

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

ELAZIĞ YÖRESİNDE BULUNAN KOYUN IRKLARININ
CİNSİYETE GÖRE ERİTROSİT ARGİNAZ
AKTİVİTELERİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİZEM ASLAN

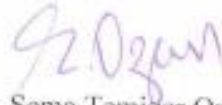
ELAZIĞ-2016

ONAY SAYFASI

Prof.Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimler Enstitü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Sema Temizer Ozan

Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Necmi Özdemir

Danışman



Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. P. Sema Temizer OZAN

Prof. Dr. Necmi ÖZDEMİR

Doç. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca gerek tez konumun seçiminde, gerekse araştırmalarımın her aşamasında ilgisini ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Necmi ÖZDEMİR' e, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım anabilim dalımız kıymetli Öğretim Üyeleri Prof. Dr. P. Sema Temizer OZAN, Prof. Dr. Seval YILMAZ, Prof. Dr. Mine ERİŞİR, Yrd. Doç. Dr. Gonca Ozan'a; ayrıca çalışma süreci boyunca laboratuvarında yardımlarını esirgemeyen Araştırma Görevlileri Mehmet Ali KISAÇAM ve Emre KAYA' ya katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	4
3.1. Üre Sentezi.....	4
3.2. Amonyak Metabolizması	6
3.2.1. Amonyak Kaynakları	7
3.3. Üre Döngüsü	8
3.3.1. Üre Döngüsünün Reaksiyonları.....	9
3.4. Arginaz Enzimi ve Özellikleri.....	10
4. GEREÇ VE YÖNTEM	20
4.1. Kimyasal Maddeler.....	20
4.2. Kullanılan Cihazlar.....	20
4.3. Yöntemler.....	21
4.3.1. Arginaz Aktivitesinin TDMU Yöntemiyle Ölçülmesi	21
4.3.1.1. Kullanılan Ayraçlar	21

4.3.1.2. Arginaz Aktivitesinin Ölçümü	23
4.3.1.3. Arginaz Aktivitesinin Hesaplanması	24
4.3.2. Hemoglobin Tayini:	25
4.3.2.1. Kullanılan Ayıraçlar	25
5. BULGULAR.....	26
5.1. Arginaz için Normallik testleri.....	26
5.1.2. Arginaz Parametresi için Tanımlayıcı Grup İstatistikleri.....	27
5.2. % gr Hemoglobin İçin Analizler	28
5.2.1. % gr Hemoglobin Parametresi için Normallik testleri	28
5.2.2. % gr Hemoglobin Parametresi için Tanımlayıcı Grup İstatistikleri	29
6. TARTIŞMA.....	32
KAYNAKÇA.....	36
ÖZGEÇMİŞ	44

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Azotun amino asitlerden üreye geçişi.	5
Şekil 2. Karaciğerdeki amonyak metabolizmasının genel şeması	7
Şekil 3. Üre döngüsü.....	10
Şekil 4. Arginazın hidrolize ettiği argininden ornitin ve üre oluşumu	11
Şekil 5. TDMU metodu için üre standart eğrisi	24

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Irkların arginaz için normallik testlerinin yapılması	26
Tablo 2. Irkların cinsiyetlerine göre arginaz aktivitesi için tanımlayıcı grup istatistiklerinin bulunması	27
Tablo 3. Tüm ırklar için % gr hemoglobin parametresi normallik testi.....	29
Tablo 4. Irkların cinsiyetlerine göre hemoglobin düzeylerinin belirlenmesi	30

KISALTMALAR LİSTESİ

AGA	: N-Asetil glutamin
ATP	: Adenozin tri fosfat
C₂H₈N₂O₄	: Amonyum okzalat
DAM	: Diasetilmonoksim
EEG	: Elektroensefologram
H₂SO₄	: Sülfürik asit
K₂C₂O₄	: Potasyum okzalat
KCN	: Potasyum siyanür
K₃Fe(Cn)₆	: Potasyum ferrisiyanür
MnCl₂	: Mangan klorür
NH₃	: Amonyak
NH₄	: Amonyum
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
NEM	: N- Etil Maleimid
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NaHCO₃	: Sodyum bikarbonat
p-CMBA	: Para kloromerküri benzoik asit
TDMU	: Tiyosemikarbazid diasetilmonoksim üre
TSC	: Tiyosemikarbazid
Hb	: Hemoglobin
NaCl	: Sodyum Klorür

1. ÖZET

Bu çalışmada Elazığ ilinde bulunan Akkaraman, Morkaraman ve İvesi koyun ırklarının erkek ve dişi gruplarının eritrositlerindeki arginaz enzim aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Koyun ırklarından elde edilmiş kanların eritrosit arginaz aktivitesi Tiyosemikarbazid Diasetilmonoksim Üre (TDMU) metodu ile ölçülmüştür. Hemoglobın miktarını tespit etmek için Drabkin metodu kullanılmıştır.

Arginaz (E.C.3.5.3.1.) Krebs-Henseleit üre döngüsünün son basamağını katalize eden bir enzim olup, arginini üre ve ornitine dönüştürmektedir. Eritrositler; üre döngüsü ile üre sentez edememelerine rağmen insan, sığır ve koyun eritrositlerinde aktif bir arginazın varlığına rastlanmıştır.

Bütün gruplar için yapılan arginaz normallik testlerine göre p değerleri 0.05'den büyük olduğu için tüm gruplar normal dağılımlı bulunmuştur. Tüm ırklar için erkek ve dişi arginaz aktiviteleri analiz edildiğinde Akkaraman erkeklerinin arginaz aktivitelerinin dişilere oranla daha yüksek olduğu bulunmuşken, Morkaraman erkeklerinin arginaz aktivitelerinin dişilere oranla daha düşük olduğu görülmüştür. İvesi erkeklerinin ise arginaz aktivitelerinin dişilere oranla daha düşük olduğu yapılan çalışmalar neticesinde tespit edilmiştir. Tüm ırklar için cinsiyetler arasındaki arginaz aktivitesi farklılığının istatistiksel olarak anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Arginaz, üre, eritrosit, Akkaraman, Morkaraman, İvesi, arginin, üre döngüsü

2. ABSTRACT

ERYTHROCYTE ARGINASE ACTIVITIES AND COMPARISON BY GENDER OF SHEEP BREEDS IN THE ELAZIG REGION

This study aims to make a comparison of the arginase enzyme levels in the erythrocytes of the male and female groups of Akkaraman, Morkaraman, and İvesi sheep races in Elazığ province. The erythrocyte arginase activities of the blood samples taken from the sheep races were measured through Thiosemicarbazide Diacetyl Monoxime Urea (TDMU) method. Hemoglobin was determined through Hemoglobin cyanide method.

Arginase (E.C.3.5.3.1.) is an enzyme catalyzing the last stage of the Krebs-Henseleit urea cycle and transforming arginine into urea and ornithine. Though erythrocytes cannot synthesize urea through urea cycle, an active arginase was confronted in human, cattle, and sheep erythrocytes.

As all p values were found to be over 0.05 in the normality tests carried out for all groups, a statistically significant difference was found between the groups.

When we analyze the all tribes male and female arginase activities, we have found that Akkaraman male group arginase activity was higher than the female group however Morkaraman male group arginase activities were detected to be lower than the female group. Also the İvesi group of male arginase activities were found to be lower in comparison to the female groups at the end of the studies performed earlier.

It has been concluded that, the arginase activity difference between the genders for all the tribes was statistically significant.

Key words: Arginase, urea, erythrocyte, Akkaraman, Morkaraman, İvesi, arginine, urea cycle

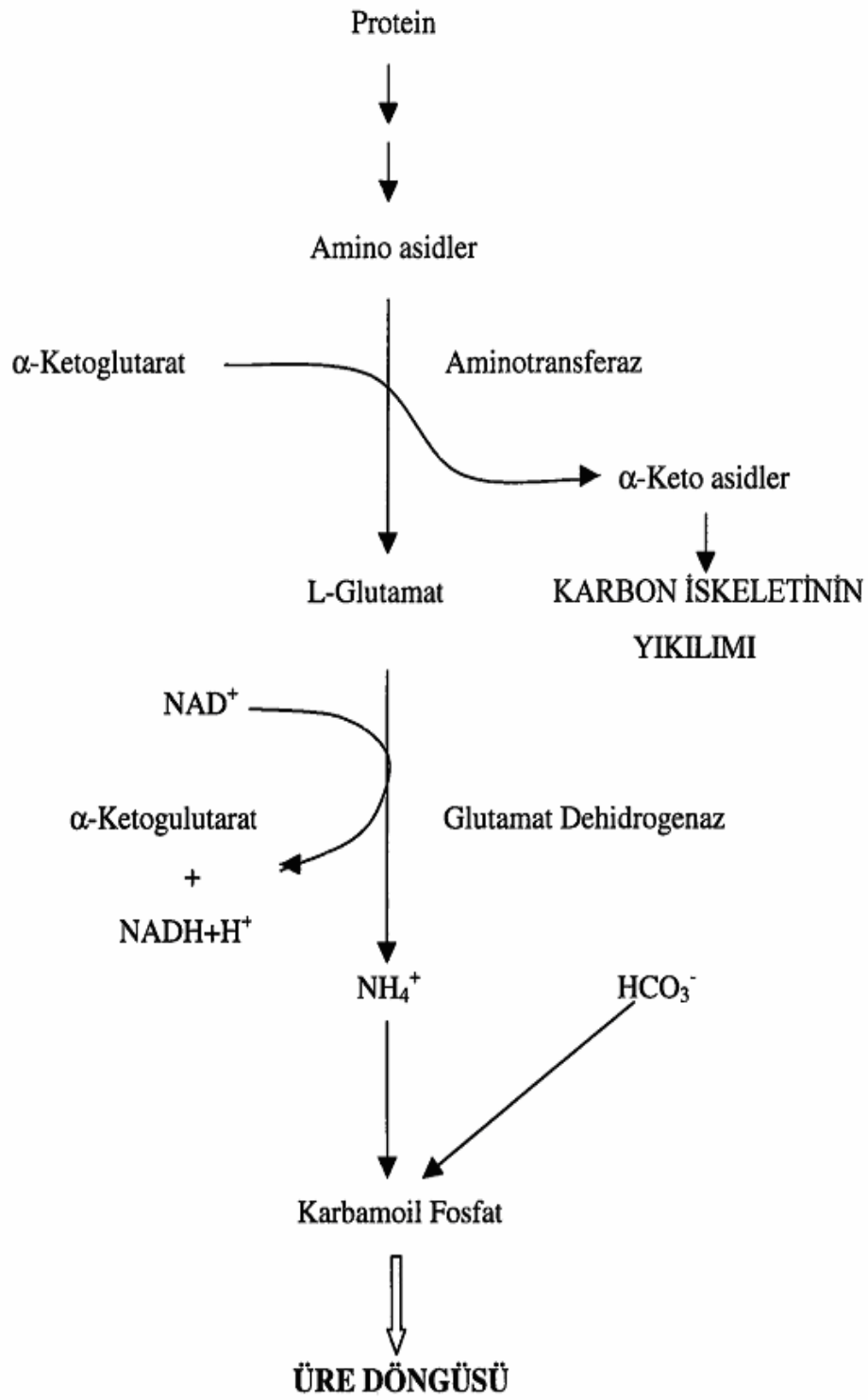
3. GİRİŞ

3.1. Üre Sentezi

Omurgalılarda besinlerle alınan amino asitlerin büyük bir çoğunluğu protein halinde alınmaktadır. Metabolik yollara girebilmesi için serbest amino asitlerin peptit ve proteinden ayrılmış olması gerekmektedir. Bundan dolayı besinler tarafından alınan proteinlerin gastrointestinal kanalda proteolitik enzimler tarafından hidrolize edilerek ,serbest amino asitlere ayrılmış olması gereklidir (1).

