

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

71178

**OBEZ KİŞİLERDE SERUM VE
LÖKOSİT İÇİ ASKORBİK ASİD İLE
PLAZMA VE ERİTROSİT İÇİ KOLİNESTERAZ
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Sadık BÜYÜKBAŞ

Hazırlayan
Dr. Elif Menekşe ZEREN

KONYA - 1995

KISALTMALAR

AKŞ	: Açlık kan şekeri
T.KOL	: Total Kolesterol
TRİG	: Trigliserid
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
PA	: Plazma askorbik asid
PTA	: Plazma total askorbik asid
PDA	: Plazma dehidroaskorbik asid
LA	: Lökosit askorbik asid
LTA	: Lökosit total askorbik asid
LDA	: Lökosit dehidroaskorbik asid
PCE	: Plazma kolinesteraz
ECE	: Eritrosit asetil kolinesteraz
BMI	: Body Mass index
X	: Aritmetik ortalama
SD	: Standart deviasyon

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
LİTERATÜR BİLGİ	2
I. OBEZİTE	2
II. VİTAMİN C	8
III. KOLİNESTERAZ	16
IV. ERİTROSİT BİYOKİMYASI	22
V. LÖKOSİT BİYOKİMYASI	23
MATERYAL VE METOD	27
BULGULAR	34
TARTIŞMA VE SONUÇ	44
ÖZET	49
SUMMARY	51
LİTERATÜR	53

GİRİŞ

Şişmanlık, vücutta aşırı miktarda yağ birikmesiyle karakterize olan bir durumdur(1).

İstatistikî verilere göre toplumun değişik grublarında %20-50 arasında görülen ve her geçen gün artma eğiliminde olan obezite (şişmanlık), sosyal ve klinik yönden önemli bir problemdir. Mortalite riski obez olmayanlara göre daha yüksektir. Obez kişiler bazı hastalıkların ve metabolik bozuklukların gelişmesine daha yatkındırlar (2).

Bazı çalışmalar obezlerde dislipoproteineminin yüksek insidansını göstermektedir. Bununla beraber obezitede vitaminlerle ilgili bilgilerimiz yetersizdir. Vitaminler ile ilgili araştırmalar oldukça seyrek ve bazı vitaminlerin eksikliğini desteklemektedir. Obezitede gözlenen metabolik ve endokrinolojik bozuklukların vitamin durumunu etkileyebileceği iddia edilmiştir (2).

Şişmanlıkta lipoprotein metabolizmasının etkilendiği ve bu etkilenmenin kolinesteraz enzimi ile ilişkili olabileceği kaydedilmiştir (3,4,5)

Bu çalışmada; lipid ve lipoprotein parametreleri (trigliserid, total koles, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol), kan şekeri, plazma kolinesteraz(PCE), eritrosit içi kolinesteraz (ECE), plazma total askorbat (PTA) plazma askorbat(PA), plazmadehidroaskorbat(PDA), lökosit total askorbat(LTA) lökosit askorbat (LA), lökosit dehidroaskorbat(LDA), PDA/PA, PDA/PTA,PA/PTA ile LDA/LA,LDA/LTA, LA/LTA oranları çalışılarak ve hesaplanarak a) obezite derecesiyle vitamin C ilişkisi b) obezite derecesiyle kolinesteraz ilişkisi ve c) vitamin C ile kolinesteraz ilişkisinin olup olmadığının araştırılmasının yanısıra obezlerde vitamin C yetmezlik decelerinin saptanması amaçlanmıştır.

LİTERATÜR BİLGİLERİ

I-OBESİTE

Obesite(şişmanlık) vücutta yağ fazlasının bulunması anlamına gelmekte olup yaşlanmanın doğal bir sonucu olarak metabolik ve fizik aktivite kaybı nedeniyle kilo artışıyla ortaya çıkmaktadır.Günümüzde önemli bir sağlık problemi olup hayat süresini kısaltmakta ve önemli mortalitelere neden olmaktadır(5,6,7).Bununla beraber ana problem erken yaşlarda ortaya çıkan ve masif dereceye varabilen aşırı

kiloluluk olup kadınlarda erkeklere oranla daha sık görülmektedir. Kısa ve orta boylu olanlar uzun boylulara kıyasla daha fazla şişmanlama eğilimi taşımaktadır. Şişmanlık sadece bir görünüş kusuru oluşturması yanında ömrü kısaltan önemli bir faktör olarakta dikkati çekmektedir.

Şişmanlığın bugün kullanılan bütün teknik imkanlara rağmen tanımlanması oldukça zor olup şişman olan ve olmayanların kesin sınırlarla belirlemek oldukça güçtür. Dansitometrik olarak total vucut suyu ve total potasyum ölçülerek dolaylıolarak yağ hacminin hesaplanması veya yağda çözünen inert gazların kullanımı ile yağ hacminin bulunması metodları bu komplike tekniklere örnektir (6). Bugün toplum araştırmalarında daha pratik antropometrik ölçümler kullanılmaktadır.Cilt kıvrımı kalınlığı (biceps, triceps kasları üzerinden) ölçümleriyle cilt altı yağ dokusu tahmin edilebilmektedir.Yaygın kullanılan ve daha basit olan yöntem ise boy ve vücut ağırlığı ölçümleriyle yapılan hesaplamaya dayanmaktadır. Vücut ağırlığının küp kökü / Boy uzunluğu (kg/m) şeklinde ifade edilen Panderol indeks çok pratik olmasına rağmen bazı sapmalar nedeniyle pek tutulmamıştır (8). Fakat bu yöntemden yola çıkarak geliştirilen Vücut Kitle İndeksi tutulan bir teknik olmuş ve Dünya Sağlık Teşkilatıncada benimsenmiştir (5,6,7). İdeal vücut ağırlığı cetvellerinden değerlendirme yapılırken kişinin yaş, boy ve vücut yapısına göre idealini yüzde kaç aştığı söylenebilir. Örneğin ideal vücut ağırlığı 60 kg olan bir kimsenin ölçülen vücut ağırlığı 75 kg ise o kimsenin ideal kilosundan fazlası hesaplandığında $75-60 / 60 = 0,25(\% 25)$ bulunur. İdeal kilonun %10 geçilmesi fazla kilolu veya hafif şişman sayılırken %20'yi aşan farklar orta ve ağır şişman olarak değerlendirilir.

Şişmanlığın başlangıcı için kesin birşey söylemek oldukça zor olup, kalp

hastalığı tehlikesi her şişman için aynı olmayabilir.Şişmanlık kadınsı ve erkeksi tip olarak iki grupta ele alınabilir. Birinci tip, daha çok kalçalarda yağ biriken jinekoid tip şişmanlık olup kalp hastalığı riski taşımazken erkeksi tip gövdede yağ biriktiren android tip olup kalp hastalığı için bir risk oluşturur.Bu iki tipin ayırımı için özellikle bel ve kalça ölçümlerinin oranlanması önemlidir(7,9) .

Vücut kitle indeksine Quetelet indeksi de denir.1985,WHO tarafından, BMI'in ideal ağırlık ve boy uzunluğunu en iyi gösteren formül olduğu bildirilmiştir (6,7).
 $BMI = w / h^2$ (W=kg olarak vücut ağırlığı, h=metre olarak boy uzunluğu) ile gösterilmektedir.Şişmanlığın başlangıcı erkekler için BMI=30, kadınlar için BMI=28,6 itibaren kabul edilir.Yapılan çalışmalar erkeklerin 50 yaşına kadar kilo aldıklarını ve bu yaştan sonra kilo kaybettiklerini , kadınların ise kilo alımının 60 yaşına kadar sürdüğünü göstermiştir. Ayrıca BMI yardımıyla mortalitenin en fazla BMI > 30 değerinde olduğu ortaya konulmuştur (6).

SIKLIĞI VE DAĞILIMI : Şişmanlığın görülebilme sıklığı orta yaşta belirgin şekilde artarken erken yaştaki şişmanlık genellikle geçici olmaktadır. Bazı araştırmacılar hayatın ilk yıllarında fazla kalori almanın yağ hücrelerinin aşırı çoğalmasını sağlayarak (hiperplastik yada hiperplazik) şişmanlığa yol açabileceğini ve böyle çocukların ileride zayıflamalarının oldukça güç olacağını ileri sürmektedirler.Şişmanlık kadınlarda erkeklere kıyasla biraz daha sık olup bunun en önemli nedenlerinden birisi de şüphesizki gebelik esnasında fazla alınan kiloların doğumdan sonra verilememesidir (7).

Şişmanlık özellikle iş adamları,yöneticiler,yüksek düzey memurlar arasında oldukça sıktır.Bu sıklığın nedenleri arasında iş gereği öğle ve akşam yemeği buluşmaları,sedanter yaşam, sürekli karar verme durumunda olmanın verdiği gerginlik, işlerin yoğunluğundan diet planlarına ve spor faaliyetlerine vakit ayıramamak özellikle göze çarpandır(6,7).

ETİYOLOJİSİ:Şişmanlığın temelinde yatan ana bozukluk, alınan kalori ile harcanan arasında bir dengesizlik olmasıdır. Genellikle fazla yemek yeme söz konusu olup bu kişiler başkaları kadar yedikleri halde şişmanladıklarını kendilerinde hormonal-metabolik bir kusur olduğunu düşünme eğilimindedir. Önemli olan kiloyu artıran etkenin depolanan yağ olduğu ve bu depo yağının ise tüketilmemiş enerji olduğu gerçeğinin vurgulanmasıdır. Günde gereğinden bir dilim fazla ekmek yenildiğinde 5 kalori fazla alınırken, bu fazlalık trigliserit olarak biriktiğinde 6 gr trigliserit oluşmakta ve beraberinde 5 gr su tutulmaktadır. Alınan fazla kalenin harcanması özellikle fiziksel aktiviteye bağlı olup yapılan çalışmalar

şışmanların çoğunun fizik aktivitesinin normale göre daha az olduğunu ortaya koymaktadır. Fakat açık olmayan nokta, bu aktivite azlığının primer bir olay mı yoksa şışmanlığa bağlı sekonder bir sonuçmu olduğu sorusudur. Eskisi kadar gıda alımını sürdüren kişide, yaş ilerlemesi, metabolik hız düşmesi ve fizik faaliyet azalması gibi nedenler aynı miktar enerji tüketimini başaramayacağından dolayı zamanla kilo artışı kaçınılmazdır(5,6,7,9).

Hayatın ilk birkaç ayında adipoz doku hücreleri hipertrofiye uğrayarak depolama kapasitelerini büyük miktarda artırır. Şışman olmayan çocuklar, bir yaşından sonra yağ hücrelerinin (adipozit) çaplarında bir küçülme meydana getirirler. Buna karşılık şışman çocuklarda bir yaşından sonra yağ dokusu hücreleri hipertrofik olarak kalır (9).

Gross olarak şışman olan erişkinlerde genelde adipozit sayısında bir artma olmasına karşılık şışman olmayan kişilerde sayıdan ziyade hücrenin hipertrofik oluşu söz konusudur. Pek tabii bu ikinci kişiler tedaviye daha iyi cevap verir. Çocukluk orjinli aşırı kilolular yağ dokusunun dağılımı hem merkezi hemde perifereldir. Buna karşılık erişkin çıkışlı aşırı kilolularda genellikle merkezi bir dağılım vardır. Adipozitlerin hipertrofisi sonucu olarak bir insülin rezistansı ile birlikte, hücrede insülin reseptörü sayısında da azalma vardır. Adipozit hücreleri hipertrofisi bulunan hastalar açlık sırasında gelişen ketoza ise oldukça dirençlidirler(6,7,9).

Mutant tip şışmanlık gelişiminin bazı kişilerde daha çabuk olabilmesi bunlarda genetik bir yatkınlığın olabileceğini akla getirmektedir(7). Şışmanların %70'inin annesi veya babası ya da ikisinde şışman olması, ailevi kalıtsal özelliklerin olduğunu düşündürmektedir (6,7). Obez kadınların çocukları zayıf kadınların çocuklarına göre daha obez bulunmuştur. Beslenme yanında kalıtsallık da obezitede önemli olabilir. Fakat kalıtımla geçiş kesin değildir. Şışmanlık gelişiminde sosyal yapıda önemlidir(5,6,7). Şışman kişilerin evlenmesi sonucunda çocuklarının şışman olma şansı %60-70 artmıştır. Bazı kişilerin imkan bulduklarında daha fazla yeme eğilimi veya daha az enerji tüketme yatkınlığı olabilir. Obezler düşük kilolulara oranla metabolik sebeplerden dolayı daha fazla enerji sarfederler. Isı regülasyonuna adaptasyonda zayıf ve obezler arası önemli bir fark olmadığı belirtilmesine rağmen bu her vaka için geçerli değildir. Termoregülasyon için aşırı kilolular zayıflara göre daha fazla enerji harcarlar. Preobezler de normale göre daha fazla enerji tüketilir. Buda metabolik nedenlerden kaynaklanmaktadır (5,6,7). Şışmanlık bir alışkanlık sonucu oluşsa da

zamanla hipofizdeki beta-endorfin düzeyi artmaktadır. İnsanlarda seyrekde olsa hipotalamik şişmanlık (adipoza-genital distrofi, Prader-willi sendromu) gelişebilmektedir. Beraberinde şişmanlığın da görülebildiği hipotroidi, hipogonadizm, cushing sendromu, hipopituitarizm ve insülinoma gibi endokrin problemlerin sıklığı şişmanlıkla birlikte olmasına rağmen mutant şişmanlık vakaları yanında sayıca azdır. Bunların arasında hafif hipotroidlerin tanınması oldukça güç olabilir. Kolay yorulma ve üşüme, enerji kaybı, kabızlık, derinin kuru ve kalın oluşu, uyku eğilimi ve kolay kilo alma gibi belirtiler minimal hipotroidiye bağlı olabileceği gibi nonspesifik bulgulara olabilir(7). Şişmanlığın gelişmesine yardımcı olan faktörler Tablo 1 de görülmektedir.

TABLO 1.ŞİŞMANLIĞIN GELİŞMESİNE YARDIMCI OLAN NEDENLER

1-Genetik Şişmanlıklar

- . Von Gierke Hastalığı
- . Ailevi hipoglisemi sendromu alfa hücre yokluğu
- . Doğmalık makrosamia adipositas
- . Hiperostosis frontalis interna
- . Laurence-Moon Biedl sendromu
- . Prader-Willi sendromu

2-Hipotalamik şişmanlıklar

- . Adipoza-genita distrofi
- . Kleine-Levin sendromu

3-Endokrinolojik şişmanlıklar

- . Menapoz sonrası şişmanlık
- . Cushing sendromu
- . İnsülinomada görülen şişmanlık
- . Hipotroidi
- . Hipotalamo-hipofizer cücelik
- . Erkek hipogonadizmi
- . Stein-leventhal sendromu

4-Mutad şişmanlıklar

5-Hareket azlığı

6-Toplumsal ve ailevi gelenek ve görenekler

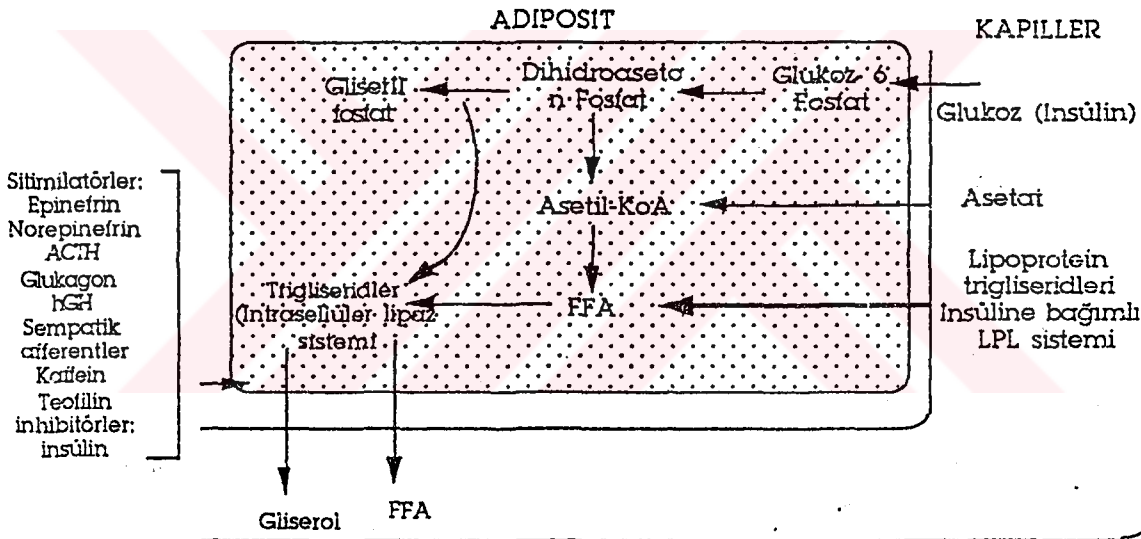
7-Gebelik ve doğumlar

8-Besin bolluğu ve eğitim eksikliği

ENDOKRİN VE METABOLİK DEĞİŞİKLİKLER

Şişmanların yağ dokusunda androjenlerin östrojenlere dönüşüm hızının artması erkeklerde östrojen / testosteron oranının büyümesine neden olabilir. Bu durumun ateroskleroz riskini arttırmasının yanısıra muhtemelen prolaktin düzeyi artışına da neden olarak cinsel gücü azaltabileceği vurgulanmıştır (9). Yağ dokusu az olan balerin ve koşucuların yağ dokusunda sürrenal androjenlerin östrojenlere çevrilmemesi sonucu adet bozuklukları ve kısırlık gözlenebilir.

Hücresinin Na pompası, (Na-K'a bağlı ATP az sistemi) hücrenin harcadığı enerji ve ürettiği ısıdan önemli ölçüde sorumludur. Hidroliz işlevi ilk basamak hız limiti olan bir sistem olup iki molekül serbest yağ asidini (FFA) serbestleştirir. Bu olay monogliseridazlar tarafından hızlı şekilde tamamlanır. Trigliserid hidrolizini stimüle eden hormonlar epinefrin, ACTH, glukagon ve hGH dır (6,7,9).



ŞEKİL 1.YAĞ HÜCRELERİNİN METABOLİZMASI

Şişmanlıkta serbest yağ asitleri(FFA) düzeyi artmıştır. Bazal şartlarda FFA yüksekliği, şişmanların yakıt olarak glukozu kolay kullanamaması sonucunda yağ yakıtına kayması şeklinde değerlendirilebileceği gibi bu artış doğrudan doğruya toplam yağ kitlesinin fazlalığına da bağlı olabilir. Trigliserit düzeyleri hafif yüksek olup bu yükseklik karbonhidrat toleransı azalmış şişmanlarda daha belirgindir. Şişmanlığın metabolik bozukluklarından biride hiperprolaktinemilerin görülmesidir. Açlıkta dolaşım trigliserinin önemli bir kısmını VLDL kapsar. Hipertrigliserideminin görülmesi karaciğerdeki VLDL sentezinin artmasına bağlıdır. Total kolesterol ve

safra atılımında artış görülmüştür. Kolesterol düzeyinde önemli bir fark olmamasına karşın HDL kolesterol anlamlı olarak azalmıştır. HDL'nin kolesterol temizleyici ve aterosklerozdan koruyucu etkisi gittikçe önem kazanmaktadır. HDL'deki bu düşüklük şişmanlarda ateroskleroza yatkınlığı açıklamaya yardımcıdır (5,9).

