

T. C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİOKİMYA KÜRSÜSÜ

# ÇUKUROVA BÖLGESİNDE BİSALBUMİNEMİ



İHTİSAS TEZİ

Kimyager  
YÜKSEL ÖZDEMİR

ADANA — 1977

Gerek ihtisas konumun seşilmesinde , gerek çalışmalarım sırasında iten ilgisi ile bana yol gösteren sayın hocam Doç. Dr. Güneř YÜREĞİR 'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım .

Çalışmalarım ile çok yakından ve içtenlikle ilgilenen Dr. Turgay İS - BİR 'e , materyal temininde yardımlarını esirgemiyen Ass. Ruřen OKUYAZ - a , analizlerin yapılmasında yardımcı olan Ass. Belkis GZEN 'e , Akkapa Ana ocuk Sağlığı personeli ve Karaduvar İlkokulu retmenlerine, tezin ba - sımında yardımcı olan Yalçın YÜREĞİR 'e ve bana destek olan tüm arka - daşlara teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa NO
BÖLÜM I. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER .....	8
BÖLÜM III. MATERYAL VE METOD .....	16
A . Materyal .....	16
B . Metodlar .....	17
1. Seliüloz Asetat Elektroforezi .....	17
a . Plazmalarda protein elektroforezi .....	19
b . Bisalbumin taşıyan şahısların idrarlarının selüloz asetat elektroforezi .....	20
c . Bisalbumin saptanan plazmalarda HbS Elektrofo - rezi .....	20
d . Anormal albumin üzerinde genetik araştırma .....	20
2. Agar jel elektroforezi .....	20
a . Agar plaklarının hazırlanması .....	21
b . Agar jel elektroforezi .....	22
3. G - 200 dekstran jeli ile kromatografik ayırma .....	23
a . Kolonun Kalibrasyonu .....	24
b . Bisalbuminin kromatografik ayrılması .....	25
4. Total kolesterol tayini .....	28
5. Total protein tayini .....	28

<b>BÖLÜM IV. BULGULAR</b> .....	29
1. Selliöz asetat elektroforezi ile elde edilen bulgular ....	29
A. Plazma elektroforezi bulguları .....	29
B. İdrar elektroforezi bulguları .....	33
C. Hbs elektroforezi ile elde edilen bulgular .....	34
D. Bisalbumin üzerinde genetik araştırma sonucu elde edilen bulgular .....	35
2. Agar jel elektroforezi ile elde edilen bulgular .....	41
3. G - 200 Dekstran jeli ile yapılan kromatografik ayırım sonuçları .....	42
4. Kolesterol tayin sonuçları .....	42
5. Total proteini tayin sonuçları .....	44
<b>BÖLÜM V. TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	46
1. Tartışma .....	46
2. Sonuçlar .....	56
<b>ÖZET</b> .....	58
<b>DENEY SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİNDE KULLANILAN İSTATİS - TİKSEL METODLAR</b> .....	61
<b>KAYNAKLAR</b> .....	65

## BÖLÜM I

### GİRİŞ VE AMAÇ

Bisalbumin ender görülen bir albumin sentezi bozukluğu olup, elektroforetik alanda albumin sahasında iki bandın görülmesiyle belirlenir ( 25, 27, 57, 61, 71. ) Genetik bir bozukluk olan bisalbuminin Dünya'nın belirli bölgelerinde bulunan çeşitli etnik gruplara özgü olduğu değişik araştırmacılar tarafından açıklanmıştır. ( 18, 19, 33, 36, 40, 47, 48, 49, 53, 57, 62, 71. )

Türkiye gerek coğrafi konumu, gerekse tarihi özellikleriyle göç yolunun üzerinde bulunması ve antropolojik özelliklerinden dolayı bu tip genetik bozuklukların görüldüğü bir ülke olarak kabul edilmektedir ( 2, 3, 4, 7. )

Türkiye'nin genellikle güney kesiminde görülen akraba evlenmelerinin sıklığından dolayı bu tür genetik bozuklukların bu bölgede daha yaygın olduğu daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir ( 1, 2, 3, 4. )

Bu maksatla 1975 yılında Mersin ve yöresinde yapılan bir araştırmada 400 kan numunesinin sistematik incelenmesi selüloz asetat elektroforezi ile yapılmış, 2 vak'ada tesbit edilen hızlı yürüyen anormal albumin bandının

normale oranı 1:1 bulunmuş ve aynı şahıslarda yapılan hemoglobino-pati araş-tırması sonucu iki genin ayrı kromozomlarda yer aldığı sonucuna varılarak Türkiye'de bu konuda ilk defa bir çalışma yayınlanmıştır (17.)

Biz de bu noktadan hareket ederek Adana , Tarsus, Mersin ve çevre-sinde yaşayan " Eti Türkleri " adı verilen ve kendisine özgü sosyal ve gene-tik karakter taşıyan etnik gruplar üzerinde bisalbumin varlığını saptamak , bu-nun yanısıra bisalbumin ve hemoglobino-pati dağılımını aynı gruplarda inceleye-rek bu iki gen arasındaki ilgiyi bulmaya çalışmayı kendimize amaç edindik . Bu amaca paralel olarak saf Türkmen köyünde aynı konuda yapılan çalışma ile bu tür genetik bozukluğun etnik gruplara özel oluşuna açıklık getirmeye çalıştık.

Bölge ve etnik grup seçilerek yapılan bu çalışmaların yanısıra bir ayı-rım gözetmeksizin Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuva-rına 1976 yılının ilk 6 ay'ında başvuran 2644 hasta üzerinde yapılan araştı-rma ile bize yeni bölgelere götürecektir vak'aların tesbitini yapmaya çalıştık .

Bu çalışmada amaç bisalbuminin varlığını bölgemizde saptayarak ano-malinin genetik ve fizyokimyasal özelliklerini belirtmektir.

## BÖLÜM II

### GENEL BİLGİLER

Karaciğerde sentez edilen albuminin en önemli görevlerinden biri kanın ozmotik basıncını sağlamaktır. Bunun yanısıra diğer önemli bir fonksiyonu ise bilirubin, hemoglobin, serbest yağ asitleri, hormonları ve bazı ilaçları (Naftokinon türevleri, sulfamidler v.b.) organizmada taşımasıdır. (13, 16, 21, 37, 44, 71.)

İnsan albumininin yaklaşık molekül ağırlığının 69.000 olup, 575 amino asit içeren tek bir polipeptid zincirinden meydana geldiği yapılan araştırmalar sonucu ortaya konmuştur (29, 33, 37, 41, 67.) Albumin molekülü elipsoid yapıda olup 38 A° genişliğinde ve 150 A° uzunluğundadır. (16, 21, 70.)