Üre sentezi mitokondride başlayıp, sitozolde son bulmaktadır. Üre, argininden arginaz ile açığa çıkmakta ve idrar yoluyla atılmaktadır. Diğer ortaya çıkan ürün olan ornitin de tekrar döngüye katılmak üzere mitokondriye taşınır ve karbamoil fosfatla birleşmesi sonucu sitrullin oluşur (2).

Üre sentezine ilk giren amino grubunun kaynağı, karaciğer hücrelerinin mitokondrilerinde ki glutamat dehidrogenaz enziminin faaliyeti sonucunda, glutamatın oksidatif deaminasyonu ile ortaya çıkan serbest amonyaktır (3). Üre döngüsü için ise karbamoil fosfat ve sitrullin sentezi, sonra da arjininosüksinat, arginin ve sonuçta da üre sentezi ile sonuçlanmaktadır. Döngünün fonksiyonu aminoasitlerin yıkımı ile ortaya çıkan fazla amonyağın uzaklaştırılmasıdır (4).



Şekil 1. Azotun amino asitlerden üreye geçişi (5).

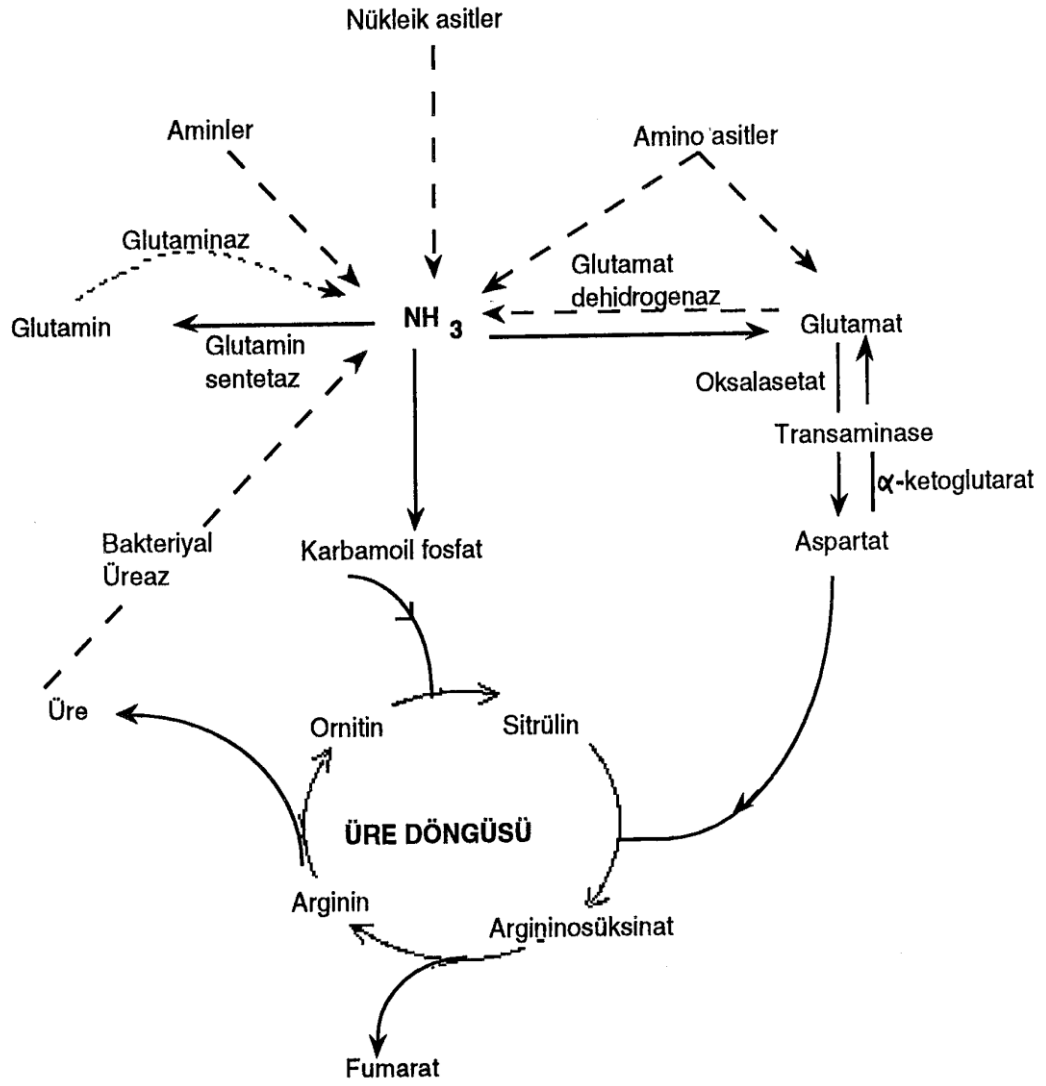
3.2. Amonyak Metabolizması

Amino asitlerin yıkımı esnasında açığa çıkan amonyak çok toksik olduğu için en kısa zamanda organizmadan uzaklaştırılır (Şekil 1). Canlılar amino asit ve diğer kaynaklardan gelen azotu amonyak, ürik asit ve üreden bir tanesine çevirirler. Azot metabolizması son ürünlerine göre canlılar üç grupta toplanmaktadır.

1-Amonotelik Grup: Kemikli balıklar amonyağı bir değişikliğe uğratmadan amonyak halinde dışarı atarlar.

2-Ürikotelik Grup: Kuşlar ve su almaları oldukça kısıtlı olan sürüngenler amonyağı üreye göre suda daha az çözünen ürik asit halinde atarlar.

3-Üreotelik Grup: Kara hayatına uyum göstermiş bir çok omurgalı, amonyağı üre halinde dışarı atar. Üre, bir döngü sonucunda argininin arginaz ile hidrolizinden oluşmaktadır. Üre döngüsü her hücrede bulunmamaktadır. Üre sentezinin önemli bir kısmı karaciğerde meydana gelir (6).



Şekil 2. Karaciğerdeki Amonyak Metabolizmasının Genel Şeması (7).

3.2.1. Amonyak Kaynakları

Amonyak çeşitli bileşenlerin metabolizması sonucu oluşmaktadır. Amonyanın en önemli kaynağı aminoasitlerdir. Bunun sebebi özellikle diyetler protein yönünden zengindir ve fazla miktarda amino asit alınır. Amino asitlerin deamine edilmesi sonucu amonyak oluşmaktadır.

1-Amino asitler: Bir çok doku özellikle karaciğer, aminotransferaz ve glutamat dehidrogenaz reaksiyonlarıyla amino asitlerden amonyak üretir.

2- Glutamin: Böbrekler renal glutaminazın etkisiyle glutaminden amonyak elde eder. Bu amonyağın çoğu idrarla NH_4^+ olarak atılır. Amonyak aynı zamanda glutaminin intestinal glutaminaz tarafından hidrolizi ile elde edilir.

3- Bağırsaklardaki bakterilerin etkisi: Amonyak, bağırsak lümenindeki ürenin bakteriyel yıkımı ile oluşur. Portal vene geçen amonyağın nerdeyse tamamı daha sonra karaciğerde tekrar üreye dönmektedir.

4- Aminler: Besinlerle veya hormon ve nörotransmitterler gibi görev yapan monoaminlerden elde edilen aminler amin oksidaz enziminin katalizi ile amonyağa dönüşmektedir.

5- Pürin ve pirimidinler: Pürin ve pirimidin katabolizmasında, halkalardaki amino grupları amonyak olarak çevrilir (8).

3.3. Üre Döngüsü

Serbest amonyak çok toksik bir maddedir ve organizma için de aynı zamanda çok tehlikelidir. Protein metabolizması sonunda amino asitlerden doğrudan doğruya ya da dolaylı olarak deaminasyon ve transaminasyon yolları ile ayrılan amonyak çeşitli amaçlar için kullanılır. Bu şekilde de organizma için tehlikesiz hale getirilir. Kullanış amaçları içinde en önemlileri keto asitlerin amino asitlere çevrilmesi ve organizmada çeşitli kimyasal olaylar sırasında serbest kalan asitlerle nötrleşmesi olayıdır. Geri kalan amonyak ise çeşitli yollardan ve çeşitli biçimlerde organizmadan atılır (9).

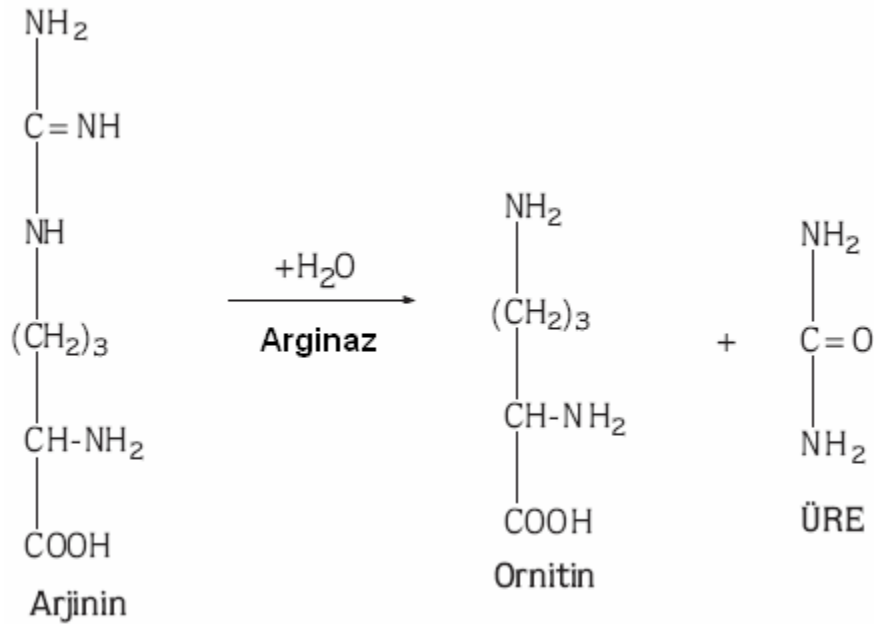
3.3.1. Üre Döngüsünün Reaksiyonları

Organizmada üre oluşumu Amonyak (NH_3) ile metabolizma ürünü olarak kanda bulunan CO_2 'in birleşmesiyle meydana gelmektedir. Üre siklusu, temel maddesi ornitin olduğu için ornitin siklusu yada bulanın adına izafeten Krebs-Henseleit siklusu adı da verilir (Şekil 2).