Karaciğerde VLDL yapımı artar. Lipoprotein lipaz yetmezliğinde insülin rezistansı vardır. Hiperinsülinemi yüksek trigliserid düzeyi ile yakından ilişkilidir. Karaciğer trigliserid lipazı HDL kolesterol katabolizmasında rol alır. Bu enzim aktivitesine seks hormonlarındaki değişiklikler etkindir (9). Premenapozal kadınlarda serbest testosteron artar ve seks hormonu sağlayan globulin azalır. HDL-kolesterol hepatik lipazı etkileyerek vücut yağ dağılımını etkileyebilir. Fakat bu konuda kesin bir araştırma yoktur. Şişmanların en dikkat çeken metabolik değişikliklerinden biriside hiperglisemiye olan yatkınlıklarıdır. Açlık kan şekeri normal sınırlar içerisinde olsa bile kişiler toplu olarak ele alındığında kilo fazlalığının derecesine göre doğru orantılı olarak glukoz düzeyi yüksektir. Periferdeki glukoz kullanımı güçleşmiş olup gerek bazal insülin düzeyleri gerek insülin verilmesinden sonraki plazma insülin cevapları şişman olmayanlara göre çok yüksektir. Dışardar verilen insüline duyarlılık azalmıştır. Kilo vermekle insüline periferik duyarlılık hızla artıp insülin düzeyleri normale gelir ve bozulan glukoz toleransı normale döner. İnsüline karşı periferik direnç, yağ ve kas hücrelerinde insülin reseptörlerinin azalmış olmasından kaynaklanabilir.

RİSK VE KOMPLİKASYONLARI: Şişmanlık genel olarak yaşam süresi azlığı ile birlikte olup istatistikler bunu ispatlamaktadır. Son yıllarda sigara içmeyen ve diğer risk faktörleri taşımayan hafif ve orta derecelerdeki şişmanların mortalite açısından düşük kilolulardan farklı olmadığı ileri sürülmektedir. Bu komplikasyonlar şöyle özetlenebilir: 1) Özellikle genç şişmanlarda estetik görünüm psikolojik bozukluklar ve toplumsal uyumsuzluklar oluşturabilir. Hatta bu durum nörozlara neden olabilir. 2) Solunum sıkıntısı şişmanlığın önemli bir problemi olup solunuma mekanik bir yük getirmektedir. Bu nedenle kilo fazlalığı kan CO₂ düzeyini arttırarak şişmanlarda Picwick sendromuna neden olabilir. Kronik CO₂ fazlalığı aynı zamanda eritrosit sayısını da arttırarak sekonder polisitemiyede neden olur. Bunun sonucunda kanın viskozitesindeki artış damarlarda pıhtılaşma ve tromboza yol açabilir. Şişman kişi sigarada içiyorsa solunum yetersizliği daha da ağırlaşarak akciğer enfeksiyonu ve ağır solunum yetersizliğine yol açabilir. Akciğerlerdeki sıkıntı sağ ventrikülü etkileyerek konjestif kalp yetersizliği gelişimine neden olur. 3) Mekanik güçlükler iskelet ve kas sistemini uzun süre ek bir ağırlığı taşımaya

zorlamakta ve bunun sonucunda düz tabanlık, diz ve kalça artrozları daha sık ve erken olarak ortaya çıkmaktadır. Alt ekstremitelerdeki kanın kalbe dönüşünü sağlayan kas kasılmasının venler üzerindeki masaj etkisi kaslardaki yağ infiltrasyonu nedeniyle zayıflar. Bunun sonucunda varis ve varis yaraları kolayca oluşabilir. Ayrıca karın kaslarındaki zayıflama ve karın içi yağının artması nedeniyle fıtık oluşumu kolaylaşır. 4) Endokrin ve metabolik kaynaklı komplikasyonların başlıcalarını obeziteye bağlı egzersiz tolerans azalması, eklem problemleri ve osteoartrit oluşturmaktadır. Obezler normal kiloya dönünce bu hastalıkların morbitide ve mortalitesi azalmaktadır.

Sonuç olarak kilonun artması kardiovasküler sistem hastalıklarının ortaya çıkma riskini artırır, zayıflama ise azaltır. Benzer durum sigara, kan basıncı, serum kolesterol seviyesi, diabetes mellitus için de geçerlidir(5,6,7). Kişinin genetik eğilimi ve şişmanlığının derecesi ne kadar fazla ise diabet o kadar erken oluşur. Ayrıca kan ürik asit düzeyi yüksek olup gut eğilimi de artmıştır. Şişmanlarda trigliserit, FFA düzeylerindeki yükselme eğilimi ve HDL kolesterol düzeyindeki azalma eğilimi ateroskleroz gelişimini kolaylaştıran metabolik etkenlerdir. 5) Kardiovasküler komplikasyonlar başında ise hipertansiyon gelmekte olup şişman hipertansiyonlu kişiler zayıfladıklarında kan basıncı önemli ölçüde düşmektedir. Şişmanlığın yaptığı mekanik yüklenmenin yanısıra hipertansiyonda kalbin yükünü arttırmaktadır. Ayrıca erken ateroskleroza bağlı koroner iskemide eklenince orta yaşlarda angina pectoris, myokard infarktüsü ve kalp yetersizliğe kolaylıkla ortaya çıkabilmektedir. 6) Deri altı yağ dokusunun artışı deri enfeksiyonlarını kolaylaştırır. 7) Şişmanlarda safra taşları ve taşlı kolesistit daha sıktır (7).

II.VİTAMİN C

Ön bilgi: Vitaminler ve sınıflandırılması

Vitaminler sağlık, gelişme ve üreme için diyetle eser miktarda alınması gerekli olan önemli organik bileşiklerdir. Vitaminlerin fonksiyonları genellikle katalitiktir. Bu nedenle çok küçük miktarı yeterli olabilmektedir. Beslenme amacıyla alınan protein, karbonhidrat ve lipitler ise vitaminlere göre çok büyük miktarda alınır ve primer fonksiyonları enerji sağlamak ve vücut kütlesini artırmaktır.

Diyetle yeterli miktarda ve kalitede alınan vitaminler, kişinin fiziki olarak kendini iyi hissetmesini sağlar. İnsanlarda yalnız başına bir vitamin eksikliği nadir olmasına rağmen, yeni doğanlarda metabolizma bozukluğuna veya nadiren diyetle alım yetersizliğine bağlı olarak görülebilmektedir. Özellikle besin absorpsiyonunu bozan bazı hastalıklarının komplikasyonu, massif kan kayıpları veya hemodiyaliz

ve kullanılan bazı ilaçların yan etkisi sonunda kompleks vitamin eksikliklerine daha sık rastlanır. Oral beslenemeyen hastalar total parenteral beslenme sırasında yeterli vitaminlerle desteklenmezlerse vitamin eksiklikleri görülebilir.

Batılı toplumlarda bazı vitaminlerin aşırı kullanılmasına sık rastlanır. Bu ve diğer etkenler vitamin imbalansına yol açarak kişinin vitamin dengesini değerlendirmek için yapılan laboratuvar testlerinin yorumlanmasını etkiler.

Vitaminler çözünürlüklerine göre sınıflandırılabilir. Buna göre; A,D,E ve K vitaminleri organik çözücülerde daha fazla çözünmekte iken B ve C vitaminleri suda daha fazla çözünmektedir. Bu nedenle birinci gruba yağda çözünen ve ikinci gruba suda çözünen vitaminler adı verilmektedir. Yağda çözünen vitaminler yağ dokusunda uzun süre depolanabilir. Suda çözünen vitaminler diğer solütlerle birlikte sulu, fizyolojik ortamı paylaşır. Fakat vücutta uzun süre kalmaz ve büyük kısmı idrarla atılabilir. Bir başka fonksiyonel fark suda çözünen vitaminlerin koenzim fonksiyonlarıdır. Bu nedenle suda eriyen vitaminler hem memeli hem de mikroorganizmalarda önemli enzimatik reaksiyonlara katılırken yağda çözünen vitaminlerin koenzim fonksiyonu olmayıp mikroorganizmalar tarafından da nadiren kullanılabilirler(10).

Fiziksel özellikleri

İnsan sağlığı için önemi her geçen gün daha fazla anlaşılan askorbik asid, uluslararası termonolojide vitamin C olarak da adlandırılmaktadır. C vitamini beyaz veya çok açık sarı renkte kristal görünümündedir. Ekşi lezzette ve asit reaksiyonda olup asitliği laktoz halkasının açılmasından değil enol grubundaki hidrojen atomlarının birinin disosiasyonundan ileri gelir (11).

Su, alkol ve gliserolde erimesine karşın benzen, kloroform, eter, petrol, benzin ve yağlarda erimez. Erime noktası 189-192°C'dir. Vitamin C kristal olarak oldukça dayanıklı olup solusyon halinde hava ve ışık etkisiyle çabuk bozulur. Oksidasyon yapan maddeler ve katalizörlere de hassastır. Alkali solusyonlarda da bozulur.

Kimyasal özellikleri

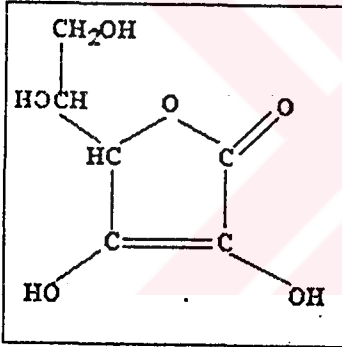
Güçlü bir asit olan askorbik asid, karbohidratlardan L-glikozun konfigrasyonuna benzer bir asidin enodiol laktonudur. L-askorbik asid ve D-askorbik asid olmak üzere iki tipi vardır. Kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olup açık formülü Şekil 2'de verilmiştir. L-askorbik asid oksitlenerek iki hidrojen atomu kaybeder ve dehidro askorbik asid meydana gelir. İnsanlarda genel olarak değişiklik bu aşamada kalır. Bu reaksiyon Şekil 3'de verildiği gibi reversibl olup bu maddelerden

her ikisi de aktiftir. Dehidro L-askorbik asid dayanıksız olup bir molekül H_2O alarak 2-3 diketo L-glonik asite değişir. 2-3,diketo-L-glonik asid ise D-askorbik asid gibi inaktiftir (11). Vitamin C "serbest-L veya dehidro-L" şekillerinde bulunduğu gibi askorbigen adı verilen bileşik haldede bulunabilir.

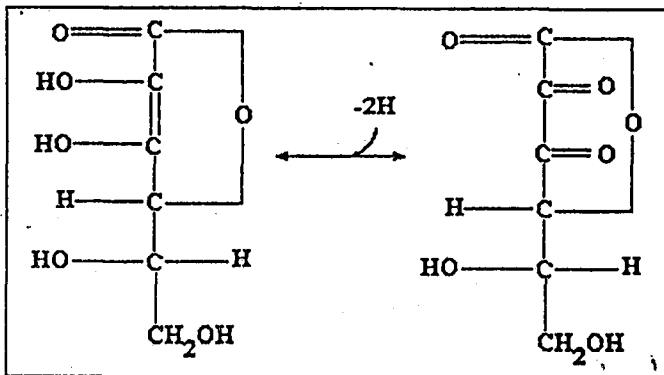
Ayrıca vitamin C bazı enzim sistemlerinin (katapsin) yapısına da girebilir. C vitamini, havanın oksijeni ile oksidasyona uğrayıp 2-3-diketo-L-glonik aside değişir. Bu da çok dayanıksız olup oksalik ve L-treonik asite parçalanır.

Kimyasal etkileri güçlü bir redükleyici olmasından ileri gelir. Bunu yapısındaki 2. ve 3. karbonlara bağlı hidrojen iyonlarını kolaylıkla vererek başariır. Kendisi dehidro-L-askorbik aside okside olur. Bu oksitlenme olayı havada, H_2O_2 'li ortamda, $FeCl_3$, I, kinonlar metilen mavisı, $AgNO_3$, ferri siyanür, 2-6-dikloro fenol indo fenol ve 2-4-dinitro fenil hidrazin ile oluşabilir (12,13).

Askorbik asidin redükleyici etkisi bu bileşiğin kimyasal olarak saptanmasının temelini oluşturur.



şEKİL 2. Askorbik asid



L-askorbik asit

Dehidro-L-askorbik asit

şEKİL 3 Askorbik asid tipleri

Kaynakları

En zengin vitamin C kaynakları taze meyve ve yeşil sebzelerdir. Meyvelerden özellikle limon, portakal, greyfurt, domates, çilek ve frenk üzümü ön sıralarda sayılabilir. Sebzelerden ise semiz otu, karnıbahar, ıspanak, kuru soğan, biber, turp, tere, maydanoz ve yer elması sayılabilir. Canlı dokulardan özellikle sürrenal korteksi (%400-500 mg) ve corpus luteum'da çok miktardadır. Ayrıca karaciğerde (%10-15 mg) ve etlerde (domuz ,sığır, koyun) vardır. Sütte nispeten azdır (11).

Genellikle meyve ve sebzelerde C oksidaz adı verilen ve C vitamininin oksidasyonunu hızlandıran bir enzim mevcuttur. Bu nedenle depolanan ve uzun süre bekletilen sebzelerde vitamin C miktarı azalır (11).

Metabolizma ve fonksiyonları

İnsan, yüksek maymunlar, kobay ve bazı kuşlar dışında tüm hayvanların vücudunda glukozdan (3-ketoglonik asid üzerinden) askorbik asid oluşur. Bu canlılar ise askorbik asidi dışardan besinlerle alırlar. Dışardan alınan askorbik asidin dokularda kayboluşu çok yavaş olur. Radyoaktif vitamin C ile yapılan incelemelere göre yarılanma süresi 16 gün kadar sürmektedir. Bu bulgu insanlarda eksiklik belirtilerinin (skorbüt) geç ortaya çıkışını yorumlar (4-5 ay). Halbuki fareler ve kobaylarda askorbik asidin yıkılışı hızla oluşur, (yarılanma süresi 3-4 gün) ve eksiklik belirtileri insana kıyasla daha kısa bir süre (3-4 hafta) gerektirir (12).

İnsanda vitamin C sentezinin olmayışı L-gulunogama-laktonoksidaz enzim eksikliğine bağlıdır. İnsanlarda yapılan genomik izolasyon çalışmaları bu enzimin çok sayıda mutasyona uğradığını ve aktivitesini kaybettiğini (Pseudogen) ortaya koymuştur.

C vitamini emilimi tüm 6 karbonlu şekerlerde olduğu gibi ince bağırsak seviyesinde ve osmoz yolu ile olur. En çok sürrenal, hipofiz, corpus luteum, timus glandları ve barsak cidarında bulunur. Önemli miktarda karaciğerde depolanır (11).

Eskiden beri karaciğerde askorbik asidin özel bir metabolizması söz konusudur. Radyoaktif bulgulara göre dışardan verilen askorbik asidin bir bölümü serbest kalırken önemli bir bölümünün ise proteinlere bağlanarak depolandığı kabul edilmiştir. Son yıllarda karaciğerdeki askorbik asidin yaklaşık %20'sinin oldukça dayanıklı bir bileşik olan askorbik asid-2-sülfat bileşiminde olduğu saptanmıştır. Askorbik asid-2-sülfat bazı araştırmacılara göre karaciğerde ve belkide başka dokularda bir yedekleme şekli diğer araştırmacılara göre ise askorbik asidin aktif bir metabolitidir (14).

Normal beslenen insanlarda kan askorbik asid düzeyi % 0.6-1.5 mg kadardır. Günlük askorbik asid gereksinimi erişkinlerde 75-100 mg, süt çocuklarında 30 mg, 7-8 yaşlarında çocuklarda 60 mg dır. Gebelik, emzirme durumlarında gastrointestinal bozukluklarda ve infeksiyon hastalıklarında gereksinim artar. Günlük alınması gerekli minimal miktar 10-15 mg'dır. Vitamin C atılımı en çok idrar sonra feçes, ter ve süt ile olur (11,15).

1973'te skorbütün sistematik olarak tanımlanması ve bu hastalığın önlenmesinde vitamin C'nin gerekliliğinin ortaya konması üzerinden yaklaşık 250 yıl geçmiş olmasına rağmen sağlıklı kalabilmek için insan organizmasının gereksinim duyduğu vitamin C miktarı hakkında bugün bile kesin bir standart önerilmemektedir.

Fonksiyonları

a. Kollajen yapımı ve askorbik asid

Askorbik asidin en önemli görevi kıkırdak, dentin ve kemiklerin normal extrasellüler maddesinin yapımını ve devamını sağlamaktır. Bu madde kartilaj, kemik, dentin ve doku hücreleri arası boşluğu dolduran kollojendir. Askorbik asid prolin hidroksilaz ve lizin hidroksilaz enzimlerinin aktivasyonunu sağlayarak kollojen yapısındaki hidroksi prolin ve hidroksi lizin amino asitlerinin oluşumunu kolaylaştırır. Prolinin hidroksi proline dönüşümünde etkili olan prolin hidroksilaz enzimi için ve lizinin hidroksi lizine çevrilişini katlızleyen enzimler için vitamin C bir kofaktör olarak görev yapmaktadır. Vitamin hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgen (redükten) olarak görev yapmaktadır. Vitamin C kemiklerde hem osteoblastların normal fonksiyonlarını hem de kalsifikasyonunu oluşturan fosfat oluşumunu sağlar (11,13,16,17,18,).

b.Hidrojen taşıyıcı olarak ve enerji oluşumu ile ilişkisi yönüyle askorbik asid

Askorbik asid redoks özelliği nedeniyle hidrojen taşıyıcısı olarak rol oynar. Biyolojik oksidasyon, redüksiyon ve hücre solunumu olaylarında önemli rolü vardır (13,19). Askorbik asid-dehidro askorbik asid sistemi dokulardaki oksidasyon-redüksiyon olaylarının optimum olarak sürdürülmesinde önemli bir rol oynar ve oksidasyon-redüksiyon potansiyeli oldukça dar sınırlar içinde dengelemektedir (20).

Vitamin C antioksidan etkili olup adrenalin gibi bazı hormonların oksidatif olarak tahrip olmasını engeller (11). Melanin sentezinde oksidatif reaksiyonları geciktirerek siyah melaninin redüklenmiş kahverengi forma dönüşümünü

etkilemektedir/ (21).

c. Antienfeksiyöz ve bakterisid etki

Askorbik asidin antienfeksiyöz etkisi olduğu kabul edilmektedir. Bu etki organizmanın enfeksiyon hastalıklarına karşı direncini artırarak olur. Viral enfeksiyonlardan sonra lökosit askorbik asid düzeyi azalmaktadır(17,22).

