

ÇEŞİTLİ SARILIKLARDA OCT SEVİYESİ

Biok. Müt. Reyan Savaşeri

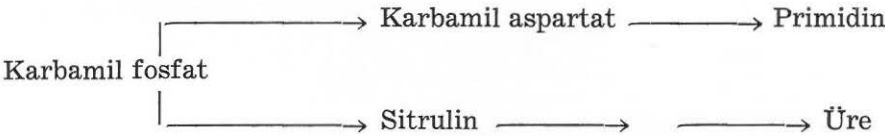
Organospesifik olarak gösterilen enzimlerin bulunuşu Biolojik teşhis imkanını ortaya koymuş bu fikir diagnostik enzimolojide yeni incelemelere yol açmıştır. Son zamanlarda bu yolda yapılan çalışmalarda O.C.T. karaciğer harabiyetinin bir indeksi olarak dikkati çekmiştir. Bu enzim üzerinde incelemeler yapılmış ve yapılmaktadır. Bizde bu enzimin aktivitesini çeşitli sarılık vakalarında incelemeye ve bu vakalarda O.C.T. nin diagnostik ve prognostik önemini araştırmaya karar verdik.

Ornithine Carbamyl Transferase (EC. 2.1.3. 32)

O.C.T. nin belli başlı yerleşme yeri karaciğerdir. (Jonesg Anderson ve Hodes 1961) çok daha az miktarda ince barsakta bulunur. (12, 14, 17) Mizutani ve Fujita 1968 de elektron mikroskopuyla O.C.T. nin özellikle mitokondrilerde lokalize edildiğini saptamışlardır. (4, 12)

O.C.T. Krebs ve Henselet'in üre siklüsündeki bir enzimdir. (4) üre biosentezine ait bu siklüsteki reaksiyonları spesifik enzimler katalize ederler.

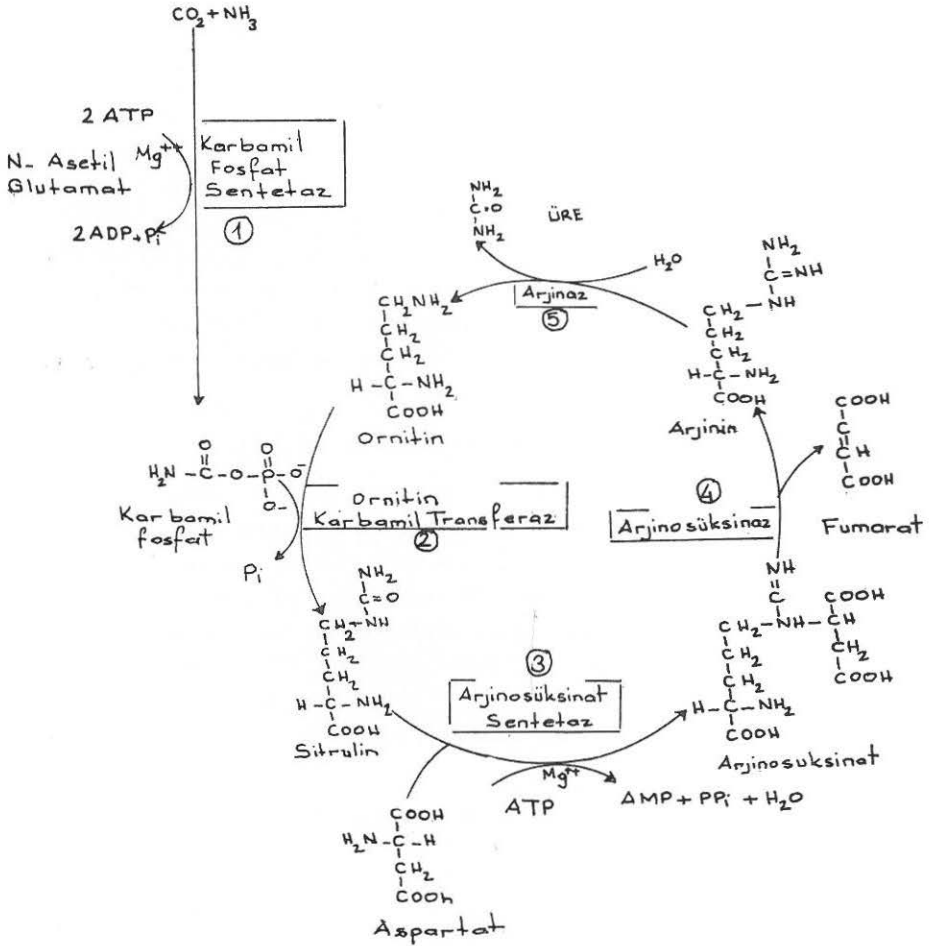
Üre siklüsündeki karbamil fosfatın, memelilerde başlıca iki metabolik sonu vardır.