Albumin diğer plazma proteinlerine oranla düşük izoelektrik noktasına sahiptir. Nötral ve alkali ortamda hızlı göç etmesinin sebebini, içerdiği titre edilebilen grupların fazlalığından dolayı yüksek negatif elektrik yüküne sahip olmasında aramak gerekir (6, 32, 55, 67.)

1955 Yılında Schieuren diabetli bir hastanın serum protein elektrofo- rezinde albumin sahasında tek yerine çift bant bulunduğunu saptayarak bisal- bumini ilk defa tarif etmiştir ( 34.) Bundan sonraki çalışmalarda 1957 'de Knedel Almanya'da iki ailenin 8 bireyinde yaptığı elektroforetik çalışmada çift albumin bandını saptayıp, bunun genetik bir protein anomalişi olduğunu açıklamıştır ( 34, 35, 49. )

İsveç'te insan fetusundan alınan serumda yapılan elektroforetik çalış- mada albumin ve  $\alpha_1$  globulin arasında görülen fraksiyonun anne serumun- da bulunmaması , bunun globulinin erken hayatta meydana gelen şekli olabile- ceği ileri sürülerek izah edilmiştir ( 11. ) İnsan fetusundan elde edilen se- rumda gestasyon boyunca yapılan çalışmalarda bu fraksiyonun başlangıçta to- tal proteinin % 10'unu teşkil etmekteyken gestasyon sonuna doğru bunun giderek azaldığı izlenirken aynı anda prematüre bebekler ve annelerinde böyle bir fraksiyona rastlanmaması da bu fikri kuvvetlendiren deliller olarak kabul edilmiştir ( 12. )

Konjenital olarak sol böbrek ve üreteri olmayan bir hastada bisalbu- minin mevcut olduğu araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur. Bunun he- rediter olup olmadığını saptamak amacı ile aynı ailede yapılan çalışmada ise bisalbumin varlığının saptanmasına rağmen çalışmada yukarıda belirtilen patolojik bulguların mevcut olmadığı görülmüştür. Aynı çalışmada bisalbumi- nin aile fertlerinde dağılımında cinsiyet bakımından bir farklılık göstermediği



belirtlmifltir. Bu ailede anomaliden etkilemeyen bireylerin bunu çocuklarına geçirmedikleri, görülen bu bozukluğun otozomal kodominant karakter taşıyıp tek lokusta meydana gelen bir mutasyondan ileri geldiği izah edilmiştir.

( 9, 24, 38. )

Başka bir aile propositusunun idrarında yapılan elektroforezde albumin sahasında serumdaki gibi çift bant tespit edilmiştir ( 23. )

1959 Yılında Norveç'te yapılan bir aile çalışmasında 43 kişilik bir ailenin 25 bireyinde bu anormal albumin saptanarak kağıt elektroforezi ile muhtelif pH'larda yapılan çalışmalarda ( pH : 3,5 ve pH: 12,2 ' de ) iki albuminin aynı mobilitayı gösterdikleri , en ideal ayrılmanın ise pH:8,6 ' da olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada anormal albuminin normale oranı 1:1 bulunmuştur. Bu oranın daha önceki çalışmalarda değişik bulunması mutant genin aileden aileye etkisinin rölatif olabileceği düşüncesinin doğmasına sebep olmuştur.

Bisalbumin yapısını aydınlatmak maksadıyla yapılan peptid analizinde ise normal albuminde mevcut dikarboksilik asitlerin yerini bisalbuminde lizin aldığını gösterilmiştir. Elektroforetik alanda meydana gelen farklı mobilitelerinin bu özellikte aranması gerektiği belirtilmiştir ( 30. )

Normal albumindeki karboksil grubu yerine anormal albuminde lizinin geçmesi sonucu lizinin  $\epsilon$  amino grubu iyonize olarak karboksil grubunun şarjını kaybetmesine sebep olur. Bu durumun mobilitenin farklı olmasını

sağlayarak bu çift bandı oluşturduğu ileri sürülmüştür. Yüksek pH, da ise bunun tersi olduğundan mobilitelelerinde bir farklılık gözlenmemiştir. Serum proteinlerinin Kohn metoduna göre yapılan ayrıştırılması sonunda elde edilen fraksiyon (IV + V) albuminin % 80 - 85' ini içerdiğinden bu kısım tripsin ve kimotripsin enzimleri ile hidrolize tabi tutulmuştur. Hidrolizden sonra saflaştırılıp lyofilize edilen fraksiyonlar kağıt kromatografisi ve selüloz asetat elektroforezine tabi tutularak yapıları aydınlatılmaya çalışılmıştır. Kimotripsin ile yapılan hidrolizde normal albumine oranla bir farklı peptid, tripsin ile yapılan hidrolizde ise iki farklı peptid bulunmuştur. Bu sonuç kimotripsin hidrolizinde peptidlerin bir kısmının insolubl fraksiyonda kalmış olabileceği düşüncesiyle izah edilebilir (24.)

Anormal albuminin özelliklerini açıklayan diğer bir çalışmada ise  
131  
I tiroksin bağlama kapasitesinin normale oranla daha fazla olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan I <sup>131</sup> bağlama kapasitesinin, kullanılan tampon çözelti karakterine göre değişiklik gösterdiği açıklanmıştır. Aynı çalışma ile ultrasantrifüjle yapılan ayırmada iki albuminin molekül ağırlığı bakımından farklılık göstermediği belirtilmiştir (56.)

Londra 'da bu yıllarda bulunan hızlı yürüyen bisalbuminin sadece selüloz asetatla ayrıştığı, kağıt ve nişasta jel elektroforezi ile ayrışmadığı gözlenmiştir. Araştırmacı bu tür bisalbuminin brom phenol blue ve tiroksin bağlama kapasitesinin de normale oranla fazla olduğunu yaptığı çalışmalarla ortaya

koymuştur. Aynı anormal albumin üzerinde yapılan immünojenik araştırmalar sonucu adı geçen albumin türünün normal albuminden immünojenik açıdan bir farklılık göstermediği ve anomaliden etkilenen şahısların kolesterol seviyelerinde ise hafif bir artış olduğu gözlenmiştir. ( 8,9, 45, 56, 59, 68.)