Siklusta ilk olay ornitin'in karbamil fosfattan NH_3 ve CO_2 olarak sitrüllin oluşturmasıdır. Ancak karbamil fosfat'ın oluşumu basamaklı olarak gerçekleşmektedir. İlk olarak NH_3 metabolizma ürünü olan CO_2 ile birleşerek karbamik asidi meydana getirir. Bu reaksiyonda CO_2 vericisi olarak N-Asetil Glutamik asitten (AGA) yararlanır. Daha sonra karbamik asit ATP'den fosfat alarak karbamil fosfatı meydana gelir. Karbamil fosfatın meydana gelebilmesi için karbamil-fosfat-sentetaz enzimine gereksinim vardır. Karbamil fosfatta ornitin ile transkarbamilaz enziminin katalizörlüğü altında reaksiyona girerek sitrüllini oluşturur. Ayrıca bu reaksiyonun gerçekleşmesi için biyotin'e de gerek vardır. Daha sonra meydana gelen sitrüllin, aspartik asit ile reaksiyona girerek, arginosüksinik asit'i oluşturur. Bu reaksiyonun gerçekleşmesi için ATP'ye ve Mg^{++} iyonlarına gereksinim vardır. Aynı zamanda da bir mol su kaybı olur. Oluşan arginosüksinik asit, arginisüksinaz enziminin katalizörlüğü altında, fumarik asit ve arginine parçalanır. Arginin ise su alarak arginaz enzimi aracılığı ile ornitin ve üreye ayrılır ve döngü tamamlanır (9).

Üre karaciğerden kana geçerek böbreklere taşınır ve böbreklerde süzülüp idrarla atılır. Karaciğerde sentezlenen ürenin bir kısmı kandan bağırsaklara geçip, CO_2 ve NH_3 'a parçalanır. Bu amonyak kısmen feçesle çıkar, kısmen de kana reabsorbe olur (10).

ve L-ornitine hidrolize olmasını katalizler. Arginazın A1 ve A2 olmak üzere iki tip izoformu bulunmaktadır. Bunlardan A1 (hepatik arginaz) sitoplazmik kökenli ve ağırlıklı olarak karaciğerde bulunurken, A2 (ekstrahepatik arginaz) ise mitokondriler içinde yerleşim göstermektedir (13,14). A1 üre sentezi ve amonyağın zehirsizleştirilmesi ile sorumludur. A2 ise ornitin, prolin, glutamat gibi biyosentetik fonksiyonlarla ilişkilidir (13). Bu iki izoformun üç boyutlu kristal yapılarının ise aynı olduğu tespit edilmiştir (15).



Şekil 4. Arginazın hidrolize ettiği argininden ornitin ve üre oluşumu

Arginaz yönünden en zengin olan organ üre döngüsünün bulunduğu karaciğerdir (16,17). Karaciğer dokusu dışında eritrosit, tükürük bezi, beyin, tiroid bezi, fibroblast, makrofaj, bağırsak, uterus, testis, meme dokusu, bronj lavaj sıvısı, böbrek, rumen, iskelet kası gibi üre döngüsünün görülmediği ekstrahepatik dokularda da arginaz enzimine rastlanmıştır (5,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28). Serumda arginaz aktivitesi saptanmış olmasına rağmen aktivite düzeyi oldukça

düşük bulunmuştur. Eritrosit arginaz aktivitesi serumun yaklaşık 200 katı kadar fazla olmaktadır (29,30). Üre döngüsünün görülmesi veya görülmemesi arginazın biyokimyasal rolüne etki etmektedir (31). Arginazın üre döngüsünün olmadığı dokulardaki görevi prolin, glutamat ve poliamin biyosentezi için gerekli olan ornitinin kaynağını sağlamaktır (32). Poliamin biyosentezinde başlangıç enzimi olan arginaz ve oluşan ornitin, ornitin dekarboksilaz enzimi ile putressine dönüşmekte, putressin ise sonrasında spermin ve spermidin sentezine katılmaktadır. Poliaminler hücre büyümesi ve farklılaşması adına önemli biyomoleküllerdir (33,34). Arginaz enziminin varlığı bakteriden insana kadar (*Neurospora crassa*, *Saccharomyces cerevisiae*, solucan, *Bacillus anthracis*, *M. Expansa*, salyangoz, kertenkele, fare, tavşan, at, domuz, sığır, maymun, köpek, balık, insan) oldukça geniş bir dağılım içindedir (35,36,20). Buna karşılık tavuk ve keçi eritrositlerinde arginaz enzimi saptanamamıştır. Ozan ve ark' ları, tavuk eritrositlerinde argininin varlığını belirtmelerine rağmen ölçülebilir bir seviyede arginaz aktivitesi olmadığını bildirmişler ve bunun da tavuk eritrositlerinde çekirdek olmamasından kaynaklandığı kanısına varmışlardır (37). Arginaz enziminin yalnızca üreotelik canlılarda bulunmayıp, bazı ürikotelik canlılarda ve bitkilerde varlığı tespit edilmiştir (38, 39,40).

İnsan dokularından izole edilmiş olan izoenzimler 120.000 ± 5000 dalton molekül ağırlığında bulunmuştur (41). Molekül ağırlıkları ise 39.200 ± 400 dalton olan üç subünitenin bir araya gelmesiyle oluşan trimetrik bir yapı olduğu tespit edilmiştir (42,23). Farklı memelilerin karaciğerlerinde yapılan araştırmalarda ise arginaz enziminin, moleküler ağırlıkları 38.500 – 39.700 dalton olan subünitelerin

bir araya gelmesi ile molekül ağırlığı 110.000 -150.000 dalton olan tetrametrik bir molekül olduğu saptanmıştır (42,43,44,45).

Arginaz enziminin izoenzimlerini tespit etmek amacıyla, çeşitli yöntemlerle yapılan çalışmalar neticesinde enzimin 5 izoenzimi saptanmış ve bu enzimlerin hücre içi yerleşimlerinin farklı olduğu gözlenmiştir (46,24,47,48).

Dokulara göre izoenzimlerin dağılımı şöyledir (7,49,8).

Karaciğer	(A ₁ ,A ₂ ,A ₃ ,A ₅)
Meme bezi	(A ₁ ,A ₂)
Eritrosit	(A ₂ ,A ₄)
Böbrek, bağırsak, beyin	(A ₁ ,A ₄)
Fibroblast	(A ₁ ,A ₂ ,A ₃)
Tükürük ve parotis bezi	(A ₁)
Submaksillar tükürük bezi	(A ₃)
Plasenta villisi	(A ₁ ,A ₂)

İnsan dokularında da arginazın 5 izoenzimi olan A₁, A₂, A₃, A₄, A₅ tespit edilmiştir. Bu izoenzimlerin hepsi bazik protein yapısında bulunmaktadır ve izoelektrik noktaları 7.1- 9.3 arasında değişiklik göstermektedir (48). 5 izoenzimin hücre içi yerleşiminde de değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Karaciğer için ana form olan A₁ sitoplazmada yerleşirken prolin sentezinde görevli olduğu ileri sürülen ve böbrek için ana form olan arginazın A₄ formu mitokondrilerde yerleşim göstermektedir. Böbrek A₁ formu ise sitoplazmada bulunmaktadır (46,50).

Arginaz enzimi hormonal etkiye bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Kortizolün karaciğer amino asit alımını arttırdığını ve amino asit aktive edici enzimlerin düzeylerinde artışa sebep olduğu tespit edilmiştir (51). Ayrıca

testosteronun böbrek arginaz aktivitesini (52), kortikosteronun karaciğer arginaz aktivitesini (53), tiroksin ve hidrokortizonun ince bağırsak ve böbrek arginaz aktivitesini artırdığı (24), insülin ve deksametazonun ise üre döngüsü enzimlerini etkilediği saptanmıştır (54). Gebe koyunların tükürüğünde arginaz aktivitesinin arttığı gözlenmiş ve bununda hormonal değişimlere bağlı olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir (55).

Arginaz enzim düzeyi beslenmeye bağlı olarakta değişiklik ortaya koymaktadır. Düşük protein diyetinde ve açlık durumlarında farklı dokulardaki arginazların aktivitelerinde genel bir azalma gerçekleşmektedir. Fazla karbonhidratlı yiyeceklerle beslenildiğinde üre döngüsü enzimleri azalmakta, karbonhidrat tüketimi azaldığında ise üre döngüsü enzimleri artmaktadır (56,57).

Yapılan araştırmalar neticesinde arginaz enziminin vitaminlerden de etkilendiği ortaya koyulmuştur. Yüksek dozda glukokortikoid verildiğinde, ratlardaki arginaz düzeyinin arttığını ve E vitamininin arginaz düzeyini azalttığı tespit edilmiştir (58). Testosteron uygulanmış tavşanların böbreklerinde arginaz aktivitesinde artış olmuştur ve E vitamininin bunu azalttığı saptanmıştır (59).

Bir metaloenzim olan arginazın tam aktivite gösterebilmesi ve dördüncül yapısının şekillenmesi için her subünitenin bir mol Mn^{+2} içermesi gereklidir (60,43). Arginazın aktivitesi için Mn^{+2} gerekmektedir (17,23,61,43). Arginaz aktivitesinin % 90-95' i Mn^{+2} iyonlarına bağımlıdır (61). Mn^{+2} iyonlarının bağlanması enzimin ısıya olan dayanıklılığını artırmakla birlikte inhibitörlere karşı daha dayanıklı hale gelmesini sağlamaktadır (62,63). Fakat enzimin asitle muamelesi neticesinde Mn^{+2} iyonlarının ilavesi enzimin inhibisyonunu etkilemediği ve enzimi denatürasyona karşı koruyamadığı saptanmıştır (39).

Ratlarda yapılan bir çalışmada, mangandan fakir diyetle beslenen hayvanların hepatik arginaz seviyesinin kontrol gruplarına göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Plazma amonyak miktarının ise yüksek olduğu bulunmuştur. Arginaz aktivitesi ve stabilitesi için kofaktör olarak Mn^{+2} iyonlarına gereksinim duyduğu da ifade edilmiştir (64). Co^{+2} , Ni^{+2} , Cd^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2} gibi iki değerlikli iyonların enzim aktivitesi üzerine olan etkisinin Mn^{+2} iyonlarına kıyasla daha az olduğu görülmüştür (65,60). Hg^{+2} , Zn^{+2} ve Ag^{+2} gibi ağır metal iyonlarının ise arginaz aktivitesini düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Demir askorbat ve demir sistein aktiviteyi artırırken borat ve sitrat gibi arginaz ile kompleks yapan metal iyonlarının aktiviteyi azalttığı saptanmıştır (66).