Birincisi üre sentezidir. İkincisi kaderleri başlıca nükleik asidler içine inkorporasyon olan primidinlerin sentezidir. Karbamil fosfat bir hareket noktası alınır, üre sentezinin ilk enzime O.C.T., primidin sentezinin ilk enzimi aspartat transkarbamilazdır. Karaciğer dokusunda rejenerasyon, nükleik asidlerin sentezinde artışa ihtiyaç gösterir. Bunun üre sentezi için karbamil fosfatın az kullanılması kolaylaştırır. Rejenerasyon sırasında O.C.T. düzeyleri azalır, halbuki aspartat

(*) Şişli Çocuk Hastanesi Biokimya Laboratuvarı Şef: Dr. Münevver Akman

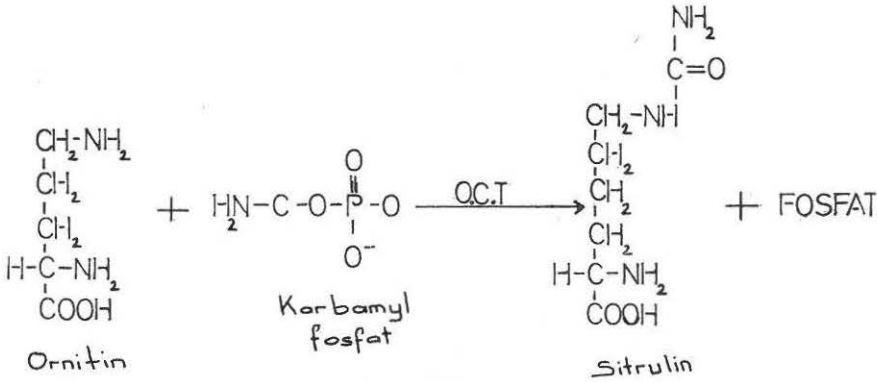
Üre Siklüsü



Şekil 1

transkarbamilaz düzeyleri artar. Rejenerasyon tamamlandığı zaman aspartat transkarbamilaz düzeylerinde bir azalış ve O.C.T. düzeylerinde bir artış görülür. Bu olayları düzenleyen fizyolojik faktörler halen tam bir şekilde anlaşılmış değildir. (8)

O.C.T. Üre siklüsünde ikinci basamak olan sitrülün sentezini katalize eder.



Şekil 2

Ornitinin amino gurubuna aktive edilmiş karbamil gurubunun transferlerini katalize eder ve sitrülün teşekkül eder. Koenzimleri gerektirmez. (4)

O.C.T. bir reaksiyonu daha katalize eder.

Sitrülün - arsenat ornitin - Karbamilarsenat

Bu reaksiyon aşağıda gösterildiği gibi nonenzimatik bir ayrışma ile daha ileri gider.

Karbamilarsenat $\text{CO}_2 - \text{NH}_3$ - Arsenat

O.C.T. nin belli başlı yerleşme yeri karaciğerdir. (Jonesg Ander-aktivitesi tayini yapılır. (6, 17)

Üre siklüsüne ait bozukluklar :

Karaciğerde üre sentezi beş enzimi ilgilendirir. Bu beş enzimin her birinin noksanlığı ile ilgili bozukluklar bilinmektedir. Üre siklüsünün tek fonksiyonu amonyağı toksik olmayan bir bileşik olan üreye çevirmek olduğu için, üre sentezi ile ilgili bütün bozukluklar amonyak zehirlenmelerine neden olurlar. Üre sentezi bozukluklarının hepsinde ortak olan kliniksel septomlar, bebeklik çağında kusmayı intermitten ataksiyi, irritabiliteyi, letarjiyi, mental bakımdan geri kalısı ve yüksek proteinli yiyeceklerden kaçınmayı kapsar. Bu semptomlar karbamil fosfat sentetaz ve O.C.T. eksikliğinde daha ağırdır. (3, 8, 13) Ayrıca serobraspinal sıvıda ve kanda amonyum iyonları miktarı çok yükselmiştir. Kanda sitrülün ve arjinin seviyeleri düşmüş fakat ornitin seviyesi değişmemiştir. (3, 13)