İlk defa Almanya'da Schleuren tarafından tesbit edilen bu anomaliye daha sonra Londra'da bir ailede bulunan hızlı yürüyen tip ve yine İtalya'da bir ailede tesbit edilen çift albumin bantlarının ilavesi , bu konudaki vak'aların sayısının artmasına sebep olmuştur ( 27.) Norveç' te bu konuda yapılan çalışmada ise bir ailede yavaş yürüyen bir albumin bandı heterozigot karakterde bulunmuştur ( 25. )

Bu zamana kadar saptanan tiplerin heterozigot karakter taşımasına karşılık ilk Homozigot vak'aya Kuzey Amerika Naskapi kızılderiilli kabileleri arasında yapılan araştırmada rastlanmıştır . Adı geçen toplulukta insidansın % 13-14 arasında olduğu yapılan araştırmalar sonucu ortaya koymuştur. Bu nedenle araştırmalar daha çok bu topluluk üzerine yönelmiştir ( 18, 46.) Bundan sonra ikinci homozigot karakterdeki bisalbumine yine kızılderiilli bir ailede rastlanmıştır. Adı geçen ailenin 38 bireyinden 15'inde heterozigot, tek bireyinde ise homozigot karakterde bisalbuminin görüldüğü açıklanmıştır. Bu nedeni daha önceki çalışmalarda olduğu gibi anomalinin tek lokusta bulunan bir gen tarafından meydana getirilmiş olmasında aramak gerekir. Bu çalışmalara paralel olarak yap

lan kan grubu analizinde ise bisalbuminle . aralarında bir bağlantı bulunamamıştır ( 10. )

Fransa'da ilk defa 1965 yılında bisalbumin karakteri taşıyan bir alle bireylerinin üzerinde yapılan çalışmada yavaş yürüyen albuminin total albuminin % 40' ını teşkil ettiği ve genetik bozukluğun otozomal kodominant karakter taşıdığı açıklanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu adı geçen bisalbuminin heterozigot olduğu ve bu durumun albumin polipeptid zincirindeki spesifik bir noktanın mütasyonundan ileri geldiği düşüncesini doğrular mahiyette olduğu açıklanmıştır. ( 30, 55. )

Yine bu sıralarda doğuştan işitme yetersizliği olan bir allede bulunan bisalbuminin işitme bozukluğuna sebep olan genle bir bağlantısı olup olmadığı tartışma konusu olmuştur ( 38. )

Meksika yerlilerinde görülen ve albumin Meksika diye isimlendirilen varyantın albumin B' ye oranla ( Avrupa' da görülen tipi ) daha hızlı yürüdüğü yapılan çalışmalar sonucu ortaya konmuştur. Aynı çalışmada albumin Meksika' nın grup spesifik komponente ( G<sub>e</sub> ) olan bağlantısı araştırılmışsa da kesin bir sonuca varılamamıştır ( 36, 47. ) Kuzey Amerika kıızılderilileri arasında yapılan bir çalışmada ise iki kabiledede aynı özellik gösteren bir varyantın varlığı saptanmıştır. Bu sonuçtan hareket ederek bu kabilelerin orijinleri arasında bir bağlantı olabileceği ve atalarının aynı ırktan olmasının ihtimal dahilinde olduğu düşüncesi kuvvet kazanmıştır ( 47, 48, 53. )

Bu konu ile ilgili 19 farklı orijinal ailede yapılan araştırma ile 5 yeni varyant tesbit edilerek bunlardan yavaş yürüyen varyantın 3  $G_c$  tipi ile beraber, çok hızlı yürüyen tipin ise ancak  $G_c$  ve  $G_c$  ile beraber  $1-1$   $2-1$  görüldüğü saptanmıştır. Böylece albumin ve  $G_c$  loküsü arasındaki ilgi daha çok açıklığı kavuşturulmuştur ( 39, 65. )

Elektroforetik alanda hızlı yürüyen bir varyant Makü'dan gelen kabilelerde bulunarak buna Albumin Makü adı verilmiştir. Adı geçen albuminin en belirgin özelliği  $G_c$  loküsü için homozigot olan şahısların albumin için heterozigot özellik göstermeleridir ( 61. )

1968 Yılında İtalya'da etnik bir grup üzerinde yapılan bir araştırmada yavaş yürüyen bisalbuminin büyük bir insidans gösterdiği gözlemlenmiştir ( 19. )

Brezilya ve Yeni Gine'de yapılan çalışmada ise Kuzey Amerika yerlilerinde görülen varyantlarla aynı özellikte varyantların saptanması araştırmacılar arasında bu anomalinin etnik gruplara has bir varyant olduğu fikrinin kuvvetlenmesine sebep olmuştur ( 40, 62. )

Yeni bir varyant olan Albumin Santa Ana Kaliforniya'da bulunarak  $G_c$  ile ilgisi araştırılmış ve yavaş yürüyen tip olduğu saptanmıştır ( 36. ) Venezuela'da Warao yerlileri üzerinde yapılan araştırmalarda albumin ve  $\alpha_1$  globulin arasında yürüyen bir fraksiyonun varlığı saptanmıştır. Adı geçen anormal albuminin total albuminin % 29'unu meydana getirdiği tesbit edilmiştir. Bu albumin tipini diğer varyantlardan ayıran en önemli özelliği ısıya dayanı-

lı olmamasıdır. Yapılan çalışmalar sonucu adı geçen şahıslarda hemoglobin anomali bulunması ve yalnız kadından kadına geçen bir özellik göstermesi bu tipin diğer varyantlardan farklı olduğunu göstermiştir ( 8. )

Albumin Gainesville Florida 'da İrlanda göçmeni bir ailede yavaş yürüyen tip olarak bulunmuş ve diğerleri gibi kodominant otozomal karakter taşıdığı tesbit edilmiştir ( 39. )

İtalya 'da bir ailede yapılan elektroforetik çalışmada görülen bisalbuminin aile fertlerinde serum esterase aktivitesi üzerine etki ettiği ve bu albumin anomaliinin Talassemia ile paralel gittiği gösterilmiştir ( 26. )

Arjantin'de Alman ve İtalyan asıllı iki aile üzerinde yapılan çalışmada tesbit edilen yavaş yürüyen albuminin , şahısların idrar ve tükürüklerinde de konsantre edilip, elektroforeze tabi tutulduklarında görülmesi bu konuya bir yenilik getirmiştir. Aynı çalışmada Sefhadex G - 200 ile yapılan ayırıştırma ile albumin saflaştırılıp , immünolojik metotla araştırma yapılmıştır. Bu çalışma ile iki albuminin aynı eluatta toplanmış olmasından bunların molekül ağırlıklarının aynı olduğu sonucuna varılmıştır ( 42. )

Selüloz asetat elektroforezinde belirli süre ve aynı şartlarda elektroforeze tabi tutulan albumin varyantlarının kağıt üzerinde yürütme hızları mm. olarak belirlenerek serumların  $-20^{\circ}C$  'de bir yıldan beş yıla kadar saklanabilme olanğından ötürü yeni bir varyant tesbiti , bilinen serumlar standardı gibi kullanılarak yapılmıştır ( 57. )

Avustralya'nın Dagua ve Yeni Gine'de Tukisenta'da tesbit edilen iki varyant ve Kuzey Afganistan ve Afganistan Gavarvin'de Pushington kabilesinde sadece kadından kadına geçen ayrı iki varyantın varlığı saptanarak bu konuda mevcut tiplere yenileri ilave edilmiştir ( 43, 60. )

