek ve özefagus dokusunda enzim aktivitesi azalmıştır. Memelilerde karaciğer "alkol dehidrogenaz" ı bir çok alkol türlerini (örneğin, vitamin A) yükselttiğinden çinko eksikliğinde vitamin A' nın metabolizması da etkilenir. Gerçekten de deney hayvanlarında çinko eksikliği durumlarında serum vitamin A düzeyleri düşük bulunmuş, yüksek dozda vitamin A verilmesinin hiç bir tedavi etkisi olmamıştır.

Başlıca çinko metallo enzimleri arasında , karbonik anhidraz , alkol dehidrogenaz , karboksipeptidaz , alkali fosfataz ve nükleotid polimeraz sayılabilir. Çinko metalloenzimlerinden bazılarını içeren bir liste Tablo 2-1'de verilmiştir.

Üç enzim, alkali fosfataz, karboksipeptidaz ve timidin kinaz çinkodan eksik diyetle beslenmeye çok hassastır. Çinko diyeti uygulanan deney hayvanlarında , bu üç enzimin aktivitesinin 3-6 gün arasında etkilendiği bulunmuştur (21).

TABLO 2-1 ÇİNKO METALLOENZİMLERİ

Enzim ve Alındığı Kaynak	Enzimin Molekül Ağırlığı	1 Mol Enzim Başına Çinko Atomu Sayısı
Karbonik Anhidraz (Sığır ve insan eritrositi)	30.000-34.000	1
Karboksipeptidaz (Domuz ve sığır Pankreası)	34.5000	1
Alkol Dehidrogenaz (Maya)	150.000	4
Alkol Dehidrogenaz (At karaciğeri)	73.000-84.000	4
Glutamik Dehidro- genaz (Sığır karaciğeri)	100.000	2-4
Laktik Denidro- genaz (Tavşan iskelet kası)	-	1
Alkali Fosfataz (Escherichia Coli)	80.000	2(dimer başına)
Alkali Fosfataz (Domuz böbreği)	-	-
D-Gliser aldehit- 3-Fosfat Dehidro- genaz (Memeli kası ve ekmek mayası)	140.000	2-3
Nötral Proteinaz (Subtilis Basili)	-	1

Enzim ve Alındığı Kaynak	Enzimin Molekül Ağırlığı	1 Mol Enzim Başına Çinko Atomu Sayısı
Malik Dehidrogenaz	-	1
Fosfomannoz izome- raz	45.000	1
Rodanaz (Sığır karaciğeri)	37.000	2(dimer başına)
Fosfolipaz (Cereus Basili)	-	-
Sisteamin Oksijenaz	-	1
Aminopeptidaz (Aeromonas Protea- lytica)	29.500	1
5'-NÜkleotidaz (Esherichia Coli)	52.000	0.7
Siklik Fosfodi- esteraz (Esherichia Coli)	-	-

2.1.2. Hormonlarla İlgisi

İnsanlarda çinko eksikliğinde seksüel gelişme geriliği ve büyüme geriliğinin değişmez bir bulgu halinde görülmesi, çinko ile hormon sistemi (endokrin sistem) arasındaki ilişkinin incelenmesine yol açmıştır. Bu konuda yapılan bazı araştırmalarda seksüel gelişme geriliği, cücelik ve çinko eksikliği gösteren olgularda luteinize edici hormon düşük, follikülü stümüle eden hormon ise normal düzeyde bulunmuştur (22). Bir başka çalışmada insanlarda seksüel olgunlaşma sırasında prostatta çinko derişiminin arttığı saptanmış-

tır (23).

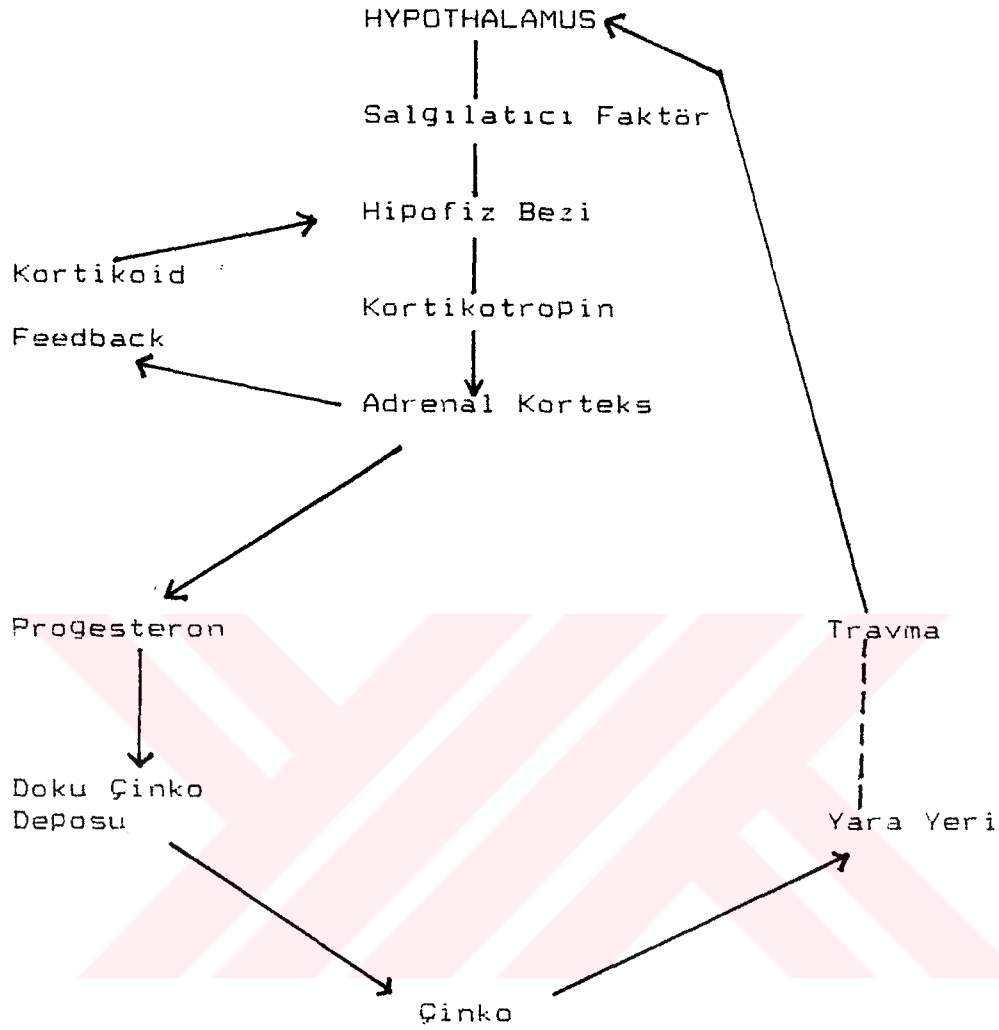
Hayvan deneyleri de bu ilişkiyi desteklemektedir. Olgunlaşmış erkek sıçanlara gonadotropin ve testesteron propiyonat enjekte edilmesi bu hayvanların prostatlarındaki çinko derişimini arttırmaktadır (23).

İnsanların büyümesinde çinkonun , Protein , RNA ve DNA sentezindeki öneminin yanısıra büyüme hormonuyla da ilgili olduğu düşünülmüştür. Bu ilginin, büyüme hormonunun etkili olabilmesi için çinkoya bir ara madde (intermedier madde) olarak gereksinmesinden ileri geldiği görüşü giderek önem kazanmaktadır (6,22).

Çinko eksikliğinde büyüme geriliğinin değişmez bir bulgu olmasına rağmen, büyüme hormonunda her zaman bozukluk tespit edilememiş olması ilginçtir. Diğer taraftan büyüme hormonunun salgılanmasını kontrol eden ve hipotalamik bir hormon olan " somatostatin " in biyolojik yarılanma süresi ile çinko arasında yakın ilişki olduğu Brezeu ve arkadaşlarının bulguları arasındadır (24).

Çinko ile östrojenin ilişkisi halen gelişkilidir. Briggs ve arkadaşları östrojen tedavisiyle serum çinkosunun düştüğünü göstermişlerdir (24).

Deneysel çalışmalar , progesteron kullanımından sonra serum çinko düzeyinin hayvanlarda azaldığını göstermiştir.



Şekil 2-1 Çinkonun Dokudan Mobilizasyonu

Bazı araştırmacılara göre ise, Progesteron çinkoyu dokulardan mobilize edebilen bir faktördür , dolayısıyla kanda çinko düzeyini yükseltebilir. Bununla ilgili şema Şekil 2-1' de görülmektedir (25).

Progesteron çinkonun dokudan mobilizasyonunu sağlayarak, yara veya travmanın iyileşmesini sağlamaktadır.

İnsülin-çinko ilişkisi üzerinde eskiden beri durulmaktadır. Çinko pankreasın beta hücrelerinde depo edilir ve salgılanır. Ayrıca insülinin beta hücrelerinde sentezi, depolanması ve salınımında etkilidir (19).

Sonuç olarak, çinko dahil eser elementlerle hormonlar arasında belirli bir karşılıklı etkileşim (interaction) söz konusudur. Fizyolojik ve biyokimik düzeylerde eser elementler hormonları veya tersine hormonlar eser element metabolizmasını etkilemektedir (26). Bu karşılıklı etkileşimin metabolizması halen kompleks olup, özellikle çinkonun hormon metabolizmasındaki rolü veya hormonların sentezi ve salgılanmasında bu elementin etkisi incelemeye ve tartışmaya açıktır. Özellikle hormonların biyolojik aktiviteleri bakımından konu araştırmaya değer bir nitelik taşımaktadır.

2.1.3. DNA (Deoksiribonükleik asit), RNA (Ribonükleik asit) ve Protein Metabolizmaları ve Sentezleri ile İlgisi

Önceleri çinkonun protein metabolizmasındaki önemi, RNA sentezinde yoğunlaşmıştır. Yapılan deneylerle çinko eksikliğinde RNA ve DNA sentezinin inhibe olduğu görülmüştür. Somer ve Underwood (2), hayvanlar üzerindeki incelemelerinde çinko eksikliği durumunda idrarda kükürt ve azotun arttığına dikkati çekerek, bunu doku sentezindeki azalma ile katabolizmanın hızlanması şeklinde açıklamışlardır. Mendolina ve

Price (27), çinkonun protein sentezini stümüle ettiğini göstermişlerdir. Çinko eksikliğinde kanıtlanmış olan büyüme geriliğinin RNA sentezinin inhibisyonu sebebiyle oluştuğu ileri sürülmektedir (3,28).

Çinkonun bugün protein metabolizmasını çeşitli düzeylerde etkilediği kanıtlanmıştır (29). Keza 80'den fazla enzimin bünyesinde ve fonksiyonunda rol oynamaktadır. Çinko, primer biyolojik etkisini RNA ve DNA metabolizmasının reaksiyonunda rol oynayan çinkoya bağlı enzimler üzerinde gösterir. DNA sentezi , timidin kinaz , RNA polimeraz ve RNaz (Ribonükleotidaz) aktivitesini düzenler. Çinko eksikliğinde bu enzimlerin fonksiyonları azalır, hücre yenilenmesi (replikasyonu) yavaşlar, büyüme, tamir gibi dokunun metabolik fonksiyonları azalır (30).

Ayrıca çinko eksikliğinde, protein sentezi için gerekli amino asitlerin biyolojik yararlanımında bozukluk vardır. Bu, sentezdeki bir bozukluğa bağlı olabileceği gibi, RNA'nın yıkımı veya her iki faktörle de ilgili olabilir. Bu görüşü destekleyen bulgular, çinko eksikliğinde RNaz aktivitesinin artması ve DNA'ya bağımlı RNA polimerazın azalmasıdır (24).

Özet olarak çinko, nükleik asit metabolizmasında bir çok seviyede etkilidir ve eksikliği, gelişme geriliği ile çeşitli eksiklik semptomları doğurmaktadır.

2.1.4. Vitamin Metabolizması ile ilgisi

Çinko eksikliği sonucu, karaciğerden retinolün mobilizasyonu bozulur ve retinol gece körlüğü ile ilgili pigmentin metabolizmasını değiştirir. Bu da, çinko eksikliğinde görülen gece körlüğünün sebebi olabilir (19).