(Kolombo ve Konarska) tarafından yapılan başka bir çalışmada Mn^{+2} iyonları varlığında eritrosit arginaz aktivitesi başlangıç enzim aktivitesinin 2-6 kat, karaciğer enzim aktivitesinin ise 4-5 kat artırdığı yapılan araştırmalar neticesinde gözlemlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada (30), argininin hidrolizi için optimal pH'nın 9.4-9.8 olduğu bildirilmiştir. pH 7.4' te enzim aktivitesinde %10-30 arasında düşme görülürken, daha düşük pH' larda enzimin aktivitesini kolayca yitirdiği gözlemlenmiştir (61,57).

İzolösin, valin, lizin, ornitin, sistein, lösin, prolin, hidroksiprolin gibi L-aminoasitler, homoarginin, argininosüksinik asit, oktopin, kanavanin gibi arginin analogları arginazın inhibitörleri olmaktadır. Valin, lösin, izolösin, ornitin, prolin, sisteinin sığır rumen doku arginazını inhibe ettiği halde histidin ve hidroksiprolinin ise etki etmediği saptanmıştır (7). Arginaz enziminin katalize

ettiği reaksiyon sonucunda oluşan ürünlerden ornitinin arginazı inhibe ederken, ürenin ise inhibe etmediği görülmüştür (67).

Enzimdeki –SH gruplarının varlığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, saflaştırılmış sıçan karaciğer arginaz enzimi üzerine p-kloro merkür benzoik asit (p-CMBA) ve N-etil Maleimid (NEM)’in etkisi incelenmiş ve p-CMBA ile NEM’in sıçan karaciğer arginazı üzerinde herhangi bir inhibisyon etkisine sebep olmadığı saptanmıştır. Böylelikle sıçan karaciğer enziminin fonksiyonel –SH grupları içermediği açıklanmıştır (68). Ancak koyun meme doku arginazı (69), sığır rumen doku arginazı (7) ve insan tiroid doku arginazı (22) üzerine p-CMBA ve NEM’ in inhibisyon etkisi yaptıklarını saptamışlardır. Özdemir ve ark. p-CMBA ve NEM’in M.benedeni arginazı üzerinde inhibisyon etkisi yaptıklarını belirtmişlerdir (70).

Yapılan çalışmalar serum arginaz aktivitesinin; safra kanallarının malign tümörleri, siroz ve karaciğer metastazları gibi hücre harabiyetine yol açan karaciğer hastalıklarında arttığını belirtmiştir (62). Sedef hastalığı gibi bazı cilt hastalıklarında ve hiperkeratinizasyonda da arginaz aktivitesinin arttığı belirtilmiştir (71). Arginaz, nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesini indükler (72) ve NOS ile beraber immün cevap, yara iyileşmesi, tümör biyolojisi ve yangının düzenlenmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir (73). Yapılan çalışmalar sonucunda bazı kanser vakalarında serum ve doku arginaz düzeyinin arttığı ifade edilmiştir (74,62,75). Bu da arginazın kanser olaylarında belirleyici enzim olabileceği fikrini düşündürmüştür (76,62,74). Gastrik kanserli hastaların dokularında arginaz aktivitesinin normal gastrik mukozal dokulara kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir (77). Başka bir çalışmada da akciğer

kanserli hastaların tümör dokusundaki enzim aktivitesinin kontrole göre arttığı, bu artışında poliamin biyosentezindeki hızlanma ile kanser gelişiminde önemli rol oynayabileceği ifade edilmiştir (78). Akciğer lavaj sıvılarında ölçülen arginaz enzim aktivitesinin akciğer iltihabı olaylarında, akciğer kanseri olgularına kıyasla farkedilir biçimde arttığını belirtmişlerdir. Lavaj sıvısı arginaz aktivitesinin akciğer kanseri ile akciğerin infeksiyöz hastalıklarının birbirinden ayrılmasında önemli bir rolü olabileceği kanısına varmışlardır (5). Plazma arginaz aktivitesinin orak hücre anemisi hastalıklarında da önemli ölçüde artış gösterdiği saptanmıştır (79). Kanserli hücrelerin sitoplazmasında, normal hücrelerin sitoplazmasına oranla çok daha fazla arginaz bulunur. Kanserli hastalarda, hücresel immunitenin zayıflamasını, kısmi olarak artan arginazın immunosupressif etkisine bağlı olduğunu ifade etmişlerdir (80).

Meme kanserli hastaların preoperatif dönemlerinde serum arginaz düzeyinin sağlıklı kadınlara oranla dört kat daha yüksek olduğuna bildirilmiştir (81,82,62). Primer kolorektal kanserli ve karaciğere metastazı olan hastalarla yapılan bir çalışmada, sağlıklı insanlara göre serum arginaz aktivitesinin yüksek olduğu görülmüş ve primer kolorektal kanserli hastaların tanısında bu enzimin yararlı bir belirteç olabileceği ortaya koyulmuştur (83). Serviks kanseri olan kadınlar da L-arginin'in L-ornitin ve poliamin üretimine dönüştürülmesinde arginaz enziminin ekspresyonunun rolü ile tutarlı olarak yüksek spermin ve putresin seviyesine sahip olduğu tespit edilmiştir (84). Major depresif hastalarda da serum arginaz aktivitesinin düzeyinde artış olduğu tespit edilmiş ve antidepressan ilaç tedavisinin bu tedaviyi uygulayan hastalarda arginaz aktivitesinin arttığı da görülmüştür (85). Yapılan başka bir çalışmada diyabetin

doku arginaz aktivitesi üzerine etkisini araştırmak amacıyla ratlarda streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ve gözlenmiştir. Diyabetik ratların böbrek, karaciğer ve dalak dokusundaki arginaz aktivitesinin kontrole göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (86). Diyabetik ratlarla yapılan başka bir çalışmada ise L-argininin diyabetik ratların antioksidan sistemleri üzerine düzenleyici etkisinin olduğu gözlemlenmiş ve bunun yanı sıra diyabete bağlı oksidatif stresin önlenmesinde veya etkisinin azaltılmasında L-argininin yararlı etkisinin olabileceği neticesine ulaşılmıştır (87).

Aldemir ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, intestinal iskemi reperfüzyon hasarına cevap olarak yaşlanmayla birlikte karaciğer ve böbrek dokusunda arginaz aktivitesini araştırmışlardır. İntestinal iskemi reperfüzyon hasarına yanıt olarak, kolorimetrik yöntemi kullanılarak hem karaciğerde hemde böbrek dokusunda arginaz aktivitesinin azaldığını tespit etmişlerdir (88). Yapılan son çalışmalarda arginazın angiogenez işlemlerinde rol aldığını belirtilmiştir. Durante ve arkadaşları yaptığı çalışmalarda damar düz kas hücrelerinde de arginaz aktivitesi bulunduğunu saptamışlardır (89).

Retinopati sırasındaki nörovasküler hasarın artmış arginaz ekspresyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Yapılan alışmalar sonucunda sitozolik arginaz 1 izoformunun hiperglisemi kaynaklı işlev bozukluğu ve vasküler endotelial hücreleriyle, mitokondriyal arginaz 2 izoformunun ise nörovasküler işlev bozukluğu ve takibinde hiperoksi maruziyetine bağlı ölümle ilişkili olduğu saptanmıştır. Buna bağlı olarakta arginaz yolunun aktivasyonunun NOS ayrışması, poliamin oksidasyonu ve glutamat oluşumunun sonucunda azalmış NO

ve artmış oksidatif stresle retinopatik sürece katkıda bulunduğunu ve nörovasküler hasara neden olduğunu tespit etmişlerdir (90).

Arginaz enzimi eksikliği sonucu oluşan hiperarginemia, otozomal resesif genin neden olduğu üre döngüsünün kalıtsal bir bozukluğudur (91). Arginin fazlalığı doğum sürecinden sonraki ilk yılda asemptomatik olup, diyetteki protein miktarı arttıkça çeşitli bulgular meydana gelmektedir (92). Gelişim bozukluğu, zeka geriliği, hepatomegali, konvulsiyon, aşırı refleksler, elektroensefologram (EEG) da anormal pikler gibi klinik bulgular göstermektedir (91,93).

Argininin kalıtsal ve edinsel bağışıklıkta önemli bir etken olduğunu belirtilmiştir (94). Argininin, ornitin ve üreye hidrolizini katalizleyen arginaz enzimi üzerine son yıllarda yapılan çalışmalar, arginazın damar hastalıkları, enfeksiyöz hastalıklar, immün hücre fonksiyonuna dair rolleri araştırılmıştır (95). İnsanda arginazı şifreleyen iki farklı gen lokusu olduğu bulunmaktadır (30,96). Birinci lokus eritrosit ve karaciğerdeki enzim aktivitesinin % 90' ından sorumlu olmaktadırken böbrek, bağırsak, mide ve beyindeki aktivitenin ise yaklaşık % 50' sinden sorumludur. İkinci lokus ise karaciğer ve eritrositlerdeki aktivitenin % 5'inden sorumlu olmaktadırken mide bağırsak ve beyindeki aktivitenin % 50' sinden sorumlu olmaktadır (30).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada ise Elazığ ilinde bulunan Akkaraman, Morkaraman ve İvesi ırklarının erkek ve dişi türlerinin eritrositlerindeki arginaz enzim düzeylerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma materyali Elazığ yöresindeki 2-3 yaşlarındaki aynı beslenme ve bakım koşullarına sahip gebe olmayan Akkaraman, Morkaraman ve İvesi ırkı koyunların eritrositlerinden temin edilmiştir. Bu koyun ırklarının her biri erkek ve dişi olmak suretiyle ikiye ayırarak gruplandırılmıştır. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi çiftliği ve Elet özel kombinasından kesim için getirilen hayvanların vena jugularislerinden, steril kanüllerle heparinli tüplere kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örnekleri en kısa süre içinde laboratuvara getirilmiş ve 2500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Tüplerin üzeri çizilmiştir. Plazma uzaklaştırılarak geride eritrositlerin kalması sağlanmıştır. Tüpün üzerindeki çizgiye kadar serum fizyolojik eklenmiştir. Eritrositler 3 kez serum fizyolojikle (%0,9 NaCl) yıkanarak bir kısmı çalışmada kullanılmış diğer kısım ise daha sonra çalışmak üzere -18 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

4.1. Kimyasal Maddeler

Araştırmada L-arginin, Sülfürik Asit, Diasetil Monoksim, Tiyosemikarbazid, Mangan Klorür, Sodyum Karbonat, Sodyum Bikarbonat, Sodyum Hidroksit, Fosforik Asit, Potasyum Hidroksit, Potasyum Ferrisiyanat gibi kimyasal maddeler analitik saflıkta olup piyasadaki firmalardan temin edilmiştir.