Askorbik asid bakteriyel komponentlerin oksidatif desatürasyonunu kolaylaştırıp bakterisid etki'yi kuvvetlendirebilir. Askorbik asidin aktif fagositoz için gerekli olduğu invivo ve invitro ortamda gösterilmektedir. Polimorf nüveli lökositlerin metabolik ve fagositik fonksiyonlarını vitamin C etkilemektedir(12,16,23).

d. Eritropoez ve askorbik asid

Askorbik asid demirin barsaktan absorpsiyonunu etkilemesinin yanısıra transferrine bağlı demir iyonlarının serbestleştirilmesi ve doku demirine çevrilmesinde de rol oynayarak eritropoiesis'i hızlandırır(11,19).

e. Hormon biyosentezine, stres olaylarına ve koenzim olarak enzimlere etkisi

Askorbik asid özellikle sūrenal korteks steroidlerinin olmak üzere steroid hormonların biyosentezinde etkindir. Steroidler askorbik asidin dokular tarafından alınıp şeklini etkileyebilir. Adrenal ve hipofiz bezlerinde askorbik asid konsantrasyonunun en yüksek düzeyde bulunması askorbik asid-dehidroaskorbik asid sisteminin adrenohipofizer hormonların gerek sentez gerek salgılanışında önemli bir rolü olduğunu düşünülür. Adrenal bezde bazı kortikosteroidlerin sentezindeki hidrosilasyon reaksiyonlarında vitamin C geriye dönüşümlü olarak okside olup birçok biyosentez yolunun regülasyonunda rol almaktadır. Vitamin C ile adrenal bez arasındaki ilişkinin araştırıldığı özellikle stres esnasında bu bezde vitamin C'nin konsantre olduğu gözlenmiştir(24,25,26,27).

Artmış askorbik asid doku konsantrasyonu prostoglandin sentezini inhibe edebilir. Böylelikle viral enfeksiyonlarla ilgili enflamatuvar cevabı indirgeyerek bronkodilatasyonu kolaylaştırabilir. Yüksek ateşli hastalıklar ve bulaşıcı hastalıklarda C vitamini azalışının gözlenmesi bu vitaminin vücudu stres olaylarına karşı koruduğunu gösterir. Askorbik asid, katepsin, karaciğer esterazı ve diğer bazı enzimlerin koenzimi olarak etki yapmaktadır (14).

Son yıllarda yapılan bir araştırmada vitamin C'nin Hem biyosentezinde hız sınırlayıcı basamak(Rate Limiting Step) olan Delta amino levulinik asid sentetaz ve diğer enzimlerin regülasyonunda da etkili olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir

çalışmada yüksek doz vitamin C' nin uzun süre kullanımı sonucu kan şekerinde değişiklik olmaksızın glikolize hemoglobinin anlamlı şekilde gerilediği tesbit edilmiştir. Vitamin C'nin antioksidan etkili hemoglobinin yapısını koruduğu ve özellikle nitritlerin neden olduğu methemoglobinin oluşumunu azalttığı belirtilmiştir.

f.Kolesterol metabolizmasına askorbik asidin etkisi

Askorbik asid kolesterolün safra asitlerine dönüşümünü etkilemektedir. C vitamini kolesterolün 7-alfa-hidroksilasyonunda rol oynayarak kolesterol metabolizmasında indirekt etki yapar. Sonuçta kolik asit oluşur (28,29,30,31,32).Askorbik asid düzeyi düşük kobaylarda kolesterolün safra asitlerine katabolizması belirgin olarak azalmaktadır.

g.Tirozin metabolizmasına etkisi

Askorbik asid tirozin amino asidinden DOPA oluşumunda etkilidir. Proteinden zengin vitaminden fakir diet alan bebeklerde p-hidroksifenil pirüvik asid ve p-hidroksi fenil laktik asid bulunmaktadır. Bu bebeklere yeterli vitamin C verildiğinde tirozin metabolizmasının normale döndüğü görülür. Katekolamin sentezinde görevli tirozin hidroksilaz enziminin inhibitörü olan alfa-metil protozin kullanıldığında beynin media-bazal bölgesinde vitamin C'nin azaldığı gözlenmiştir (21,33).

h.Folik asid metabolizmasına etkisi

Askorbik asid folik asidin folinik aside dönüşümünde gereklidir (19).

i.Üriner oksalat taşları oluşumuna etkisi

Fazla miktar askorbik asid alınması üriner oksalat atılımını artırıp oksalat taşları oluşumunu kolaylaştırır. İnsanda askorbik asidin oksalata çevrilmesi idrardaki endojen oksalatın büyük bir bölümünü açıklayabilir (34,35).

i.Ürik asid atılımına etkisi

Fazla askorbik asid alınması ürik asid ekskresyonunu artırabilir (36).

j.Kan glikoz düzeyine etkisi

Yüksek doz vitamin C hipoglisemi oluşturabilir (23).

k.Antioksidan olarak epidermis metabolik olaylarına etkisi

Askorbik asidin epidermis metabolik olaylarında önemli rolü olup bunların önemlileri;keratinizasyon ve melanogenezistir. Vitamin C antioksidan etkisi ile melanin sentezinde oksidatif reaksiyonları geciktirerek siyah melaninin redüklenmiş kahverengi şekle dönüşümünü etkilemektedir. Vitamin C, antioksidan etkisiyle esansiyel yağ asidlerini ve vitamin A ve E'yi oksidasyona karşı koruyarak, özellikle epitel ve mukozanın sekresyon yapan hücrelerin korunmasında rol

oynamaktadır. Vitamin C plazmada önemli bir antioksidan ve serbest radikal temizleyicidir ve membran lipitlerinde vitamin E'nin rejenere olarak aktif hale gelmesini sağlar (21).

l.Mutagenik etkisi

Bakır varlığında askorbik asidin mutagenik bir etki oluşturduğu kabul edilmektedir (37,38).

m.İmmün cevap üzerine etkisi

Askorbik asid yetmezliğinde immün cevaplar etkilenmektedir. Askorbat immün globulin (Ig) sentezinde önemli olup serum askorbat düzeyleri ile serum Ig M ve Ig G titrasyonları arasında pozitif bir ilişki olduğu ileri sürülmektedir (39).

n.Damar bütünlüğünün korunması

Askorbik asid özellikle kapiller cidarları olmak üzere damar bütünlüğünün korunmasında rol oynar. Kapiller damar çeperinin temel yapıtaşında kollajen yer aldığından vitamin C eksikliği kapiller frajeliteye de yol açmaktadır. Yine askorbik asid varlığında düz kas hücre kültürlerinde kollajen tipl ve III'ün aşırı miktarlarda arttığı görülmüştür. Aynı çalışmada insan endotel hücresi ve fibroblast kültürlerinde askorbik asid varlığında hücre çoğalması gözlenirken prolinli ortamda ise bir çoğalma gözlenmemiştir (11).

o.Üreme üzerine etkisi

Beslenmesinde askorbik asid miktarı yüksek kobaylarda üremenin arttığı görülmüştür (22).

ö.Karnitin sentezine etkisi

Askorbik asid lizinden karnitin sentezi için gereklidir. Askorbik asid karnitin biyosentezinde epsilon N-trimetil lizin hidroksilaz enzimlerinde kofaktör olarak görev yapmaktadır. Vitamin C eksikliğinde karaciğer gama bütiro betain hidroksilaz enzim aktivitesi azalmaktadır. Skorbütün erken bulguları olan halsizlik, zayıflık muhtemelen karnitin yetmezliğinden kaynaklanabilir.

Askorbik asid düzeylerini etkileyen faktörler

a)Yaş: Yaş ilerledikçe vitamin C düzeyleri azalır. Yaşlılardaki bu düşük düzey submukozal hemoraji ve hematoma neden olabilir. Yaşlı hastalara yüksek doz askorbik asid verildiğinde yaşam aktivitelerinde, ortalama vücut ağırlığında ve askorbik asid düzeylerinde artış görülmektedir (40).

b)Seks farkı: Dişilerde askorbik asid düzeyi erkeklerden yüksek olarak saptanmıştır. Normal dişilerde özellikle menstrüel siklusun ovulasyon fazında plasma askorbik asid düzeyi maksimumdur (41,42).

c)Gebelik: Gebelikte vitamin C gereksinimi artar. Ovum açığa çıkınca büyük miktarda askorbik asid kullanılmakta ve fertilizasyon olayından sonra doku düzeyleri düşmektedir (22).

d)Seks hormonları: Seks hormonlarının oral verilışı ince barsak ortamınıdeğiştirip askorbik asid emilimini azaltabilir. Fizyolojik düzeyler üzerindeki seks hormonları askorbik asid metabolizmasını ve kullanımını uyarabilir (43).

e)Oral kontraseptifler: Oral kontraseptif kullananlarda kan bakır düzeyi artarken askorbik asid düzeyinde azalma gözlenir. Bu azalma bakır arttığında seruloplazminin askorbik asid oksidaz etkisine bağlı olabilir. Vitamin C düzeyindeki azalmada oral kontraseptif östrojenik komponenti sorumludur. Oral kontraseptifler ovulasyon zamanında olması gereken plasma askorbik asid düzeyindeki kesin artışı önleyerek total vitamin düzeyini etkiler (27,42,43,44,45,).

f)Alkol: Alkolik olgularda vitamin C düzeyi düşük olup bunun nedeni yetersiz vitamin alımı olabilir (19).

g)Sigara: Sigara askorbik asid rezervlerini azaltmaktadır (46,47,48,49).

h)Dietle alınan bazı maddeler ve ilaçlar interferans yaparak vitamin düzeylerini bir miktar yükseltebilirler. Bunların başlıcaları\$ ürik asid, kreatinin, sistein, glutatyon, glukoz, fruktoz, laktoz, üre, pirüvik asid, sitrik asid, glioksilik asid, nükleoproteinler, homogentizik asid, glukuronatlar, ergotiyonin, salisilatlar, (asetil salisilik asid, amino salisilik asid-PAS) kortikosteroidler, indomethacin, izoniasid, cephaloridine, cephalothin, chloralhydrate, cinchophen'dir(50,51).

III. KOLİNESTERAZ

100 yıl önce keşfedilmesine rağmen asetil kolinin hayvan dokularında yaygın olarak bulunduğu ve sinir sisteminin fonksiyonunda önemli olduğu 1920'lerde anlaşılmıştır. Daha sonra asetilkolin inaktivasyonunun bir enzim tarafından yapıldığı ve bu enzimin bir esteraz olduğunun anlaşılmasından sonra bu enzime kolinesteraz adı verildi. Daha ileri çalışmalarda asetilkolinin hidroliz yeteneğine sahip birbirine yapısal yakınlığı bulunan ,asetikolin esteraz ve açıl kolin esteraz olmak üzere iki önemli enzim tesbit edilmiştir.

Asetilkolin esterazın (gerçek kolinesteraz=kolinesteraz; sistematik adı EC 3.1.1.7;asetilkolin asetil hidrolazdır.Eritrosit akciğerler, dalak, sinir uçları ve beyinin gri cevherinde bulunur. Sinirsel impulsların sinapsa iletilmesinde aracı rolü oynayan asetilkolinin parçalanması özellikle sinir depolarizasyonu için gereklidir. Sinir uçlarındaki veziküllerin herbirinde asetilkolin kapsayan paketçikler bulunur. Bu paketçiklerden asetilkolin salgılanması ortamdaki kalsiyum miktarı ile doğru ,

magnezyum miktarı ile ters orantılı olarak değişmektedir. İmpulsun akson ucuna ulaşması ve terminal plak bölgesinin depolarize olması sonunda veziküllerden granüller halinde salgılanan asetilkolin, spesifik reseptörü ile birleşerek asetilkolin-reseptör komplekslerini oluşturur. Böylece eksitasyon iletişi meydana gelir (52,53,54). Reseptörlere bağlanan asetilkolinin 1 milisaniye içinde reseptörden ayrılarak sinaptik boşlukta asetat ve kolini oluşturur. Repolarizasyon ve depolarizasyon devam ederken asetilkolin sinirsel impulsların sinaptik iletimi sağlamış olur (52,55,56,57).

Açilkolin açilhidrolaz (Psödokolinesteraz=kolinesteraz II=benzoil kolinesteraz): Sistematik ismi EC.3.1.1.8; Açilkolin açil hidrolazdır. Karaciğer, pankreas, kalp, beyin beyaz cevheri ve serumda bulunur. Biyolojik rolü henüz bilinmemekle beraber karaciğerde sentezlenmekte olup lipoprotein metabolizması üzerine etkisi önemlidir (58,59).

Bu enzimlerin bazı substratlara karşı etkinliği aynı olduğu halde bazı substratlara karşı farklıdır. Her iki enzimin karşılaştırılması Tablo II'de gösterilmiştir.

Her iki enzim prostigmin (neostigmin) ve fizostigmin (eserin) gibi antikolin esterazlar tarafından inhibe edilir. Bu bileşikler tipik kompetitif inhibitörlerdir. Bunlar enzim düzeyindeki bağlanma bölgesi için kolinesterazın kolin kalıntısı ile yarışa girerler ve bu yarışa kazanırlar. Sonuçta kısa süreli reverzibl olarak asetilkolin hidrolizini önler.

Asetilkolinesteraz ve psödokolinesteraz enzimleri kimya sanayisinde ve tarımsal alanda kullanılan diizopropilflorafosfat (DFP) ve tetraetilprofosfat(TEPP) gibi bazı organik fosfor bileşikler tarafından irreverzibl olarak inhibe edilirler. Bu tür zehirlenmelerde kolinesteraz enzim düzeyi tayini spesifik bir bulgu olarak büyük öneme sahiptir (55,60,61,62). Kolinesteraz enzimleri morfin, kinin, tersiyer aminler, fenotiyazinler, pirofosfatlar, safra tuzları, sitrat, florit ve boratlar gibi çok çeşitli diğer bileşikler tarafından inhibe edilirler.

Asetilkolinesteraz'ın eritrosit ile trombositlerdeki miktarları arasında ters bir ilişki vardır. Eritrositlerde yüksek oranda asetilkolinesteraz bulunduğu zaman trombositlerde çok düşük seviyede olduğu bulunmuştur.

Tablo 2. Asetilkolinesteraz ve Psödokolinesteraz enzimleri arasındaki bazı karakteristik farklar (52,55,56,57,60,63, 64,65,66).

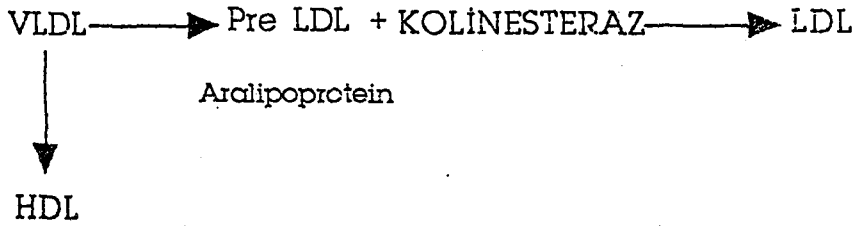
	EACHE	PCHE
Optimum pH	7,8- 8,0	8,8
Substrat fazlasının inhibisyonu	Olur	Olmaz
Tribütirin'i hidrolize	Etmez	Eder
Asetil β metilkolin'i hidrolize	Eder	Etmez

Benzoilkolin'i hidrolize	Etmez	Eder
Bütirikolin'i hidrolize etme oranı	%10	%200
Eserin ile inhibe olma derecesi	+++	++++
Kir'din ile inhibe olma derecesi	+	++++
DFP ile inhibe olma derecesi	++	++++
Normal erkek ve kadınlarda ki düzeylerin değişkenliği	çok azdır	çok değiş kendir
Organizmada bulunduğu yerler	eritrosit, sinir uçları v.b.	plazma, karaciğerde
Rejenarasyon kabiliyeti	Günde %1	7,10 günde %25
kolin esterlerini	parçalanır	parçalanmaz
Organik fosfor zehirlenmeleri	Sonrasında azalır	Öncesinde düşer
Asetilkolin'i hidrolize etme	Hızlıdır	Yavaşdır.

Obezite ve kolinesteraz

Şişmanlıkta özellikle lipoprotein metabolizmasının etkilendiği ve bu etkilenenin kolinesteraz enzimi ile ilişkili olabileceği kaydedilmiştir (6,8,67).

LDL'nin psödokolinesteraz enzimi varlığında VLDL'den oluştuğu ve bu dönüşüm sırasında da anstabil bir lipoprotein meydana geldiğine inanılmaktadır. Kutty ve Rowdent'in ileri sürdüğü hipoteze göre VLDL'nin meydana gelmesi ile kolinesteraz aktivitesinde artma, daha sonra VLDL' den LDL'nin oluşumu ve kolinesteraz aktivitesinde azalma meydana getirmektedir (68).



Psödokolinesteraz enziminin lipoprotein molekülüne tutunma yeri, lesitin fosforilkolin tarafında olduğu gösterilmiştir (69,70). Fosforilkolin ile asetilkolin arasında yapısal bir benzerlik mevcuttur.

Obez ve hipertrigliseridemik kişilerde psödokolinesteraz enzim aktivitesi artmıştır. Vakaların çoğu orta derecelerde hipertrigliseridemik olup genellikle şişmanlık ve hiperinsülinemi ile beraberdir. Psödokolinesteraz aktivitesinin artması VLDL seviyesinin artmasına bağlıdır. VLDL'nin yapımı ise karaciğerde trigliserid ve

apopeptidlerin sentez hızı ile regüle edilir (8,71,).

Serum kolinesteraz aktivitesinin iki önemli havuzu vardır. Biri serbest kolinesteraz diğeri b-lipoproteine bağlı kolinesterazdır. Hiperlipemik hastalarda

LDL'ye bağlı kolinesteraz ve total kolinesteraz aktivitelerinde belirgin bir artış vardır (6). Kolinesterazın eritrosit membranındaki lipoproteinler üzerine etkisi ile membran stabilitesinin arttığı düşünülmektedir. Eritrositlerin artmış fragilitesi muhtemelen membrandaki lipoproteinlerin instabilitesine bağlıdır.

Kutty ve Hwung'ın yaptığı çalışmada genetik olarak diabetik olan fareler 24 saat aç bırakıldıklarında karaciğerlerinde PCHE 'in aktivitelerinde%40 lık bir azalma oldu. Bu gözlem, PCHE'in karaciğerde indüksiyonu ve yağ dokusunda baskılanmasının şişmanlarda yüksek kalori alımına bağlı olduğunu gösterir (72)

Kolinesteraz enziminin klinik önemi

Asetilkolinesteraz motor sinirlerin repolarizasyonu ve depolarizasyonundan sorumludur. Asetilkolinesterazın plazma ve eritrosit içi aktivitesine ait tayinler klinik açıdan büyük önem taşır (52,54, 55,56,65,73,74,75).

Plazma kolinesteraz enzimi karaciğerde sentezlenmekte olup koroner kalp hastalığı için önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Lipit ve lipoprotein metabolizması üzerine etkili olması ve lipoprotein yapısında bulunmasının klinik açıdan büyük önemi vardır (63,76, 77,78,79,80,81).