1971 Yılında Hindistan'da ilk defa rastlanan vak'ada yavaş yürüten albuminin normale oranı daha evvel birçok tiplerde saptandığı gibi 1:1 olarak bulunmuştur. ( 9. )

1972 Yılında yapılan bir çalışma ile normal ve anormal albuminin Sedeks dekstran jeli ile ayrılıp saflaştırılmasından sonra amino asit sırası ve peptid dizilişi aydınlatılmaya çalışılmıştır. Alman asıllı bir alienin 22 bireyinde görülüp soyadlarına atfen Albumin Oliphant olarak isimlendirilen yeni varyant daha önce Earle tarafından yapılan çalışmada olduğu gibi kimotriptik ve triptik aktiviteye tabi tutulmuştur. Karboksil peptidaz yardımı ile anomalinin, anormal albuminde normal albuminde bulunan glutamik asit yerine lizinin geçmesinden meydana geldiği ve bu amino asit değişikliğinin C-terminal ucunda olduğu gösterilmiştir ( 15, 24. )

Normal insan albumininde :

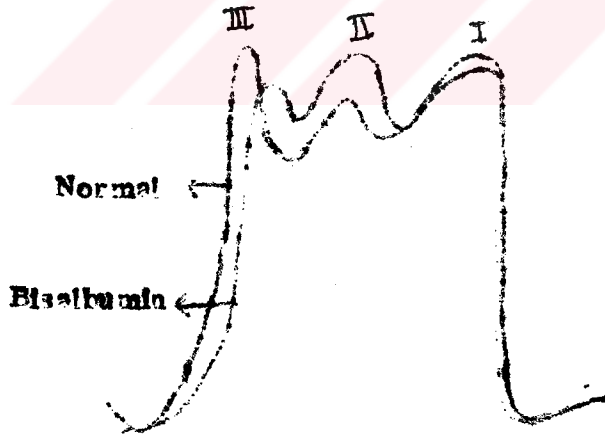
Ala, glu, glu, gly, lys, lys, leu olan sıranın ;

Albumin Oliphant'ta :

Ala, lys, glu, gly, lys, lys, leu şeklinde bulunduğu bu çalışma sonucu ortaya konmuştur. İnsan normal serum albumininin peptid paralanışı açık

olarak tam anlamıyla bilinmediğinden her iki albumin ( Normal ve Albumin Oliphant ) paralel aynı muameleye tabi tutularak karşılaştırma daha iyi bir şekilde yapılmıştır ( 69. )

Almanya 'da 50 yaşında bir kadında görülen albumin anomalisi bu konuda daha evvel kullanılan metodlar denenerek saptanmıştır. En iyi ayrılmanın selüloz asetat elektroforezi ile olduğu belirtildikten sonra serumun Sefhadexs jel filtrasyonu ile yapılan ayrılmasında albumin pikinde bir değişiklik olmadığı buna karşılık  $\delta$  globulin fraksiyonunda artma, yüksek molekül ağırlığına sahip fraksiyonda ise azalma olduğu gözlemlenmiştir ( 45. ) ( Şekil 1 )



Şekil - 1. Sefhadexs jel filtrasyonu ( G - 150 ) ile proteti fraksiyonlarının ayrılması .



Brezilya 'da Belem 'de bulunan bir varyant ve İngiltere 'de bulunan yeni bir tipte ( 14, 54 ) bu konuda tesbit edilen varyantların sayısı ve karşılaştırması nişasta jel elektroforezi ile yapılmıştır . Bu işlem üç farklı tam-pom sistemi kullanılarak yapılmış ve 20 tanesi monomer , 3 tanesi dimer olmak üzere toplam 23 varyantın varlığı saptanmıştır. Bunların orijinden hareketleri mm. olarak tesbit edilerek birbirleriyle karşılaştırılması daha kesin ve gözle görülebilir bir hale getirilmiştir ( 64. )

1975 Yılında şimdiye kadar sadece Amerika kızılderililerinde görülen homozigot tiplere ilaveten İtalya 'da yavaş yürüyen homozigot bir vak'a saptanarak Avrupa 'da ilk defa homozigot vak 'a yayınlanmıştır ( 52. ) Aynı yıl İngiltere Birmingham 'da Hindistan orijinali bir allede bulunan albumin varyantının albumin Kashmir 'e benzediği, sadece boya alma ' bakımından farklılık gösterdiği çalışmalarla belirtilmiştir ( 20. )

Bu çalışmadan sonra Japonya 'da biri hızlı, diğeri yavaş yürüyen iki varyant daha tesbit edilerek ( % 1 sıklıkla ) toplam varyant sayısı 27 'ye yükselmiştir ( 63, 66. )

Sen olarak 1976 yılında ilk defa Orta Avrupa ( Macaristan 'da ) yavaş yürüyen bir bisalbumin bir allede bulunmuştur ( 22. )

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda Dünya'nın çeşitli bölgelerindeki etnik gruplarda görülen bisalbuminin Dünya üzerinde dağılımı aşağıdaki harita üzerinde gösterilmiştir ( Şekil 2. )



Şekil 2. Bisalbumin geninin Dünyadaki dağılımı.

Bütün bu çalışmaların sonunda mevcut anormal albumin tiplerini yavaş, çok yavaş, hızlı, çok hızlı ve en hızlı olmak üzere beş ana gruba ayırabiliriz .

Bu tiplerde anormal albumin ortak tarafı otozomal dominant bir gen tarafından oluşturulması, heterozigot ve homozigot şekillerde bulunması ve anomalinin tek başına patolojik bir araz meydana getirmemesidir.

### BÖLÜM III

#### MATERYAL VE METOD

##### A. Materyal :

Çalışma materyalini teşkil eden numuneler Tablo I' de gösterilen yerleşme alanlarından temin edilmiştir.

TABLO I

Çalışma materyalinin toplandığı yerleşme alanları

YER	MAHALLE	KÖY	ALINAN NUMUNE SAYISI
	Akkapı		340
ADANA	Mıdık	( x )	102
		Baklalı	162
MERSİN	Karaduvar		397
TARSUS		Catalkeli (Catalköy)	93
HASTAHANE			2644
TOPLAM			3738

( x ) Bir Türkmen Köyü .