4.2. Kullanılan Cihazlar

- 1- Manyetik karıştırıcı
- 2- Soğutmalı Santrifüj (Nüve NF 800 R)

- 3- pH metre (Ph-Meter CG810)
- 4- Sıcak su banyosu (Benmari)
- 5- Vorteks
- 6- Deep-freeze
- 7- UV/VIS Spektrofotometre (Shidmadzu UV 240)
- 8- Etüv

4.3. Yöntemler

4.3.1. Arginaz Aktivitesinin TDMU Yöntemiyle Ölçülmesi

Arginaz aktivitesi; Tiyosemikarbazid-Diasetilmonoksim Üre (TDMU) yöntemi esas alınarak ölçülmüştür (97). Diasetilmonoksim, üre ile direk reaksiyona girmemektedir. Öncelikle asit ortamında ısının etkisiyle diasetil ve hidroksilamine hidrolize olmaktadır. Diasetil, asit solüsyonda üre ile kondanse olarak sarı renkli bileşik olan Diazin'i meydana getirmektedir. Oluşan sarı rengi kararlı kılmak için Tiyosemikarbazid ve Fe^{+2} iyonları kullanılmaktadır (98).

4.3.1.1. Kullanılan Ayraçlar

1- 50 mM L-Arginin Solüsyonu

5.26 g L-arginin monohidroklorit (Mol. Ağ. 210.66 g/mol) 500 ml distile suya tamamlanarak pH'sı 9.5'a getirilmiştir.

2- 2,5 mM MnCl₂ Çözeltisi

0.49 g MnCl₂·4H₂O (Mol. Ağ. 197.9 g/mol) bir miktar distile su ile çözüldükten sonra distile su ile 1000 ml' ye tamamlanarak +4 °C' de saklanmıştır.

3- Karbonat Tampon Çözeltisi (100 mM NaHCO₃/Na₂CO₃)

a) 2.10 g NaHCO₃ (Mol Ağ. 84.01 g/mol) bir miktar distile suda çözülmüş ve 250 ml' ye tamamlanmıştır.

b) 2.64 g Na₂CO₃ (Mol Ağ. 105.99 g/mol) bir miktar distile suda çözülmüş ve 250 ml' ye tamamlanmıştır.

Tampon hazırlarken 250 mM' lık NaHCO₃ çözeltisi behere konarak Na₂CO₃ ile pH' sı 9.5'a ayarlanmış ve solüsyon +4°C' de saklanmıştır.

4- Renk Ayracı

0.0036 M Tiyosemikarbazid (TSC, Mol Ağ. 91.14 g/mol) ve 0.0617 M Diasetilmonoksim (DAM, Mol Ağ. 101.1 g/mol) içermektedir. 0.16 g TSC ve 3.12 g DAM bir miktar distile suda çözüldükten sonra 500 ml'e tamamlanarak koyu renkli reaktif şişesinde, oda ısısında saklanmıştır.

5- Asit Karışımı

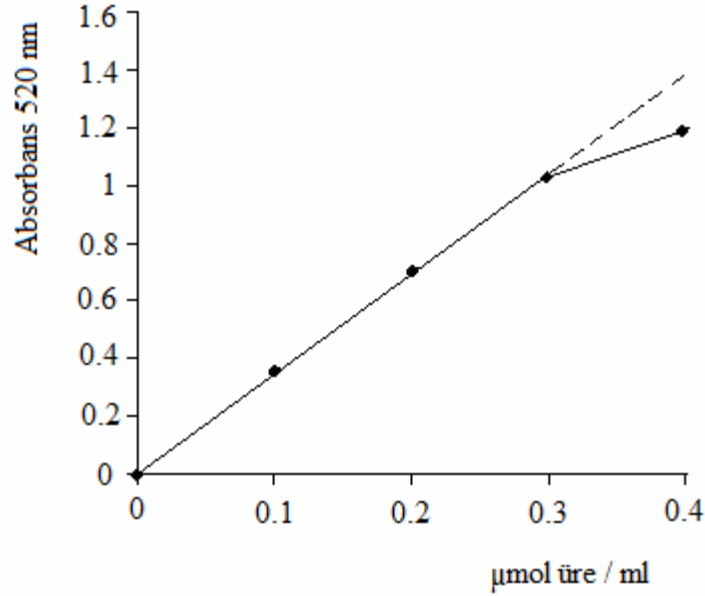
90 ml H₂SO₄ (d =1.84, Mol Ağ. 98,08 g/mol, 270 ml H₃PO₄ (d =1.71, Mol Ağ. 98.0) ve 640 ml distile H₂O karıştırılarak 1 lt' ye tamamlanmıştır. Oda ısısında muhafaza edilmiştir.

4.3.1.2. Arginaz Aktivitesinin Ölçümü

Heparinli tüplere alınan kan örnekleri santrifüjde 2500 rpm'de 5 dakika santrifügasyon işlemine tabii tutulmuştur. Plazma uzaklaştırılarak geride eritrositlerin kalması sağlanmıştır. Eritrositler 3 kez serum fizyolojikle (%0.9 NaCl) yıkanmıştır. Bu işlemden sonra 1 ml kan, 100 ml'e 2.5 mM'lık $MnCl_2$ ile tamamlanmış ve 55°C'de 5 dakika metabolik su banyosunda tutulmuş böylelikle preinkübasyon işlemi sağlanmıştır. Preinkübasyondan sonra örnekler enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

Deneylerin sağlıklı sonuç vermesi amacı ile her kan örneği için ikili uygulama yapılmıştır. Enzim aktivite tayini için vida kapaklı cam tüpler kullanılmıştır. Deney tüpleri; her numuneye ait sıfır zaman tüpleri, her numuneye ait numune tüpleri ve kör tüpleri olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Tüp içindeki enzimatik karışım 1 ml olup 50 mM'lık L-argininden (pH 9.5) 0.4 ml ve 100 mM'lık karbonat tamponundan (pH 9.5) 0.4 ml içerecek şekilde düzenlenmiştir. Tüplere önce L-arginin, sonra karbonat tamponu daha sonrada üzerine preinkübasyona tabii tutulmuş olan enzim kaynağından 0.2 ml eklenerek 1 ml'e tamamlanmıştır. Kör olarak hazırlanmış tüpler ise enzim kaynağı yerine 0.2 ml distile su ile tamamlanarak hazırlanmıştır. Her iki tüp örnekleri 37 °C' de 10 dakika sallantılı metabolik su banyosunda tutularak enzimatik tepkime başlatılmıştır. 10 dakikalık inkübasyon süresinin sonunda tüplere 3 ml asit karışımı ilave edilerek enzimatik tepkime durdurulmuştur. Asit ilavesinden sonra 2 ml renk ayırıcı eklenmiş tüpler vorteksle karıştırılarak 10 dakika kaynar su banyosunda tutulmuş ve renk oluşumu sağlanmıştır.

Kaynar su banyosundan çıkan tüpler soğutularak UV. VİS Spektrofotometrede (Shimadzu UV-240), 520 nm dalga boyunda örnekler okunarak optik dansiteleri alınmış ve faktör olarak hesaplanmıştır. $\mu\text{mol üre} / \text{ml kan} \times \text{saat}$ olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 5. TDMU Metodu için Üre Standart Eğrisi

4.3.1.3. Arginaz Aktivitesinin Hesaplanması

$$\frac{0,977}{A} = \frac{5 \mu\text{mol}}{X}$$

$$X = \frac{5 \mu\text{mol} \times A}{0,977}$$

$$X = \text{Abs} \times 5 = 5,117 \times A \text{ (30 kat sulandırıldı)}$$

$$A \times (153,53) \text{ (X= Abs x 614,12)}$$

$$X = \mu\text{mol üre} / \text{saat} / \text{g hemoglobin}$$

4.3.2. Hemoglobin Tayini

Hemoglobin tayini hemoglobinsiyaniid metodu ile yapılmıştır (99). Deney tüpüne 5ml transformasyon solüsyonu koyulmuştur ve 0.02 ml kan ile iyice karıştırılıp 20 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 546 nm' dalga boyunda örnekler okunmuştur. Optik dansiteler grafikte değerlendirilmiştir.

4.3.2.1. Kullanılan Ayraçlar

1- Transformasyon Solüsyonu (Drabkin Solüsyonu):

50 mg potasyum siyanür (KCN)

200 mg potasyum ferrisiyanür ($K_3Fe(CN)_6$)

1 g sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$), 1 lt distile su ile tamamlanmıştır.

2- Hb Standartı: 18 g liyofilize Hb standartı 100 ml distile su içinde çözülür. Bu standartın içeriğinde 18g/dl Hb bulunur.

Metod:

	Kör (ml)	Standart (ml)	Örnek(ml)
Drabkin Çözeltilisi	5.0	5.0	5.0
Hemoglobin standartı	—	0.02	—
Hemolizat	—	—	0.02

Tüplerin iyice karıştırılması sağlanır. Oda ısında 20 dk bekletildikten sonra 546 nm'de köre karşı diğer tüplerin absorbansları okunur.

Hesaplama: $gr / dl Hb = (örnek\ absorbans / standart\ absorbans) \times 18$

5. BULGULAR

5.1. Arginaz için Normallik testleri

Çalışmaya başlamadan önce gruplara normallik testi uygulanmıştır ve sonuçlar aşağıda verildiği gibi bulunmuştur. Grupların normallik testlerini yapma amacıyla Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleriyle çalışmak uygun bulunmuştur.

Tablo 1. Irkların arginaz için normallik testlerinin yapılması

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Srb.Drc	p	İstatistik	Srb.Drc	p
Akkaraman	,142	20	,200*	,922	20	,109
Morkaraman	,093	26	,200*	,952	26	,255
Ivesi	,156	26	,103	,962	26	,424

Tüm gruplar için hem Kolmogorov Smirnov hem de Shapiro-Wilk normallik testlerine göre tüm p değerleri 0.05'den büyük olduğu için tüm gruplar normal dağılımlıdır. Bu nedenle gruplar arası karşılaştırma için parametrik yöntemler uygulanabilir.

5.1.2. Arginaz Parametresi için Tanımlayıcı Grup İstatistikleri

İrkların cinsiyet gruplarına göre arginaz parametresi için tanımlayıcı istatistiklerinin belirlenmesi amacıyla Akkaraman ırkından dişi ve erkek olmak üzere 10' ar örnek, Morkaraman ve İvesi ırkları için dişi ve erkek olmak üzere 13'er örnek ile ortalama ve standart sapma değerleri bulunmuştur.

Tablo 2. Irkların cinsiyetlerine göre arginaz aktivitesi için tanımlayıcı grup istatistiklerinin bulunması

		Arginaz Aktivitesi (Ü)		T testi
	Grup	N	Ortalama±Std.Sapma	p değerleri
Akkaraman	Dişi	10	242,72±19,53	p<0,001
	Erkek	10	332,28±28,05	
Morkaraman	Dişi	13	187,99±50,81	p=0,019
	Erkek	13	138,98±48,19	
İvesi	Dişi	13	296,47±52,51	p=0,033
	Erkek	13	249,12±54,19	

Akkaraman ırkından erkeklerin ortalama değeri 332,28 ve standart sapması 28,05 bulunurken Akkaraman ırkının dişilerinin ortalama değeri 242,72 ve standart sapması 19,53 bulunmuştur. Bu değerler neticesinde Akkaraman dişilerinin ortalama ve standart sapma değerlerinin daha düşük olduğu görülmüştür.