Üre siklüsündeki beş enzim eksikliği bozukluklarının kliniksel özelliği ve tedavisi birbirine benzer. Proteini az bir diyetle konunca önemli düzeltme tesbit olunur ve bu yolla beyin hasarının çoğu önlenbilir. Hergün yenen yiyecekler, kan amonyak düzeylerinde ani artışlardan kaçınmak amacı ile sık, küçük öğünler halinde verilmelidir. Barsaklar içinde amino asitlerin bakteriler tarafından parçalanmasından teşekkül eden amonyağın absorpsiyonunun uygun antibiotik ilaçlar kullanarak barsağı sterilize etme girişimleri aracılığı ile azaltılmasının değeri yoktur. (8)

Konjenital O.C.T. eksikliği olan en az 10 hastaya ait yayın vardır. İlk defa 1962 yılında iki kuzinde protein toleransızlığı ve amonyak intoksikasyonunun sebebi olarak teşhis edilmiştir. Ondan sonraki 10 yılda 10 vaka rapor edilmiştir. Bu vakalarda proteinin başlattığı kusma ve hiperamoneminin karakteristik bulguları ile birlikte kısmi O. C.T. eksikliği saptanmıştır. (8, 14)

Hastalanan kadın sayısının fazla oluşu ve iki soydan müşahade edilen anneden kızına transmisyonların belgelenmesi, bu bozukluğun otosomal dominant ve sexin etkilediği bir özellik olarak irsiyet yoluyla geçtiği saptandı. (14)

Ricciuti ve arkadaşları O.C.T. eksikliği saptanan ailenin iki nesil üzerinde sitosimik çalışmalar yapmışlar ve O.C.T. geninin x kromozomunda olduğunu saptamışlardır. (14)

Inhibitörleri : O.C.T., SH Guruplarını bloke eden maddelerle inhibe edilir. (4) Aynı zamanda ornitin ve fosfat sitrulinin arsenolisisini inhibe eder. Bu bileşiklerin ikisi de serumda bulunur. Aynı zamanda ornitin reaksiyon ürünüdür. Fakat bu maddelerin reaksiyonu inhibe edecek konsantrasyonda, serumda bulunmadığı saptanmıştır. (5)

Stabilitezi : 2 ml. aliquots içinde - 5°C de 2 haftadan fazla bir süre aralıklı günlerde yapılan çalışmalar O.C.T. aktivitesinde hiç bir kayıp göstermemiştir. (5)

Kliniği : Normal kişilerde serum seviyesi çok düşüktür. Sağlıklı kişilerde fiziki gerginlikler O.C.T. artışına sebep olmamaktadır. Cinsiyet arasındaki fark söz konusu değildir. 26 yaşından küçük kişilerde değer biraz daha küçüktür. (5)

Fareler üzerinde yapılan denemelerde minimal miktarda karaciğer hasarı meydana getirdiği bilinen dozlarda CCl₄ enjeksiyonu O.C.T. de anlamlı bir artış göstermiştir. (5)

Goldberg ve Watson 1 kg. ağırlığa 1.7 g. alkol vermek sureti ile yaptıkları deneylerde O.C.T. de anlamlı artışlar olduğunu SGOT ve

SPGT de belirgin şekilde artışlar olmadığını müşahade etmişlerdir. (12) Rifadin enjeksiyonunda SOCT nin artışı ile ve elektronik mikroskopla belirtilen karaciğer dokusundaki değişikliklerde karaciğerin çok düşük düzeyle zedelendiğini tesbit etmişlerdir. (12)

Organ hasarı veya hastalığın saptanmasında serumda faydalı olduğu görülen bu enzim hasar minimal olduğu zaman bile aktivitede anlamlı artışlar göstermektedir. (Grice, Barth, Cornish, Foster ve Gray 1974).