#### Numunelerin Hazırlanması :

Numune temini ve taşınmasının daha kolaylaştırılması bakımından mikro metod kullanılarak kanlar kılcal heparinli hematokrit tüplerine ( 100  $\mu$ l ) alındı. Muhtelif kaynaklardan elde edilen kanlar alınırken şahısların adı , soyadı , doğum yeri ve yılı kaydedildi. Yaş, cinsiyet ve akrabalık ilişkileri göz önüne alınmadan parmaktan hematokrit tüpüne alınan kanlar aynı gün Cellokrit marka santrifüjle santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Hemen çalışmanın mümkün olmadığı zamanlarda plazmalar daha sonra kullanılmak üzere  $-20^{\circ}$  C 'de saklandı. ( Bu yolla 1 yıldan 5 yıla kadar saklanabilir ). ( 57. )

Bisalbumin saptanan vakalarda hemoglobin elektroforezi yapılmak üzere hazırlanan hemolizatlar  $-20^{\circ}$  C 'de saklandı.

#### F . Metodlar :

Bölgeler ve hastahaneden temin edilen ve yukarıda izah edildiği şekilde hazırlanan materyal üzerinde çalışma aşağıdaki metodlara göre yürütüldü.

#### 1 . Selüloz Asetat Elektroforezi :

Elektroforez elektrikli alanda partiküllerin sahip oldukları elektrik yükünden dolayı hareket etme kabiliyetine dayanılarak kurulmuştur. Bu yüzden proteinlerin izo elektrik noktalarının üstünde veya altında farklı yüke sahip olmalarından ötürü farklı hızla göç etmeleri prensibine dayanarak Tise'

Bu plazma proteinlerini ayırtmayı başarmıştır ( 28,32. )

Elektroforezde numunelerin tatbik edildiği zeminler muhtelif olabilir .  
Bunlardan en çok kullanılan ve kısa sürede sonuç alınabileni selüloz asetat elektroforezi olduğundan araştırmamızda tercih edilmiştir .

Numunelerde selüloz asetat elektroforezi aşağıdaki şartlarda yapıldı (54)

Tampon : Barbital tamponu ( pH : 8,6 )

7,36 gr. Barbital

41,20 gr. Barbital - Na

Yaklaşık 1 litre suda çözüldükten sonra arık su ile 4 litreye tamamlayıp üzerine koruyucu olarak 20 ml. Timol ( İzopropil alkoldeki % 5 ' lik çözeltisi ) ilave edilerek hazırlandı .

Selüloz asetat şeritleri : Seprophore III ( Gelman Instrument Company )

Boyutlar : ( 7,5 cm X 7,5 cm )

Köprü aralığı : 6 cm.

Gerilim : 0,75 m amp / 1 cm ( enine )

Süre : 45 dakika

Boya : Ponceau S ( Gelman Instrument Company )

500 mg. ihtiva eden kapsülün içerdiği miktar 100 ml % 5 ' lik

Tri Klor Asetik Asit içerisinde çözümlenerek hazırlandı .

Yıkama çözeltisi : a-) Metanol ,

b-) % 13 ' lük Asetik Asit.

Elektroforez tankı 200 ml kadar tampon gözeltisi ile (pH : 8,6) dolduruldu. Bu tamponda ıslatılarak nemliliğe kadar Whatman No:1 kağıdı ile kurutulmuş selüloz asetat kağıtları üzerine serumlar katodik olarak tatbik edildi. Sonra bu şerhler köprü üzerine gergin olarak yerleştirilerek tankın kapağı kapatıldıktan sonra 45 dakika süre ile şerhden eninin her cm'i için 0,75 m.amp uygulanarak elektroforeze tabi tutuldu.

45 dakikalık süre sonunda boyaya atılan kağıtların 10 dakika Ponceau S boyasında boya alması temin edildikten sonra boya artıklarından arınmaya kadar seri halde % 5 ' lik asetik asit banyolarından geçirildi.

Şeffaflaştırma işlemi için kağıtlar birer dakika , sırayla metanol , metanol ve % 13 ' lük asetik asit banyosunda tutulduktan sonra temiz cam plaklar üzerine hava kabarcığı kalmayacak şekilde yapıştırılarak 80 ° C ' ye getirilmiş etüve kondu. Etüvde tahminen 10 dakikada şeffaflaşan selüloz asetat şerhleri soğutulduktan sonra serum protein miktarları Helena Clark Sean optik densitometresinde ( 525 nm ) değerlendirilerek % rülatif miktarları eğriden değerlendirildi.

Bu metod esas alınarak 4 tip çalışma yapıldı.

#### \*. Plazmalarda protein elektroforezi :

Çeşitli bölgelerden sağlanan plazmalarda normal albumin ve bisalbumin selüloz asetat elektroforezi ile birbirinden kolaylıkla ayrılarak anormal albuminin normal albumine oranı ve anormal albuminin normale na-

zaran daha yavaş veya hızlı yürümesi hakkında fikir edinilmeye çalışıldı .

**b . Bisalbumin taşıyan şahısların idrarlarının selüloz asetat elektroforezi :**

Plazma numunelerinde bisalbumin tesbit edilen şahıslardan alınan idrarlar Lyphogel ( Gelman Instrument Company ) ile konsantre edildikten sonra aynı şartlarda selüloz asetat elektroforezine tabi tutularak şahısların idrar albuminlerinin bisalbumin karakteri taşıyıp taşımadığı araştırıldı.

**c . Bisalbumin saptanan plazmalarda HbS elektroforezi :**

Plazma örneklerinde bisalbumin tesbit edilen şahıslarda HbS ve bisalbumin genleri arasında ilgi olup olmadığının anlaşılması için bu şahıslardan sağlanan eritrositler hemoliz edilerek laboratuvarımızda rutin olarak yapılan hemoglobin elektroforezine tabi tutuldu. ( Kohn metoduna göre ), (35.)

**d . Anormal albumin üzerinde genetik araştırma :**

Hastahane popülasyonu esnasında saptanan iki propositusunun alle bireylerinden hayatta bulunanlar ve numune alınabilmesi mümkün olanlardan temin edilen numuneler üzerinde selüloz asetat elektroforezi ile bisalbumin dağılımı ve anomalinin genetik özellikleri incelendi. Aynı allelerde HbS incelemesi hemoglobin elektroforezi ile yapılarak iki gen arasındaki bağlantı araştırıldı.

**3 . Agar jel elektroforezi :**

Nişasta , akrilamid jelleri ile yapılan elektroforezlerde elektrik



yüküne sahip partiküllerin daha katı ortamda hareketlerinin azalmasından dolayı ayrılmanın daha geç fakat daha iyi olmaktadır. Biz de bu noktadan hareket ederek daha iyi bir ayırım sağlayabilmek amacı ile numuneleri agar jel elektroforezine tabi tuttuk.

Bisulbumin tesbit edilen plazma numunelerinde alkali ortamda yapılan agar jel elektroforez metodu kullanıldı. ( 46. )

Tampon : Barbitat tamponu ( pH : 8,6 )

Barbitat - Barbitat Na.

Kullanılan agar : Bacto difco agar

Köprü aralığı : 10 cm.