2.1.5. Diğer önemli Biyokimyasal Fonksiyonlarla ilgisi

Çinko, kemik dokusunun kalsifikasyonunda esansiyel bir eser element olarak rol oynar. Son yıllarda önemini arttıran bir bulgu da çinkodan eksik diyetle beslenen hayvanların yavrularında belirgin anormallikler gözlenmesidir (iskelet, genital, beyin, göz ve kalp anormallikleri). Deneysel çalışmalar, annede çinko eksikliği varsa, doğan yavrunun beyinde DNA sentezinin bozulduğunu göstermiştir. Ayrıca demir metabolizması ile de çinkonun ilgisi vardır. Çinko fazlalığı, demirin komplekslerinden ayrılmasını (inkorporasyonunu) ve ferritinden serbest hale geçmesini etkilemektedir (1).

2.2. Çinko Eksikliğinin Sebepleri

Normal gıdalarla yeterince çinko alınabildiği için, insanlarda çinko eksikliğinin oluşması zordur. Ancak, insanlarda çinko eksikliği iki şekilde ortaya çıkar :

- a) Primer çinko eksikliği
- b) Sekonder çinko eksikliği

a) Çinko eksikliğinin Primer sebepleri

Hatalı Beslenme Alışkanlıkları : Bazı yörelerde hatalı beslenme alışkanlıkları çinko eksikliğine sebep olmaktadır. Tek tür gıda ile beslenme , özellikle fitatça zengin olan tahıllarla beslenme , fitatların (inositol heksafosfat esterleri) çinkoyu bağlayarak, absorbe edilemeyen kompleksler oluşturması sebebiyle , çinko eksikliğinin olduğu bilinmektedir (31). Ayrıca gıdada kalsiyum fazlalığı da absorpsiyonu azaltan faktörlerden biridir.

Çinkonun yetersiz alınması : Diyetle çinko yetersizliği, anoreksia nervosa (bir hastalık türü)'da olduğu gibi yemeği kabul etmeme veya çok az yeme halinde eksiklik olabilir. Vejeteryanlarda, yemek seçme çinko eksikliği oluşturabilir. Uzun süre sıvı gıda alınması (serum v.b.) da, alınan sıvı çinko içermiyorsa eksiklik oluşturabilir. Süt çocuklarında anne sütünde çinko seviyesinin hızla düşmesi nedeniyle çinko eksikliği oluşabilir.

b) Çinko eksikliğinin sekonder sebepleri :

Bu tür eksiklik çinko kaybının artması ile oluşur. Kanda bulunan çinkonun % 85'i eritrositlerdedir ve bu sebeple kan kaybı çinko eksikliğinde bir neden olabilir. Mısır'da Delta bölgesindeki insanlarda sistosimiasis ve ankilostomiasis'in (parazit türü) kan kaybına yol açarak çinko eksikliğine sebep olduğu saptanmıştır. Ayrıca uzun süre güneşte çalışmak durumunda olan kişilerde de terle çinko kaybı oluşabilir.

Diğer bir kayıp türü de idrarla kayıptır ki, thalassemia nefrotik sendrom ve sirozlularda bu tür kayıp nedeniyle eksiklik vardır. Yağlı dışkı ile bir arada olan gastrointestinal sistem hastalıklarında dışkı (fekal) yoluyla çinko kaybı olabilmektedir.

Sekonder çinko eksikliğinin sebebi olan bir başka faktör de çinko absorpsiyonundaki bozulmadır ki, bu da akrodermatitis enteropatica adı verilen bir hastalıkta, sirozda ve geophagiada (toprak yeme alışkanlığı ile oluşan bir hastalık) ortaya çıkar.

2.3. Çinkonun Gıdalarda Dağılımı ve Günlük İhtiyaç

Çinko, et, balık, yumurta ve özellikle midye gibi hayvansal gıdalarda yüksek konsantrasyonda bulunur. Inek sütünde 3-5 mg/l çinko vardır. Anne sütü ile beslenen bebekler günde 0.7-5 mg çinko alırlar. 3-5 yaşlarındaki çocuklarda günlük alım 5-7 mg olarak hesaplanmıştır. Preadelosan kız çocuklarında günlük çinko ihtiyacı 6 mg'dır. Normal bir insan günde gıda ile 13.2 mg çinko alır. Dengeli bir diyet günde 6-15 mg çinko içerir ve bunun % 20-40'ı absorbe olur (1,32).

2.4. Çinkonun Absorpsiyonu

İnsanlarda çinko absorpsiyonu ile ilgili bilgiler henüz tam anlamıyla açıklanamamıştır ve hala bilinmeyen noktaları

vardır.

Gıda ile alınan çinkonun ancak çok küçük bir yüzdesi absorbe edilmektedir. Gastrointestinal kanalın hangi bölgesinde absorbe edildiği de henüz tam olarak belirlenmemiştir.

Invitro (canlı vücudu dışında) çalışmalara göre, çinkonun en fazla absorbe edildiği yer ilenum (ince barsağın son kısmı), invivo (canlı vücudunda) deneylere göre ise, oniki Parmak barsağı (duodenum) dur. Erişkin sıçanlarda yapılan bir araştırmaya göre, içinde belli bir miktar çinko bulunan bir çözeltiden absorpsiyon , duodenumda % 19 , jejunumda % 20 ve ilenumda %60 olarak bulunmuştur (33).

Bu tür çalışmalarda, ister invitro, ister invivo olsun, çözelti halindeki çinko tuzları kullanılmaktadır. Oysa gıdalardaki çinkonun absorbe edilebilmesi için, öncelikle matriksinden ayrılması gerekir. Eğer bu işlem uzun sürüyorsa, o zaman absorpsiyon barsakların daha alt kısımlarında (daha distal segmentlerinde) olacaktır.

Çinkonun barsaklardaki absorpsiyonu çinko bağlayan bir ligand tarafından kolaylaştırılır. Yapılan kimyasal analizlere göre, bu ligand büyük ihtimalle "pikolinik asit" tir (34).

Cousins'e göre, thionein (kükürtçe zengin metal bağlayan

Protein), mukoza hücrelerinden diyetteki çinkonun vücuda geçişini düzenlemektedir (35).

Domuz duodenumu kullanılarak yapılan bir çalışmada çinko bağlayan ligand olarak N,N,N'-trimetil-1,2 etan diamin'in Yapısı Proton NMR spektroskopisi ile saptanmıştır (36).

2.5. Çinko Absorpsiyonunun Düzenlenmesi (Regülasyonu)

Çinkonun barsaklarda absorpsiyonu, homeostatik (vücut dengesini koruyacak şekilde) olarak düzenlenir (19).

Evans ve arkadaşları, çinko eksikliği meydana getirilen deney hayvanlarında, ⁶⁵Zn ile yaptıkları çalışmalarında çinko absorpsiyonunun normale göre arttığını göstermişlerdir (37). Fitik asitçe zengin bir diyet (Lacto- ovo -vegeterian bir diyet) uygulanan 7 gönüllü kadında çinko absorpsiyonunun azaldığı gösterilmiştir (38).

Araştırmacılar, hücre içi (intraseküler) bağlayıcı bir protein olan metallothionein'in çinko absorpsiyonunun düzenlenmesi üzerine etkili olduğunu düşünmektedirler. Bu çinko bağlayıcı protein, düşük moleköl ağırlıklı ve sisteince zengin bir proteindir. Bütün vücut hücrelerinde bulunur ve çinko dışında diğer metallerle de kompleks oluşturabilir. Deney şartlarında çinkonun arttırılması ile bu proteinin sentezinin de arttığı gözlenmiştir (39,40).

Fizyolojik şartlarda normal çinko absorpsiyonu,

kullanılan metodlara ve laboratuvarlara göre değişmektedir. Absorpsiyonu ölçmek için , çinkonun sulu çözeltisi kullanılmışsa , ortalama absorpsiyon % 43-69 arasında değişmektedir. Gıdalara izotoplar ilave edilerek yapılan çalışmalara göre ise, absorpsiyon % 14-41 arasındadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün kabul ettiği değer de % 10-40 arasındadır (41).

Evans'ın yaptığı bir çalışmaya göre, çinko absorpsiyonu bazı safhalardan geçerek gerçekleşmektedir : Pankreasın ekzokrin hücrelerinde triptofan metabolizması sırasında pikolinik asit meydana gelir ve barsak lümeni (intestinal lümen) içine salgılanır. Lümeninde pikolinik asit çinko ile bir kompleks meydana getirir. Bu kompleks , çinkonun luminal membrandan geçişini kolaylaştırır.

Barsak mukoza hücresi membranını bir kompleks içinde kolayca geçerek hücre içine gelen çinkonun bir kısmı hücre içindeki metallothionein'e bağlanarak burada tutulurken, diğer bir kısmı hücreyi baştan sona geçerek bazolateral membrana ulaşır ve buradan da geçip portal sisteme girer ve transferrin ile karaciğere taşınır (41). Çinko eksikliği halinde tahminlere göre metallothionein'e bağlanıp hücre içinde kalan kısım azalır ve dolayısıyla portal sisteme geçen çinko artarak vücuda fazla çinko girer.

2.6. Çinko Absorpsiyonunu Etkileyen Faktörler

Diyetle alınan çinkonun % 20-40'ı absorbe edilmektedir. Hayvansal besinlerdeki çinko bitkisel olanlara göre daha iyi absorbe edilir.

Diyetteki fitatlar bir çok metalle olduğu gibi çinko ile de kompleks yaparak Emilimi bozar (19). Deneysel çalışmalara göre, diyetteki fitat/çinko oranı 12-15'in üstünde olduğu zaman , çinkonun biyolojik kullanılabilirliği azalmakta, sonuçta büyüme duraklamakta ve doku çinko konsantrasyonu düşmektedir (19). İnsanlarda diyetteki fitat/çinko oranının beslenme üzerindeki etkileri hakkındaki bilgiler fazla değildir. İnsanlar üzerindeki bir çalışmaya göre, günde 26 g kepekli ekmeğe yendiğinde çinko dengesi üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Fazla posalı (fiber) meyve ve sebze alındığında , çinko dengesi negatif yönde etkilenmektedir. Çinko Emilimini inhibe eden temel faktörler, diyetteki fitat, potasyum ve kalsiyum fosfattır. Daha az oranda kahve de Emilimi bozar. Kıl ve toprak yeme alışkanlığı olanlarda kıl çinkoyu bağladığı için Emilim azalır (19). EDTA (etilen diamin tetra asetik asit) , diyetteki EDTA/çinko oranına bağlı olarak Emilimi hem azaltıcı hem de arttırıcı etki yapar (20).

Besinlerin PH'sının düşüklüğü, et, D vitamini ve laktoz çinko absorpsiyonunu kolaylaştırır. Askorbik asit çinko

emilimine etkili değildir. Bakır ve demir ise, absorpsiyonu inhibe eder (30).

2.7. Çinko Eksikliğinin Belirtileri

2.7.1. Deney Hayvanlarında Çinko Eksikliğinin Belirtileri

Hayvanlarda çinkoca eksik diyet verildiği zaman plazma çinko düzeyi azalır, 3 gün içinde anoreksi başlar, büyüme durur, ağız ve anus çevresinde deri lezyonları gelişir (16). Annede (maternal) çinko eksikliği olan farelerde, anne karnında (intrauterin) gelişme geriliği ve sakat doğum oranında (konjenital malformasyonlarda) artma görülmüştür. Doğum sırasında (perinatal) çinko eksikliği olanlarda beyin gelişmesinde duraklama, öğrenme yeteneğinde azalma izlenir. Doğum sonrası (postnatal) olarak anoreksi gelişme geriliği gelişir. Geç dönemdeki çinko yetersizliğinde, hipogonadizm ve seksüel gelişmede azalma görülür. Saç dökülmesi (alopesi) aşıkardır, yaraların iyileşmesi gecikir (30).