Serum O.C.T. değerlendirmesini diagnostik gaye için ilk defa Peter daha sonra Hans Reichart yapmıştır. (12)

Daha sonra yapılan çalışmalarda karaciğer spesifik enzimi olarak karaciğer zedelenmesi ve diğer enzimlerin öncüsü olarak iyi bir indikatör olduğu görülmüştür. (12)

O.C.T. nin normalde çok düşük olan serum seviyesindeki artış toksik, dejenerativ ve infektik faktörler nedeni ile bir sitolojik veya mitokondiral harabiyetten dolayıdır. (4, 17)

Karaciğer toksik hastalıklarında ve akut infeksiyonlarda artış büyük ve şiddetlidir. Bu artış SGOT ve SGPT artışları ile paralel gider ve SOCT seviyesinin serumdaki seyrinin diagnostik ve prognostik önemi vardır. (4) Daha az yükselmelere tıkanma sarılığında siroz ve metastatik karsinomada rastlanır (17). Çok daha az yükselmeler miyokart infarktüsünden sonra karaciğer komplikasyonu olduğu zaman görülür. (13, 17)

Kısa süreli biliyer ağrı (staz) dan sonra veya morfin enjeksiyonunda SCOT de 6-10 gün süren bir artış olmaktadır. SGOT, SGPT AF, GT düzeylerinde bir artış olmamaktadır. O.C.T. artan biliyer bazınca diskinetik ağrıyı belirtici çok iyi bir indikatör olarak görülmektedir. Baska kaynaklı ağrılar belirtici etkisi yoktur. (12)

Au Antijeni ihtiva eden kanın infeksiyon yaptığı ve Au antijeni karaciğerde sentezlediği hakkındaki kesin bilgilerden sonra son zamanlarda epididyomolojik ve halk sağlığı açısından SGOT, SGPT ve Au antijeni, O.C.T. araştırmaları zamanında teşhis ve hastalığı önleme açısından değer kazanmıştır. (11)

Materyal

10 normal, 10 tıkanma ikteri, 4 hemolitik ikteri ve 24 inf. Hepatit üzerinde 44 vakada çalışıldı.

20 İnf. Hepatit, 10 tıkanma ikteri ve 4 hemolitik ikter vakalarımız, hastanemizin başlıca dahiliye, hariciye ve çocuk servislerinden,

4 vakamız ise Haydarpaşa Numune Hastanesi İntaniye servisinden alınmıştır. Bu hastaların teşhisleri servisleri tarafından konulmuştur.

Kontrol gurubumuzdaki 10 normal vakamızın 3 tanesi Biokimya Polikliniğine tetkik için gelen kişilerden, 7 tanesi asistan arkadaşlarımızdan alınmıştır.

Metod

Vakalarımızda :

1. SGOT tayini Boehringer Mannheim'ın kolorimetrik metoduyla
2. SGPT tayinini Boehringer Mannheim'ın kolorimetrik metoduyla
3. Alkali fosfataz tayini Bodansky metoduyla
4. Bilirubin tayini jendrassik metoduyla
5. OCT tayini : Bio Merieux'un kolorimetrik metoduyla yapılmıştır.

Ornithine Carbamyl Transferase Tayini :

Prensip : O.C.T. Aşağıdaki reaksiyonu katalize eder.

O.C.T.

Ornithine + carbamyl phosphate $\longrightarrow$ citrulline + phosphate
Serumdaki O.C.T. aktivitesinin tayini, muayyen şartlarda meydana gelen sitrullinin miktarına bağlıdır. (inkubasyon 20 dakikada pH 7 de, 37° C de yapılır.) Sitrulline asidik ortamda thiosemicarbazide mevcudiyetinde diacetyl monoximle kırmızı renk verir. Oluşan bu renk spektrofotometrede 530 nm de okunur. Serum üresi de bu kolorimetrik reaksiyona karışabileceği için inkubasyon ortamında üreyi, üreaze ile hidroliz etmek lazımdır.

Reaktifler

Reagent No. 1 : Substrat - 12 kapsül

Bu reaktif carbamyl phosphate ile üreazı ihtiva eder. Bir kapsül bir deney için gerekli miktarı kapsar. (Test ve Serum körü)

Bu madde toz halinde + 4°C de paket üstündeki tarihe kadar bozulmadan kalabilir. Reagent No. 2 nin içinde erimesinden sonra, sıvı oda ısısında 1 saat sabit kalır.

Reagent No. 2 : Tampon solusyonu (pH 7), 3,5 ml. lik 2 ufak şişe
Bu miyar + 4°C de küçük şişe üzerinde belirtilen tarihe kadar sabit kalır.