Gerilim : 8 m. amp / 1 plak için

Süre : 2 , 5 saat .

Temperatür : + 4° C .

Kullanılan boya : Nigrosin ( B.D.H. Laboratory Chemicals )

0 , 1 gr 100 ml suda çözülerek hazırlanan konsantre stok nigrosinden 10 ml alınıp, buna 20 ml glasiel asetik asit ilave edildiikten sonra arık su ile litreye tamamlanarak hazırlandı.

Temizleme Çözeltisi : % 5 ' lik asetik asit

a . Agar plakların hazırlanması :

Agar kaplanacak cam plaklar 2 mm kalınlığındaki camdan ( 7,5 x 7,5 ) cm boyutunda kesilerek hazırlandıktan sonra üzerindeki yağ ve

kirden arınmaları için alkol içerisinde batırıldı.

Agar jelin boyama ve boyadan arıtılması işlemleri esnasında camdan ayrılıp kaymaması için cam plakların önceden % 0,1' lik agar çözeltisi (saf suda) ile astarlanmış olması gerekir. Alkolden çıkarılıp kurutulan cam plaklar % 0,1' lik sıcak agar çözeltisine batırıldıktan sonra 100 ° C 'ye getirilmiş etüvde kurutuldu.

Bu esnada 100 ml Barbitol tamponunda ( pH : 8,6 ) kaynar su banyosu üzerinde çözümlenerek hazırlanan % 1' lik agar çözeltisi kaynar su banyosu ile beraber agar kaplanacak cam plakların yanına götürüldü. Etüvde kurutulan astarlanmış agar kaplanacak plaklar daha sonra kullanılmak üzere uzun süre bozulmadan saklanabildiğinden astarlama birçok plaklar için toptan yapıldı.

Etüvden çıkarılıp soğutulan plaklar düzgün bir yüzeye yerleştirilerek agarın homogen bir şekilde yayılması sağlandıktan sonra ( 8 ml pipetle ) soğuyup donması beklendi.

#### b. Agar jel elektroforezi :

Yukarıda izah edildiği gibi hazırlanan plaklar üzerine numune tatbiki selüloz asetat elektroforezinde olduğu gibi katodik olarak yapıldı.

Jel üzerinde bistüri ile açılan yarıklara numune sulandırılmadan ince uçlu bir fırça ile tatbik edilerek numune numaraları, anot, katod ve tatbik noktası alcyan mürekkebi ile işaretlendikten sonra agar kaplanmış kısmı üstte

gelmek üzere tanka yerleştirildi. Akımı jele ve numuneye iletmek maksadı ile tamponda ıslatılmış Whatman No : 3 kâğıtları bu agar plağın üstüne bir ucu tampona batacak şekilde yerleştirildi. Tankın kapağı kapatıldıktan sonra 180 Volt ( 8 m. amp / 1 plak için ) akım tatbik edilerek 2,5 saat süre ile  $+ 4^{\circ} C$  'de elektroforeze tabi tutuldu ( 24.)

Bu süre sonunda stok Nigrosin çözeltisinden hazırlanmış seyreltik Nigrosin boyası içine agar kaplı kısım üstte gelecek şekilde konan plaklar burada 20 dakika bırakıldı. Sonra boya artıklarından temizlenene kadar seri halde % 5 ' lik asetik asit banyolarından geçirilerek jelin renginin açılması sağlandı.

Normal ve anormal albumin içeren serumlar karşılaştırma ve tesbitin daha iyi yapılabilmesi için agar üzerinde yan yana elektroforetik ayırımına tabi tutuldu.

### 3. G - 200 Dekstran jeli ile Kromatografik ayırma :

Glikoz ünitelerinin  $\alpha 1-4$  ve  $\alpha 1-6$  bağlarıyla bağlanmasından meydana gelen bir polimer olan dekstran jeli belli özellikteki kolona dolduruldu. Bu jelin özelliği farklı molekül ağırlığında maddelerle bir karışımı ihtiva eden çözeltilerden bu maddeleri, ayrı ayrı hızlarda geçirmesidir. Bu özellikten yararlanılarak maddelerle ayrılması ve saflaştırılması yapılabilir ( 5 , 8 , 50. )

Biz de jel filtrasyonunun bu özelliğinden faydalanarak anormal albu-

min taşıyan plazma numunelerinin özelliklerinin belirlenmesi için G - 200 dekstran jeli ile bu çalışmayı yaptık.

Bu metod için sigma firmasından ( Uppsala Fine Chemical Corp. ) temin edilen G - 200 dekstran jeli ( 40-120  $\mu$ çapında ) kullanılmıştır.

Jel kolonunun teşkili : Kullandığımız kolonun özelliklerini şöyle sıralayabiliriz.

Boyu	: 36 cm .
Çapı	: 2 , 5 cm .
$V_t$	: 176 ml .
Akış Hızı	: 36 ml / 1 saat .

Jel yatağının hazırlanması için özellikleri yukarıda verilen kolonun hacmi hesaplanarak şiştiği zaman kolonu doldurmaya yeterli miktar kuru jel ( yaklaşık olarak 6 gr ) tartılarak % 0,9 ' luk Kei çözeltisi için de oda sıcaklığında bir hafta şişmeye terk edildi.

Bir hafta sonunda şişen sefhadeks G-200 dekstran jeli hava kabarcığı kalmaksızın kolona dolduruldu. Jel kolonu pH : 7,4 olan fosfat tamponu ile 48 saat dengelendikten sonra molekül ağırlıkları diğer metodlarla ( Ozmatik basınç , sedimentasyon ve X ışınları difraksiyonu v.s. ) oldukça kesin bir şekilde saptanmış bulunan proteinlerden faydalanılarak kalibre edilmiştir.

a . Kolonun Kalibrasyonu :

Kalibrasyon için standart proteinlerden 5 mgr ( Albumin,

Fibrinojen ve  $\gamma$  globulin ) 3 ml pH : 7, 4 olan fosfat tamponu içerisinde çözümlenerek kolona uygulandı.