2.7.2. İnsanlarda Çinko Eksikliğinin Belirtileri

Annede (maternal) çinko eksikliğinin, insanlarda sakat doğum oranını arttırdığı görüşü kesinlik kazanmıştır. Alkol kullanan annelerin bebeklerindeki klinik bulgular deneysel olarak çinko eksikliği meydana getirilen farelerin kliniğine benzemektedir. Bu annelerin çocuklarında alkolizmin çinko eksikliği meydana getirmesi olasıdır (16).

İnsanlarda deneysel çinko eksikliğinde ağırlık kaybı, plazma alkali fosfatazında azalma , plazma ribonükleaz aktivitesinde artma , idrarla çinko atılımında azalma, bağ dokusunda total protein, collagen ve RNA/DNA oranında azalma gözlenmiştir (30,42).

Tablo 2-2' de insanda çinko eksikliğinin klinik belirtileri verilmektedir (21).

2.8. İnsanda Çinko Eksikliğini Belirleyen Kriterler

Çinko eksikliğinin tanı ile ilgili (diagnostik) laboratuvar kriterleri tam anlamı ile belirlenememiştir. Çinko tedavisine cevap, tanıda en gerçekçi indekslerden biri olarak kabul edilir. Eğer safsızlık veya hemoliz yoksa plazma çinko düzeyi değerli bilgiler verebilir. Düşük plazma çinko düzeyi bir çok hastalık durumlarında görülebildiğinden tek başına çinko eksikliğini gösterebilen bir kriter değildir. Plazma çinko düzeyinin düşük olması vücutta çinko eksikliğini gösterdiği gibi, çinkonun plazmadan başka bir depoya veya bölüme geçtiğini de akla getirir. Örneğin, akut infeksiyonlarda ve miyokard enfarktüsünde çinko plazmadan başka bir dokuya geçmiştir ve vücutta gerçek bir çinko eksikliği yoktur (19).

Saç çinko derişimi ise, kronik çinko eksikliğinde azalır, akut olaylarda bir değişiklik olmaz. Aynı durum eritrosit çinko derişimi için de geçerlidir (42).

TABLO 2-2 İNSANDA ÇİNKO EKSİKLİĞİNİN KLİNİK BELİRTİLERİ

HAFİF		ORTA		AĞIR	
SebeP	Belirti	SebeP	Belirti	SebeP	Belirti
Deneyssel olarak geliştirilenler	Oligospermia,	- Diyet	Gelişme	- Akrodermatitis	Bullans
	Ağırlık	- Alkol	geriliği,	enteropatika	püstüller
	azalması,	- MalabsorP-	Hipogonadizm,	- Total parenteral	dermatitis,
	Hyperamaon-	siyon	Deri değişik-	beslenmeye bağlı	Diare,
	emia.	- Kronik	likleri,	- Aşırı alkol	Ağırlık
		renal	iştahsızlık,	alınması	kaybı,
		hastalıklar	Zihinsel	- Penicillamin	Intercur-
		- Orak hücre	gerilik,	tedavisinden	rent
		anemisi	Yara iyileş-	sonra	enfeksiyon,
		- Thalas-	mesinde gecikme,		Hipogona-
		semia ve	Tat alma bozuk-		dizm,
		diğerleri	lukları,		plüm
			Bece kurluğu,		
			Anergy(Başıfık-		
			sızlık)		

İdrarla çinko kaybı çinko eksikliğinde genellikle azalır. Ancak bir sonuç çıkarılabilmesi için 24 saatlik idrarın toplanması gereklidir. İnsanda çinko eksikliği genellikle hipozinkurea (idrarla çinko atılımının azalması) ile birlikte görülür. Bazı böbrek hastalıklarında, yanık ve travmalardan sonra , siroz., thalassemia ve orak hücre anemisinde ise, idrarla çinko kaybı nedeniyle hiperzikurea (idrarla çinko atılımının artması) vardır.

Nötrofil lökositlerde çinko ölçümü vücudun çinko düzeyini göstermesi bakımından önemli bilgiler vermesine rağmen, pratik uygulaması güçtür (16). Yeni olarak oral (ağızdan) çinko absorpsiyon testinin de diagnostik amaçlı kullanılması önerilmektedir. Bu test aynı zamanda vücudun çinko içeriğini de yansıtmaktadır (43).

Çinko içeren enzimlerin aktiviteleri çinko eksikliğinde farklı cevaplar verirler. Alkali fosfataz, karboksipeptidaz ve timidin kinaz çinko eksikliğine çok duyarlı üç enzimdir. Bu sebeple nötrofillerde alkali fosfatazın kantitatif olarak ölçülmesi çinko eksikliğini yansıtan bir deney olarak kabul edilmektedir.

2.9. Kronik Karaciğer Hastalığı (Karaciğer Sirozu) ve Thalassemia ile Çinkonun İlişkisi

Kronik karaciğer hastalarında çinko metabolizmasına ait bozukluklar ilk defa 1955'de Vallee ve arkadaşları tarafından

bildirilmiştir (44,45). Bu araştırmacılar kronik karaciğer hastalarında serum çinko düzeylerinin düşük ve idrarla çinko atılımının ise fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Daha sonraki çalışmalarda karaciğer dokusunda da çinko düzeylerinin düşük olduğu bulunmuştur.

Gelişme geriliğinin sıklıkla gözleendiği talassemiada da çinko metabolizmasında önemli değişiklikler olduğu ve bu hastalarda idrarla fazla kayıp sonucu çinko eksikliği geliştiği saptanmıştır (10,46).

BÖLÜM 3

BIYOLOJİK ÖRNEKLERDE ESER ELEMENT ANALİZİ

Biyolojik örneklerde eser element derişimlerinin saptanması amacıyla kullanılan bir çok analiz yöntemi vardır. Çinko derişiminin saptanması amacıyla, bu yöntemlerden en çok kullanılanlardan biri atomik absorpsiyon spektroskopisidir. Yine en çok kullanılan diğer yöntemler ise X-ışını spektroskopisi ve nötron aktivasyon analizidir.

Atomik absorpsiyon ve X-ışını yöntemleri, nötron aktivasyon analizi ile karşılaştırıldıkları zaman daha uygun yöntemler oldukları ortaya çıkar. Atomik absorpsiyon bu alanda en çok kullanılan yöntem olarak karşımıza çıkar. X-ışını spektroskopisi, bu tür analizlerde kullanılan diğer yöntemlere göre bir çok üstünlükleri olan ve kesin sonuçlar veren bir analiz tekniğidir. Nötron aktivasyon analizi geçmişte bu amaçla en çok kullanılan yöntemlerden biridir. ICP (Inductively Coupled Plasma) emisyon spektroskopisi gibi yeni metodlar sınırlı kullanılabilirliği yüzünden bu tür analizler için uygun değildir (47).

Nötron aktivasyon analizi, X-ışını ve atomik absorpsiyon spektroskopik yöntemlerinin biyolojik örneklerde çinko tayini için kullanılabilirliğinin karşılaştırılması Tablo 3-1'de yapılmıştır (47).

TABLO 3-1 BİYOLOJİK ÖRNEKLERDE ÇİNKO TAYINI İÇİN ATOMİK
ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ, X-IŞINI SPEKTROS-
KOPİSİ VE NÖTRON AKTİVASYON ANALİZİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi	X-ışını Spektroskopisi	Nötron Akti- vasyon Analizi
Duyarlık	Bütün örnekler için uygundur	Yüksek duyarlık	Yüksek duyar- lık için uzun zamana ihtiyaç vardır
Örnek Şekli	Genel olarak kül halinde veya asitte çözölmüş örnek kullanılır	Kül halinde veya asitte çözölmüş örnek kullanılır	Örnek kapsül haline getirilir
Tercih Edilen örnek Şekli	Çözelti	İnce film haline getirilmiş örnek	Katı veya sıvı örnek
Simultane (ardarda) Analiz	Yapılabilir	Yapılabilir	Yapılabilir
Girişimler	Az	Az, piklerin üstöste binme- si sözkonusu olabilir ve düzeltme gerekebilir	24 Na'un kimya- sal ışıması- nın çıkarıl- ması için ayırmaya gerek vardır
Her Analiz İçin Gerekli Yaklaşık Zaman	Örnek hazırlama yöntemlerine göre örnek hazırlama zamanı değişiktir.ölçüm bir kaç saniyede gerçekleşir	Örnek hazırlama zamanı değişir ölçüm saniye mertebesinde gerçekleşir	Kapsülleme, saçılma, kim- yasal ışıma- ların ayrıl- ması ve sayım işlemleri oldukça uzun bir zamanı gerektirir

	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi	X-ışını Spektroskopisi	Nötron Aktivasyon Analizi
Metodun Seçimliliği	Aynı örnekten birden çok elementin analizi mümkündür (Çoklu oyuk katot lambaları kullanılarak birkaç elementin aynı örnekten ardarda analizi yapılabilir)	Aynı örnekten birden fazla elementin analizi mümkündür	Aynı örnekten ve aynı anda birden çok elementin analizi yapılamaz

3.1. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

Atomik absorpsiyon bir çok üstünlüğü nedeniyle biyolojik örneklerde eser element analizi için en çok kullanılan yöntemlerden biridir.

Yöntem, temel seviyedeki atoma gönderilen ışık enerjisinin atom tarafından absorplanması prensibine dayanmaktadır. Bir kısmı absorplanan ışığın şiddeti azalır. Işık şiddetindeki azalma bize atom konsantrasyonunu verir.

I_0 şiddetindeki gönderilen ışık örnek atomları tarafından bir kısmı absorplanarak I şiddetindeki ışığa dönüşür.

I_0 Gaz halindeki I
 Işık Kaynağı -----> örnek atomları ----->

Atomik absorpsiyonda geçerli eşitlik Beer-Lambert

eşitliğidir :

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \log I_0 - \log I = aI C$$

A = Absorbans,

a = Absorpsiyon katsayısı,

C = Derişim.

Temel enerji düzeyindeki atom ışığı absorplayınca enerji seviyesi ΔE kadar artar.

$$E = E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

E_1 = Uyarılmış atomun enerji düzeyi,

E_0 = Uyarılmamış (temel seviyedeki) atomun enerji düzeyi

h = Planck sabiti,

λ = Dalga boyu,

c = Işık hızı.

Oda sıcaklığında atomların büyük bir kısmı temel enerji düzeyinde bulunur. Belli bir sıcaklıkta uyarılmış atomların uyarılmamış atomlara oranını veren yasa, Boltzmann Yasası'dır.

$$\frac{N_j}{N_0} = \frac{P_j}{P_0} e^{-\Delta E/kT}$$

N_0 = Temel enerji düzeyindeki atom sayısı,

N_j = Uyarılmış enerji düzeyindeki atom sayısı,

P_j = Uyarılmış seviyenin istatistik ağırlığı,

P_0 = Temel seviyenin istatistik ağırlığı,

ΔE = Uyarılma enerjisi ($E_1 - E_0$)

k = Boltzmann sabiti,

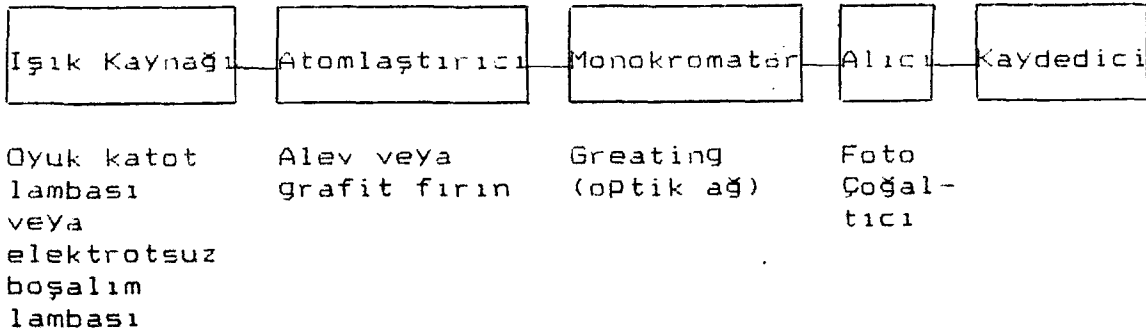
T = Mutlak sıcaklık (K).

Boltzmann yasasında sözü edilen sıcaklık, örneği atomlaştırmak için gerekli herhangi bir sıcaklıktır.