Eritrosit içinde ve membranında bir çok enzim bulunmakta olup eritrositler yaşlandıkça tüm enzim aktivitelerinde bir azalma görülmektedir. Asetilkolinesteraz eritrosit yüzeyinde veya yüzeğe yakın bir yerde lokalize olup bir çok hemolitik bozuklukları ve bazı temel hastalıkların araştırılmasında oldukça önemlidir (41, 53,54,57,63,65,).

Plazma ve eritrosit içi kolinesteraz enziminin fizyolojik ve patolojik olarak arttığı ve azaldığı durumlar aşağıda gösterilmiştir.

Asetilkolinesteraz enzim aktivitesinin yükseldiği durumlar

A.Fizyolojik yükselmeler (52,53,54,60,82,83)

-Eritropoezin normalde arttığı durumlarda(deniz seviyesinden yüksek yerlerde yaşayan kişilerde)

-Kan verme sonrasında

-Egzersiz sonrasında

B.Patolojik yükselmeler (52,53,54,82)

-Posthemorajik durumlar

-Pernisyöz aneminin ilk döneminde

- Orak hücre anemisinde
- Hipokrom normositer anemide
- Konjenital kalp hastalıklarında
- Anokside
- Testosteron alımında
- Hipokside
- Köpeklerde filebotomi sonrası
- Kancalı kurt ile infekte olmuş köpeklerde

Asetilkolinesteraz enziminin azaldığı durumlar

A.Fizyolojik azalmalar (52,53,54,55,56,60,82, 83,84)

- Eritropoezin normalde azaldığı durumlarda(senilite-yaşlılık)
- Yenidoğanda

B.Patolojik azalmalar(52,61,66,73,85,86,87,88,89)

- Organofosfat zehirlenmelerinde
- Carbamate zehirlenmelerinde
- Paroksimal nokturnal hemoglobinüri
- Megaloblastik anemide
- Eritrolösemide
- Akut lösemide
- Otoimmün hemolitik anemide
- ABO uyuşmazlığı olan bebeklerde
- Familyay enzim eksikliği olan bebeklerde
- Prematürelerde
- Eksperimental müsküler distrofide
- Duodenal ülserlilerde
- Yenidoğmuş düşük ağırlıklı bebeklerde

Psödokolinesteraz enziminin plazmada yükseldiği durumlar

A.Fizyolojik yükselmeler (84,90)

- Okul öncesi çocukluk çağıında
- Egzersiz sonrası

B-Patolojik yükselmeler (55,63,64,78, 81,91,92,93, 94)

- Tip IV hiperlipoproteinemili hastalarda
- Tip V hiperlipoproteinemili hastalarda
- Tip IIa hiperlipoproteinemili hastalarda
- TipIIb hiperlipoproteinemili hastalarda

- Nefrotik sendromda
- Obezitide
- Konjenital kalp hastalıklarında
- Diabetes mellitusda
- Hipertroidizmde
- Psöriasisde
- Nodüler guatrda
- Hiperlipidemilerde
- Kalp yetmezliği olmayan aterosklerotik hastalarda
- Hemakromatoziste
- Psikiyatrik hastalar,anksiyetede

Psödokolinesteraz enziminin plazmada azaldığı durumlar;

a.Fizyolojik azalmalar (56,84,92).

-Doğumda ve yaşamın ilk 6 ayında

b.Patolojik azalmalar (61,63,64,66,86,88,89,93,95).

- Organofosfat zehirlenmelerinde
- Karbamate zehirlenmesinde
- Süksinildikoline duyarlı kişilerde
- Akut ve kronik hepatitte
- Sirozda
- Karaciğer kanserlerinde
- Hepatik metastazlarda
- Kalp yetmezliğinde
- Hepatik amebiasiste
- Malnütrisyonunda
- Anemide
- Akut infeksiyonlarda
- Plazmaforeziste
- Gecikmiş gebeliklerde
- Hipoalbuminemide
- Hiperpireksiste
- Katatonide
- Kleostatik sendromda
- Dermatomyosiste
- Hipotroidizmde

IV.ERİTROSİT BİYOKİMYASI

İlk defa 1703'te Leeven Hoek eritrositleri incelemiş ve kanın renginin bunlardan geldiğini bulmuştur. İlk kan sayımı ise 1852-1854 yılında Vierot ve Welcker adlı araştırmacılar tarafından yapılmıştır(54,96,97). Kanın sayıca en fazla şekilli elemanları olan eritrositler disk biçiminde ve her iki tarafı çukur bir yapıya sahiptirler. Bu yapı küçük hacimde olmasına karşılık geniş yüzey sağlar. CO₂ ve O₂ taşımada küçük damarları geçmedeki fonksiyonuna uygundur. Eritrositler ortalama ömrü 120 gün olup sağlıklı kişilerde 1 mm³ kanda erkeklerde 5.400.000 kadınlarda 4.800.000 eritrosit vardır (52,53,98).

Eritrositler %61 su, %10 hemoglobin, %4 karbonhidrat, elektrolit (özellikle K), enzim, protein ve metabolitlerden meydana gelmiştir (86). Semipermeabl olan eritrosit membranı protein, lipid, karbonhidrat taşıyan karmaşık bir yapı gösterir. Hemoglobinden (Hb) arındırıldıktan sonra eritrosit kuru ağırlığının %50 kadarı protein, %40 kadarı lipid ve %10 kadarı karbonhidrattır. Kontraktil proteinlerin Ca⁺⁺ ile aktive olan ATP ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (41,52). Eritrosit lipidleri %60 fosfolipit, %25 kolesterol, %15 glikolipittir. Eritrositler zar fosfolipitlerini sentezleyemediğinden dolayı plazma fosfolipitlerinden yararlanır. Kolesterol ise zar ile plazma arasında serbest ve hızlı olarak değişebilmektedir. Karbonhidratlar zarın dış yüzünde bulunur.

Eritrositlerde nükleus ve mitokondri gibi organellerin olmaması nedeniyle aerobik glikoliz ve oksidatif fosforilasyon reaksiyonları oluşamaz. Bu hücreler ihtiyaçları olan enerjiyi anaerobik glikoliz ve pentoz-fosfat yoluyla sağlayabilirler (99,100).

Anaerobik glikoliz eritrositlerde çok aktif bir metabolik yoldur. Eritrosit içine giren glikozun %80-90'ı anaerobik reaksiyonlarla laktik aside dönüşmektedir. Anaerobik glikoliz sonunda az miktarda ATP sentezlenmekte ise de bu eritrosit için yeterli olmaktadır. ATP membranın hayatiyeti için şart olup ATP sayesinde Na dışarı atılırken yüksek K düzeyi korunmuş olur (101). Pentoz fosfat yolunda glikozun tam ve direkt oksidasyonu yapılarak glikozun %10-20'si kullanılır. Bu yolda ana amaç ATP sentezlemekten sonra NADPH ve pentoz fosfatların üretimidir. Eritrositlerde bu yolla teşekkül eden NADPH eritrosit zarı ve enzimlerinin oksidasyona karşı korunmasında oldukça önemlidir. Eritrosit enerjisi, membran kation geçişi ve hücrede oksidasyon-redüksiyon homeostazis'inin düzenlenmesi gibi iki önemli fonksiyonda tüketilir. Anaerobik glikoliz sırasında oluşan ATP, Na-K pompası ile Na ve K geçişini düzenleyerek eritrositlerin şekillerinin korunmasında

rol oynamakta olup ATP azalması sonucu hücrenin esnekliği kaybolur ve sertleşir (53,98,101).

Eritrositlerde glikolitik yolda oluşan önemli bir metabolik ara ürün 2-3 difosfogliserat (2,3-DPG) Hb'e bağlanarak Hb'nin O₂'e olan affinitesi azaltır. Böylece O₂'nin Hb'den ayrılarak dokulara salınmasında etkili olur. ATP ihtiyacı minimal olduğunda glikoliz bu yola kaymaktadır . Eritrositlerde ribozom olmadığından protein sentezi ve intrasellüler tamir ve yenilenme başarısızdır. Yaşlı eritrositlerde enzim aktivitesi azaldığından dolayı glikoliz iyi işleyemez. Sonuçta eritrositler canlılıklarını koruyamadıklarından dolaşımdan uzaklaştırılır.

Mekanik zedelenmeler, donma, çözülme, ısı ve kimyasal maddeler hemoliz oluşturur. Eritrositleri eritme yeteneğine sahip diğer maddeler ise safra tuzları, saponin, bazı deterjanlar, lipid eriticileri, bazı yılan zehirleri, bakteri toksinleri ve sudur.

V. LÖKOSİT BİYOKİMYASI

Lökositler (beyaz kan hücreleri), immün cevabın oluşmasını sağlayan heterojen hücreler topluluğudur. Lökositler öncelikle kanda, kemik iliğinde ve lenfoid organlarda (dalak, timus, tonsiller ve lenf bezlerinde) bulunmasına ilaveten epiteliumda ve başka yerlerde de bulunurlar. Lökositlerin sınıflandırılması; nükleus çapı ve şekli, ve sitoplazmanın histokimyasal boyanma özellikleri esas alınarak morfolojik kriterlere göre yapılır. Bu özellikler sonucunda granulosit, lenfosit ve monosit olarak üç büyük hücre grubu ayırdedilebilir.

Granulositler (10-15µm çapındadır), multilobüler (çok loblu) nükleusları ve sitoplazmalarında bol granüller bulundurmaları nedeniyle polimorf nüveli lökosit olarak ta isimlendirilirler. Granulositlerin üç alt tipi vardır; nötrofiller, basofiller ve eozinofiller.

Lenfositler ve mononükleer fagositler (fagositöz yapan hücreler) immün cevapta merkezi bir rol oynarlar. Bu hücreler bakteriyel ve viral hastalık etkenlerine karşı hem doğuştan hemde sonradan kazanılan bağışıklık gelişmesini sağlarlar. Hücresel immünite sağlamalarına ilaveten birçok vücut dokularının gelişme ve çoğalmaları için gerekli olan çok çeşitli proteinler salgılayan kaynaklardır. Mikrobiyal patojenlere karşı koruyucu rollerinde ötesinde bu hücreler bazı otoimmün hastalıklar sırasında normal vücut hücrelerini etkileme gibi istenmeyen etkilerde sahiptirler.

Nötrofil granüllerinde çeşitli enzimler (asid fosfataz, elastaz, lizozim, a ve b-galaktosidaz vb.) yer almakta olup bunların çoğu antibakteriyel özelliktedir ve

fagositozda rol oynarlar. Granülosit matürasyonu devrelerinde enzim çalışmaları ile myeloperoksidaz, asid hidrolazlar, nötral proteazlar, nonspesifik kollagenaz enzimleri ve bakterisid katyonik proteinler PMN'lerin erken gelişim safhalarında

teşekkül ettiği buna karşılık lyozim, spesifik bir kollagenaz, vitamin B₁₂ bağlayan proteinler ve laktoferrin'in (granülosit gelişimlerinin spesifik granüllerin gelişimi ile ilgili olan) geç devrelerinde ortaya çıktığı gösterilmiştir. Tavşan granülositlerinde bulunan alkali fosfataz insan nötrofil granüllerinde bulunmaz (102).

Lökosit granüllerindeki katyonik proteinler pirojeniktir, ateşe neden olurlar. Fibrinolitik (fibrini eriten) etki gösterebilmekte ve doku hasarına sebep olabilmektedir. Fagositoz yapan insan nötrofilleri kendi enzimlerini inaktive edebilir.

Polimorf nüveli lökositler tarafından bakterilerin oksidatif öldürülmesi, lizozomal plazma membranı ve sitosol enzimlerinin karşılıklı etkileşimlerini kapsayan kompleks bir işlemdir. Plazma membranına bağlı bir NADPH oksidaz, solubulize edilmiş ve özellikleri belirlenmiştir. Bu enzim superoksit O₂⁻ ve hidroksil (OH) radikalini üretilmesini katalizler; bu çeşitli partiküler maddelere veya solubl stimuluslara maruz kalan nötrofiller tarafından ortaya çıkarılan solunum patlamasında anahtar bir olaydır. Enzim sistemi, fizyolojik bir elektron vericisi olarak NADPH'ı tercih eder.

Tahmin edildiği gibi normal matür granülositlerin ve kemik iliği immatür lökositlerinin DNA miktarı eşittir. Lökositler aminoasitleri kolayca içlerine alır ve konsantre ederler. Bu nedenle granülositler plazma ve eritrositlerde bulunan miktardan çok daha fazla amino asid kapsar. Myeloid blast hücreler, çok az yada ölçülemeyecek seviyelerde glikojen kapsar. Glikojen myeloid devrede ortaya çıkar ve diferensiyasyon ilerledikçe seviyesi artar. Kötü kontrol altındaki diabetlilerde granülosit glikojeni azalır.

Tavşan ve insan granülositlerindeki lipid tipleri ve kalitelerine dair yeterli bilgi mevcuttur. İnsan granülositlerinin ıslak ağırlığının yaklaşık %5'i lipittir. Total lipidlerin yaklaşık %35'i fosfolipit iken 1/3'ünü trigliserit (%20) ve serbest kolesterol (%10) oluşturur. Total lipid kapsamının 1/6'sını glikolipitler oluşturmakta olup bu bileşik genellikle ceramid dihexoside (lactosyl ceramide) haldedir. Fosfolipitlerin 2/3'ü fosfatidil kolin ve fosfatidiletanolamin, %15'i sfingomyelin ve %15'i fosfatidil inositoldür.

Lökositlerde, pankreatik dokuya göre daha yüksek seviyede çinko vardır. Lökositlerden, %0,3 çinko kapsayan ve fonksiyonu bilinmeyen bir protein de elde

edilmiştir. Nötrofil alkali fosfataz da çinko kapsar fakat bu enzim seviyesi lökosit çinko seviyesinden farklıdır. Kronik anemili, akut ve kronik lösemili hastaların lökosit çinko seviyeleri düşüktür fakat polisitemiaveralılarda normal seviyelerdedir.

Lökositlerin trombosit ve eritrositlerden ayrılarak saf halde elde edilebilmesi sonucu bu hücrelerin biyokimyasal özelliklerini incelemek mümkün olmuştur. İlk zamanlar kandan polimorf nüveli lökositleri ayırmak için cam- bilya kolonları kullanılmış fakat bu metod granulositlerden lenfosit ve monositlerin ayrılması için dansite gradient teknikleri ile yer değiştirmiştir. Polimorf nüveli nötrofillerden eosinofilleri ayırdetmek içinde metodlar vardır. Saf granulosit prekürsör popülasyonları henüz elde edilememiştir. Kemik iliği veya kandaki oluşan granulosit bileşimi ile ilgili bilgi; her hücre tipini belirleyen histokimyasal, ultrastrüktürel ve radiografik çalışmalardan elde edilmiştir.

Lökositlerin vitamin C seviyelerinin ölçülmesi, doku C vitamini seviyesini tahmin ettiren çok güvenilir bir ölçümdür. Skorbüt'lü hastalarda düşük seviyelerdedir. Lökositlerin askorbik asid seviyesinin önemi bilinmektedir. Fakat skorbüt'lü hayvanlardan alınan lökositlerde frajilite artması ve fagositozun bozulduğu tesbit edilmiştir. İnsan lökositleri, dehidroaskorbatı yakalar ve hızla askorbik aside indirger. Dehidroaskorbat'ın redüksiyonu sonucunda heksoz monofosfat şanti aktive olur.

Plazma konsantrasyonlarıyla karşılaştırılınca mononükleer lökositler 80 kat, trombositler 40 kat granülositler 25 kat vitamin C'yi konsantre etme kabiliyetindedir. Eritrositlerin nisbi sayıları ve plazma fraksiyonundan dolayı kandan gelen AA'e bağlı olduğu düşünülebilir. AA yüklenince bu hücrelerin AA ihtivasi anlamlı olarak artar(103)

LA seviyeleri yaşla azalmakta ve yaşlı erkeklerde yaşlı kadınlara göre daha düşük bulunmaktadır. En yüksek miktarı mononükleer hücrelerde bulunur. Mononükleer hücrelerde hücre içi askorbik asid granülositlere göre iki-üç kat, trombositlere göre iki kat daha yüksektir. Bu nedenle lökosit askorbat konsantrasyonlarında tutarsızlık buffy coat (en üst tabakadaki) granülositlerin nisbi oranları ve trombositlerin lökositlere oranlarındaki varyasyonlardan dolayı kişi ve toplumlardaki vitamin C durumunu tayin etmekte kullanılan buffy coat örneklerinde gözlenir. Buna rağmen vitamin C alımının lökosit hücre fraksiyonlarını nasıl değiştirdiğine dair çok az bilgi vardır(15)

Lösemili insan lökositleri indirgenmiş AA'i hücre içine taşıyamazlar, aksine DHA'i taşıyabilirler. Bu taşınmanın hücre membranında glukoz taşıyıcıları

tarafından yapıldığı gösterilmiştir. Bunun sonucunda lösemili lökositler içinde indirgenmiş AA formu birikir(104). Fizyolojik konsantrasyonlarda vitamin C

verilirse nötrofil içi konsantrasyonları 14 mM'a kadar yükselir. Bunun mekanizması dışardan alınan vitaminin DHA'e oksidasyonudur. Dakikalar içinde AA indirgenir(105).

Lökositlerde enerji metabolizması

Granülositlerin enerji mekanizması büyük ilgi çekmektedir. Çünkü fagositoz ve glikolizde meydana gelen anormallikler lösemilerde anahtar bir rol oynar (Warburg teori). Granülositlerin ana enerji üretim mekanizması; glikozun laktatı çevrilmesiyle sonlanan glikolizdir. Hem normal hem de lösemik hücrelerde glikoliz hızını sınırlayan enzim hekzokinazdır. İnsan lökositlerinde bulunan cAMP, lökosit glikojen fosforilazı aktive eder.

Granülositlerde az sayıda mitokondri de bulunur. Bu yüzden trikarboksilik asid siklusu ve oksidatif fosforilasyonda gözlenmektedir. Granülositlerin enerji üretiminde bu yollar minor bir role sahiptir. Lökositlerde glikojen glikozdan elde edilir. Küçük seviyelerde glikojen trioz fosfat substratlarından sentezlenir. Galaktoz, mannoz ve fruktoz lökositler tarafından metabolize edilebilir. Lökositler glikozdan yoksun bırakılırsa glikojen kapsamları azalır fakat yeterli miktarda glikoz yeniden eklenirse tekrar sentezlenir. Diabetli hastalarda glikojen sentezi ve glikoliz azalmıştır.

MATERYAL VE METOD

Vaka seçimi

Çalışma Konya ve çevresinde yaşayan yaşları 21- 68 arasında değişen (ortalama $40 \pm 11,47$) BMI'i 18-24 olan 22 (12 kadın 10 erkek), BMI'i 25-30 arası 20 (7 kadın 13 erkek), BMI'i 31-42 arası 34 (25 kadın 9 erkek) kişi olmak üzere toplam 76 kişi üzerinde gerçekleştirildi.