Morkaraman ırkından erkeklerin ortalama değeri 138,98 ve standart sapması 48,19 bulunurken Morkaraman ırkının dişilerinin ortalama değeri 187,99

ve standart sapması 50,81 bulunmuştur. Elde edilen neticeler sonucunda Morkaraman erkeklerinin ortalama ve standart sapma değerlerinin daha düşük olduğu görülmüştür.

İvesi ırkından erkeklerin ortalama değeri 249,12 ve standart sapması 54,19 bulunurken İvesi ırkının dişilerinin ortalama değeri 296,47 ve standart sapması 52,51 bulunmuştur. Bu değerler neticesinde İvesi erkeklerinin ortalama değeri dişilere göre düşük çıkarken, standart sapma değeri dişilere oranla daha yüksek çıkmıştır.

Akkaraman ırkı için erkek ve diş grupları arginaz değerleri açısından $p < 0,001$ olup gruplar arası farklılık istatistiksel olarak önemli düzeyde anlamlı bulunmuştur. Morkaraman ırkı için erkek ve diş grupları arginaz değerleri açısından $p = 0,019 < 0,05$ olup gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. İvesi ırkı için erkek ve diş grupları arginaz değerleri açısından $p = 0,033 < 0,05$ olup gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

5.2. % gr Hemoglobin İçin Analizler

5.2.1. % gr Hemoglobin Parametresi için Normallik testleri

% gr Hemoglobin için analizlere başlamadan önce tüm gruplar için arginaz normallik testi uygulanmıştır. Sonuçlar aşağıda belirtildiği gibidir.

Tablo 3. Tüm ırklar için % gr hemoglobin parametresi normallik testi

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	Srb.Drc	p	İstatistik	Srb.Drc	p
Akkaraman	,088	20	,200*	,955	20	,451
Morkaraman	,185	26	,022	,905	26	,020
İvesi	,146	26	,160	,942	26	,153

Morkaraman ırkı hariç diğer iki grup için hem Kolmogorov Smirnov hem de Shapiro-Wilk normallik testlerine göre tüm p değerleri 0.05'den büyük olduğu için gruplar normal dağılımlıdır. Bu nedenle bu gruplar için parametrik yöntemler uygulanmıştır. Ancak Morkaraman ırkı için p değeri 0.05'den küçük olduğu için Morkaraman ırkı normal dağılmamaktadır. Bu grup için karşılaştırma parametrik olmayan yöntem kullanılarak yapılmıştır.

5.2.2. % gr Hemoglobin Parametresi için Tanımlayıcı Grup İstatistikleri

İrkların cinsiyet gruplarına göre % gr hemoglobin parametresi için tanımlayıcı istatistiklerinin belirlenmesi amacıyla Akkaraman ırkından dişi ve erkek olmak üzere 10' ar örnek, Morkaraman ve İvesi ırkları için dişi ve erkek olmak üzere 13' er örnekle ortalama ve standart sapma değerleri bulunmuştur.

Tablo 4. Irkların cinsiyetlerine göre hemoglobin düzeylerinin belirlenmesi

			Hemoglobin gram / dl	T testi	Man Whitney U
	Grup	N	Ortalama±Std.Sapma	P değeri	
Akkaraman	Dişi	10	20,29±3,37	p = 0,001	----
	Erkek	10	26,96±3,84		
Morkaraman	Dişi	13	14,20±4,33	----	p =0,007
	Erkek	13	10,10±4,99		
İvesi	Dişi	13	19,46±3,73	p = 0,121	----
	Erkek	13	16,67 ±5,02		

Akkaraman ırkından erkeklerin hemoglobin ortalama değeri 26,96 ve standart sapması 3,84 bulunurken Akkaraman ırkının dişilerinin hemoglobin ortalama değeri 20,29 ve standart sapması 3,37 bulunmuştur. Bu değerler neticesinde Akkaraman dişilerinin hemoglobin ortalama ve standart sapma değerlerinin daha düşük olduğu görülmüştür.

Morkaraman ırkından erkeklerin hemoglobin ortalama değeri 10,10 ve standart sapması 4,99 bulunurken Morkaraman ırkının dişilerinin hemoglobin ortalama değeri 14,20 ve standart sapması 4,33 bulunmuştur. Bu değerler neticesinde Morkaraman erkeklerinin hemoglobin ortalama değeri dişilere göre düşük çıkarken, standart sapma değeri dişilere oranla daha yüksek çıkmıştır.

İvesi ırkından erkeklerin hemoglobin ortalama değeri 16,67 ve standart sapması 5,02 bulunurken İvesi ırkının dişilerinin hemoglobin ortalama değeri 19,46 ve standart sapması 3,73 bulunmuştur. Bu değerler neticesinde İvesi erkeklerinin hemoglobin ortalama değeri dişilere göre düşük çıkarken, standart sapma değeri dişilere oranla daha yüksek çıkmıştır.

Akkaraman ırkı erkek ve dişi grupları için % gr hemoglobin düzeyleri $p=0.001<0.05$ olup farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görölmüştür. İvesi ırkı için erkek ve dişi grupları % gr hemoglobin düzeyleri $p=0.121>0.05$ olup erkek ve dişi grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir. Morkaraman ırkı erkek ve dişi grupları için % gr hemoglobin düzeyleri $p=0.007<0.05$ olup erkek ve dişi grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

6. TARTIŞMA

Eritrositler; üre döngüsü ile üre sentez edememelerine rağmen insan, sığır ve koyun eritrositlerinde aktif olan bir arginazın varlığı çalışmalar neticesinde tespit edilmiştir (100).

Gülen ve ark.' ları tarafından yapılan çalışmada ırk faktörünün koyun eritrosit-arginaz aktivitesine etkisini görme amacı ile akkaraman, dağlıç, rambouillet ırklarının eritrosit arginaz aktivitesine bakılmış ve değişik ırklarda eritrosit arginaz aktivitesinin oldukça önem taşıdığı belirtilmiştir. Akkaraman koyunlarının eritrositlerindeki enzim aktivitesi sırası ile Dağlıç ve Rambouilletlerden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Aynı ırkların kuzularındaki eritrosit arginaz aktivitesinde de belirgin bir fark tespit edilmiştir (101).

Başka bir çalışmada ise sağlıklı ve fasciolasisli koyunların eritrosit arginaz, glutatyon peroksidaz, katalaz ve plazma malondialdehid ile serum nitrit düzeyleri arasında yapılan araştırmada istatistiksel bir fark bulunamadığı belirlenmiştir (102). Karaciğer arginazının saflaştırılması sırasındaki zorluk ve verim düşüklüğü göz önünde bulundurulduğunda, eritrositlerin arginaz için daha doğru bir kaynak oluşturabileceği ön görülmüş, fakat eritrosit ve karaciğer arginazlarının özdeşliği kesin olmadığından (23) son olarak klonlama ile karaciğer arginazının tüm cDNA' sı E. coli' de bir ekspresyon plazmidiyle elde edilmiştir. Her 1g E. coli için 10 mg arginaz proteiniyle yüksek verime ulaşılmıştır (103).

Şap hastalıklı sığırlarla yapılan çalışmada hasta olan sığırların eritrosit ve salya arginaz aktivitesi kontrol grubundaki hayvanlara kıyasla önemli derecede yüksek olması nedeniyle şap hastalıklı sığırların eritrosit ve salya arginaz

aktiviteleri artışının hastalık için belirleyici bir özellikte olabileceği düşüncesine varılmıştır (104).

Sağlıklı ve piyometralı ineklerle yapılan bir çalışmada sağlıklı ineklerin eritrosit arginaz aktivitelerinin piyometralı ineklere göre farkedilir ölçüde fazla olduğu, bununla birlikte sağlıklı ineklerin nitrik oksit düzeylerinin piyometralı ineklerin nitrik oksit düzeylerinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir (105).

Gebelikte ve doğumdan sonra Akkaraman ve İvesi koyunlarında tükürük, eritrosit arginaz aktiviteleri ve üre ile östrojen hormonu düzeyleri araştırılmış ve ırklar arası karşılaştırma yapılmıştır. Araştırma neticesinde, gebelerde üre değerlerinin tükürükte artarken, serumda azaldığı, eritrositlerde ise değişmediği saptanmıştır. Gebelik döneminde serum östrojeninin yükseldiği, eritrosit arginazının aynı kaldığı tükürük arginazının ise her iki türde de arttığı tespit edilmiştir. Irklar arası karşılaştırmalarda; hem gebelik sürecinde hem de doğum sonrasında Akkaramanların eritrosit ve tükürük arginaz aktiviteleri İvesilere göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Tükürük üre ve serum östrojen düzeylerinin ise düşük olduğu saptanmıştır. Her iki ırk için serum ve eritrosit üre düzeylerine bakıldığında ise bir farklılık bulunamamıştır (55). Yapılmış olan bu çalışma cinsiyet olarak sınıflandırılmamış olsa da bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada da tüm gruplar için yapılan normallik testlerine göre bütün p değerlerinin 0.05'den büyük olduğu görülmüş ve gruplar normal dağılımlıdır şeklinde ifade edilmiştir.

Çeşitli koyun ırklarında humor vitreuslarının arginaz aktivite düzeylerinin karşılaştırılmasının yapıldığı çalışmada en yüksek arginaz aktivite düzeyleri sırasıyla Akkaraman, İvesi ve Morkaraman şeklinde bulunmuştur (106). Aynı

koyun ırkları üzerine yapılan başka bir çalışmada eritrosit ve tükürükte en yüksek arginaz aktivitelerinin sırasıyla Akkaraman, İvesi ve Morkaraman şeklinde sıralandığı görülmüştür (107).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada Akkaraman, Morkaraman ve İvesi ırklarının cinsiyetlerine göre eritrositlerindeki arginaz aktivite düzeylerinin karşılaştırılması hedef alınmış olup çalışmalar neticesinde grupların normal dağılımlı olduğu tespit edilmiştir. Akkaraman ırkının dişi ve erkek gruplarının arginaz aktivitelerine bakıldığında erkeklerin dişilere oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Morkaraman ırkının dişi ve erkek gruplarının arginaz aktivitelerine bakıldığında ise erkeklerin dişilere oranla daha düşük olduğu görülmüştür. İvesi ırkının dişi ve erkek gruplarının arginaz aktivitelerine bakıldığında erkeklerin dişilere oranla daha düşük olduğu görülmüştür. Akkaraman ırkı için erkek ve dişi grupları arginaz değerleri açısından $p<0,001$ olup gruplar arası farklılık istatistiksel olarak önemli düzeyde anlamlı bulunmuştur. Morkaraman ırkı için erkek ve dişi grupları arginaz değerleri açısından $p=0,019<0,05$ olup gruplar arası farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. İvesi ırkı için erkek ve dişi grupları arginaz değerleri açısından $p=0,033<0,05$ olup gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Daha önceki yıllarda koyun ırklarının cinsiyetlerine göre karşılaştıran çalışmalara rastlanılmadığı için Akkaraman, Morkaraman ve İvesi ırklarının cinsiyetleri arasında bulunan farklılığın eritrosit arginaz aktivitelerinin erkek ve dişi gruplarının hormonal ve metabolik farklılıklarından dolayı değişkenlik gösterebileceği fikrini akla getirmektedir.