Temel düzeyden üst enerji düzeyine geçişe rezonans geçişi, buna karşılık gelen hatta da rezonans hattı denir. Rezonans hatları en şiddetli hatlardır. Çünkü temel enerji düzeyindeki atom sayısı herhangi bir enerji düzeyine göre her zaman fazladır.

3.1.1. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi

Atomik absorpsiyon spektrofotometreleri ışık kaynağı, atomlaştırıcı, monokromatör, alıcı ve kaydedici olmak üzere beş kısımdan oluşur. Şekil 3-1'de bir atomik absorpsiyon spektrofotometresinin basit şeması verilmiştir.



ŞEKİL 3-1 Bir Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinin Basit Şeması

3.1.1.1. Işık Kaynakları

Atomik absorpsiyonda en çok kullanılan ışık kaynağı oyuk katot lambasıdır. Oyuk katot lambaları, tungsten bir anot ve analiz elementinin metalinden yapılmış silindirik bir katottan oluşur. Elektrotlar içerisinde düşük basınçta (1-2 mm Hg basıncında) helyum veya argon bulunan bir cam tüp içerisinde yer alırlar. Katotla anot arasına düşük akım (5-50 mA) yüksek gerilim uygulandığında, içeride bulunan inert gazda bir gaz boşalımı olur ve (+) yüklü gaz iyonlar oluşur ($\text{Ar} \rightarrow \text{Ar}^{(+)} + e^{(-)}$). Oluşan bu (+) yüklü inert gaz iyonları hızla katoda doğru çekilirler ve katot maddesine hızla çarparak katot metalinden bir miktar koparırlar. Kopan bu parçalar analiz elementine aittir ve elementin atomları katot önünde tozlaşırlar. Boltzmann eşitliğine göre bu tozlaşmış atomlardan bir kısmı uyarılmış durumdadır ve bu uyarılmış atomlar söz konusu elemente ait karakteristik ışımayı yayarlar.

Oyuk katot lambalarının tercih edilmesinin nedeni gönderilen ışığın tamamının absorplanmasıdır. Ne kadar hassas monokromatör kullanılırsa kullanılsın bunu sağlamak mümkün değildir.

3.1.1.2. Atomlaştırmacılar

a- Alev

b- Grafit Fırınlar

- c- Oyuk Katot Boşalımları
- d- Laser
- e- Elektron Bombardmanı
- f- D.C. Arkı

Bu atomlaştırıcılar arasında en çok kullanım alanı bulanlar alev ve grafit fırınlarıdır.

a- Alev

Ön karıştırmalı ve sonradan karıştırmalı olmak üzere iki tür alev kullanılır. Ön karıştırmalı sistem ışık yolunun uzun olması nedeniyle diğerine göre daha avantajlıdır. Aradaki engellere çarpan büyük damlalar atılır ve sadece küçük damlalar alev başlığına gider, bu da tekrarlanabilirliği arttırır.

Alevde bir yanıcı bir de yakıcı gaz bulunur. Yanıcı ve yakıcı gazlar analiz örneğine uygun olarak seçilirler. Çok yüksek sıcaklık N_2/NO oranını arttırır ve bu da hassasiyetin azalmasına neden olur.

Alev kullanıldığı zaman ortamda bir çok radikaller bulunur. Bu da analiz elementinin ortamda bulunan başka elementlerle tepkimeye girmesine neden olur ve duyarlık azalır. Bu nedenle alev seçerken yükseltgen olmayan alevler tercih edilmelidir.

b- Grafit Fırınlar

Atomik absorpsiyonda en yaygın olarak kullanılan atomlaştırıcı alev olmakla birlikte, bazı üstünlükleri nedeniyle alevsiz atomlaştırıcılar daha çok tercih edilir. Bunların en önemlisi grafit fırınlarıdır.

Grafit fırınlar içi boş bir grafit tüpten oluşur ve kömürün yanmasını önlemek için içinden ve dışından inert bir gaz (N₂) geçirilir. Bir enjeksiyon deliğinden 5-50 μ l örnek enjekte edilir. Sıcaklığın programlanması amacıyla bu grafit kuvvet bir güç kaynağına bağlıdır. Örnek enjekte edildikten sonra ısıtma dört kademe gerçekleştirilir. Birinci kademe kurutma kademesidir ve burada çözücü uçar. İkinci kademe parçalanma kademesidir ve çok önemlidir. Bu kademe örneğin atomlaşma sıcaklığından daha düşük sıcaklıkta buharlaşan moleküllerin ortamdan uzaklaşması ve böylece matriks etkisinin en aza indirgenmesi sağlanır. Üçüncü kademe genellikle atomlaşma basamağıdır. Bu sıcaklıkta örnekten atom buhar bulutu elde edilir. Bu sıcaklık gaz atomlarının bulunduğu optimum sıcaklık olarak seçilmelidir. Çok yüksek seçilmiş sıcaklık örneğin ortamdan uzaklaşmasına, iyonlaşmasına veya uyarılmasına sebep olur. Son basamak temizleme basamağıdır ve çok yüksek sıcaklıkta kuvette kalan artıklar temizlenir.

Elektrotermal atomlaştırıcıların üstünlüklerine rağmen

rutin analizde genellikle alev kullanılır. Bunun nedeni genellikle tek tür örnek analizi yapılmasıdır ve alev parametrelerinin bir kez belirlenmesi yeterlidir. Ayrıca zamanın önemli olduğu durumlarda alev daha uygundur. Grafit küvette 3 dakikada alevle 1 saniyede sonuç alınır.

3.1.1.3. Monokromatörler

Atomik absorpsiyonda bir çok hatlar vardır. Geçiş kuralının mümkün kıldığı tüm geçişler olabilir. Bu geçişler arasında temel düzey ile bir üst düzey arasındaki geçişler çok daha şiddetli ve duyarlıdır. Atomlar bu geçişi tercih ederler. Monokromatörün görevi en duyarlı hattı ayırıp diğer hatların yok edilmesini sağlamaktır.

Monokromatörün diğer görevi, ışık kaynağının (oyuk katot lambasının) doldurma gazından gelen hatların (non-absorbing hatların) ve yabancı maddelerden gelen ışımaların önlenmesidir.

3.1.1.4. Alıcı ve Kaydediciler

Alıcı olarak genellikle fotoçoğaltıcılar kullanılır. Fotoçoğaltıcılar Cs-Sb veya Cs₂O dinotlardan oluşur. Bir katottan başlayarak dinotlarda çoğaltılan ışık enerjisi anotta elektrik sinyaline çevrilir. Bir kaydedici yardımıyla alette absorbans ve/veya derişim olarak sonuç okunur.

3.1.2. Analitik Yöntemler

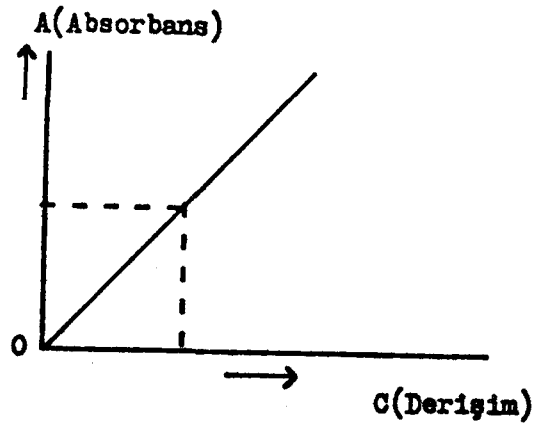
Atomik absorpsiyonda miktarı bilinmeyen örneklerle bilinenin karşılaştırması yapılır. Bilinmeyenin derişimini bulmak için iki yöntem kullanılır.

a- Kalibrasyon Eğrisi Yöntemi

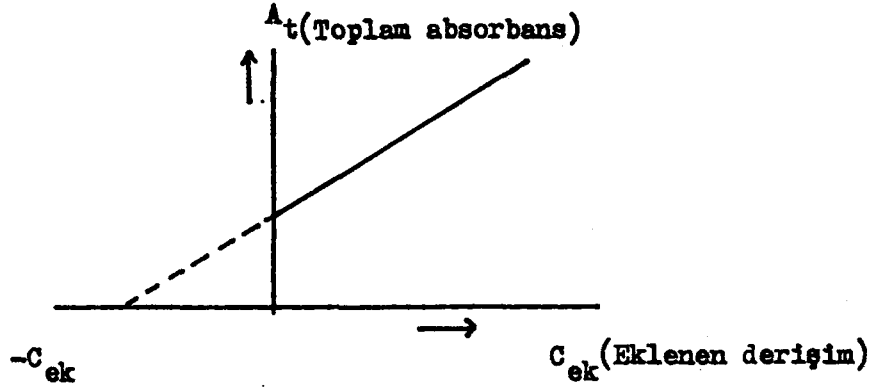
Derişimi bilinen örnekler hazırlanır ve bunların absorbanslarına karşı derişimlerinin grafiğı çizilir (Şekil 3-3). Bilinmeyen örneğın absorbansına karşılık gelen derişim grafikten bulunur. Standartların derişimi bilinmeyenın derişimine uygun seçilmelidir.

b- Standart Ekleme Yöntemi

Bu yöntemde eşit miktarda bilinmeyen üzerine değişik miktarlarda standartlar eklenir. Okunan toplam absorbansın eklenen derişime karşı grafiğı çizilir (Şekil 3-4). Standart eğrisinin Y eksenini kestiğı nokta bilinmeyenın derişimini verir.



ŞEKİL 3-3 Kalibrasyon Grafiğı



ŞEKİL 3-4 Standart Ekleme Grafiği

$$A_x = a l C_x$$

$$A_t = a l (C_x + C_{ek})$$

C_x = Bilinmeyen derişimi

C_{ek} = Eklenen derişimi

A_x = Bilinmeyen absorbansı

A_t = Toplam absorbans

$$\frac{A_x}{A_t} = \frac{C_x}{C_x + C_{ek}}$$

$$C_x = C_{ek} \frac{A_x}{(A_t + A_x)}$$

$$A_t = 0, \quad C_x = -C_{ek}$$

Standart ekleme yöntemi fiziksel ve kimyasal girişimlerden gelebilecek hataları ortadan kaldırdığı için

kalibrasyon eğrisine göre daha hassastır.

3.1.3. Atomik Absorpsiyonda Karşılaşılan Girişimler

Girişimler analizi bozucu etkililerdir. Kimyasal, fiziksel, iyonlaşma ve zemin girişimleri (back ground) olmak üzere dört grupta toplanabilirler.

3.1.3.1. Kimyasal Girişimler

İki şekilde ortaya çıkar :

a- Tayin elementinin moleküler halde buharlaşması ya da zor eriyen veya zor buharlaşan bir tuz oluşumu.

b- Oluşan atomlar veya radikallerle tayin elementinin hemen tepkimeye girerek ortamda yeteri kadar uzun süre kalamaması.

Kimyasal girişimlerin yok edilmesi için uygun bir atomlaştırıcının kullanılması akla gelen ilk yöntemdir. Alevle çalışıldığı durumlarda fazla seçenek yoktur. Eğer kimyasal girişim, alev veya grafit fırının sıcaklığını ayarlayarak veya kimyasal çevreyi değiştirerek yok edilemezse şu yöntemler kullanılır :

i) Girişim yapan anyon örnek çözeltiye eklenen aşırı miktarda başka bir katyonla bağlanır.

ii) Standart çözeltilere engelleyici iyonlar eklenir veya örnek ve standart matriksi birbirine benzetilir.

iii) Tayin edilecek element kompleks oluşumuyla korunur.

Alevsiz atomlaştırmalarda inert ve indirgen bir ortam bulunduğundan alevin özellikleri nedeniyle ortaya çıkan bazı girişimler görülmez.

3.1.3.2. Fiziksel Girişimler

Viskozite, yüzey gerilimi, özgül ağırlık gibi fiziksel özelliklerin farklı olmasıyla ortaya çıkan girişimlerdir. Viskozite arttıkça daha az örnek emilir ve aleve gelen örnek azalır. Bunu önlemek için standartların viskoziteleri analiz örneğine uygun olarak hazırlanmalıdır. Fiziksel girişimler alevsiz ortamlarda görülmez.