Kan alınması ve analiz öncesi işlemler

Çalışmaya alınan kişilerden ön bilgi formuna uygun ayrıntılı anamnez alınmasını takiben, 10-14 saatlik açlığı takiben sabah saat 8⁰⁰-10⁰⁰ arası, uygun şartlarda, 20 ml kadar venöz kan alındı. Bunun 10 ml. si içinde 20 mg EDTA bulunan tüpe alınıp eritrosit paketi ve lökosit süspansiyonu elde etmek için kullanıldı. Lökosit süspansiyonu askorbik asid ve dehidroaskorbik asid analizleri için kullanılırken eritrosit paketi eritrosit içi kolinesteraz tayininde kullanıldı. 2 ml.si sitratlı tüplere alınıp tam kan analizi için ayrıldı. Geri kalan 8 ml kan pıhtılaştıktan sonra 3000 devir/dak'da 10 dakika santrifüj edilerek serum elde edildi. Serum örneklerinde askorbat, dehidroaskorbat, kolinesteraz, glukoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol analizleri çalışıldı. Askorbik asid ve dehidroaskorbik asid analizleri ayrılan taze serum ve lökosit süspansiyonları kullanılarak aynı gün yapıldı. Serum kolinesteraz ve eritrosit içi kolinesteraz tayini yapılacak numuneler - 20 °C'de bekletilerek 1 hafta içinde çalışıldı.

Ağırlık (Kg)

Body Mass Index(BMI) =-----

Boy² (m)

Kullanılan cihazlar

- 1-Spektrofotometre:Quick-lab.2 chemistry analyzer (AMES)
- 2-Otoanalizör: Technicon RA-XT(A.B.D)
- 3- Terazî: Bosch-S-2000, Hassas terazî, D-7455.(Almanya)
- 4- Hettich Universal 30 RF, Soğutmalı santrifüj (Almanya)
- 5- Derin dondurucu: Esersan (Türkiye)
- 6- Hemocounter: Contraves haemocell 3 MKAF 0028 (Hb.ve eritrosit için)
Contraves digicell BM-KAC 004H (Lökosit için)
- 7- Termostatlı su banyosu: Nüve marka (Türkiye)
- 8- Mikroskop:Olympus,Seri no: 640978 (Japonya)

Kullanılan kimyasal maddeler ve reaktifler

- 1-Eritrosit paketini hazırlamada kullanılanlar

-EDTA (2mg/ml)

-% 0,9'luk izotonik sodyum klorür solüsyonu (Haver)

2-Eritrosit içi kolinesteraz tayini için kullanılanlar

-Quinidine sülfate salt (Q-0875.Sigma marka, ABD)

-Saponin (S-1252.Sigma marka,ABD)

-Di-Natriumhydrogenphosphat Dihydrat reinst (Art 6576.Na₂HPO₄.6H₂O.Merck marka,Almanya)

-Kaliumhydrogenphosphat kris.reinst (Art 4871. KH₂PO₄. Merck marka,Almanya)

-Kolinesteraz (Ciba Corning Diagnostics,Fransa)

3-Lökosit süspansiyonu için kullanılanlar

-Macrodex (Dekstran 70'in %6'lık %0,9 NaCl deki çözeltisi),Eczacıbaşı

-%0,9'luk izotonik sodyum klorür solüsyonu (Haver)

-Kaliumchlorid (KCl,54453,ALMANYA)

4-Serum ve lökosit Total askorbik asid asid tayini için kullanılanlar

-2-4 Dinitrophenilhydrazine crystalline (Sigma C₆H₆N₄O₄, Merck)

-Thiourea (Sigma T 7378 H₂NCSNH₂,Merck)

-Charcoal (Sigma C4386)

-Sülfirik asid H₂SO₄

-CuSO₄ Kupfer (11)-Sulfat 5-hydrat krist.reist (CuSO₄.5H₂O,Merck)

-L(+) Askorbik asid (C₆H₈O₆,Merck 216 F 561127)

-Trichloroecetique crist. (CCl₃COOH, Merck)

5-Serum ve lökosit askorbik asid tayini için kullanılanlar

-Fosfotungustik asid

-L(+) Askorbik asid(C₆H₈O₆,Merck 216 F 561127)

-%0,5 Oxalic asid

6-Rutin biyokimya tetkikleri için kullanılan kitler

-Glukoz.....Biotrol,Fransa

-Total kolesterol.....Trace,Australia

-HDL-kolesterol.....Pointe,Fransa

-LDL-kolesterol.....Biotrol,Fransa

-Trigliserid.....Trace,Australia

Kullanılan çözeltiler

1-Kolinesteraz tayini için kullanılanlar

-Quinidine sülfat solüsyonu: 0,194 gr tartılıp 100 ml distile suda eritildi (65)

-Saponin solüsyonu: 10 mg saponin tartılıp 100 ml. sodyum-potasyum fosfat

tamponunda (pH=8,0;0,1 mol/L eritildi (65).

-Sodyum-potasyum fosfat tamponu (pH=7,0;0,1 mol/L) 1,36 gr KH_2PO_4 ve 1,77 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, ayrı ayrı 100 ml distile suda eritildi.

KH_2PO_4 solüsyonundan 40 ml, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ solüsyonundan da 60 ml alınarak karıştırıldı, böylece pH=7,0, konsantrasyonu 0,1 mol/L olan fosfat tamponu elde edildi.

-Sodyum-potasyum fosfat tamponu (pH=8,0;0,1 mol/L). 1,36 gr KH_2PO_4 ve 1,77 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartıldı, ayrı ayrı 100 ml distile suda eritildi. 5 ml KH_2PO_4 solüsyonundan, 95 ml $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ solüsyonundan alınarak karıştırıldı, böylece pH=8,0 konsantrasyonu 0,1 mol/L olan fosfat tamponu elde edildi.

-Eritrosit içi çalışma solüsyonu

2-Lökosit süspansiyonu için kullanılanlar

-KCl çözeltisi (0,6 M):44,73 gr KCl tartılıp bir miktar distile suda çözüldü ve son hacmi 1 litreye tamamlandı.

-Lökosit miyarı:1 litre distile suya 20 ml asetik asid ve 5-6 damla metilen mavisi eklenerek hazırlandı.

-Soğuk distile su

3-Serum total askorbik asid tayini için kullanılanlar

-TCA çözeltisi (%6): 6 gr TCA tartılıp bir miktar distile suda çözüldü ve son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

-TCA çözeltisi (%4): 4 gr TCA tartılıp bir miktar distile suda çözüldü ve son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

-2,4 DNFH çözeltisi: 2 gr DNFH 100 ml H_2SO_4 de çözüldü (1 kısım H_2SO_4 , 3 kısım distile su), 4 gr tioüre eklendi.

- H_2SO_4 çözeltisi: 10 ml distile suya 90 ml H_2SO_4 eklendi.

-Askorbik asid solüsyonu: 50 mg askorbik asid 100 ml %4 lük TCA da eritildi, çalışma standartı için stok standartın 2 ml. si üzerine %4 TCA eklenerek 100 ml ye tamamlandı.

4-Lökosit total askorbik asid tayini için kullanılanlar

-TCA çözeltisi (%5): 5 gr TCA tartılıp bir miktar distile suda çözüldü ve son hacmi 100 ml ye tamamlandı.

-Renk reaktifi:

a) 2,4 DNFH: 2,2 gr DNFH tartılıp, 100 ml H_2SO_4 (10 mol/L) içinde çözüldü.

b)Tioüre: 5 gr tioüre tartılıp, 100 ml. distile suda eritildi.

c) $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$: 0,6 gr CuSO_4 tartılıp, 100 ml distile suda eritildi.

a/b/c=10/0,5/0,5 ml oranında karıştırıldı.

- H_2SO_4 çözeltisi: 65 ml konsantre H_2SO_4 , 35 ml distile suya eklenir.

5-Serum ve lökosit askorbik asid tayini için kullanılanlar

-Renk reaktifi:(Fosfotungustik asid)

A Karışımı: 20 gr $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ve 10 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ alınıp 30 ml distile su ilave edildi, ısıtılarak eritildi.

B Karışımı: 15 ml distile suya 5 ml H_2SO_4 (Spec. gravity 1.84) eklendi.

B Karışımı yavaş yavaş sıcak A karışımına eklenip 2 saat geri soğutucuda kaynatılır.

-Standart solüsyonları:

Stok standart: 50 mg L-Askorbik asid (Sigma chemical Co) 100 ml %0,5 oxalic solüsyonunda eritilir.

Çalışma standartı: Stok standartlar %0,5 oxalic asid solüsyonu ile 50 kez dilüe edilerek %1 mg lık çalışma standartı elde edilir.

PMNL süspansiyonunun hazırlanması

Bu işlem temel olarak dekstran sedimantasyonu ve kontamine eritrositlerin parçalanması olmak üzere iki aşamada gerçekleştirildi. İlk aşamada 20 ml, lik enjektöre 20 mg EDTA içeren yaklaşık 10 ml taze venöz kan çekildi. Üzerine alınan kanın yarısı kadar (5 ml) dekstran 70 solüsyonu eklenip alt üst edildi. Enjektör dik pozisyonda, oda ısısında 60 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda iğnenin ucu eğilerek lökositleri içeren üst faz başka bir plastik tüpe aktarıldı; alt faz ise eritrosit paketinin hazırlanması için başka bir cam tüpe aktarıldı.

Plastik tüpe alınan üst faz 1000 devirde, 4 °C' de 12 dakika santrifüj edilerek lökosit pelleti elde edildi. İkinci aşamada kontamine eritrositleri parçalamak için ozmotik şok yapıldı. Bu amaçla lökosit pelleti üzerine dikkatli bir şekilde 3 ml soğuk distile su eklenip karıştırılarak süspansiyon haline getirildi. 30 saniye sonra 1 ml soğuk 0,6 M'lık KCL eklendi. 4°C'de 4 dakika santrifüj edilerek lökosit pelleti elde edilir. Süpernatant atılıp, lökosit pelleti üzerine tekrar distile su, KCl eklenerek ozmotik şok tekrarlanır. Tekrar 4°C'de 1000 devirde 4 dakika santrifüj edildi. Lökosit pelleti üzerine 1 ml serum fizyolojik eklenip süspansiyon haline getirildi. Bu süspansiyondan lökosit sayımı yapılır. Bu işlemler sonunda elde edilen lökosit süspansiyonundaki hücrelerin %90'ının PMNL olduğu kabul edildi. (107,108,109,110). Nötrofiller fragil hücreler olduklarından işlemler nazik bir şekilde yapıldı. malzemenin çok temiz olmasına özen gösterildi ve plastik malzeme

kullanıldı.

Askorbik asid ve dehidroaskorbik asid tayini için hazırlanan süspansiyondan 500'er mikrolitre alınıp aynı gün çalışıldı. Özellikle pikomolar düzeyde vitamin C ölçümleri için güvenilir yöntem HPLC yöntemidir. Bu imkanımız olmadığından vitamin C ölçümlerimizi mikrogram düzeyinde gerçekleştirebildik.

Lökosit total askorbik asid tayini

Prensip: EDTA ve dekstran içeren bir ortamda dekstran etkisi ile eritrositlerin rulo oluşturup, süratle çökmesi sonucu süspansiyondan elde edilen lökosit pelletinin triklorasetik asitle çözülmesi ve hafif redükleyici bir ajan olan thioüre mevcudiyetinde 2,4 DNFB ile reaksiyonlaşması sonucunda H_2SO_4 ile kolorimetrik saptanan kırmızı bir bileşiğe dönüştürülmesi esasına dayanır.

Yöntem:

- 1-Elde edilen lökosit süspansiyonundan lökosit sayımı yapılır.
- 2-500 mikrolitre lökosit süspansiyonu, 1 ml %5 TCA ile homojenize edilir.
- 3-2500 devirde 10 dakika santrifüj edilir.
- 4-Elde edilen süpernatandan 500 mikrolitre analiz tüpüne konur.
- 5-Standart tüpler için;
 - (A) 0,25 ml çalışma standart solüsyonu + 0,25 ml %5 TCA
 - (B) 0,5 ml çalışma standart solüsyonu konup iki standart hazırlanır.
- 6-Kör tüpüne 0,5 ml %TCA konur
- 7-Analiz, standart ve kör tüplerine herbiri için ayrı ayrı 0,3 ml renk reaktifi konur. 37°C'de 4 saat enkübe edilir.
- 8-Buzlu suda soğutulur.
- 9-1 ml H_2SO_4 ilave edilir.
- 10-Kör absorbansına karşı analiz ve standart absorbansları 520 nm de spektrofotometrede okunur.

Hesaplama: Serum total askorbik asitte olduğu gibi hesaplandı, $\mu g/10^8$ lökosit birimine çevrildi.

Serum total askorbik asid tayini

Prensip:Lökosit askorbik asitte olduğu gibidir.

Yöntem:

- 1-0,5 ml serum 1,5 ml %6 TCA ile karıştırılır. 5 dakika beklenir 10 dakika santrifüj edilir.
- 2-Süpernatant içinde 75 mg norit bulunan cam tüplere konur. Karıştırılıp 2500 devirde 15 dakika santrifüj edilir

3-Elde edilen süpernatantdan 0,5 ml alınıp analiz tüpüne konur.

4-Standart tüpüne 0,5 ml standart solüsyonu konur.

6-Analiz, standart ve kör tüplerine herbirine 0,125 ml renk reaktifi (DNFH) konur. 37 °C'de 3 saat enkübe edilir.

7-Buzlu suda soğutulur.

8-0,625 ml H_2SO_4 konur.

9-30 dakika oda ısısında bekletilir.

10-Kör absorbansına karşı analiz absorbansları 540 nm de okunur.

Hesaplama:

Analiz optik dansite

Askorbik asid(mg/dl):----- x Standart konsantrasyonu

Standart optik dansite

Serum ve Lökosit askorbik asid tayini

Prensip:Fosfotungustat ile serum proteinlerinin çöktürülmesine ve aynı ortamda renk reaksiyonu oluşması esasına dayanmaktadır.

Yöntem:

1-1 ml numune analiz tüpüne konur.

2-1 ml deiyonize su kör tüpüne konur.

3-1 ml standart solüsyonu standart tüpüne konur.

4-Analiz, standart ve kör tüplerinin her birine 1'er ml renk reaktifi konur.

5-30 dakika oda ısısında enkübe edilir.

6-15 dakika 3000 devirde santrifüj edilir.

7-Süpernatantlar okuma küvetine alınıp,700 nm de okunur.

Serum askorbik asid hesabı

Analiz optik dansite

Askorbik asid(mg/dl):----- x Standart konsantrasyonu

Standart optik dansite

Lökosit askorbik asid hesabı

Lökosit askorbik asid değerleri serum askorbik asit gibi hesaplandı, $\mu g/10^8$ lökosit birime çevrildi.

Serum ve lökosit dehidroaskorbik asid hesabı:

Dehidroaskorbat= Total askorbat-askorbat.

Eritrosit paketinin hazırlanması

Lökosit süspansiyonunun hazırlanması sırasında başka bir cam tüpe aktarılan alt faz eritrosit paketini hazırlanmasında kullanılır. Cam tüpe alınan kan (alt faz) 3500 devirde $+4^{\circ}\text{C}$ de 15 dakika santrifüj edilir. Oluşan süpernatant dikkatlice ayrılıp atılır. Tüpün dibinde kalan kanın şekilli elemanları üzerine tüpün iç cidarından sızdırılarak yaklaşık aynı hacimde serum fizyolojik eklenerek dilüe edilir. Tüpler parafilm ile kapatılıp yavaşca alt üst edildikten sonra 2000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar atılır. Aynı tüp üzerine tekrar yaklaşık aynı hacimde serum fizyolojik eklenerek aynı işlem tekrarlanır. Eritrosit yıkama işlemi 3 kez uygulanarak saf eritrosit paketi elde edilir (65,77).

Eritrosit süspansiyonunun hazırlanması

Elde edilen saf eritrosit paketinden 500 mikrolitre başka bir tüpe aktarılıp üzerine aynı hacimde %0,9 NaCl (serum fizyolojik) ilave edilir. Hafifce alt üst edilerek homojen bir eritrosit süspansiyonu hazırlanır (65,77,111). Bu süspansiyondan hemoglobin, hematokrit, eritrosit sayımı yapılır.

Eritrosit hemolizatının hazırlanması

Eritrosit süspansiyonundan 20 mikrolitre alınıp temiz bir tüpe aktarılır, üzerine 980 mikrolitre saponin solüsyonu ilave edilir. Saponin eritrosit membranını parçalayarak eritrosit içinde ve membrana yakın bir yerde bulunan asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmeden dışarıya salıverir (52,65,75). Elde edilen bu hemolizatlar -20°C 'de saklanarak bir hafta içinde çalışılır (63,65,76,77,87,89,111).

Eritrosit içi kolinesteraz

Substrat olarak propionylthiocholine içeren spektrofotometrik Ciba-Corning cholinesterase reagent kit kullanıldı. Ortamdaki plazma kolinesterazı inhibe etmek amacıyla kinidin sülfat kullanıldı.

Plazma kolinesteraz

Substrat olarak propionylthiocholine içeren spektrofotometrik Ciba-Corning cholinesteraz reagent kit kullanıldı.

BULGULAR

Yaşları 21-68 arasında değişen (ortalama $40 \pm 11,47$) BMI'i 18-254 olan 22 (12 kadın 10 erkek), BMI'i 25-30 arası 20 (7 kadın 13 kadın), BMI'i 31-42 arası 34 (25 kadın 9 erkek) kişide PDA, PA, LDA, LA, ECE, PCE, AKŞ, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol tayinleri yapıldı.

Kontrol, obez ve aşırı obez gruplarının yaş ve cinsiyetlerine göre dağılımları Tablo 3 de verilmiştir. Tüm gruplara ait bulguların istatistiksel olarak önemli olup olmadığının belirlenmesi ve önemlilik derecelerinin belirtilmesi amacıyla SSPS paket programında Student's t-testi, korelasyon ve varyans analizi uygulandı.

Kontrol, obez ve aşırı obez gruplara ait bulgular Tablo 4 de verilmiştir.

Obez grupta kontrol grub'a kıyasla PA ($p < 0,05$), PTA ($p < 0,05$) ve ECE ($p < 0,05$) düşerken; AKŞ ($p < 0,05$), PCE ($p < 0,01$), trigliserid ($p < 0,01$), total kolesterol ($p < 0,01$) ve LDL-kolesterol ($p < 0,05$) yüksel bulunmuştur. Aşırı obez grupta kontrol grub'a kıyasla PA ($p < 0,001$), PTA ($p < 0,001$) ve ECE ($p < 0,05$) düşük, PCE ($p < 0,001$), AKŞ ($p < 0,05$), trigliserid ($p < 0,01$), kolesterol ($p < 0,01$) ve LDL-kolesterol ($p < 0,01$) yüksek bulunmuştur. Aşırı obez grupta obez grub'a kıyasla AKŞ ($p < 0,05$) ve kolesterol ($p < 0,01$) yüksek bulunmuştur.