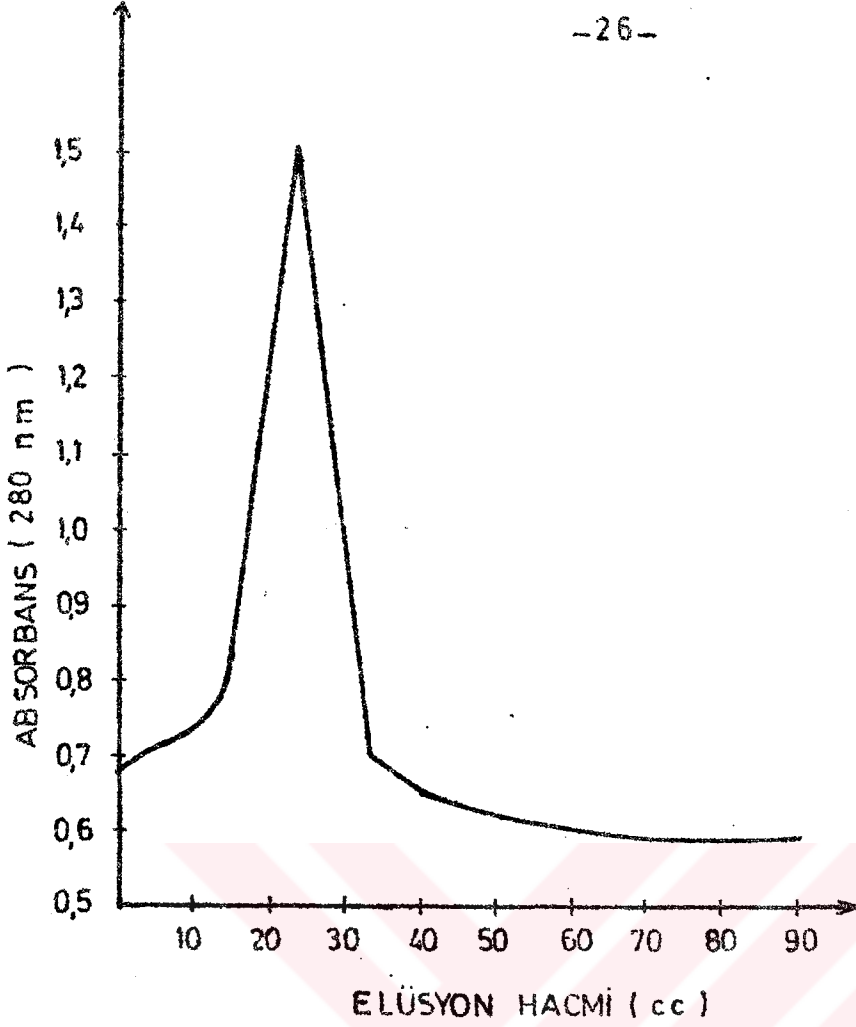
Eluatlar 3 ' er ml ' lik porsiyonlar halinde toplanarak içerdikleri protein miktarı Beckman DU spektrofotometresinde 280 nm dalga uzunluğundaki absorptans değerleri ölçülerek bulundu. Kullandığımız her protein için 280 nm. da okunan absorptans değerleri ile elüsyon hacimleri arasındaki bağıntı aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir ( Şekil 3, 4, 5. )

Bu şekilde standart proteinlerin bizim kullandığımız kolonda hangi eluatta elde edileceği saptandı. Bu küresel proteinlerin elüsyon hacimleri ile molekül ağırlıklarının -logaritmaları arasında lineer kalibrasyon grafiği çizildi. ( Şekil 6. )

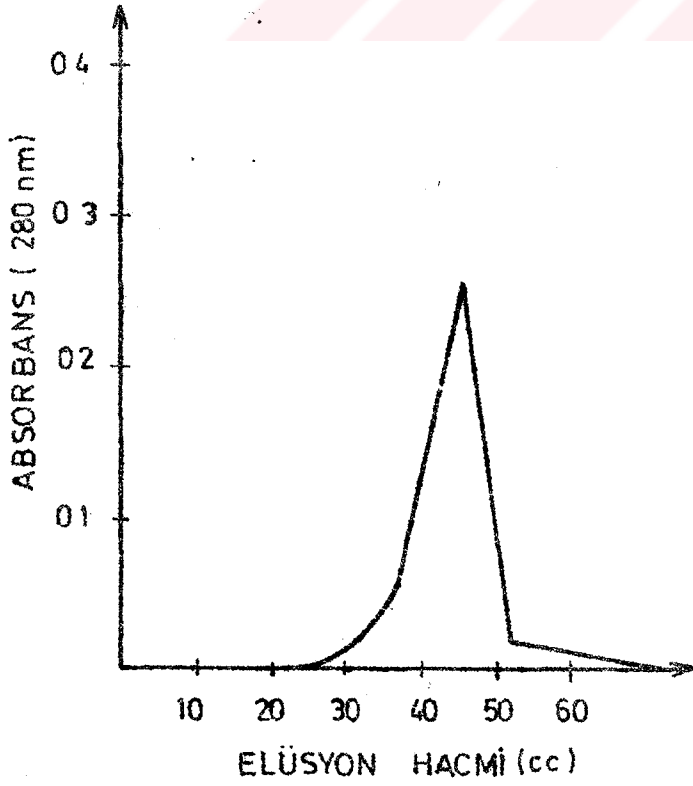
Bu kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak molekül ağırlığı bilinmeyen bir madde kolondan geçirilip, en yüksek absorptansa tekabül eden elüsyon hacminden gidilerek kalibrasyon eğrisi yardımıyla molekül ağırlığı tayin edilebilir.

#### B. Bisalbuminin Kromatografik ayrılması :

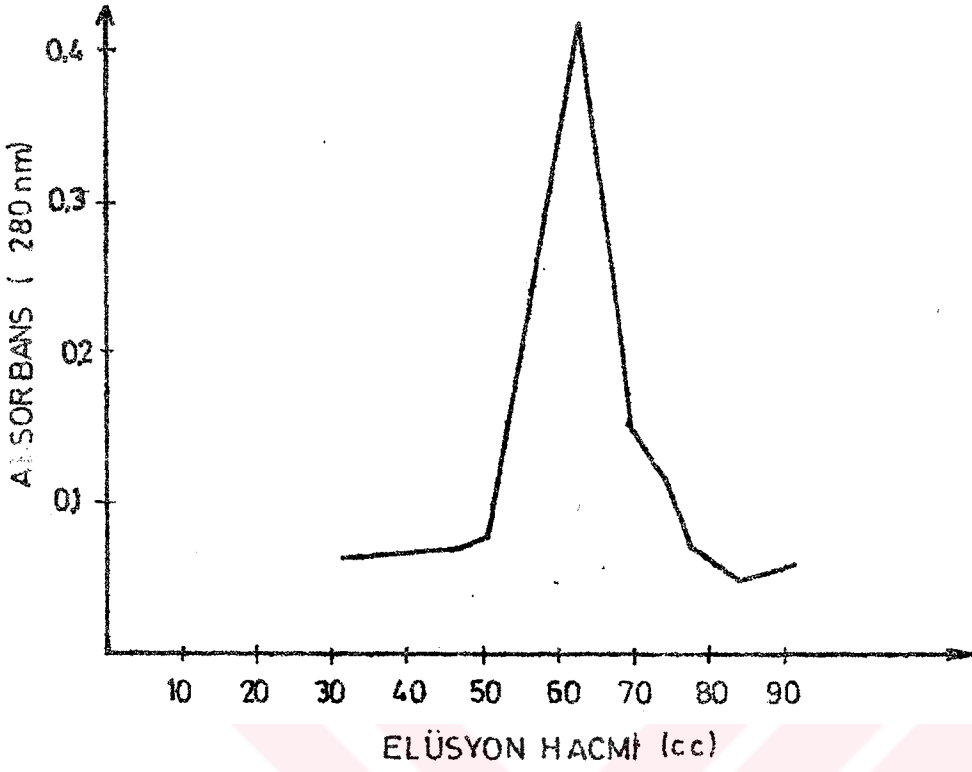
Kolon 48 saat pH : 7,4 olan fosfat tamponu ile dengelendikten sonra normal albumin ve bisalbumin içeren serumlar 3 mgr. protein ihtiva edecek şekilde 3 ml tamponla sulandırılıp, kolona tatbik edildi. Eluatlar 3 ' er ml ' lik porsiyonlar halinde toplandıktan sonra Beckman DU spektrofotometresinde 280 nm dalga boyunda absorptansları okundu. Yukarıda an-