Araştırma sonucunda amaçlanan cinsiyetlerine göre ayrılmış koyun ırklarının arginaz enzim aktiviteleri karşılaştırılmış ve bunun sonucunda ırkların cinsiyetleri arasındaki farklılıkları saptanmıştır. Elde edilen bu bulguların daha sonra yapılacak çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKÇA

1. Gözükar EM. Enzimler. “Biyokimya II”. Üçüncü baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1997: 572-678.
2. U.Lichter-Konecki. Profiling of astrocyte properties in the hyperammonaemic brain: Shedding new light on the pathophysiology of the brain damage in hyperammonaemia, J.Inherit. Metab. Dis. 2008; 31: 492-502.
3. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, et al. Metabolism of Proteins and Amino Acids. In:”Harper’s Biochemistry”. Twenty-second ed. Typopress, Lebanon. 1991: 267-330.
4. Erdoğan H. Nörodejeneratif hastalıklarda mitokondriyal solunum zinciri enzimleri ile tek karbon ve amonyak metabolizması ilişkilerinin incelenmesi. Tıpta uzmanlık tezi, İstanbul: Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Servisi. 2009: 21-24.
5. Altundağ Y. Bronj Lavaj Sıvısında Arginaz Enziminin Özellikleri ve Klinik Diagnostik Önemi. Uzmanlık Tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 2001.
6. Rawn JD. Catabolism of Amino Acids and the Urea Cycle. In: “Biochemistry”.First ed., Carolina Biological Supply Company, Burlington, North Carolina. 1989: 457-487.
7. Erişir M. Sığır Rumen Doku Arginazının Bazı Biyokimyasal Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1997.
8. Kandemir FM. Koyun Dalak Doku Arginazının Bazı Kinetik Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009.
9. Ası T. Tablolarla Biyokimya Cilt II. Ankara.1999: 212-215.
10. Champe PC, Harvey RA. Biyokimya. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E.(Çeviren) Lippicott’s Mustrated Reviews Serisinden, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 1997: 236-241.
11. Anonim. “ Urea Cycle”. <http://flipper.diff.org/app/pathways/info/7108/> 08.01.2015.
12. Erbaş H, Erten O, Dağlar A ve ark. Meme kist sıvısı arginaz aktivitesi, ornitin ve üre düzeyleri. Türk Biyokimya Derg 2006; 31(3): 129-34.
13. Keleşoğlu G. Bir Arginaz Enzim İnhibitörü Olan nor-NOHA’NIN Meme Kanseri Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2012: 8-13.
14. Kepka-Lenhardt D, Ash DE, Morris SM. Determination of Mammalian Arginase Activity. Methods Enzymol. 2008; 440: 221-30.

15. Cederbaum SD, Yu H, Grody WW et al. Arginases I and II: do their functions overlap. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2004; 81:38-44.
16. Moreno-Vivian C, Soler G, Castillo F. Arginine Katabolism in the Phototrophic Bacterium *Rhodobactercapsulatus* E1F1. *Eur. J. Biochem* 1992; 204: 531-537.
17. Spector EB, Rice SCH, Moedjono S et al. Biochemical Properties of Arginase in Human Adult and Fetal Tissues. *Biochemical Medicine* 1982; 28: 165-175.
18. Fuentes JM, Campo ML, Soler G. Kinetics and İnhibition by Some Amino acids of Lactating Rat Mammary Gland Arginase. *Arch. Int. Physiol. Biochim. Biophys.* 1994; 102 (5): 255-258.
19. Aminlari M, Vaseghi T. Arginase Distribution in Tissues of Domestic Animals. *Comp. Biochem. Physiol* 1992; 103 (2): 385-389.
20. Ozan S, Gürsu MF, Gülen Ş. Kısmen Arıtılmış Moniezia Expensa Arginazının Bazı Özellikleri. *Tr. J. Vet. Anim. Sci* 1993; 17: 245-250.
21. Halifeoğlu İ. İnsan Karaciğer, Eritrosit ve Uterus Doku Arginazının Kinetik Özellikleri. Doktora Tezi. Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1993.
22. İlhan N. İnsan Tiroid Doku Arginazının Kinetik Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1992.
23. Ikemato M, Tabata M, Murachi T et al. Purification and Properties of Human Erythrocyte Arginase. *Ann. Clin. Biochem.* 1989; 26: 547-553.
24. Konarska L, Tomaszewski L, Rolezyk U. Studies on L- arginase in Developing Rat Small Intestine, Brain and Kidney. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology* 1986; 35: 170-178.
25. Konarska L, Tomaszewski L. Studies on L- arginase in Developing Rat Small Intestine, Brain and Kidney. I. Ontogenic Evolution of Arginase Isoenzymes, *Biochem. Med. and Met. Biol.* 1986; 35: 156-169.
26. Martincic T, Krvavica S. Enzymatic Investigations in the Mucosa of the Rumen. II. On the Presence of Arginase in the Ruminal Mucosa of Cattle. *Vet. Arh. Zagreb, Svezak* 1964; (3-4): 90-93.
27. Nadolska-Lutykk J, Grabon W, Poremska Z. Arginase in Bull Testis. *Acta Biochimica Polonica* 1990; 37 (3): 377-384.
28. Chen PC, Broome JD. Mouse Macrophage Arginase. *Analyt. Biochem.* 1980; 163: 354-359.
29. Konarska L, Tomaszewski L, Colombo JP et al. Human Salivary Arginase and Its Deficiency in Argininacmia. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23: 337-342.
30. Spector EB, Rice SCH, Moedjono S et al. Biochemical Properties of Arginase in Human Adult and Fetal Tissues. *Biochemical Medicine* 1982; 28: 165-175.

31. Dhanakoti SN, Brosnan ME, Herzberg GR et al. Cellular and Subcellular Localization of Enzymes of Arginine Metabolism in Rat Kidney. *Biochem* 1992; 282: 369-375.
32. Ash DE. Structure and Function of Arginase. *American Society for Nutritional Sciences* 2004; 22: 2760-2764.
33. Pegg AE, Mccann P. Polyamine Metabolism and Function. *Am. J. Physiol. Cell Physiol* 1982; 243 (12): 212-221.
34. Pegg AE, Mccann P. Polyamine Metabolism and Function in Mammalian Cells and Protozoans. *Isı Atlas of Sci. Biochem.* 1988; 11-18.
35. Brown GW, Cohen PP. Activities of Urea-Cycle Enzymes in Various Higher and Lower Vertebrates. *Biochem. J.* 1960; (75) 82-91.
36. Brusdeilins M, Kühner R, Schumacter K. Purification, Affinity to Anti-Human Arginase Immunoglobulin- Sepharose 4 B and Subunit Molecular Weights of Mammalian Arginases. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1985; 840: 79-90.
37. Ozan S, Gürsu MF, Bayraktutan U ve ark. Farklı Türlerin Eritrositlerindeki Arginaz Aktivitesi ile Üre Düzeyleri Arasındaki İlişki. *Cumhuriyet Üniv Tıp Fak 1.Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi*; Sivas 1990.
38. Campbell JW, Lee TW. Ornithine Transcarbamylase and Arginase Activity in Flatworms. *Comp. Biochem. Physiol.* 1963; 8: 29-38.
39. Hosoyama Y. The Reversible Inactivation of Rat Liver Arginase at Low pH. *Eur. J. Biochem.* 1972; 27: 48-52.
40. Kang JH, Cho YD. Purification and Properties of Arginase from Soybean, Glycine max, Axes. *Plant Physiol* 1990; 93: 1230-1234.
41. Yip MC, Know WE. Function of Arginase in Lactating Mammary Gland. *Biochem. J.* 1972;127: 893-899.
42. Brusdeilins M, Kühner R, Schumacter K. Purification, Affinity to Anti-Human Arginase Immunoglobulin- Sepharose 4 B and Subunit Molecular Weights of Mammalian Arginases. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1985; 840: 79-90.
43. Powers GS, Meister T. Urea Synthesis and Ammonia Metabolism. "The Liver: Biology and Pathobiology". I. Arias, H. Popper, D. Schachter and D.A. Shafritz. (Eds). *Raven Pres, New York* 1982; 251-263.
44. Reyero C, Dorner F. Purification of Arginases from Human-Leukemic Lymphocytes and Granulocytes: Study of Their Physicochemical and Kinetic Properties. *Eur. J. Biochem.* 1975; 56: 137-147.
45. Spolarics Z, Bond JS. Multiple Molecular Forms of Mouse Liver Arginase. *Archs. Biochem. And Biophys.* 1988; 260 (1): 469-479.
46. Carvajal N, Cederbaum SD. Kinetics of İnhibition of Rat Liver and Kidney Arginases by Proline and Branched-Chain Amino Acids. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1986; 870: 181-184

47. Porembaska Z, Zamecka E. Immunological Properties of Rat Arginases. *Acta Biochimica Polonica* 1984; 31 (2): 223-227.
48. Zamecka E, Porembaska Z. (1988). Five Forms of Arginase in Human Tissues. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 1988; 39 (3): 258-66.
49. Ishikawa T, Harada T, Koi H et al. Identification of Arginase in Human Placental Villi. *Placenta* 2006 xx: 1-6.
50. Skrzypek-Osiecek I, Robin Y, Porembaska Z. Purification of Rat Kidney Arginases A1 and A4 and Their Subcellular Distribution. *Acta Biochim Pol.* 1983; 30 (1): 83-92.
51. Sondaç Ü. Orak Hücre Hastalığında Eritrosit Arginaz Aktivitesi ve Karbamilasyonun Etkisi. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 1991.
52. Kochakain CD, Berlett NM. The Effect of Crystalline Adrenal Cortical Steroids, DL-Thyroxine and Epinefrine on the Alkaline and Acids Phosphatases and Arginase of the Liver and Kidney of the Normal Adult Rat. *J. Biol. Chem.* 1948; 176: 243-247.
53. Kumar AN, Kalyankar GD. Effect of Steroid Hormones on Age Dependent Changes in Rat Arginase Isoenzymes. *Experimental Gerontology.* 1984; 19: 191-198.
54. Husson A, Bouazza M, Buquet C, Vaillant R. Role of Dexamethasone and Insulin on the Development of the Five Urea-Cycle Enzymes in Cultured Rat Foetal Hepatocytes *Biochem. J.* 1985; 225: 271-274.
55. Ozan ST, Yaralıoğlu S, İleri T ve ark. Akkaraman ve İvesi Koyunlarında, Gebelikte ve Doğumdan Sonra Eritrosit, Tükürük ve Serum Arginaz Aktiviteleri İle Serum Üre ve Östrojen Düzeyleri. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences.* 1999; 23: 345-350.
56. Flynn NE, Meininger CJ, Kelly K, et al. Glucocorticoids Mediate the Enhanced Expression of Intestinal Type II Arginase and Argininosuccinate Lyase in Postweaning Pigs. *J. Nutr.* 1998; 129: 799-803.
57. Schimke RT. Adaptive Characteristics of Urea Cycle Enzymes in the Rat. *J. Biol. Chem.* 1962; 237(2): 59-467.
58. Erişir M, Beytut E, Ozan S, ve ark. Effects of Dietary Vitamin E and Selenium on Arginase Activity in the Liver, Kidney and Heart of Rats Treated with High Doses of Glucocorticoid. *Cell Biochemistry and Function.* 2003; 21: 331-335.
59. Erisir M, Aydılek N, Aksakal M. Effect of Vitamin E on Arginase Activity in the Liver and Kidneys of Testosterone-Treated and Castrated Rabbits. *Acta Vet. Brno.* 2005; 74: 527-531.
60. Muszynska G, Wojtczak M. Influence of Immobilization on Conformation of Rat Liver Arginase. *Int. J. Biochem.* 1979; 10: 665-668.