Kontrol, obez ve aşırı obez kadınlarda çalışılan parametreler ve elde edilen bulgular Tablo 5 te verilmiştir. Obez grupta kontrollere kıyasla PA ($p < 0,05$), PTA ($p > 0,05$) ve ECE ($p < 0,05$) düşük; AKŞ ($p < 0,05$), trigliserid ($p < 0,01$) ve kolesterol ($p < 0,01$) yüksek bulunmuştur. Aşırı obez grupta kontrol grubuna kıyasla PA ($p < 0,05$), PTA ($p < 0,01$) ve ECE ($p < 0,05$) düşük; PCE ($p < 0,001$), AKŞ ($p < 0,05$), trigliserid ($p < 0,01$) ve kolesterol ($p < 0,01$) yüksek bulunmuştur. Aşırı obez grupta obez gruba kıyasla PCE ($p < 0,001$) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Kontrol, obez ve aşırı obez erkeklerde çalışılan parametreler ve elde edilen bulgular Tablo 6 da verilmiştir. Obez grupta kontrol gruba kıyasla kolesterol ($p < 0,05$) yüksek bulunmuştur. Aşırı obez grupta kontrol gruba kıyasla kolesterol ($p < 0,05$) yükselmiştir.

Çalışılan kontrol, obez ve aşırı obez gruplarda PDA/PA, PDA/TA, PA/ TA LDA/LA, LDA/TA, LA/TA, LDL/HDL oranlarının karşılaştırılması Tablo 7. de verilmiştir.

Çalışılan kontrol, obez ve aşırı obez gruplarda aralarında korelasyon olan parametreler ve anlamlılık düzeyleri tablo 8 de verilmiştir. Çalışılan kadınlarda aralarında korelasyon olan parametreler ve anlamlılık düzeyleri tablo 9. da

verilmiştir. Kadınlarda ECE-BMI ($r:-0,425$, $p<0,01$), ECE-trigliserid ($r:-0,36$, $p<0,05$) , BMI-PA ($r:0,514$, $p<0,001$) negatif korelasyon bulunmuştur.

Çalışılan erkeklerde aralarında korelasyon olan parametreler ve anlamlılık düzeyleri tablo10 da verilmiştir. ECE-LDL-kolesterol ($r:0,445$, $p<0,05$) ile sadece erkeklerde korelasyon göstermektedir. PA-BMI arasında ($r:-0,295$, $p<0,05$) negatif korelasyon bulunmuştur. Normal ve obez kişilerde plazma askorbat düzeyi yetersiz olanların dağılımı (%olarak) tablo 11 de verilmiştir.

Tablo 3. KONTROL, OBEZ, AŞIRI OBEZ KİŞİLERİN YAŞ VE CİNSİYETLERİNE GÖRE DAĞILIMI

GRUPLAR	Kadın		Erkek		Toplam	
	n	Yaş ort.	n	Yaş ort.	n	Yaş ort.
I Kontrol (BMI:18-24)	12	30,5±10,9	10	38,4±11,7	22	34,1±12,0
II Obez(BMI:25-30)	7	39,0±7,4	13	41,5±12,1	20	40,6±11,0
IIIAşırı obez(BMI:31-42)	25	41,3±9,3	9	49,4±10,0	34	43,5±10,3
Toplam	44	38,0±10,4	32	42,8±12,2	76	40,0±11,5

Tablo4. KONTROL , OBEZ VE AŞIRI OBEZ GRUBUNDA ÇALIŞILAN PARAMETRELER

Paramet- reler	I BMI:18-24 (n=22) X±SD	II BMI:25-30 (n=20) X±SD	III BMI:31-42 (n=34) X±SD	Anova p	I-II p	I-III p	II-III p
BMI	21,14±1,75	28,4±1,6	34,85±3,3	0,000	<0,001	<0,001	<0,001
PDA mg/dl	0,11±0,09	0,12±0,07	0,11±0,09	0,7768	>0,05	>0,05	>0,05
PA mg/dl	1,13±0,68	0,78±0,43	0,60±0,26	0,0004	<0,05	<0,001	>0,05
PTA mg/dl	1,26±0,69	0,86±0,40	0,70±0,29	0,0002	<0,05	<0,001	>0,05
LDA µg/10 ⁸ lök	14,52±7,68	12,34±7,41	12,92±6,95	0,5924	>0,05	>0,05	>0,05
LA µg/10 ⁸ lök	22,45±7,68	21,95±6,39	22,49±5,83	0,9535	>0,05	>0,05	>0,05
LTA µg/10 ⁸ lök	36,97±14,98	34,29±13,4	35,41±12,4	0,8090	>0,05	>0,05	>0,05
ECE Ü/gr Hb	28,24±8,1	22,64±7	24,59±4,49	0,0197	<0,05	<0,05	>0,05
PCE Ü/L	5685±1014	6884±1535	7470±1240	0,0001	<0,01	<0,001	>0,05
AKŞ mg/dl	99,7±14	110,7±13	117,6±17,8	0,0008	<0,05	<0,05	<0,01
Trig mg/dl	79,5±45	121,8±49	145,9±64,2	0,0010	<0,01	<0,05	>0,05
Kol mg/dl	165,65±35	201,11±39	221,7±51,7	0,0000	<0,01	<0,01	<0,01
HDL mg/dl	47,86±7	47,27±9	47,6±9,7	0,8898	>0,05	>0,05	>0,05
LDL mg/dl	116,54±25	139,5±51,7	149,4±50,6	0,041	<0,01	<0,01	>0,01

Tablo5 KONTROL , OBEZ VE AŞIRI OBEZ GRUBUNDAKİ KADINLARDA ÇALIŞILAN PARAMETRELER

Parametreler	I	II	III	Anova	I-II	I-III	II-III
	BMI:18-24 (n=12) X±SD	BMI:25-30 (n=7) X±SD	BMI:31-42 (n=25) X±SD	p	p	p	p
BMI	21,4±2,06	28,57±1,9	34,56±3,01	0,000	<0,001	<0,001	<0,001
PDA mg/dl	0,10±0,06	0,20±0,05	0,10±0,10	0,0155	>0,05	>0,05	>0,05
PA mg/dl	1,19±0,67	0,72±0,15	0,58±0,24	0,0013	<0,05	<0,05	>0,05
PTA mg/dl	1,32±0,70	0,91±0,17	0,68±0,27	0,0018	>0,05	<0,01	>0,05
LDA µg/10 ⁸ lök	14,58±9,08	15,01±8,13	13,18±7,43	0,8658	>0,05	>0,05	>0,05
LA µg/10 ⁸ lök	22,88±9,04	23,25±4,79	22,24±5,79	0,9162	>0,05	>0,05	>0,05
LTA µg/10 ⁸ lök	37,46±18,06	38,26±12,6	35,43±12,84	0,8778	>0,05	>0,05	>0,05
ECE Ü/gr Hb	31,03±9,1	22,06±3,7	23,7±4,59	0,0047	<0,05	<0,05	>0,05
PCE Ü/L	5660±425	5311±2238	7582±1339	0,0001	>0,05	<0,001	<0,001
AKŞ mg/dl	98,6±14	109,14±11	114,13±14	0,0134	<0,05	<0,05	>0,05
Trig mg/dl	57,8±12,13	116,3±60,3	140,1±67	0,0045	<0,01	<0,01	>0,05
Kol mg/dl	170,9±38,4	208,4±40,68	230,7±45,5	0,0035	<0,01	<0,01	>0,05
HDL mg/dl	52,4±6,05	48±10,4	48±8,4	0,3409	>0,05	>0,05	>0,05
LDL mg/dl	109,6±19,09	140,7±39,3	160,5±51,4	0,0104	>0,05	>0,05	>0,05

Tablo6. KONTROL , OBEZ VE AŞIRI OBEZ GRUBUNDAKİ ERKEKLERDE ÇALIŞILAN PARAMETRELER

Paramet reler	I BMI:18-24 (n=10) X±SD	II BMI:25-30 (n=13) X±SD	III BMI:31-42 (n=9) X±SD	Anova p	I-II p	I-III p	II-III p
BMI	21,5±2,5	28,3±1,7	35,6±4,3	0,0000	<0,01	<0,01	<0,01
PDA mg/dl	0,13±0,12	0,08±0,06	0,11±0,08	0,7684	>0,05	>0,05	>0,05
PA mg/dl	1,07±0,73	0,82±0,53	0,66±0,33	0,6584	>0,05	>0,05	>0,05
PTA mg/dl	1,20±0,71	0,83±0,49	0,78±0,35	0,3316	>0,05	>0,05	>0,05
LDA µg/10 ⁸ lök	14,45±6,09	10,90±6,90	12,18±5,73	0,3023	>0,05	>0,05	>0,05
LA µg/10 ⁸ lök	21,94±6,10	21,26±7,20	23,20±6,27	0,8207	>0,05	>0,05	>0,05
LTA µg/10 ⁸ lök	36,40±11,16	32,16±13,85	35,38±11,86	0,7552	>0,05	>0,05	>0,05
ECE Ü/gr Hb	24,9±6,09	23,1±4,1	26,8±3,9	0,3279	>0,05	>0,05	>0,05
PCE Ü/L	6005±1726	6584±1907	7161±1034	0,3076	>0,05	>0,05	>0,05
AKŞ mg/dl	102,3±15,6	11,2±15,8	126,2±24,2	0,0258	>0,05	>0,05	>0,05
Trig mg/dl	102±55	125±49	163±63	0,0906	>0,05	>0,05	>0,05
Kol mg/dl	160±33	200±42	224±39	0,0029	<0,05	<0,05	>0,05
HDL mg/dl	43±6,1	48±9,8	46±13	0,5271	>0,05	>0,05	>0,05
LDL mg/dl	104±22	140±63	121±41	0,1874	>0,05	>0,05	>0,05

Tablo 7 KONTROL, OBEZ VE AŞIRI OBEZ GRUPLARDA PDA/PA, PDA/TA, PA/TA, LDA/LA, LDA/TA, LA/TA, LDL/HDL ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Parametreler	I	II	III	Anova	I-II	I-III	II-III
	BMI:18-24 X±SD	BMI:25-30 X±SD	BMI:31-42 X±SD	p	p	p	p
PDA/PA	0,14±0,15	0,19±0,11	0,19±0,17	0,4252	>0,05	>0,05	>0,05
PDA/TA	10,95±9,9	15,27±8,3	14,52±10,6	0,3016	>0,05	>0,05	>0,05
PA/TA	0,88±0,11	0,93±0,43	0,85±0,11	0,4898	>0,05	>0,05	>0,05
LDA/LA	0,61±0,19	0,52±0,21	0,54±0,19	0,2395	>0,05	>0,05	>0,05
LDA/TA	0,37±0,07	0,33±0,09	0,34±0,08	0,1958	>0,05	>0,05	>0,05
LA/TA	0,63±0,07	0,67±0,09	0,66±0,08	0,2395	>0,05	>0,05	>0,05
LDL/HDL	2,2±0,525	3±1,079	3,257±1,5		<0,001	<0,001	>0,05

Tablo 8.KONTROL,OBEZ VE AŞIRI OBEZ GRUBUNDA ÇALIŞILAN
PARAMETRELER ARASI İLİŞKİ

Parametreler	r	p
YAŞ-PDA	-0,143	>0,05
BMI-PTA	-0,403	<0,000
PA-BMI	-0,348	<0,01
LÖK-BMI	0,304	<0,05
HCT-ECE	-0,266	<0,05
PCE-BMI	0,389	<0,01
PCE-PA	-0,296	<0,01
AKŞ-YAŞ	0,446	<0,001
AKŞ-BMI	0,4105	<0,001
TRİG-YAŞ	0,253	<0,05
TRİG-BMI	0,446	<0,001
TRİG-PCE	0,283	<0,05
TRİG-AKŞ	0,408	<0,01
KOL-YAŞ	0,361	<0,05
KOL-BMI	0,543	<0,001
KOL-PCE	0,310	<0,05
KOL-AKŞ	0,372	<0,05
KOL-TRİG	0,435	<0,001
LDL-YAŞ	0,260	<0,05
LDL-BMI	0,311	<0,05
LDL-PCE	0,238	<0,05
LDL-AKŞ	0,256	<0,05
LDL-TRİG	0,367	<0,05
LDL-KOL	0,753	<0,001
LDL-LA	0,884	<0,001

Tablo 9 KADINLARDA ÇALIŞILAN PARAMETRELER ARASI İLİŞKİ

Parametreler	r	p
YAŞ-BMI	0,416	<0,01
BMI-PA	-0,514	<0,001
ECE-BMI	-0,425	<0,01
PCE-BMI	0,492	<0,01
TRİG-PA	0,466	<0,001
LDL-BMI	-0,456	<0,01
TRİG-LÖK	-0,388	<0,05
TRİG-ECE	-0,366	<0,05
TRİG-PCE	-0,337	<0,05
KOL-PCE	0,393	<0,05
HDL-TRİG	-0,524	<0,01
LDL-PCE	0,343	<0,05
LDL-TRİG	0,529	<0,05

Tablo 10 ÇALIŞILAN ERKEKLERDE ÇALIŞILAN PARAMETRELER ARASI İLİŞKİ

Parametreler	r	p
ECE-LDL	0,445	<0,05
AKŞ-TRİG	0,594	<0,01
AKŞ-KOL	0,495	<0,01
BMI-PA	-0,295	<0,05

Tablo 11 KONTROL , OBEZ VE MALİGN OBEZ KİŞİLERDE PLAZMA ASKORBAT DÜZEYİ YETERSİZ OLANLARIN DAĞILIMI (%OLARAK)

	Yetersiz x (< 0.6 mg/dl)	İleri derecede yetersiz xx (0.2 mg/dl)
Kontrol grubu	27	-
Obez	57	12
Hafif obez	45	5
Malign obez	64	18

x risk

xx yüksek risk

TARTIŞMA

METOD TARTIŞMASI

Araştırmacılar Askorbik asid tayininde çeşitli metodlar kullanmışlardır. Sık kullanılan yöntemler titrimetrik, spektrofotometrik, florometrik ve kromatografik (HPLC-High Performance Liquid Chromatography) yöntemlerdir. Yöntemler içinde en hassas kabul edilen kromatografik yöntemlerdir(15,111) HPLC yöntemiyle pikogram düzeyinde ölçüm hassas olarak yapılabilir. Kromatografik çalışma imkanımız olmaması nedeniyle spektrofotometrik yöntem tercih edildi.

Kolinesteraz düzeyi tayininde gazometrik, monometrik, titrimetrik ve pH-metrik yöntemler gibi çeşitli metodlar kullanılmakta olup bu metodların her birinin kendine göre avantaj ve dezavantajları vardır. Titrimetrik ve pH-metrik yöntemler uzun uygulama prosedürleri içermekte ve açığa çıkan H iyon değişikliği nedeniyle her saat başı pH ölçümü gerekmektedir. Sonuçların internasyonal üniteye çevirimi imkansız olup sonuçlar numune mililitresinde bir dakikadaki pH değişikliği olarak ifade edilmektedir(82,85) Plazması ayrılmış eritrosit paketini %0,9 NaCl (serum fizyolojik) ile yıkamak yerine doğrudan eritrositleri alıp çalışan araştırmacılar olmuş ve her iki çalışma arasında pek fark bulamamışlardır. Nitekim Peter J. Lewis (65) her iki şekilde çalışarak yıkanmamış eritrositlerdeki enzim aktivitesini 14798 ± 529 Ü/L. ve yıkanmış eritrositlerde ise 14241 ± 1819 Ü/L olarak bulmuştur. P.M.George ve arkadaşları (73) eritrositleri yıkamadan çalışmışlardır. Öte yandan P. Laine Cessac (77), A. Malekpur (110), L. Barengi (63), gibi araştırmacılar eritrositleri yıkayarak çalışma yapmışlardır. Bizde eritrositleri yıkayarak çalışmayı tercih ettik.

Kolinesteraz tayininde kullanılan substratlar asetilkolin esterleridir. Bizim kullandığımız spektrofotometrik Ciba-Corning analiz kiti substrat olarak propioniltiokolin içermektedir. Plazma kolinesteraz düzeyi ölçümünde herhangi bir inhibitör kullanılmazken eritrosit içi kolinesteraz düzeyi ölçümü için plazma kolinesteraz enzimini inhibe eden kinidin sülfat kullanılmıştır. ECE düzeyi tayininde kullanılan kinidin sülfatın PCE enzimini inhibe ettiği konusunda tüm araştırmacılar ittifak içindedirler(82,85,87,92)

Eritrosit hemolizati elde edilmesinde kimyasal maddeler, deterjanlar, distile su, hipotonik solüsyonlar, bakteri toksinleri ve mekanik zedelenme gibi çeşitli uygulamalar vardır(112). Bizim çalışmamızda saponin tercih edilmiştir. Saponin kolinesteraz enzimine zarar vermeksizin eritrositleri parçalayarak enzimi dışarıya

salar (87). Elde edilen hemolizat -18 °C'de iki ay saklanabilir. Saponinin fosfat tamponunda eritilebilmesi ayrı bir avantaj olup diğer hemoliz ajanlarında bu özellik yoktur(59,87,93,100)

Çalışma gruplarının oluşturulmasında kullanılan tekniklerin çoğu komplike teknikler olup Dünya Sağlık Teşkilatı'nca da benimsenen ve bizim için oldukça pratik olan BMI tercih edilmiştir. Kontrol grubu seçimi yapılırken BMI'e göre değerlendirme yapılması, üzerinde fazla durulmayan bir noktadır. Halbuki araştırma yapılan bazı parametreler BMI'e bağlı olarak (obezite) değişim göstermekte ve bu nokta farkedilemez ise istatistik değerlendirmelerde önemli yorum hataları olabilmektedir.

Serum total askorbat ve askorbat düzey ölçümleri fosfotungustik asid (50) ve 2,4-dinitrofenilhidrazin (19) yöntemleriyle gerçekleştirilirken lökosit düzey ölçümleri bu yöntemlerin modifikasyonu ile sağlandı. 2,4 -dinitrofenilhidrazin yönteminde proteinlerin çöktürülüp askorbik asidin ekstrakte edilmesini triklor asetik asid sağlar. Oksidoredüksiyon yapan diğer maddeler aktif kömür (norit) ile tutulur. Hafif redükleyici olan tioüre ile askorbik asid dehidroaskorbik aside okside olur. Dehidroaskorbik asid 2,4-dinitrofenilhidrazin ile reaksiyonlaşarak H_2SO_4 varlığında kırmızı renkli reaksiyon oluşur. Bu kırmızılık spektrofotometrik olarak okunabilir. Fosfotungustik asid yönteminde gerek proteinlerin çöktürülüp askorbik asidin ekstrakte edilmesi gerekse renk reaksiyonu oluşmasını fosfotungustik asid sağlamaktadır. Fosfotungustik asid ile askorbik asid reaksiyonu spesifik olup dehidroaskorbik asid ve diketogulonik asitle renk reaksiyonu vermez(12,50).

BULGULARIN TARTIŞILMASI

Trigliserid, total kolesterol, LDL-kolesterol gibi parametrelerin BMI'e göre değişmesi bazı hastalıklarda ilgili risk kavramlarının daha iyi tanımlanmasında yararlı olabilir kanaatindeyiz. Çalışmamızda BMI arttıkça açlık kan şekeri , trigliserid , total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış bulundu. Bu artan parametrelerin BMI ile pozitif korelasyonu bulundu (sırasıyla; $r:0,41$, $p<0,001$; $r:0,44$, $p<0,001$; $r:0,54$, $p<0,001$; $r:0,31$, $p<0,05$).