Reagent No. 3 : Ornithine solusyonu, pH : 7, 3,5 ml. lik bir ufak şişe
Bu miyar + 4°C de küçük şişe üzerinde belirtilen tarihe kadar stabildir.

Reagent No. 4 : Stok citrulline standard solüsyonu, 3,5 ml. lik 1 ufak şişe. Bu miyar + 4°C de bir hafta stabildir.

Reagent No. 5 : Asit çözeltisi 56 ml. lik 2 şişe. Bu miyar sülfirik asit, fosforik asid ve demir (3) klorürü ihtiva eder.

Reagent No. 6 : Diacetylmonoxime. 30 ml. lik 1 şişe

Reagent No. 7 : Thiosemicarbazide. 30 ml. lik 1 şişe

Reagent No. 8 : Standard üresolüsyonu. 0,30 g/lt. 3,5 ml. lik ufak bir şişe. Bu miyar sadece üre tayininde kullanılır.

9-%10 Triklorasetikaside

Bu miyarların direkt pipetlenmesi ve deri ile teması sakıncalıdır. Deney için serum : Bir hafta + 4°C da veya bir ay - 18°C da göze görünen aktivite kaybı olmadan saklanır.

Çalışma

Reagent No. 1'den 1 kapsül çalışma tüpüne konur ve 0,5 ml. reagent No. 2 ile eritilir.

Her serum için aşağıdaki hazırlıklar yapılır.

Tartışma

Toksik, infeksiyöz, dejeneratif nedenlere bağlı karaciğer parankim harabiyeti ile seyreden hastalıklarda, serum O.C.T. değerlerinin çeşitli metodlarla yapılan çalışmalarda, yükselmesinin diagnostik önemi konusunda dünya literatürü fikir birliği halindedir. (4, 6, 11, 12, 17)

Bizim çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar literatüre uymaktadır. Ancak karaciğer hastalıklarında, O.C.T. tayini konulu çalışmalara yerli literatürde rastlamadık. Çalışmamızın bu konuda Türkiye'de yapılan ilk çalışma olduğu kanısındayız.

Çeşitli sarılıklarda SCOT nin istatistik incelenmesi :

	Vaka sayısı	m	SD ±	
Normal	10	6.9	±2.05	
Inf. Hep.	24	71.39	±51	P<0.001
				t = 3.96
Mekanik İk.	10	30.5	±29.6	P<0.05
				t = 2.59
Hemolitik İk.	4	7.65	±2,4	P>0.5
				t = 0.5873

Tablo 1

İnfeksiyöz Hepatit vakalarımızda OCT seviyesi yükselmiştir. Bu yükselme ileri derecede anlamlıdır.

Mekanik ikter vakalarımızda OCT seviyesinde anlamlı bir yükselme saptanmıştır. Fakat bu yükseliş İnf. Hepatit vakalarından daha azdır. Hemolitik ikter vakalarımızda OCT seviyesinde anlamlı bir yükselme görülmemiştir.

Bulduğumuz neticeler literatüre uymaktadır. (12, 17).

Inf. Hep. vakalarında SCOT'nin istatistik bakımdan prognostik değeri :

Hasta Sayısı	İlk OCT Seviyesi	Son OCT Seviyesi	Fark	$(X-X_1)^2$
1	45.56	8.28	37.28	164.3524
2	169.2	9.4	159.8	12034.09
3	84.0	30.8	52.2	9.61
4	87.6	5.4	82.2	1020.4
5	63.6	18.0	45.6	20.25
6	100.0	34.0	66.0	252.81
7	73.0	15.5	57.5	54.76
8	22.0	10.0	12.0	1451.61
9	56.0	37.0	19.0	967.12
10	39.0	15.0	24.0	691.21
11	138.0	30.0	108.0	3352.41
12	132.0	32.0	100.0	2490.01
13	76.0	20.0	56.0	34.31
14	33.0	10.0	23.0	734.41
15	8.0	12.0	4.0	2125.2
16	15.0	12.24	2.76	2241.02
17	25.0	15.5	9.5	1648.36
			851.34	29292.49

m : 50.1

t : 4,82

P<0,001

Tablo 2

24 Inf. Hep. vakamızdan, takip etme fırsatını bulduğumuz 17 Inf. Hep. vakamızda hastalık iyiliğe doğru gittiğinde O.C.T. nin anlamlı bir düşüş gösterdiğini saptadık. Bu bulgu inf. Hep. vakalarında S.O. C.T. tayininin diagnostik önemi yanında ayrıca prognostik değerinin de olduğunu göstermektedir. Nitekim literatürde karaciğerin toksik hastalıklarında ve akut infeksiyonlarında serumdaki OCT seviyesinin seyrinin prognostik önemi belirtilmiştir, (4).