3.1.3.3. İyonlaşma Girişimleri

Elementler, atomlaştırmada sıcaklığa ve iyonlaşma gerilimine bağlı olarak iyonlaşırlar ve temel seviyedeki atom sayısı azalır. Bunu önlemek için düşük alev sıcaklığı seçilir. Bu mümkün değilse ortama $M \rightarrow M^{(+)} + e^{-}$ tepkimesini sola kaydırmak (Le Chatelier Prensibi) amacıyla kolay iyonlaşan bir element (genellikle potasyum kullanılır) eklenir.

3.1.3.4. Zemin Absorpsiyonu

Zemin absorpsiyonu, ölçüm yapılan rezonans hattında atomlaşma ortamında bulunan molekül ve radikallerin absorpsiyon yapması ve küçük parçacıkların ışığı saçmasıdır.

Bunun sonucunda absorbands değeri artar ve yanlış analizlere neden olur.

Önlemek için ya bir takım kimyasal ön işlemlerle (ekstraksiyon, iyon değıştirici reçineden geçirme, elektroliz v.b.) girişim yapan parçacıklar ve moleküller ortamdan uzaklaştırılır veya çift hat yöntemi, zemin düzeltici lambalar ya da Zeemann AAS kullanılır.



BÖLÜM 4

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Araştırma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'nde thalassemia (Akdeniz Anemisi) ve yine aynı fakültenin Gastroenteroloji Kliniği'nde karaciğer sirozu tanısı olan iki hasta grubu üzerinde yapılmıştır.

Kontrol grubunu oluşturan olgular ise, hastalık gruplarının yaş sınırları içerisinde seçilmiş ve organik bir hastalığı bulunmayan kişilerden oluşmaktadır.

Kronik çinko eksikliğinin görüldüğü bu iki hasta grubunda plazma, eritrosit(kırmızı kan hücreleri), serum, lökosit(beyaz kan hücreleri) ve saç çinko düzeyleri atomik absorpsiyon spektroskopisiyle ölçülmüştür. Bu amaçla "Perkin Elmer Model 2380 atomik absorpsiyon spektrofotometresi" kullanılmıştır.

Serum alkali fosfataz aktivitelirinin ölçümü ise, "SIGMA No.104 Phosphatases" reaktifleri kullanılarak, "Shimadzu Model 120-01 UV-VIS" spektrofotometre ile yapılmıştır.

4.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

4.1.1. Çözeltilerin Hazırlanması

Tüm çözeltilerin hazırlanmasında iyon değiştirici

reçineden (Crystalab Seri No. CL-5) geçirilmiş damıtık su (deiyonize su) kullanılmıştır

a- Çinko Standart Stok Çözeltisi (500 mg/l)

0.500 g çinko metali çözünbildiği minimum hacimde HCl (1:1) ile çözülür ve % 1'lik (v/v) HCl ile 1 l'ye tamamlanır (48).

b- % 5 (v/v) Gliserol Çözeltisi

5 ml gliserol (SIGMA No. 6-7757, % 99'luk) bir miktar deiyonize su içerisinde çözöldükten sonra 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti serum ve plazma ile viskozite uyumunu sağlamak amacıyla kullanılır.

c- % 10 (w/v) Trikloroasetik Asit Çözeltisi

10 g trikloroasetik asit (Merck, CCl_3COOH) tartılır, bir miktar deiyonize su içerisinde çözöldükten sonra 100 ml'ye tamamlanır.

d- % 20 (w/v) Potasyum Okzalat Çözeltisi

20 g Potasyum okzalat (Merck, $\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) bir miktar deiyonize su içerisinde çözöldükten sonra 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti antikoagölan (kanın pıhtılaşmasını önleyici madde) olarak kullanılır.

e- % 0.85 (w/v) NaCl Çözeltisi

8.5 g NaCl (Merck) bir miktar deiyonize su içerisinde çözöldür ve 1.00 l'ye tamamlanır.

f- 0.02 N NaOH Çözeltisi

0.08 g NaOH (Merck) bir miktar deiyonize su içerisinde

çözülür ve 100 ml'ye tamamlanır.

g- 0.05 N NaOH Çözeltisi

0.2 g NaOH (Merck) bir miktar deiyonize su ile çözülür ve 100 ml'ye tamamlanır.

h- % 3 (w/v) Dekstran Çözeltisi

3 g dekstran (SIGMA No.D-5251, MW~500 000) bir miktar serum fizyolojik (% 0.85 NaCl çözeltisi) içerisinde çözülür ve yine serum fizyolojik ile 100 ml'ye tamamlanır.

i- 1 N HCl Çözeltisi

85.2 ml HCl (Merck, % 35'lik, d=1.19 g/ml) bir miktar deiyonize su üzerine eklenir ve 1.00 l'ye tamamlanır.

j- PBS (Fosfat Tampon Çözeltisi, pH = 7.40)

8.0 g NaCl (Merck),

1.15 g Na HPO₂ . 12 H₂O (Merck),

0.2 g KCl (Merck),

0.2 g KH₂PO₄ (Merck, susuz) bir miktar deiyonize suda

çözülür, 1.00 l'ye tamamlanır ve pH'ı 7.40'a ayarlanır.

4.1.2. Plazma örneğinin Hazırlanması

Sabah aç karnına plastik - steril enjektörle toplar damardan alınan 4.5 ml kan, içinde 2 damla potasyum okzalat (% 20'lik) çözeltisi bulunan bir plastik tüpe konur ve antikoagülanın etkisini sağlamak amacıyla yavaşça alt üst edilerek karıştırılır. 15-20 dakika kadar bekletilen kan 10 dakika 3000 devir/dak. hızda santrifuj edilir. Santrifuj

sonunda eritrositler dibe çöker ve üstteki kısım (plazma) ayrılarak bir plastik tüpte saklanır. Eğer analiz aynı gün yapılmayacaksa örnek ^o -20 C'de uzun süre saklanabilir.

4.1.3. Eritrosit örneğinin Hazırlanması

Kısım 4.1.2'de sözü edilen kan hem plazma hem de eritrosit örneği için kullanılır. Üzerinden plazması ayrılmış olan eritrositler % 0.85'lik NaCl çözeltisiyle 3 kez yıkanır. Yıkama işleminde tüpte bulunan eritrositlere hacminin 2 katı kadar tuz çözeltisi eklenir, karıştırılır ve santrifuj edilerek üzerindeki kısım atılır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra 1 ml eritrosit bir başka plastik tüpe konur. Bunun üzerine 2 ml trikloroasetik asit çözeltisi eklenir (trikloroasetik asit proteinlerin denatüre olmasını sağlar) (49). Bir bağıtle homojen oluncaya kadar karıştırılır (50) ve 20 dakika 5000 devir/dak. hızda santrifuj edilerek üstteki berrak kısım analiz için ayrılır.

4.1.4. Serum örneğinin Hazırlanması

Sabah aç karına toplar damardan alınan 4-5 ml kan boş bir plastik tüpe konur. Pıhtılaştıktan sonra santrifuj edilerek serum ayrılır ve plastik tüp içerisinde saklanır.

4.1.5. Lökosit örneğinin Hazırlanması

Heparinize bir plastik enjektöre (enjektörün içine bir miktar heparin çekilir, tüm enjektöre bulaşması sağlandıktan

sonra boşaltılır) 10-15 ml kan alınır ve enjektör alt üst edilerek karıştırılır. Bu kan % 3'lük dekstran çözeltisi (51,52) ile karıştırılarak 45 °C'de eritrositler çökünceye kadar bekletilir. Dekstran çözeltisinin yoğunluğu yalnızca eritrositlerin çökmesine uygun olduğu için lökositler üstte kalır. Üstte kalan kısım bir cam damlalıkla ayrılarak, 5 dakika süreyle 1000-1200 devir/dak. hızda açılır başlıklı santrifujde santrifuj edilir. Tüpün dibine çöken hücreler ayrılarak 1 ml PBS içinde bir damlalık yardımıyla homojen şekilde dağıtılır ve coulter counterde hücre sayımı yapılır. Bu aşamada mikroskopta değerlendirme yapılmak amacıyla bir de yayma yapılır (Yayma işlemi sadece talassemialı hastalar için gereklidir). Sayımdan sonra PBS ile üç kez (51) yıkanan hücreler 1 ml derişik nitrik asit (Merck, % 65'lik) içinde çözülür

4.1.6. Saç örneğinin Hazırlanması (53)

Ense köküne yakın kısımdan paslanmaz çelik bir makasla saç kesilir ve köke yakın kısımdan 1-2 cm uzunluğundaki kısmı analiz için kullanılır.

Saçlar bir beher içerisinde sıra ile deiyonize su, karbon tetra klorür (Merck) ve tekrar deiyonize su ile yıkanır. Yıkanan bu saçlar önceden sabit tartıma getirilmiş porselen krozelere konarak 4-6 saat süreyle 70 °C'de kurutulur. Soğuduktan sonra saçlar krozelerle birlikte

tartılarak boş ve dolu krezeler arasındaki fark alınır. Saçlar tekrar fırında 12 saat süreyle beyaz kül haline gelinceye kadar yakılır ve elde edilen küller 5 ml 1 N HCl çözeltisinde çözülür.

4.2. Çinko Düzeylerinin Atomik Absorpsiyon

Spektrofotometresiyle Tayini ve Hesaplanması

Atomik Absorpsiyon Şartları :

Işık Kaynağı : Çinko Oyuk Katot Lambası (Pye Unicam)

Lamba Akımı : 10 mA

Atomlaştırıcı: Alev (Hava-Asetilen)

Alev Gazlarının Akış Hızı

Hava : 45 psi

Asetilen : 15 psi

Dalga Boyu : 213.9 nm

Yarık Genişliği : 0.7 nm

Zemin Düzeltici : Döteryum zemin düzeltici lamba

Örneklerin çinko derişimleri yukarıda belirtilen şartlarda, standart ekleme yöntemiyle ölçölmüştür.

4.2.1. Plazma ve Serum örneklerinde Çinko Derişimlerinin ölçölmesi

Kısım 4.1.2 ve 4.1.4'de anlatıldığı şekilde hazırlanan plazma veya serum örneğinden 6 ayrı tüp içeisine 0.5'er ml konur :

- 1.tüp (0.00 ppm) = 0.5 ml örnek + 2 ml deiyonize su,
 2.tüp (0.20 ppm) = 0.5 ml örnek + 0.1 ml standart(5 ppm)
 + 1.9 ml deiyonize su,
 3.tüp (0.40 ppm) = 0.5 ml örnek + 0.2 ml standart + 1.8
 ml deiyonize su,
 4.tüp (0.60 ppm) = 0.5 ml örnek + 0.3 ml standart + 1.7
 ml deiyonize su,
 5.tüp (0.80 ppm) = 0.5 ml örnek + 0.4 ml standart + 1.6
 ml deiyonize su,
 6.tüp (1.00 ppm) = 0.5 ml örnek + 0.5 ml standart + 1.5
 ml deiyonize su içermektedir.

Her bir derişime karşılık gelen toplam absorbanların derişime karşı grafiğı çizilir ve kısım 3.1.2.b' de anlatıldığı şekilde örnek derişimi bulunur.

$$\text{Plazma veya serum çinko düzeyi (ppm)} = C \times 5$$

grafikten
bulunan

Burada ;

5 = Seyrelme faktörüdür.

Örneklerin atomik absorpsiyonda okuması yapılmadan önce % 5'lik gliserol çözeltisi ile aletin sıfır ayarı yapılır. 1:4 oranında seyreltilmiş serum veya plazmanın viskozitesi % 5'lik gliserol çözeltisi ile uyum sağlamaktadır (54). Böylece viskozite farkından gelebilecek hatalar önlenmiş olur.

4.2.2. Eritrosit örneğinde Çinko Derişiminin Ölçülmesi

Plazma ve serumda olduğu gibi eritrosit örneği de 6 ayrı tüpte ve 0.00, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80 ve 1.00 ppm çinko içerecek şekilde hazırlanır.