61. Kuhn NJ, Talbot J, Ward S. pH-Sensitive Control of Arginase by Mn (II) Ions at Submicromolar Concentration. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1991; 286 (1): 217-221.
62. Straus B, Cepelak I, Festa G. (1992). Arginase, A New Marker of Mammary Carcinoma. *Clinica Chimica Acta*. 210: 5-12.
63. Porembaska Z, Grabon W, Zelazowska, et al. Nonidentity of Subunits of Human Kidney Arginase A1 and Human Liver Arginase A5. *Acta Biochemica Polonica*. 1993; 40(4): 465-470.
64. Brock AA, Chapman SC, Ulman EA, et al. Dietary Manganese Deficiency Decreases Rat Hepatic Arginase Activity. *J. Nutr*. 1994; 124: 340-344.
65. Colombo JP, Konarska L. Arginase; In: Bergmayer Grabı M. (Eds). *Methods of Enzymatic Analysis*. 3 rd Ed. Weinheim Verlag Chemie. 1984: 285-294.
66. Nikumb SK, Santhanam K, Rama K. et al. Hepatic and Serum Arginase and Ornithine Transcarbamylase Activities of Rats Maintained on Diets of Different Protein Quality. *Ann. Nut. Metab*. 1987; 31: 387-394.
67. King J. Arginase. *Practical Clinical Enzymology*. D. Van Nostrand Company, London, 1965; 220-225.
68. Ber E, Musynska G, Cechova D. The Lack of Free SH Groups in Rat Liver Arginase. *Bulletin de L'Academie Polonaise des Sciences*. C.II. XXVI, 1978; 10: 665-667.
69. Özçelik M. Koyun Meme Dokusu Arginazının Kinetik Özellikleri. Doktora Tezi. Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2002.
70. Özdemir N, Ozan S. NEM, EDTA ve p-CMBA' nın Moniezia Benedeni Arginazı Üzerindeki İnhibisyon Etkileri ve Kinetik Özellikleri. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*. 1994; 19: 157-160.
71. Lauharanta J, Käpyaho K. Arginase activity and polyamine biosynthesis in psoriasis. *Acta Derm Venereol*, 1983; 63(4): 277-82.
72. Bansal V, Ochoa JB. Arginine availability, arginase, and the immune response. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2003; 6: 223-8.
73. Efron DT, Barbul A. Arginine and nutrition in renal disease. *J Ren Nutr* 1999; 9(3):142-4.
74. Wu CW, Chi CW, Lin EC et al. Serum Arginase Level in Patients With Gastric Cancer. *J. Clin. Gastroenterol*, 1994; 18(1): 84-5.
75. Meram İ, Ahi S, Tarakçıoğlu M. Kanserde Serum Arginaz Aktivitesi. *Van Tıp Dergisi*, 2000; 7(1): 20-23.
76. Wu CW, Wang SR, Chien SL et al. Regulation of Arginase Production by Glucocorticoid in Three Human Gastric Cancer Cell Lines. *Life Sci*. 1992; 51(17): 55-61.

77. Wu CW, Wang SR, Chang TJ, et al. Content of glucocorticoid receptor and arginase in gastric cancer and normal gastric mucosal tissues, 1989; 64(12): 2552-6.
78. Gökmen SS, Yörük Y, Çakır E ve ark. Arginase and Ornithine, As Markers in Human Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Cancer Biochemistry Biophysics*, 1999; 17: 125-131.
79. Morris CR, Kato GJ, Poljakovic M et al. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension and mortality in sickle cell disease. *JAMA*, 2005; 294(1): 81-90.
80. Leu SY, Wang SR. Clinical Significance of Arginase in Colorectal Cancer, 1992; 70(4): 733-736.
81. Polat MF, Taysi S, Polat S ve ark. Elevated Serum Arginase Activity Levels in Patients with Breast Cancer. *Surg Today*, 2003; 33: 655-661.
82. Porembska Z, Luboinski G, Chrzanowska A et al.(2003). Arginase in Patients With Breast Cancer. *Clinica Chimica Acta*. 2003; 328: 105-111.
83. Erisir M, Ercel E, Yılmaz S ve ark. Evaluation of Optimal Conditions for Arginase Activity in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Vet. Med.-Czech*, 2005; 50(2): 69-76.
84. Bedoya AM, Tate DJ, Baena A et al. Immunosuppression in cervical cancer with special reference to arginase activity. *Gynecologic Oncology*, 2014; 135: 74-80.
85. Elgün S, Kumbasar H. Increased Serum Arginase Activity in Depressed Patients. *Prog. Neuro-Physchopharmacol and Biol. Psychiat.* 2000; 24(2): 27-232.
86. Metin S, Gökmen SS, Ayhan MS ve ark. Streptozotocin (STZ) ile Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Doku Arginaz Aktivitesi ve Ornitin Düzeyindeki Değişiklikler. *Türk Biyokimya Dergisi*, 2002; 27(4): 129-134.
87. Taşdemir B. Streptozotocin ile diyabet oluşturulan ratlarda eksojen kaynaklı L-arginin; arginaz, paraoksonaz, nitrik oksit ve antioksidan enzim düzeylerine etkisi. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2005.
88. Aldemir D, Tufan H, Ünal-Tecder M ve ark. Age-Related Alterations of Oxidative Stress and Arginase Activity as a Response to Intestinal Ischemia-Reperfusion in Rat Kidney and Liver. *Transplantation Proceedings*, 2003; 35: 2811-2815.
89. Durante W, Liao L, Peyton KJ et al. Lysophosphatidylcholine regulates cationic amino acid transport and metabolism in vascular smooth muscle cells: role in polyamine synthesis. *J Biol Chem* 1997; 272: 30154–30159.
90. Narayanan SP, Rojas M, Suwanpradid J et al. Arginase in Retinopathy. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2013; 36: 260-280.
91. Haraguchi Y, Aparicio JM, Takiguchi M, et al. Molecular Basis of Argininemia. *Clin. Invest.* 1990; 86: 347-350.
92. Barış N, Turgan N, Ersöz B. Argininin Tıpsal Biyokimyadaki Önemi. *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2004; 2(2): 83-90.

93. Cederbaum SD, Moedjono SJ, Shaw KNF et al. Treatment of Hyperargininemia due to Arginase Deficiency with a Chemically Defined Diet. *J. Inher. Metab. Dis.* 1982; 5: 95-99.
94. Wu G, Meininger CJ. Regulation of nitric oxide synthesis by dietary factors. *Ann Rev Nutr* 2002; 22: 61-86.
95. Morris SM, Jr. Recent advances in arginine metabolism: roles and regulation of the arginases. *Br J Pharmacol.* 2009; 157(6): 922-30
96. Spector EB, Rice SCH, Cederbaum SD. Immunologic Studies of Arginase in Tissues of Normal Human Adult and Arginase-Deficients Patients. *Pediatric Research.* 1983; 17(12): 941-944.
97. Geyer JW, Dabich D. Rapid Method for Determination of Arginase Activity in Tissue Homogenates. *Anal. Biochem.* 1971; 39: 412-417.
98. Kaplan LA. Urea. “ Methods in Clinical Chemistry”. Pesce AJ, Kaplan LA. (Editörler). The CV Mosby Company, Toronto 1987; 22-27.
99. Frankel S, Reitman S, Sonnenwirth AC: Grandwohl’s Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, seventh edition. 1970: (1) 403-404.
100. Kandemir FM, Özdemir N. Koyun dalak doku arginazının bazı kinetik özellikleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 2009; 15(4): 553-559.
101. Gülen Ş, Türkoğlu C, Ayabakan Ş. Bazı Orta Anadolu Koyunlarının Eritrositlerinde Arginaz Aktivitesinin Dağılımı. Ankara: Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Bölümü, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Veteriner ve Hayvancılık Araştırma Grubu, 1982; VHAG-451.
102. Benzer F. Fasciola Hepatica ile Enfekte Koyunların Kan ve Karaciğer Dokularında Arginaz, Nitrik Oksit, Bazı Antioksidant Enzimler ve Lipid Peroksidasyon Düzeyleri ile Karaciğer Arginaz Enziminin Biyokimyasal Özellikleri. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, 2001.
103. Ikemoto M, Tabata M, Miyake T et al. Expression of human liver arginase in *Escherischia coli*. Purification and properties of the product. *Biochem J.* 1990; 270 : 697-703.
104. İssi M, Kandemir FM, Özdemir N, et al. Şap Hastalıklı Besi Sığırlarında Salya ve Eritrosit Arginaz Aktiviteleri. *Fırat Univ Vet Fak Der* 2010; 21 (2): 91-93.
105. Kandemir FM, Yüksel M, Benzer F, et al. Sağlıklı ve piyometralı ineklerde eritrosit arginaz aktivitesi ve plazma nitrik oksit düzeyi. *Atatürk Üniv Vet Fak Bil Derg*, 2010; 5 (3): 107-112.
106. Gürsu MF, Ozan S. ve Gülen S. Çeşitli Türlerin Humor Vitreuslarında Üre, Ornitin ve Sitrülin Düzeyleri ile Arginaz Aktiviteleri. *Türk Veteriner ve Hayvancılık Dergisi*, 1994; 18: 87-91.

107. Özdemir N, Gürsu MF ve Gülen S. Akkaraman, Morkaraman ve İvesi Koyunlarının Eritrositlerinde ve Tükürüklerindeki Arginaz Aktiviteleri Arasındaki İlişki. *Biyokimya Dergisi*, 1987; 12(2): 120.

ÖZGEÇMİŞ

1988 Elazığ doğumluyum. Orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2007 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümüne girmeye hak kazandım ve 2011 yılında mezun oldum. 2012 yılında Fırat Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesinden Pedagojik Formasyon Eğitimi sertifikası aldım. 2012 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisansa başladım. Evliyim ve şu anda Adanada ikamet etmekteyim.