PCE düzeyleri BMI'e göre giderek artmış olup bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu artışın I.grub-II.grub ($p<0,01$) ve I.grub-III. grub ($p<0,001$) arasında belirgin olurken II. grub-III. grub arasında belirgin olmaması; obez (BMI > 25) ve nonobez (BMI 16-24) için bu farkın anlamlılığını vurgular. Bu anlamlı artış BMI ile pozitif korelasyon göstermektedir ($r:0,39$, $p<0,01$). PCE ayrıca trigliserid ($r:$

0,28, $p<0,05$), kolesterol ($r:0,31$, $p<0,05$) ve LDL kolesterol ($r:0,23$, $p<0,05$) ile de pozitif korelasyon göstermektedir. Cucianu ve arkadaşları (22,23) PCE'in total kolesterol ve trigliserid düzeyleriyle pozitif ilişkisi olduğunu saptamışlardır. Bu bulgu bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. ECE düzeyleri BMI'e göre giderek azalmış olup bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu azalma I.grub-II.grub ($p<0,05$) ve I. grub- III. grub ($p<0,05$) arasında anlamlı iken II. grub-III. grub arasında anlamlı değildir. Bu durum, obez ($BMI>25$) ve nonobez ($BMI\ 16-24$) için bu farkın anlamlılığını ortaya koyar. ECE düzeyleri kadınlarda BMI ve trigliserid ile negatif korelasyon gösterirken ($r:-0,42$, $p<0,01$, $r:-0,36$, $p<0,05$) ; ECE erkeklerde sadece LDL-kolesterolle negatif korelasyon ($r:0,45$, $p<0,05$) gösterir.

Şişmanlıkta fazla kalori alımı nedeniyle PCE sentezi karaciğerde uyarılırken yağ dokusu baskılanmakta (70) ve VLDL artışıyla beraber PCE artışı LDLyapımını arttırmaktadır (68,70). PCE artarken ECE'nin azalıyor olması dikkat çekici bir paradokstur. Obezlerin eritrositlerindeki kolinesteraz aktivite azalması hücre yaşlanması olarak kabul edilebilir kanaatindeyiz.

PTA ve PA düzeyleri BMI'e göre düşme eğilimindedir. PTA ve PA düzeylerindeki bu düşmenin I. grub-II. grub ($p<0,05$) ve I. grub-III. grub ($p<0,001$) arasında belirgin olurken II. grub-III. grub arasında belirgin olmaması; obez ($BMI>25$) ve nonobez ($BMI\ 16-24$) için bu farkın anlamlı olduğunu ispat eder. Bu belirgin düşme obezite derecesiyle dahada belirginleşir. Bu sonuç Burgos ve arkadaşlarının bulgularıyla uyumludur(2). Obezite derecesi ile PTA ve PA arasında negatif korelasyon bulundu ($r=-0,403$, $p<0,000$ ve $r=-0,348$, $p<0,01$). Burgos ve arkadaşlarıda böyle bir korelasyondan bahsetmektedirler.

Nonobeslere kıyasla obes grubumuzun vitamin eksiklik riski obezite derecesi ile artış göstermiştir (Tablo 11). Risk derecelerimizi Burgos ve arkadaşlarının çalışması desteklemektedir . Sauberlich(113) 0,2 mg/dl'nin altını yetmezlik(yüksek risk) ve 0,3 mg/dl'nin altını düşük düzey (orta risk) olarak kabul ederken Nutrition Canada Survey'in kriterlerine göre (114) 0,2-0,39 mg/dl arası değerler orta derece risk kabul edilmektedir. Steele ve arkadaşları (115) ise 0,4 mg/dl'lik serum düzeyinin vitamin alımında yetersizliği gösterebileceğini ifade etmektedirler. Burgos ise 0,2 mg/dl'nin altını yüksek risk ve 0,6 mg/dl nin altını total biyokimyasal risk olarak kabul etmektedir. Biz kriter seçiminde Burgos ve arkadaşları gibi düşünüyoruz.Bölgemizde kontrol grubumuzdaki kişilerin %27'sinde PTA değerinin 0,6 mg/dl 'nin altında olması bu kişilerde vitamin alımının düzensiz olduğunu düşündürür. Obezlerde

bu yetersizliğin %57 ve ileri derecede yetersizliğin ise %12 olması; vitamin yetersizlik katsayısının (risk) obeziteyle arttığını düşündürür.

PDA değerlerinde BMI'e göre anlamlı bir fark yoktur. Stankova(109) ve Newill (116) gibi araştırmacılar, PDA düzeylerini kontrol ve diabetik grubunda birbirine oldukça yakın bulurken, Som ve arkadaşlarının (117) PDA düzeyini diyabetiklerde yüksek bulması her ne kadar beslenme alışkanlık farkı, vaka sayısının az veya çok oluşu gibi faktörlerle izah edilmeye çalışılsada; dehidroaskorbatla ilgili değerlendirmelerin henüz standardize edilemediğini akla getirmektedir. Bu problemin temelinde DHA'e süratli okside olabilirliliği ve numune hazırlanması esnasında ortamdaki muhtemel oksidanların etkilemesi nedeniyle özellikle AA'in instabil oluşu yatmaktadır. Önemli olan analizin çok kısa süre içinde gerçekleştirilmesidir. Newill ve arkadaşları venöz kanı aldıklarının ilk atmış dakikasında analizi gerçekleştirirken Chatterjee ve Banerjee(118,119) gibi araştırmacılar daha uzun bir zaman periyodunda söz konusu analizi gerçekleştirebilmişlerdir. Bizim çalışma şartlarımızda da benzer problemler söz konusudur. Kaldiki vücuttaki DHA üretimi, indirgenmesi, parçalanması ve atılması bütün olarak ölçülememektedir(109).

LTA,LA ve LDA değerlerinde gruplar arası önemli bir fark bulunmadı. LA düzeyleri yaşla azaldığı ve yaşlı erkeklerde yaşlı kadınlara kıyasla daha düşük olduğu Vanderjagt ve arkadaşları tarafından ifade edilmiştir (15) Bizim bulgularımızda bu yönde bir tespit yoktur. Yaş ilerledikçe LA düzeylerinin azalması ve bu azalmanın erkeklerde daha fazla olması iddiası; erkeklerin kalp ve damar sistemi hastalıklarına karşı kadınlara kıyasla daha fazla riskte olduğunu destekleyeceğinden bu yönde daha fazla sayıda kişi üzerinde çalışma yapılması uygun olacaktır.

Obezlerde, obezite derecesi ile PCE arasında pozitif korelasyon ($r=0.389$, $p<0.01$), ve obezite derecesiyle PTA ve PA arasında negatif korelasyon ($r=-0.403$, $p<0.001$ ve $r=-0.348$, $p<0.01$) saptanırken PCE ile PTA ve PA arasında herhangi bir korelasyon saptanamamıştır.

Sonuç olarak; obezitede (BMI >25); a)Trigliserid, total kolesterol ve LDL-kolesterol gibi lipid parametrelerinin ve PCE düzeylerinin yüksek oluşu ve bu yüksekliğin obezite derecesiyle giderek belirginleştiği , b)PTA ve PA gibi vitamin C parametrelerinin ve ECE düzeylerinin düşük olduğu ve bu düşüklüğün obezite derecesiyle daha da belirginleştiği , c)

Vitamin yetmezlik risk derecelerinin obezite derecesiyle arttığı bulunmuştur.

PTA ve PA değerinin obezite arttıkça belirgin olarak azalması , vitamin yetersizlik yüzdesinin obeziteye paralel artması gerek vitamin C metabolik t rnoverinin gerekse v cut vitamin C depolarının obesiteden etkilendiğini g sterir.



49
ÖZET

Çalışmamıza yaş ortalaması 40 ± 11.4 olan 44 kadın, 32 erkek alındı.

Çalışmamızda BMI'i 18-24 olanlar kontrol veya non-obez, 25-30 arası olanlar obez, 31-42 arası olanlar aşırı obez olarak kabul edildi.

Çalışmaya alınan kişilerde; lipid ve lipoprotein parametreleri (trigliserid (Trig.), total koles(T.Kol), HDL-kolesterol (HDL), LDL-kolesterol (LDL)), kan şekeri (AKŞ), plazma kolinesteraz(PCE), eritrosit içi kolinesteraz (ECE), plazma total askorbat (PTA) plazma askorbat(PA), plazmadehidroaskorbat(PDA), lökosit total askorbat(LTA) lökosit askorbat (LA), lökosit dehidroaskorbat(LDA), PDA/PA, PDA/PTA, PA/PTA ile LDA/LA, LDA/LTA, LA/LTA oranları çalışılarak ve hesaplanarak a) obezite derecesiyle vitamin C ilişkisi b) obezite derecesiyle kolinesteraz ilişkisi ve c) vitamin C ile kolinesteraz ilişkisinin olup olmadığının araştırılmasının yanısıra obezlerde vitamin C yetmezlik decelerinin saptanması amaçlanmıştır.

SPSS paket programından yararlanılarak bulunan aritmetik ortalama ve standart sapmalar çalışma gruplarına göre sırasıyla;

Kontrol grubunda; PTA $1,26 \pm 0,69$ mg/dl, PA $1,13 \pm 0,66$ mg/dl, PDA $0,11 \pm 0,09$ mg/dl, LTA $36,97 \pm 14,98$ µg/ 10^8 lök, LA $22,45 \pm 7,68$ µg/ 10^8 lök, LDA $14,52 \pm 7,66$ µg/ 10^8 lök, PCE 5685 ± 1014 Ü/L, ECE $28,24 \pm 8,1$ Ü/gr Hb, AKŞ $99,7 \pm 14$ mg/dl, Trig. $79,5 \pm 45$ mg/dl, Kol. $165,65 \pm 35$ mg/dl, HDL $47,86$ mg/dl, LDL $116,54 \pm 25$ mg/dl olarak , Obes grubunda; PTA $0,86 \pm 0,40$ mg/dl, PA $0,78 \pm 0,43$ mg/dl, PDA $0,12 \pm 0,07$ mg/dl, LTA $34,29 \pm 13,4$ µg/ 10^8 lök, LA $21,95 \pm 6,39$ µg/ 10^8 lök, LDA $12,34 \pm 7,41$ µg/ 10^8 lök, PCE 6884 ± 1535 Ü/L, ECE $22,64 \pm 7$ Ü/gr Hb, AKŞ 110 mg/dl, Trig. $121,8 \pm 49$ mg/dl, T. Kol. $201,11 \pm 39$ mg/dl, HDL $47,27 \pm 9$ mg/dl, LDL $139,5 \pm 51,7$ mg/dl olarak , Malign obes grubunda; PTA $0,70 \pm 0,29$ mg/dl, PA $0,60 \pm 0,26$ mg/dl, PDA $0,11 \pm 0,09$ mg/dl, LTA $35,41 \pm 12,4$ µg/ 10^8 lök, LA $22,49 \pm 5,83$ µg/ 10^8 lök, LDA $12,92 \pm 6,95$ µg/ 10^8 lök, PCE 7470 ± 1240 Ü/L, ECE $24,59 \pm 4,49$ Ü/grHb, AKŞ $117,6 \pm 17,6$ mg/dl, Trig. $145,9 \pm 64,2$ mg/dl, T.Kol $221,7 \pm 51,7$ mg/dl, HDL $47,6 \pm 9,7$ mg/dl, LDL $149,4 \pm 50,6$ mg/dl olarak tesbit edilmiştir.

BMI artışına paralel olarak AKŞ, Trig. , T. Kol. ve LDL düzeylerinde anlamlı artış söz konusu olup bu artış gösteren pmetrelerin BMI ile pozitif korelasyonu vardır (sırasıyla; $r:0,41$, $p<0,001$; $r:0,44$, $p<0,001$; $r:0,54$, $p<0,001$; $r:0,31$, $p<0,05$).

PCE düzeyleri BMI'e göre giderek artmış olup bu artış I.grub-II.grub ($p<0,01$)

ve I.grub-III. grub ($p<0,001$) arasında belirgindir. ECE düzeyleri BMI'e göre giderek azalmış olup bu azalma özellikle I.grub-II grub ($p<0.05$). ve I grub- III grub ($p<0.05$). arasında istatistiksel olarak anlamlıdır.

PTA ve PA düzeyleri BMI'e göre düşme eğiliminde olup bu düşme I. grub-II. grub ($p<0,05$) ve I.grub-III. grub ($p<0,001$) arasında belirgindir. PDA, LTA, LA ve LDA değerlerinde BMI'e göre önemli bir fark bulunamamıştır.

Sonuç olarak; PCE düzeylerindeki artma ve ECE, PTA ve PA düzeylerindeki azalma I.grub-II.grub ve I.grub-III.grub arasında anlamlı iken II.grub-III.grub arasında anlamlı olmaması obez ve nonobez gruplar için bu farkların anlamlılığını ortaya koymuştur. Obezite arttıkça vitamin yetmezlik risk derecelerinde de artış olduğu tesbit edilmiştir.

SUMMARY

This study was performed on 44 female and 32 male subjects aged 40 ± 11.4 years old. Subjects whose body mass indexes (BMI) were 18-24 were accepted as control or non-obese, 25-30 as obese and 31-42 as heavy obese.

In this study, levels of lipid and lipoprotein parameters (triglyceride (trig.), total cholesterol (T.Kol), HDL-cholesterol (HDL), LDL-cholesterol (LDL), fasting blood sugar (FBS), plasma cholinesterase (PCE), erythrocyte cholinesterase (ECE), plasma total ascorbate (PTA), plasma ascorbate (PA), plasma dehydroascorbate (PDA), leucocyte dehydroascorbate (LDA), and the ratios of PDA/PA, PDA/PTA, PA/PTA and LDA/LA, LDA/LTA, LA/LTA) were measured. From these values; a) correlation between obesity degree and vitamin C, b) correlation between obesity degree and cholinesterase, c) correlation between vitamin C and cholinesterase, and the deficiencies of vitamin C in obesity were investigated.

The levels of PTA, PA, PDA, LTA, LA, LDA, PCE, ECE, FBS, TRIG, CHDL, HDL, LDL and the ratios of PDA/PA, PDA/PTA, PA/PTA and LDA/LA, LDA/LTA, LA/LTA were 1.26 ± 0.69 mg/dl, 1.13 ± 0.66 mg/dl, 0.11 ± 0.09 mg/dl, $36.97 \pm 14.98 \mu\text{g}/10^8$ leucocyte, $22.45 \pm 7.68 \mu\text{g}/10^8$ leucocyte, $14.52 \pm 7.66 \mu\text{g}/10^8$ leucocyte, 5685 ± 1014 U/L, 28.24 ± 8.1 U/gr Hb, 99.7 ± 14 mg/dl, 79.5 ± 45 mg/dl, 165.65 ± 35 mg/dl, 47.86 mg/dl, 116.54 ± 25 mg/dl and 0.14 ± 0.15 , 10.95 ± 9.9 , 0.88 ± 0.11 , 0.61 ± 0.19 , 0.37 ± 0.07 , 0.63 ± 0.07 , 2.2 ± 0.525 respectively in controls group; 0.86 ± 0.40 mg/dl, 0.78 ± 0.43 mg/dl, 0.12 ± 0.07 mg/dl, $34.29 \pm 13.4 \mu\text{g}/10^8$ leucocyte, $21.95 \pm 6.39 \mu\text{g}/10^8$ leucocyte, $12.34 \pm 7.41 \mu\text{g}/10^8$ leucocyte, 6884 ± 1535 U/L, 22.64 ± 7 U/gr Hb, 110 mg/dl, 121.8 ± 49 mg/dl, 201.11 ± 39 mg/dl, 47.27 ± 9 mg/dl, 139.5 ± 51.7 mg/dl and 0.19 ± 0.11 , 15.27 ± 8.3 , 0.93 ± 0.43 , 0.52 ± 0.21 , 0.33 ± 0.09 , 0.67 ± 0.09 , 3 ± 1.07 respectively in obese group; 0.70 ± 0.29 mg/dl, 0.60 ± 0.26 mg/dl, 0.11 ± 0.09 mg/dl, 35.41 ± 12.4 mg/108 leucocyte, 22.49 ± 5.83 mg/108 leucocyte, 12.92 ± 6.95 mg/108 leucocyte, 7470 ± 1240 U/L, 24.59 ± 4.49 U/gr Hb, 117.6 ± 17.6 mg/dl, 145.9 ± 64.2 mg/dl, 221.7 ± 51.7 mg/dl, 47.6 ± 9.7 mg/dl, 149.4 ± 50.6 mg/dl and 0.19 ± 0.17 , 14.52 ± 10.6 , 0.85 ± 0.11 , 0.54 ± 0.19 , 0.34 ± 0.08 , 0.66 ± 0.08 , 3.257 ± 1.5 respectively in heavy obese group.

There is a significant increase in BFG, Trig., T.Chol and LDI levels parallel to the BMI levels. These increased parameters had a positive correlation with BMI. ($r=0.41$, $p<0.001$; $r=0.44$, $p<0.001$; $r=0.54$, $p<0.001$; $r=0.31$, $p<0.05$ respectively).

PCE levels increased parallel to the BMI levels especially between group I and II ($p<0.01$), and between group I and III ($p<0.001$). In contrast to this ECE levels

decreased parallel to the BMI levels especially between group I and II, and between group I and III ($p<0.057$).

PTA and PA levels tend to decrease parallel to the BMI levels especially between group I and II ($p<0.05$), and between group I and III ($p<0.001$)

In conclusion, increase in PCE levels and decrease in the levels of ECE, PTA and PA were significant between group I and II, and between group I and III, and were not significant between group II and III. This controversy shows that these differences are important for obese and non-obese groups. It has been found that there is a risk for vitamin deficiencies with the degree of obesity.