Eritrosit örneğinin analizinde sıfır ayarı için, örnekle aynı oranda seyreltilmiş % 10 trikloro asetik asit çözeltisi kullanılır.

$$\text{Eritrosit çinko düzeyi (ppm)} = C \times 15$$

grafikten
bulunan

Burada ;

15 = Seyrelme faktörüdür.

4.2.3. Saç örneğinde Çinko Derişiminin Ölçülmesi

Daha önceki örneklerde olduğu gibi bunda da standart ekleme yöntemi kullanılmıştır. Saç örneğinin analizinde sıfır ayarı için 1:4 oranında seyreltilmiş 1 N HCl çözeltisi kullanılır.

$$\text{Saç çinko düzeyi (ppm)} = \frac{C \times 25}{w}$$

bulunan

Burada;

w = Saç ağırlığı (g)

25 = Seyrelme faktörüdür.

4.2.4. Lökosit örneğinde Çinko Derişiminin ölçülmesi

Kısım 4.1.5'de anlatıldığı şekilde hazırlanan lökosit örneğinden 5 ayrı tüp içerisine 0.2'şer ml konur :

1.tüp (0.00 ppm) = 0.2 ml örnek + 1.8 ml deiyonize su,

2.tüp (0.20 ppm) = 0.2 ml örnek + 0.2 ml standart(2 ppm)
+ 1.6 ml deiyonize su,

3.tüp (0.40 ppm) = 0.2 ml örnek + 0.4 ml standart + 1.4
ml deiyonize su,

4.tüp (0.60 ppm) = 0.2 ml örnek + 0.6 ml standart + 1.2
ml deiyonize su,

5.tüp (0.80 ppm) = 0.2 ml örnek + 0.8 ml standart + 1.0
ml deiyonize su içermektedir.

Toplam absorbansa karşı derişim grafiğı çizilir ve
10

$\mu\text{g}/10$ hücre olarak sonuç şöyle hesaplanır :

Lökosit çinko düzeyi ($\mu\text{g}/10$ hücre) =

$$\frac{C \times 10 \times 100 \times 10}{\text{bulunan}} \div n$$

Burada;

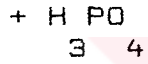
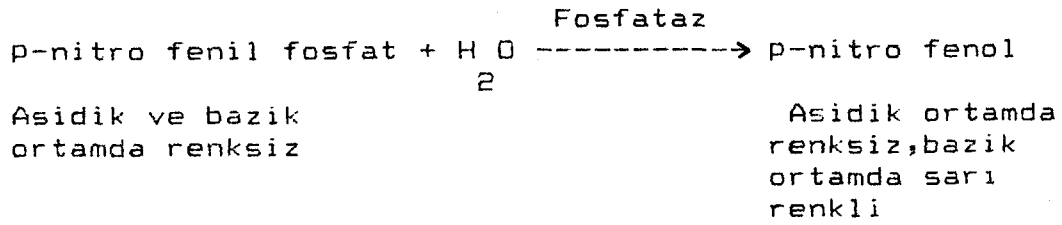
n = Hücre sayısını vermektedir.

4.3. Serum Alkali Fosfataz Aktivitesinin Tayini (55)

Serum alkali fosfatazının tayini için SIGMA No. 104

Phosphatases reaktifleri kullanılmıştır.

Test prensip olarak p-nitro fenil fosfatın bazik ortamda hidroliz olarak p-nitro fenole dönüşmesi ve sarı bir renk oluşturmaya dayanır. Böylece enzimin substratı olan p-nitro fenil fosfat fosfataz aktivitesinin bir ölçüsü olmaktadır.



BÖLÜM 5

SONUÇLAR

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Kliniği'nde talassemia tanısı almış 26 hasta incelenmiştir. Bu hastalarda daha önce çinko eksikliği saptanmış ve bir süre çinko tedavisi uygulanmıştır. Çinko tedavisinin kesilmesinin etkilerinin incelenmesi amacıyla tedaviye bir süre ara verilmiş ve bu süre sonunda hastaların çinko düzeyleri ölçülmüştür.

İncelenen diğer hasta grubu da karaciğer sirozlu hastalardır ve bu grupta da 20 hasta incelenmiştir.

Tablo 5-1'de talassemialı hastalarda, Tablo 5-2'de karaciğer sirozlu hastalarda bulunan plazma, eritrosit, serum, saç ve lökosit çinko düzeyleri ile serum alkali fosfataz aktiviteleri verilmiştir.

Tablo 5-3 ve 5-4'de ise, talassemia ve karaciğer sirozlu hastalarla karşılaştırılmak üzere sağlıklı kontrol gruplarına ait lökosit çinko düzeyleri verilmiştir. Her hasta grubu kendi yaş sınırları içerisindeki sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Talassemialı hastalar için 5-15 yaş grubunda 17 kişide lökosit çinko düzeyleri ölçülmüş ve bunların ortalaması $115.44 \pm 8.20 \mu\text{g}/10^{10}$ hücre olarak bulunmuştur.

Karaciğer sirozlu hastalar için 25 Yaşın üzerinde 12 kişide lökosit çinko düzeyleri ölçülmüş bunların ortalaması $124.11 \pm 5.96 \mu\text{g}/10$ hücre olarak bulunmuştur.

Plazma, eritrosit, serum ve saç çinko düzeyleri için sağlıklı kontrol grubuna ait değerler daha önceki çalışmalardan ve literatürden alınmıştır. Lökosit çinko düzeyleri ile ilgili olarak Türkiye'de Yapılmış bir çalışmaya ilişkin yayına rastlanmadığı için lökosit çinko düzeyleri hasta gruplarının yanı sıra sağlıklı kontrol gruplarında da ölçülmüştür.

Thalassemialı hastalarda, plazma çinko düzeyleri ortalaması 0.731 ± 0.025 ppm (Tablo 5-5), eritrosit çinko düzeyleri ortalaması 10.84 ± 0.57 ppm (Tablo 5-6), serum çinko düzeyleri ortalaması 0.73 ± 0.034 ppm (Tablo 5-7), saç çinko düzeyleri ortalaması 128.23 ± 12.20 ppm (Tablo 5-8), lökosit çinko düzeyleri ortalaması $68.49 \pm 8.43 \mu\text{g}/10$ hücre (Tablo 5-9), serum alkali fosfataz düzeyleri ortalaması 9.015 ± 0.77 SU/ml (*) (Tablo 5-10) olarak bulunmuştur.

Karaciğer sirozlu hastalarda, plazma çinko düzeyleri ortalaması 0.608 ± 0.039 ppm (Tablo 5-11), eritrosit çinko düzeyleri ortalaması 11.35 ± 0.36 ppm (Tablo 5-12), serum çinko düzeyleri ortalaması 0.782 ± 0.038 ppm (Tablo 5-13), saç çinko düzeyleri ortalaması 154.4 ± 9.3 ppm (Tablo 5-14), lökosit çinko düzeyleri ortalaması $101.4 \pm 17.76 \mu\text{g}/10$ hücre (Tablo 5-15), serum alkali fosfataz düzeyleri ortalaması 5.56 ± 0.63 SU/ml (Tablo 5-16) olarak bulunmuştur.

(*) SU/ml = SIGMA Ünitesi/ml, Bessey-Lowry Ünitesine eşittir.

TABLO 5-1 THALASSEMİALİ HASTALARDA ÇİNKO DÜZEYLERİ VE SERUM
ALKALİ FOSFATAZ AKTİVİTELERİ

Sıra No	Plazma Zn (ppm)	Eritrosit Zn (ppm)	Serum Zn (ppm)	Saç Zn (ppm)	Lökosit Zn (µg/10 hücre)	Serum Alkali Fosfatazı (SU/ml)
1	0.717	13.57	0.864	63.4	89.76	3.0
2	0.608	12.076	0.612	70.03	48.27	13.6
3	-	-	-	171.3	-	9.0
4	0.761	13.03	0.939	156.25	131.043	12.3
5	0.630	12.17	0.648	69.44	-	7.25
6	0.918	12.34	-	294.44	-	-
7	-	-	-	196.5	73.86	-
8	-	-	-	154.93	68.42	-
9	0.587	6.66	-	83.33	-	-
10	-	-	-	212.76	-	9.05
11	0.804	12.36	0.864	147.32	-	8.0
12	-	-	-	135.86	-	9.6
13	0.761	11.982	0.612	100.0	35.43(*)	12.5
14	0.783	10.297	0.828	70.65	-	7.4
15	0.652	5.710	0.684	123.02	60.277	10.0
16	0.849	10.017	0.720	63.83	-	4.85
17	0.724	10.206	0.612	187.5	41.61	-
18	0.717	10.297	0.828	74.47	-	10.6
19	0.912	10.37	0.828	125.0	-	14.3
20	-	-	-	135.71	-	5.6
21	-	-	-	137.097	-	5.7
22	0.550	11.55	0.500	104.94	78	-
23	-	-	-	166.67	-	-
24	0.720	-	-	33.20	26.99	-
25	-	-	0.750	-	70.46	-
26	0.739	-	-	-	97.87	-

(*) Bu hastanın yaymasında görülen çekirdekli eritrositler çıkarıldığı zaman lökosit çinko düzeyi 39.75 olarak bulunmuştur. Talassemialı hastalarda bu konu ile ilgili olarak tartışma 6.bölümde yapılmıştır.

TABLO 5-2 KARACIĞER SİROZLU HASTALARDA ÇİNKO DÜZEYLERİ VE
SERUM ALKALİ FOSFATAZ AKTİVİTELERİ

Sıra No	Plazma Zn(ppm)	Eritrosit Zn(ppm)	Serum Zn (ppm)	Saç Zn (ppm)	Lökosit Zn 10 (µg/10 hücre)	Serum Alkali Fosfatazı (SU/ml)
1	0.522	12.63	0.612	96.4	-	4.0
2	0.750	8.40	0.936	194.4	-	6.4
3	0.724	12.18	0.828	151.8	-	3.65
4	0.670	12.675	0.792	127.12	-	4.75
5	0.456	10.205	0.648	207.55	-	10.8
6	0.587	11.88	0.684	168.75	-	-
7	0.697	11.36	0.936	171.43	-	5.05
8	0.804	12.34	0.828	143.94	-	6.5
9	0.390	12.84	1.00	185.00	-	10.1
10	-	-	-	145.83	-	-
11	0.587	12.17	0.828	-	-	4.1
12	0.965	13.49	1.00	-	-	10.65
13	0.804	13.00	0.828	-	-	1.85
14	0.813	11.85	1.102	127.19	72.22	2.94
15	0.397	12.00	0.504	104.84	162.5	2.46
16	0.391	8.55	0.701	-	118.18	6.2
17	0.573	10.50	0.706	231.06	61.32	7.135
18	0.422	10.05	0.650	133.06	50.0	4.055
19	0.514	8.55	0.509	147.96	162.5	3.89
20	0.482	10.95	0.753	137.93	81.25	5.5

TABLO 5-3 5-15 YAŞLAR ARASINDAKİ SAĞLIKLI ÇOCUKLARDA LÖKOSİT
ÇİNKO DÜZEYLERİ

Sıra No	1	2	3	4	5	6	7
Lökosit Çinko Düzeyi 10 (µg/10 hücre)	113.2	166.1	126.4	101.7	99.5	57.3	57.1
Sıra No	8	9	10	11	12	13	14
Lökosit Çinko Düzeyi 10 (µg/10 hücre)	122.3	140.6	100.4	133.2	148.4	134.1	100.3
Sıra No	15	16	17				
Lökosit Çinko Düzeyi 10 (µg/10 hücre)	136.4	62.5	163.0				

TABLO 5-4 25 YAŞINDAN BÜYÜK SAĞLIKLI KİŞİLERDE LÖKOSİT
ÇİNKO DÜZEYLERİ

Sıra No	1	2	3	4	5	6
Lökosit Çinko Düzeyi 10 (µg/10 hücre)	131.31	120.22	140.69	101.49	160.77	117.89
Sıra No	7	8	9	10	11	12
Lökosit Çinko Düzeyi 10 (µg/10 hücre)	111.187	109.23	96.29	120.5	120.0	160.0

TABLO 5-5 THALASSEMİALİ HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL (*)
GRUBUNDA PLAZMA ÇİNKO DÜZEYLERİ ORTALAMALARI (ppm)

	THALASSEMİALİ HASTALAR	KONTROL GRUBU
n	17	14
$\bar{x}$	0.731	0.885
$\bar{sx}$	0.025	0.046
P<0.001		

TABLO 5-6 THALASSEMİALİ HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL
GRUBUNDA ERİTROSİT ÇİNKO DÜZEYLERİ
ORTALAMALARI (ppm)

	THALASSEMİALİ HASTALAR	KONTROL GRUBU (56)
n	15	14
$\bar{x}$	10.84	12.1
$\bar{sx}$	0.57	0.48
P>0.05		

TABLO 5-7 THALASSEMİALİ HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL
GRUBUNDA SERUM ÇİNKO DÜZEYLERİ
ORTALAMALARI (ppm)

	THALASSEMİALİ HASTALAR	KONTROL GRUBU (10)
n	14	22
$\bar{x}$	0.73	1.11
$\bar{sx}$	0.034	0.049
P<0.001		

(*) mg/l ~ ppm olarak alınmıştır.