Sonuç

Ortalama değerler :

	Vaka sayısı	OCT	SGPT	SGOT	Fık gos.	T.B.L.	Thy zn Cep
							2.85
Normal	10	6.9	3.8	4	3.27	0.49	4.9
							—
							10.5
Inf. Hep	24	71.39	79.5	81.26	6.4	7.51	11.5 (+)
Mekanik İk.	10	30.5	65.2	50.7	22.2	14.1	Y
Hemolitik İkter	4	7.65	Y	Y	Y	11.56	Y

Tablo 3

Deneylerimizin ortalama değerleri Tablo : 3 de gösterilmiştir.

Bunun incelenmesinden anlaşılabacağı üzere :

a) 24 Inf. Hep. vakamızda serum O.C.T. seviyesi yükselmiştir. Ortalama değer 71.39 dur.

b) 10 mekanik ikter vakamızda serum O.C.T. seviyesinde daha az bir yükselme olmuştur. Ortalama değer 30.5 dur.

c) 4 hemolitik ikter vakamızda serum O.C.T. seviyesinde yükselme olmamıştır ortalama değer 7.65 dir.

Özet

24 Inf. Hepatit, 10 tıkanma ikteri, 4 hemolitik ikter vakasında yapılna SCOT seviyesi tayininde SOCT seviyesinin inf. hepatitlerde an-

lamlı bir şekilde yükseldiğini, mekanik ikterlerde daha az yükseldiğini, hemolitik ikterlerde ise yükselmediğini saptadık. Bu neticelere göre sarılık çeşitlerinin ayırıcı diagnozunda ve ayrıca inf. hepatitlerin prognozunda da serum OCT tayininin yararlı bir metod olabileceği kanısına vardık.

Summary

Serum OCT levels in various jaundice have been determined.

LİTERATÜR

1. Aras, K., Erşen, G. : Klinik Biokimya, Ankara, Ankara Üniversitesi 1975
2. Atasagungil, M. : Klinik Lab. ve araştırma met. Ankara. 1962
3. Cantarow and Trumper : Clinical Biochemistry. W.D. Sanders Company. Philadelphia, London, Toronto, 1975.
4. Curtius, H. Ch. and Marc Roth. : Clinical Biochemistry. Walterde Gruyter, Berlin, Newyork, - 1974.
5. Drotman, R.B. : Food Cosmet Toxicol. 13 (6) : 649-51, Dec. 75.
6. Gradwohl : Clinical laboratory Methods and diagnosis., The C.V. Mosby Company, Saint Louis., 1963.
7. Gürakar, M. : Karaciğer Hast. Cerrahpaşa Tıp Fak. İst., 1973.
8. Harper. H. : Review of physiological Chemistry., Lange Medical Rubricata, California, 1973.
9. İmren, H. : Klinik Tanıda Lab., Mentex, İst., 1975.
10. Lehninger, L.A. : Lehninger Biochimie, Fransa, 1977.
11. Malesani S.M., et al Ann. Solave. 17 (5) : 692 - 703 - Sept - Oct, 1975.
12. Nikolic, V. et. al, Acta Med. Lugosl. 29 (5) : 421-429, 1975
13. Orten, J. Neutlaus, W.O. : Human Biochemistry, The C.V. Mosby Company, Saint Louis, 1975.
14. Ricciuti, F.C. : et. al, Am. J. Hum. Genet. 28 (4) : 332-8, Jul. 76.
15. Sanford, T. : Clinical Diagnosis, 1974
16. Tavat, S. : Fizyopatoloji, Cumhuriyet Mat., İst. 1949.
17. Toro, G., Akkermann, P. : Practical Clinical Chemistry, Little Brown and Company, Boston, 1975.
18. Yenson, M. : İnsan Biokimyası, Çapa Tıp Fak. İst. 1973.