53
LİTERATÜR

- 1- Stunkard A J., Şişmanlık , in The Merck Manual , Berkow R.(Çeviri Pekus M) Türkçe üçüncü baskı . Merk yayıncılık -İstanbul 1987;697-700.
- 2-A Moor de Burgos , Wartanowicz M and Ziemlanski S. Blood vitamin and lipid levels in overweight and obese women. European Journal of Clinical Nutrition 1992; 46, 803-808.
- 3-Arsura E L , Brunner N G , Namba T. et al. adverse cardiovascular effect of cholinesterase medications, The American J., of The medical Sciences. 1987; 293 / 1, 18-23.
- 4-Kutty KM, Huang SN, Kean KT. Pseudocholinesterase in obesity. Hipercoloric diet induced changein Experienita.1981; 37, 1141-1142.
- 5-Garrow JS. Obesity In: Cohen R D, Lowis B, Alberty K G M, Denvran A M. The metabolic and molecular basis of acquired disease, W. B. Saunders Co., London.1990.
- 6-Çağlayan A. Obez ve tip II D.M.'lu kişilerin bazı lipid ve hormon değerlerinin normallerle karşılaştırılması, S. Ü. Tıp Fak. Biyokimya A.B.D., Uzmanlık tezi.1987; Konya.
- 7-Sencer Ergin. Beslenme ve diyet.1987;258-285, İstanbul.
- 8-Moss WD, Henderson R, Kachmar J. Enzymes In, Tietz N. W. Textbook of clinical chemistry.1986; 619-774. Philadelphia.
- 9-Malloy MJ, Kane PJ. Obesity. İn: Greenspan, F.S. Basic and clinical endocrinology. 1991; 694-700 Appletonlarge, Lebanon.
- 10-Donald B, Mc Cormick, Ph. D, Greene HL. Vitamins, Tietz Texbook of Clinical Chemistry, Ed. Burtis C A, Ashwood ER. Second Edition.1994; 1275-1277, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- 11-Taner F. Metabolizma ve Nütrisyon Fiziopatolojisi.1975; 1. baskı, 275, Ankara Üniversitesi Basımevi.
- 12-Büyükbaş S. Normal ve Patolojik Vakalarda Askorbik Asid Düzeyleri (Uzmanlık Tezi).1983; E.Ü. Tıp Fak., İzmir.
- 13-Harper H A. Çevirenler: Menteş NK, Menteş G. Fizyolojik Kimyaya Bakış, 14. baskı, Ege Üniversitesi Matbaası.1976; 126.
- 14-Wilson C W M. Vitamin C for commoncolds, Lancet.1976; 1 (7959): 586.
- 15-Vandejagt DJ , Garry PJ, Bhagavon HN. Ascorbate and dehydroascorbate distribution in mononuclear cells of healthy elderly people, Am J Clin Nutr,1981; 49:511-6.

- 16-Cameon E , Pauling L. Ascorbic acid and cancer, *Cancer Res.*1979; 39:663.
- 17-Hegsted D.M ,et al The function of ascorbic acid in collagen formation, *Nutr. Rev.* 1978;36 (4): 118.
- 18-Orten J M, Neuhaus O W. Human Biochemistry.1975;588, 9th. ed., The CV Mosby Comp, 588.
- 19-Beattie AD, Sherlock S. Ascorbic acid deficiency in liver disease, *Gut* 1976; 571.
- 20-Anderson T W. New horizons for vitamin C, *Nutr Today.*1977; 12:6-13.
- 21-Ratnam AV, Sastry P B. (1977) Ascorbic acid and melanogenesis, *Br J Dermatol.* 1977; 97 (2): 201.
- 22-Moore MR, Rohatgi S. Prenatal and postnatal maternal leucocyte ascorbic acid concentrations, *Br J Obstet Gynaecol.*1979; 86 (4): 293.
- 23-Hepsted D M et al. Vitamin C and phagocyte function, *Nutr Rev.*1978 36 (6): 183.
- 24-Banerjee S, Singh H D. Adrenal cortical activity in scorbutic monkeys and guinea pigs, *Am J Physiol.*1957; 190:265.
- 25-Clayton B E, Hammnai JE. Increased adrenocorticotrophic hormone in the sera of acutely scorbutic quinea pigs, *J Endocrinol.*1957; 15:284.
- 26-Clayton B E, Frunty FTG. Relation of adrenal cortical function to scurvy in quinea pigs. *Br Med J.*1951 ;2:927.
- 27-Rivers J M. Oral contraceptives and ascorbic acid. *Am J Clin.*1975; 28 (5): 550.
- 28-Anderson T W et al. Vitamin C and serum-cholesterol. *Lancet.*1972; 2 (7782) : 876.
- 29-Davies J D G, Newson J. Ascorbic acid and cholesterol levels in pastoral peoples in Kenya, *Am J Clin Nutr.*1974; 27 (10): 1039.
- 30-Ginter E. Decline of coroner mortality in the United States and vitamin C. *Am J Clin Nutr.*1979; 32 (3) : 511.
- 31-Kritchevsky D. Vitamin C and cholesterol catabolism. *Nutr Rev.*1974;32 (3):96.
- 32-Peterson V E, Crapo P A. (1975) Quantification of plasma cholesterol and triglyceride levels in hypercholesterolemic subjects receiving ascorbic acid supplements. *Am J Clin Nutr.* 1975; 28 (6):584.
- 33-Yenson M. (1981) İnsan Biokimyası.1981; 4. baskı, 633, Çeliker Matbaacılık.
- 34-Brings M. Vitamin C induced hyperoxaluria. *Lancet.*1976; 1 (7951): 154.
- 35-Roth D A, Breitenfeld R V. Vitamin C and oxalate stones, *Jama.*

1977;237:768.

36-Arbol J L D. Ascorbic acid and uricosuria. *Ann Intern Med.*1976; 85 (6): 829.

37-Migliozzi J A. Effect of ascorbic acid on tumor growth. *Br J Cancer.*1977; 35 (4): 448.

38-Stich H F et al. Mutogenic action of ascorbic acid. *Nature.*1976; 260:722.

39-Vallance S. Relationships between ascorbic acid and serum proteins of the immune system. *Br Med J.*1977; 2:437.

40-Schorah C J, Newill A. Clinical effects of vitamin C in elderly inpatients with low blood-vitamin-C-levels. *Lancet.* 1979;1 (8113):403.

41-Maya C E, Shah S, Sodeman T M. The erythrocyte In: Sodeman WA, Sodeman TM. *Pathologic physiology.*1985; 648-704, Saunders Company. Philadelphia.

42-Rivers J M. Plasma ascorbic acid and oral contraceptives. *Am J Clin Nutr.*1972; 25:684.

43-Mc Cormick D B, Greene H L. Vitamins In: Burtis CA, Ashwood ER, Tietz *Textbook of Clinical Chemistry*,1994 2 ed., W. B. Saunders Company, USA, 1275-1316.

44-Briggs M, et al. Vitamin C requirements and oral contraceptives. *Nature.*1972; 238:277.

45-Harris A B, et al. Vitamins and oral contraceptives. *Lancet.*1975; 2 (7924): 82.

46-Andrzejewski S A. Studies on the toxicity of tobacco and tobacco smoke, *Acta Med Pol.*1966; 5:407.

47-Hoefel O S. Plasma vitamin C levels in smokers, In: Hanck A, Ritzel G. *Reevaluation of vitamin C*, Bern Switzerland, Verlag Hans Huber,1977; 127.

48-Pelletier O. Vitamin C status of cigarette smokers and nonsmokers. *Am J Clin Nutr.*1970; 23:520.

49-Pelletier O. Vitamin C and tobacco, In: Hanck A, Ritzel G. *Re-evaluation of vitamin C*, Bern, Switzerland, Verlag Hans Huber.1977; 147.

50-Kyaw A. A simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clin Chem Acta.*1978; 86 (2): 153.

51-Wallach J. Çevirenler: Vidinel I, Aysan T. *Klinik Tanıda Laboratuvar Testleri* . 1981;2. baskı, 451, Ege Üniversitesi Matbaası.

52-Ganong W.F. *Review of medical physiology.*1989; Appleton-Lange. Lebanon, 67-93, 436-458.

53-Guyton A.C. *Textbook of medical physiology.*1986; 42-59. 545-561, WB Saunders Comp., Philadelphia.

- 54-King, M.E. Cholinesterase In: Kaplan LA, Pence AJ, Clinical Chemistry, The CV Mosby Comp St Louis,1984; 1108-1111.
- 55-Aras K. Teorik ve Klinik Enzimoloji.1975; 1-126, Ankara Ün. Tıp Fakültesi Basımevi, Ankara.
- 56-Moss W.D, Henderson R, Kachmar J. Enzymes In. Tietz NW. Textbook of clinical chemistry, 1986;619-774., Philadelphia.
- 57-Noyan A. Fizyoloji ders kitabı.1988; 666-668, Meteksan Ltd Şti., Ankara.
- 58-Herz F, Kaplan E.A. Human erythrocyte acetylcholinesterase, Pediatric Res. 1973; 7: 204-214.
- 59-Kutty K.M, Jacop J.C. Serum cholinesterase activity in hyperlipidemia and the in vitro effect for isoniazid on serum cholinesterase, Canadian of Biochemistry, 1972;50:32-34.
- 60-Augustisson K.B, Eriksson H, Faijersson Y.A. A new apporoach to determining cholinesterase activities in samples whole blood, Clin Chem Acta . 1978; 89:239-252.
- 61-Taylor P. Anticholinesterase agents. In: Gilman GA, Rall TV, Nies AS, et al. The pharmacological basis of therapeutic.1991; 1:131-147, Pergamon Press., New York.
- 62-Terzioğlu M, Çakar L. Fizyoloji ders kitabı 1989; 1:96-100, İstanbul Ün. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları, İstanbul.
- 63-Barenghi L, Ceriotti F, Ruzzano M. et al. Measurement of ertthrocyte acetylcholinesterase and plasma cholinesterase activity by a differantial pH technique, Ann Clin Biochem.1986; 23:588-545.
- 64-King J. Cholinesterase E.C. (3.1.1.8) In: Curtius H, Roth M. Clinical Biochemistry.1974; 2: 1161-1164, Walter de Gruyter, Berlin.
- 65-Lewis P.J, Lowing R.K, Gompertz D. Automated discrete kinetic method for erythrocytes acetylcholinesterase and plasma cholinesterase, Clin Chem.1981; 27/6: 926-929.
- 66-Wallach J. Interpration of diagnostic test.1978; 13,63.305-309, Little Brown Comp, Boston.
- 67-Schröter W. Erythrocyte Enzymes in Curtiu 1974, H., Roth M, Clinical biochemistry V.II Walter de Gruyter, 1178-1204, Berlin.
- 68-Kutty K.M, Jain R, Huang S.N. et al. Serum pseudocholinesterase: High density lipoprotein as an index of risk for cardiovascular disease, Clin. Chim. Acta,1981; 115: 55-61.

- 69-Kutty K.M , Jacop J.C. Serum cholinesterase activity in hyperlipidemia and the in vitro effect for isoniazid on serum cholinesterase, Canadian of Biochemistry.1972; 50: 32-34.
- 70-Kutty K.M , Redheendran R, Murphy D. Serum cholinesterase fonction in lipoprotein metabolism, Experientia.1977; 33/ 4, 420-423.
- 71-Aras K. Teorik ve Klinik Enzimoloji.1988; 1-126, Ankara Ün., Tıp Fakültesi Basımevi ., Ankara.
- 72-Haffner S. M , Fong D, Hazuda H.P, Pugh J.A, Patterson J.K. Hyperinsulinemia, upper body adiposity and cardiovascular risk factors in nondiabetic. Metabolism.1988; 37/ 4, 338-345.
- 73-George P.M, Abernethy M.H. Improved Elmann procedure for erythrocyte cholinesterase, Clin Chem.1983; 29/2. 365-368.
- 74-Magnothi R, Dowling K, Eberty J.P, et al Field measuremenet of plasma and erythrocyte cholinesterase, Clin Chem Acta.1988; 315:315-332.
- 75-Tietz N.W, Logan N.W. Appendix In: Tietz NW., Textbook of clinical chemistry.1986; 1788-1857, WB Saunders Company, Philadelphia.
- 76-Abernethy M.H, Flizperald H.P , Ahem K.M. An enzymatic method for erythrocytes acetylcholinesterase, Clin Chem.1988; 34 (6): 1055-1057.
- 77-Cessas P.L, Turcant A, Allain P. Automed determination of colinesterase activity in plasma and erythrocytes by flow injection analysis and application to identify subject sensitive to suocynlcholine, Clin Chem.1989; 35/1.77-80.
- 78-Chu M.F, Fontaine P, Kutty K.M, et al. Cholinesterase in serum and low density lipoprotein of hyperlipidemic patients, Clin Chem Acta.1978; 85:55-59.
- 79-Jain R, Kutty K.M, Huang S.N, et al. Pseudocholinesterase / high density lipoprotein cholesterol ratio in serum of normal persons and of hyperlipoproteinemies, Clin Chem.1983; 29/6.1031-1033.
- 80-Kutty K.M , Jain R , Huang S.N , et al. Serum pseudocholinesterase: High density lipoprotein as an index of risk for cardiovascular diseases, Clin Chim Acta. 1981;115:55-61.
- 81-Lepage L, Schicle F, Guegnen R, et al. Total cholinesterase in plasma biological variation and referance limits, Clin Chem.1985; 31 (4): 546-550.
- 82-Areekul S, Hathirat P, Pongpanich P, et al. Erithrocyte acetylcholinesterase activity in patients with congenital heart disease, J Med Ass Thailand. 1984; 67 (5). 310-312.
- 83-Erslev A.J. Clinical manifestation of erythrocyte disorders In: Williams WJ,

Beutler E, Erslev AJ, et al., Hematology. 1986; 58-63, Mc Graw-Hill Book, New York.

84-Tietz N.W, Finley P.R , Pruden E.L. Clinical guide to laboratory test., 12-13, 1990; 96-97, 126-127, 444-445, 483-485; WB Saunders Comp., Philedelphia.

85-Dietz A.A, Rubinstein H.M, Lubrano T, et al. Colorimetrik determination of serum cholinesterase and its genetic variants by the propiony thiocholine dithiobis (nitrobenzoic acid) procedure, Clin Chem. 1973; 19/11.1309-1313.

86-Kayaalp O. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji.1989; 3.2160-2170, Feryal matbaacılık, Ankara.

87-Kutty K.M , Chandra R.K, Chandra S. Acetylcholinesterase in erythrocytes and lymphocytes : Its contribution to cell membrane structure and function, Experientia. 1976; 32/3:289-291.

88-Magnotti R.A, Eberly P, Quar D E A, et al. Measurement of acetylcholinesterase in erythrocytes in the field, Clin Chem.1987; 33/10:1731-35.

89-Wehling K, Frank G , Kollert W, et al. Determination of cholinesterase in whole blood using the compur M 2000 Photometer, Clin Chem.1984; 30/6:1060.

90-Vorhaus L, Kark RM. Serum cholinesterase in health and disease, Am J Med.1953; 707-719.

91-Cucianu M, Opincaru A, Tapalaga D. Similar Behaviour of lecithin cholesterol acyltransferase and pseudocholinesterase in liver disease and hyperlipoproteinemia, Clin Chim Acta.1978; 85.73-79.

92-Cucianu M, Popescu T.A, Opincaru A, et al. Serum pseudocholinesterase and ceruloplasmin in varios types of hyperlipoproteinemia, Clin Chem Acta.1975; 59.19-27.

93-Heragus S.N, Cucianu M, Missits P. Serum cholinesterase and euglobulin lysis time in chronic cor pulmonale, BMJ. 1969; 31.447-450.

94-Thompson J.V, Whittaker M. Pseudocholinesterase activity in tyroid disease, J Clin Pathology.1965;18:811-813.

95-Balistrei W.F, Shaw L.M. Liver function In: Tietz NW. Textbook of Clinical Chemistry, WB Saunders Company., Philedelphia.1986; 1373-1433.

96-Aksoy M. Hematoloji 1, Eritrosit hastalıkları, anemiler ve polisitemiler, Sermet matbaası.1975;37-38.

97-Bilge M. Alyuvarlar, anemi ve polisitemi. 1977; 1:89-101, Güven kitabevi, Ankara.

98-Bessiss M, Lessin L.S, Beutler E. Morphology of the erythron In: Williams

WJ, Beutler E, Erslev AJ, et al., Hematology.1986; 257-279, Mc Graw Hill Book Comp., New York.

99-Kutty K.M, Huang S.N, Kean K.T. Pseudocholinesterase in obesity Hipercoloric diet induced changein Experientia.1981; 37:1141-1142.

100-Kutty K.M, Redheendran D.) Serum cholinesterase function in lipoprotein metabolism., Experientia.1977; 33/4:420-423.

101-Fairbanks V.F, Klee G.G. Biochemical aspect of hematology, In: Tietz NW. Textbook of clinical chemistry.1986; 1495-1513, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

102-Baggiolini M. The neutrophil, in the cell biology of inflammation, edited by C Weissman. Elsevier, North-Holland, New-York.1980;163.

103-Evans R M, Currie L, Campbell A. The distrubition of askorbic acid between various cellular components of blood, in normal individuals, and its relation to the plasma concentration. Br. J. Nutr.1982; 47:473-82.

104-Vera J.C, Rivas C.I, Zhang R H, Farber C M, Golde D W. Human HL-60 myeloid leukomia cells transport dehydroascorbic acid via the glucose transporters and accumulate reduced askorbic acid, Blood, Sep.1994; 1:84(5): 1628-34.

105-Washko P W, Wang Y, Leuine M. Ascorbic acid recycling in human neutrophils, J Biol Chem. 1993; Jul 25; 268 (21):15531-5.

106-Bagdade J D, Root R K, Bulger R J. Impaired leukocyte function in patients with poorly controlled diabetes, Diabetes.1974; 23:9-15.

107-Bakan E. Diabetli hasta n trofillerinde fagostik indeks ile plazma membran proteinlerinin glikozillenmesi arasındaki ilişki, Atat rk  niversitesi Tıp Fak. Biyokimya ABD Doktora Tezi, Erzurum.1985.

108-Markert M, Andrews P C, Babior B M. Methods Enzymol. 1984; 105:358-365.

109-Stankova L, Riddle M, Larned J, Burry K, Menashe D, Hart J, Bigley R. Plasma Ascorbate Concentration and Blood Cells Dehydroascorbate transport in Patients with Diabetes Mellitus, Metabolism. 1984; Vol 33, April: 347-53.

110-Malekpur A, King M E, Brown B, et al. Simultaneous kinetic assay of serum and erythrocyte cholinesterase, Clin Chem.1984; 30/6: 1060.

111-Robert A Jacob, PhD; James H Skala, PhD; and Stanley T Omaye, PhD. Am J Clin Nutr 1987; 47:818-26.

112-G k  en M , : şişman zayıf ve normal kişilerde PCHE ve EACH enzim aktiv terleri, (Y ksek Lisans Tezi) 1992. S. . Sağlık Bilimleri Enstit s , Konya.

- 113-Sauberlich HE, Dowdy RP, Skala JH. Laboratory tests for the assessment of nutritional status . Boca Raton, FL: CRP press inc, 1974 .
- 114-Nutrition Canada. Nutrition Canada interpetive standards national survey. Ottawa: Information Canada,1973.
- 115-Steele BF, Hsu CH, Pierce HZ, Williams HH. Ascorbic acid nutriture in the human. Tyrosine metabolism and blood levels of askorbic acid during ascorbic acid depletion and repletion . J Nutr 1952;48:49-59.
- 116-Alison Newill, N. Habibzadeh, N Bishop and J Schorah. Plasma levels of vitamin C Components in normal and diabetic subjects. Ann Clin Biochem 1984; 21:488-490.
- 117-Som S, Basu S, Mukherjee D, et al. Ascorbic acid metabolism in diabetes mellitus. Metabolism 1981; 30:572-6.
- 118- Chatterjee IB, Banerjee A. Estimation of dehydroaskorbic acid in the blood of diabetic patients. Analyt Biochem. 1979; 98:368-74.
- 119-Banerjee A. Blood dehydroaskorbic acid and diabetes mellitus in human beings. Ann Clin Biochem 1982; 18:65-70.