TABLO 5-8 THALASSEMİALİ HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL
GRUBUNDA SAÇ ÇİNKO DÜZEYLERİ ORTALAMALARI (ppm)

	THALASSEMİALİ HASTALAR	KONTROL GRUBU (15)
n	24	20
$\bar{X}$	128.23	167.0
$\bar{Sx}$	12.20	2.68
P<0.001		

TABLO 5-9 THALASSEMİALİ HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL
GRUBUNDA LÖKOSİT ÇİNKO DÜZEYLERİ ORTALAMALARI
¹⁰
(μ g/10 hücre)

	THALASSEMİALİ HASTALAR	KONTROL GRUBU
n	12	17
$\bar{X}$	68.49	115.44
$\bar{Sx}$	8.43	8.20
P<0.001		

TABLO 5-10 THALASSEMİALİ HASTALARDA SERUM ALKALİ FOSFATAZ
AKTİVİTELERİ ORTALAMALARI (SU/ml)

	THALASSEMİALİ HASTALAR	ÇOCUKLUK ÇAĞINDA NORMAL SERUM ALKALİ FOSFATAZ AKTİVİTESİ (55)
n	17	
$\bar{X}$	9.015	2.8 – 6.7 SU/ml
$\bar{Sx}$	0.77	

TABLO 5-11 KARACİĞER SİROZLU HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL GRUBUNDA PLAZMA ÇİNKO DÜZEYLERİ ORTALAMALARI (ppm)

	KARACİĞER SİROZLU HASTALAR	KONTROL GRUBU (56)
n	19	14
$\bar{X}$	0.608	0.885
$S\bar{X}$	0.039	0.046
$P < 0.001$		

TABLO 5-12 KARACİĞER SİROZLU HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL GRUBUNDA ERİTROSİT ÇİNKO DÜZEYLERİ ORTALAMALARI (ppm)

	KARACİĞER SİROZLU HASTALAR	KONTROL GRUBU (56)
n	19	14
$\bar{X}$	11.35	12.1
$S\bar{X}$	0.36	0.48
$P > 0.05$		

TABLO 5-13 KARACİĞER SİROZLU HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL GRUBUNDA SERUM ÇİNKO DÜZEYLERİ ORTALAMALARI (ppm)

	KARACİĞER SİROZLU HASTALAR	KONTROL GRUBU (10)
n	19	22
$\bar{X}$	0.782	1.11
$S\bar{X}$	0.038	0.049
$P < 0.001$		

TABLO 5-14 KARACİĞER SİROZLU HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL GRUBUNDA SAÇ ÇİNKO DÜZEYLERİ ORTALAMALARI (ppm)

	KARACİĞER SİROZLU HASTALAR	KONTROL GRUBU (15)
n	16	25
$\bar{X}$	154.64	192.0
$\bar{Sx}$	9.13	2.6
P<0.001		

TABLO 5-15 KARACİĞER SİROZLU HASTALARDA VE SAĞLIKLI KONTROL GRUBUNDA LÖKOSİT ÇİNKO DÜZEYLERİ ORTALAMALARI
($\mu\text{g}/10$ hücre)

	KARACİĞER SİROZLU HASTALAR	KONTROL GRUBU
n	7	12
$\bar{X}$	101.14	124.11
$\bar{Sx}$	17.76	5.96
P>0.05		

TABLO 5-16 KARACİĞER SİROZLU HASTALARDA SERUM ALKALİ FOSFATAZ AKTİVİTELERİ ORTALAMALARI (SU/ml)

	KARACİĞER SİROZLU HASTALAR	YETİŞKİNLERDE NORMAL SERUM ALKALİ FOSFATAZ AKTİVİTESİ (59)
n	18	
$\bar{X}$	5.56	0.8 - 3.0 SU/ml
$\bar{Sx}$	0.63	

BÖLÜM 6

TARTIŞMA

Son 20 yılda biyolojik eser elementlerle ilgili araştırmalarda büyük ölçüde ilerlemeler görülmeye rağmen, eser elementlerin nutrisyonel (beslenme ile ilgili) durumunu gösteren tanı yöntemleri aynı ölçüde gelişmemiştir. Her ne kadar ağır eksikliklerde genellikle klinik bulgu ve işaretlerle tanı konabilirse de, bu durumların sayısı fazla değildir. Asıl önemli olan, esansiyel eser elementlerin sınırdaki eksikliklerinin tanınabilmesidir.

Bu konuda metodolojinin yetersiz olması en önemli nedenlerden biridir.

Eser elementlerin nutrisyonel durumunun belirlenmesinde anlamlı doku ve sıvıların analiz metodlarının geliştirilmesi gereklidir. Doğru bilgi verecek doku ve sıvıların seçimi çok önemlidir. Ayrıca eser element metabolizması üzerine hormonların, travmanın ve diğer faktörlerin etkilerinin de çok iyi bilinmesi gereklidir.

Ağır çinko eksikliğinde deney hayvanlarında böbrek, barsaklar, adrenaller, timus gibi doku ve organların çinko konsantrasyonları normal, fakat kemik ve karaciğer dokusunda anlamlı ölçüde fark bulunmuştur. İnsanda bir elementin nutrisyonel durumunu göstermek için bu iki dokunun kullanılması ise mümkün değildir. Bu nedenle insanlarda daha

kolay elde edilebilen doku ve sıvılardan yararlanılmıştır (kan, idrar, ter, saç v.b.).

Çinko tayininde en çok kullanılan biyolojik materyel kandır. Plazma ve serumun esas fonksiyonu transportasyondur. Plazma absorpsiyon bölgesinden ulaşacağı organa ilgili elementi taşır. Bir çok eser elementin serum ve plazma seviyeleri büyük ölçüde hormonların etkisi altındadır. Bu etkiler dışında akla gelen bir soru, eser elementin plazma ve serum konsantrasyonunun , fizyolojik olarak anlamlı doku depoları ile denge halinde olup olmadığı ve bu sıvılardaki ölçümün nutrisyonel durumu gösterip göstermediği sorusudur. Bir başka soru ise, tanı için kanın hangi komponentinde hangi elementin ölçümü doğru ve yararlı bilgiler verebilir? sorusudur.

Bu konuda da çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Mesela; serum ve plazma krom seviyesi vücut depoları ile denge halinde değildir. Aksine plazma ve serum selenyum konsantrasyonu, selenyum depolarını göstermesi bakımından iyi bir indikatördür.

Çinkoya gelince, genellikle ağır çinko eksikliği durumlarında özellikle deney hayvanlarında ve aynı zamanda insanlarda, plazma ve serum çinko konsantrasyonları düşer. Ancak sınırdaki çinko eksikliği durumlarında serum hassas bir indikatör değildir.

Kanın şekilli elementlerinin (eritrosit, lökosit, trombosit gibi) dönüşüm hızı daha yavaştır ve hormon ve diğer etkilerle fazla değişikliğe uğramazlar. Sağ ise , ağır ve komplike olmayan eser element eksiklikleri için iyi bir indikatördür. Yine de marginal (sınırdan olan) eksikliklerde bize sınırlı ölçüde bilgi verir. Bu nedenle eser element ölçümlerinde birkaç parametre bir arada değerlendirilip klinik bulgularla bağdaşıp bağdaşmadığına bakmak gerekir(57).

Bu çalışmada, thalassemia ve sirozlu hastalarda plazma, serum, eritrosit, lökosit ve sağta çinko eser elementi tayin edilmiş ve hangi parametreler arasında korelasyon olduğu incelenmiştir. Bu iki grup hastada da daha önceki çalışmalarda kronik bir çinko eksikliği olduğu gösterilmiştir (10,44,45,46).

Çalışmada, thalassemialı hastalarda plazma çinko konsantrasyonunun sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur ($P<0.001$). Eritrosit çinko düzeyindeki fark ise, kontrol grubuna göre anlamsız bulunmuştur ($P<0.05$). Sağ ve lökosit çinko düzeylerinde ise, en anlamlı fark gözlenmiştir (Tablo 5-8, Tablo 5-9).

Thalassemialı hastalarda plazma, eritrosit, lökosit, serum ve sağ çinko düzeyleri arasında yapılan korelasyon analizinde, en yüksek korelasyon plazma ve serum çinko düzeyleri arasında bulunmuştur. Çinko düzeylerinde anlamlı

düşme plazma, lökosit, serum ve saçta saptanmıştır. Lökosit çinko düzeyinin ölçülmesi son derece önemli bilgiler vermekle birlikte, yöntem oldukça uzun ve bir çok hataya yol açabilecek niteliktedir. Çünkü deney tüpünde yapılan hücre sayımı en önemli aşamayı oluşturmaktadır ve sayımda yapılabilecek hatalar analiz sonucunu büyük ölçüde etkiler. Lökositlerin sayımı sırasında hata yapılmaması için, hücrelerin birbirine yapışmaması gerekir. Fakat bu hücreler, işlemler sırasında kolaylıkla birbirine yapışıp kümeler haline gelebilen hücrelerdir ve yapışmayı önlemek de bu sebeple her zaman mümkün değildir. Ayrıca talassemialı hastalarda lökositlerle ilgili ortaya çıkan bir başka problem de çekirdekli eritrositlerdir . Bu hastalarda, hastalığın bir özelliği olarak çekirdekli eritrositler oluşmakta (58) ve bunlar, hücre sayımı sırasında lökositlerle birlikte sayılmaktadır. Bu hastalarda hücre sayımı ile birlikte bir mikroskopik değerlendirme ile hücreler incelenmiş ve çekirdekli eritrosit miktarı toplam hücre sayısından çıkarılmıştır. Talassemialı hastalarda lökositlerin gerçek sayılarının bulunması için mikroskopik değerlendirme yapılması iyi bir çözüm olmakla birlikte her zaman doğru sonuçlara götürmeyebilir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, orta derecede kronik çinko eksikliği gösteren talassemialı hastalarda, plazma ve/veya serumla birlikte saç çinko düzeylerinin

ölçülmesi, klinik bulgularla uygunluk gösteriyorsa, vücudun çinko durumunu göstermede en pratik ve uygun bir indikatör olabilir.

Çinko içeren bir enzim olan alkali fosfataz ölçümleri sonucunda ise, sağlıklı gruba göre bir azalma değil bir artma olduğu gözlenmiştir. Bu durum talassemialı hastalarda karaciğer bozukluğuna bağlanabilir (hemakromatosis). Bu nedenle alkali fosfataz aktivitesi talassemialı hastalarda çinko durumunu gösteren bir indikatör olarak kabul edilemez. Aynı durum karaciğer sirozlu hastalar için de geçerlidir ve bu grupta da serum alkali fosfataz aktiviteleri kontrol grubuna göre yükselmiştir.

Karaciğer sirozu gösteren hastalarda yapılan çinko ölçümlerine gelince;

Plazma, serum ve saç çinko konsantrasyonları kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($P < 0.001$). Eritrosit ve lökosit çinko düzeylerinde ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P > 0.05$).

Bu sonuçlara göre, her iki hastalık grubunda da plazma, serum ve saç çinko konsantrasyonlarındaki düşmeye rağmen, eritrosit çinko düzeylerinde azalma görülmemesine bir sebep olarak eritrositlerin analize hazırlanması sırasında uygulanan işlemlerden gelebilecek hatalar gösterilebilir. Burada en önemli hata kaynağını eritrositlere yapışmış halde

bulunan plazma artıkları oluşturur. Bu artıklar yıkama işlemine (Kısım 4.1.3) rağmen tam olarak uzaklaştırılamaz. Eritrositlerin plazmadan ayrılması ve yıkanmasını izleyen aşama eritrositlerin parçalanması ve dekompoze edilmesidir. Bu işlem yapılırken kullanılan metod, belirli hacimdeki eritrositin yine belirli hacimdeki trikloro asetik asitle muamelesidir. Viskozitesi yüksek olduğu için eritrositlerin bir yerden bir yere aktarılması sırasında özel pipetlerin kullanılması halinde bile % 1-2'lik bir hata engellenemez ve arka arkaya yapılan seyreltmeler bu hatanın artmasına yol açar (54).

Bu deneylerin sonuçlarına göre, plazma ve/veya serum çinko düzeylerinin ölçümünün yanısıra saç çinko konsantrasyonunun ölçülmesi, organizmanın çinko durumunu göstermesi bakımından hem kolay, hem de güvenilir yöntemler olarak kabul edilebilir.

KAYNAKLAR

- 1- Cin, S., Cavdar, A.O., Arcasoy, A., Değişik Sosyo Ekonomik Koşullarda Çocuk ve Gençlerde İz Elementlerin İncelenmesi, TÜBİTAK Pediatrik Onkoloji ve Hematoloji Ünitesi Çalışması Nuray Matbaası,3,(1978).
- 2- Halsted, F.A., Smith, F.C., Irwin, M.I., "A conspectus of research of zinc requirement in man", Nut.,104,345-378, (1974).
- 3- Sandstead, H.H., "Zinc nutrition in The United States", TheAmer.JournalofClinic.Nutr.,26,1251-1260,(1973).
- 4- Todd, W.R., Elvehjem, C.A., Hait, E.B., "Zinc in the nutrition of the rat", Amer.JournalPhysiology, 107, 146-156,(1934)
- 5- Prasad, A.S., Miale, A.Jr., Farid, Z., at al, "Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism and hypogonadism", J.Lab.Clin.Med., 61,537,(1963).
- 6- Sandstead, H.H., Prasad, A.S., Schular, A.A., at al, "Human zinc deficiency, endocrine manifestations and response to treatment", Am.J.Clin.Nutr.,20,422,(1967).
- 7- Saner, G., Yüzbaşıyan, V., İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi (Yayınlanmamış Sonuçlar),(1985).
- 8- Yurtsever, D., özer, I., Çıtıpıtıoğlu, B., Ataman, O.Y., ODTÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (Yayınlanmamış Sonuçlar)(1985).

- 9- Cin, S., Çavdar, A.O., Arcasoy, A., "Serum zinc levels in Turkish Preadolescents and adolescents", Haematologica, 65,3,(1980).
- 10- Arcasoy, A., Çavdar, A.O., "Changes of trace minerals (serum iron, zinc, copper and magnesium) in thalessemia" ActaHaematol.,53,341-344,(1975).
- 11- Arcasoy, A., at al, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (Yayınlanmamış Sonuçlar) (1985).
- 12- Beyhan, V., Baysal, A., Turkish Bull. Hygine and Exp. Biology, 41,53,(1984).
- 13- Hasanoğlu, E., Topalli, M., Özdemir, A.,Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Med.Journal,2,61,(1980).
- 14- Okan, B., Açıkt, F., Tükdü, S., TÜBİTAK Marmara Araştırma Enstitüsü (Yayınlanmamış Sonuçlar),(1985).
- 15- Erten, J., Arcasoy, A., Çavdar, A.O., Cin, S., "Hair zinc levels in healthy and malnourished children",Amer.J.Clin Nutr. 31,1172,(1978).
- 16- Prasad, A.S., Çavdar, A.O., Brewer, G.J., at al, Zinc Deficiency in Human Subjects,Alan R. Liss. Inc. New York (1983).
- 17- Parisi, F.A., Vallee, B.L., "Zinc metallo-enzymes: Characteristics and significance in biology and medicine" Am.J.Clin.Nutr.,22,1222,(1969).
- 18- Parisi, F.A., "Zinc metallo-enzymes characteristics and significance in biology and medicine", Biochemistry, 9,2421-2426,(1970).

- 19- Karayalçın, S., Karaciğer Sirozunda Barsaktan Çinko Emilimi, Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Gastroenteroloji Bölümü, (1985).
- 20- Solomons, N.W., et al, "Studies on the bioavailability of zinc in humans: Mechanism of the intestinal interaction of nonheme iron and zinc", J. Nutr., 113, 337-349, (1983).
- 21- Prasad, A.S., "Role of trace elements in growth and development", Nutrition Research, Suppl.1, 295-299, (1985).
- 22- Coble, Y.D., Bardin, C.W., Ras, G.T., et al, "Studies of endocrine function in boys with retarded growth delayed sexual maturation and zinc deficiency", Jour. Clin. Endocrinology Metab, 32, 361, (1971).
- 23- Widdowson, E.M., Trace Elements In Human Development Mineral Metabolism In Pediatrics, Edited by Donald Barltrop, W.L., Burland Blackwell Scientific Pub. Oxford, 85, (1969).
- 24- Babacan, E., Çavdar A.O., Arcasoy, A., Gebelikte Çinko TÜBİTAK Pediatrik Onkoloji ve Hematoloji Ünitesi Çalışması, Nuray Matbaası, Ankara, (1978).
- 25- Prasad, A.S., Trace Elements In Human Health And Disease, Acad. Press. New York, 135, (1976).
- 26- Henkin, R.T., "Trace minerals in endocrinology", Ped. Clin. N. Amer., 779-799, (1976).

- 27- Mendolina, R.L., Price, C.A., "Early events in the stimulation by zinc of cytochrome synthesis in ustilago" Amer. Jour. of Clinic. Nutr., 22:9, 1264-1316, (1969).
- 28- Hurley, S.L., "Studies on nutritional factors in mammalian development", J. Nutr., 91, Suppl. 2, 27-38, (1967).
- 29- Underwood, E.J., Trace Elements In Human And Animal Nutrition, Acad. Press. New York, 201-220, (1977).
- 30- Gordon, E.F., Passal, D.B., "Zinc metabolism: Basic clinical and behavioral aspects", J. Pediatr., 99, 341, (1981).
- 31- Reinhold, G.J., Nasr, K., Hadi, H., at al, "Effect of purified phytate and phytate rich bread upon metabolism of zinc, calcium, phosphour and nitrogen in man", The Lancet, Vol. 1, No. 7798, 283-288, (1973).
- 32- Kramer, L., at al, "Zinc and mineral content of weigh reducing diets", Am. J. Clin. Nutr., 34, 1372, (1981).
- 33- Smith, K.T., Cousins, R.J., at al, "Zinc absorption and metabolism by isolated vascularly perfused rat intestin" J. Nutr., 108, 1849-1857, (1978).
- 34- Evans, G.W., "Normal and abnormal zinc absorption in man and animals: The tryptophan connection", Nut. Rev., 38, 137-141, (1980).
- 35- Cousins, R.J., "Regulation of zinc absorption: Role of intracellular ligands", Am. J. Clin. Nutr., 32, 339-345, (1979).

- 36- Hahn, C.J., Severson, M.L., Evans, G.W., "Structure of a zinc ligand isolated from duodenum", Human Nutr.Lab., 35,361,(1976).
- 37- Evans, G.W., at al, "Homeostatic regulation of zinc absorption in the rat", Proc.Soc.Exp.Med., 143,723-725, (1973).
- 38- Freeland-Graves, at al, "Alteration in zinc absorption and salivary sediment zinc after a lacto-ovo-vegetarian diet", Am.J.Clin.Nutr., 33,1757-1766,(1980).
- 39- Cherian, G.S., "Studies on the synthesis and metabolism of zinc-thionein in rat" J.Nutr., 107,965,(1977).
- 40- Richards, M.P., Cousins, R.J., "Metallothionein in its relationship to the metabolism of dietary zinc in rats", J.Nutr., 106,1591,(1976).
- 41- World Health Organization, Trace Elements In The Man Health, Geneva, WHO.13,(1973).
- 42- Prasad, A.S., at al, "Experimental zinc deficiency in human subjets", An.Int.Med., 89,483,(1978).
- 43- Sullivan, J.F., at al, "A zinc tolerance test", Clin.Med. 93,485,(1979).
- 44- Vallee, B.L., "Zinc metabolism in hepatic dysfunction serum zinc concentration in laenec's cirrhosis and their validation by sequential analysis", N.Engl.J.Med., 255, 403,(1956).

- 45- Vallee, B.L., "Zinc metabolism in hepatic dysfunction of metabolic patterns with biochemical findings", N.Engl.J.Med.,257,1055,(1957).
- 46- Doğru, Ü., Arcasoy, A., Çavdar, A.O., "Zinc levels plasma erythrocyte, hair and urine in homozygote beta-thalassemia" Acta.Haematol.,62,41,(1979).
- 47- Carden, L.Jr.J., Fink, R.W., Methods of detection, Zinc And Copper In Medicine, Karcioğlu, Z., Sarper, R., Charles Thomas Pub. Springfield, Illinois,3-42,(1980).
- 48- Perkin-Elmer, Analytical Methods For Atomic Absorption Spectrophotometry,Standart Conditions,Zn.(30), Norwalk, Connecticut,U.S.A.January,(1982).
- 49- Dusanka, Mikac-Devic, "Methodology of zinc determinations and the role of zinc in biochemical processes",Advan.Clin Chem.,13,271-333,(1970).
- 50- Rosner, F., Gorfren, P.C., "Erythrocyte and plasma zinc and magnesium levels in health and disease",J.Lab.Clin. Med.,72,213-220,(1963).
- 51- Aguado, N., Dujol, N., Rubiol, E., et al, "Seperation of granulocytes from peripheral blood in a single step using discontinuous density gradients of ficoll-urografen A cooperative study with seperation by dextran", J.Immun. Methods,32,41-50,(1980).
- 52- Boyum, A., "Seperation of blood leucocytes, granulocytes and lymphocytes", Tissue Antigens,4,269-274,(1970).

- 53- Erten, J., Sağlıklı ve Malnütrisyonlu Çocuklarda Saç Çinkosu Düzeyleri, Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, (1975).
- 54- Sprenger, K.B.G., Franz, H.E., "Zinc determination in plasma and erythrocytes: Viskosity adaptation and wet ashing in a closed system", Nutrition Research, Suppl.1 80-87, (1985).
- 55- SIGMA Diagnostics, Phosphatases, alkaline, acid, prostatic acid, quantitative, colorimetric determination in serum at 400-420 nm, SIGMA Diagnostics, St. Louis, U.S.A.
- 56- Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Kliniği, TÜBİTAK Çinko Eksikliği ve Tedavisi Araştırma Ünitesi Çalışmaları Ankara, (1985).
- 57- Mertz, W., "Assesment of trace elements nutritional status", Nutrition Research, Suppl.1, 169-177, (1985).
- 58- Willoughby, M.L.N., Pediyatrik Hematoloji, Çevirenler: L. Ulukutlu, İ. Yıldız, Se-Tu Matbaacılık, İstanbul, (1983).

ÖZGEÇMİŞ

Bu çalışmayı yapan F. Nazlı Dinger 13.12.1960 tarihinde Anamur'da doğmuştur. İlkokulu Hatay'ın Reyhanlı ilçesinde bitirmiş, orta öğrenimini ise Anamur Lisesi'nde tamamlamıştır. 1978 yılında Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü'ne girmiş ve 15.6.1984 yılında Kimyager olarak buradan mezun olmuştur. Aynı yıl Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Yüksek Lisans öğrenimine başlamıştır.

Halen TÜBİTAK Çinko Eksikliği ve Tedavi Araştırma Ünitesi'nde Araştırma Asistanı olarak çalışmaktadır.



T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

F. Nazlı Dinçer

A.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı

ve Hastalıkları Kliniği

Dikimevi-ANKARA

Tel: 319 21 60 / 596