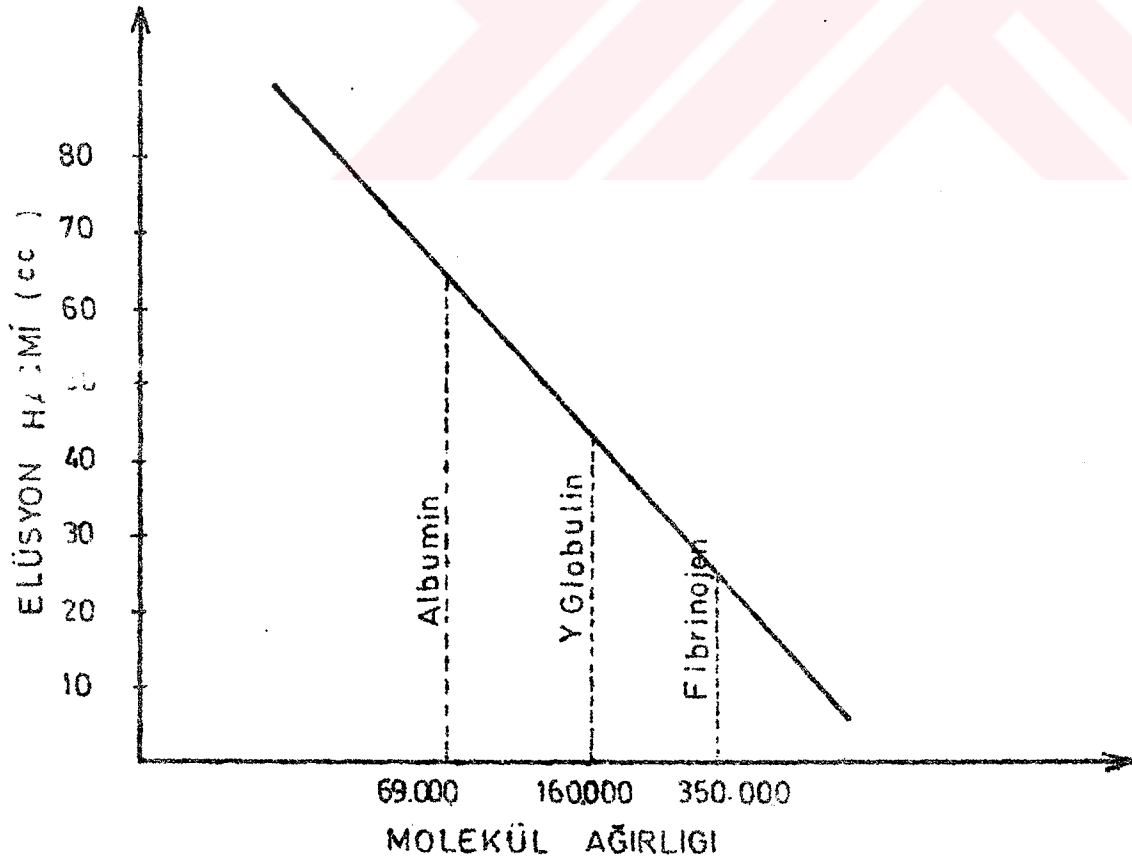
Şekil 3. Fibrinojenin sefades G-200 jeli ile kromotografik ayrılması.



Şekil 4. Y globulinin sefades G-200 jeli ile kromotografik ayrılması.



Şekil 5. Albuminin sephadexs G-200 jeli ile kromatografik ayrılması



Şekil 6. Sephadexs :G-200 dekstran jeli ile kolonun kalibrasyon grafiği

latıldığı gibi hazırlanan kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak iki albumin molekül ağırlık ve özellikleri bakımından karşılaştırıldı .

#### 4 . Total kolesterol tayini :

Daha önceki çalışmalarda bisalbumin tesbit edilen şahısların serum kolesterol seviyelerinde artış tesbit edilmiştir. Aynı sonucun bölgemiz topluluklarında da elde edilip edilemeyeceği fikrinden hareket ederek bülgemizde bisalbumin tesbit edilen şahısların serumunda kolesterol tayini yapmaya karar verdik .

Bisalbumin tesbit edilen şahıslarda serum kolesterol tayini Libermann-Burchard metodu kullanılarak yapıldı ( 51. )

#### 5 . Total protein tayini :

Bisalbumin ve total protein arasındaki ilgi hakkında fikir edinmek amacı ile bisalbumin içeren serumlarda total protein tayini Biüret metodu ile yapıldı ( 28. )



## BÖLÜM IV

### BULGULAR

Adana, Tarsus , Mersin çevresinde Em Türklerinin yerleşme alanlarından ve bir Türkmen köyünden elde edilen 1094 , bunun yanında hastahaneye başvuran çeşitli orijinal hastalardan temin edilen 2644 , toplam olarak 3738 numune üzerinde yapılan araştırmada aşağıdaki bulgular elde edildi.

1- Selüloz asetat elektroforezi ile elde edilen bulgular :

A. Plazma elektroforezi bulguları :

Tablo II 'de 3738 plazma numunesinin selüloz asetatla yapılan protein elektroforezi ile bisalbumin saptanan yerleşme alanları görülmektedir.

Bisalbumin tesbit edilen bölgelerde dağılımın kadın ve erkekler arasında farklı olup olmadığını anlamak için yapılan çalışma sonucu elde edilen bulgular Tablo III 'de gösterilmiştir.

TABLO II

Numune temin edilen yerleşme alanlarında bisalbumin yoğunlukları

Numune temin Edilen Kaynaklar	Mahalle	Köy	Alınan Numune sayısı	Bisalbumin	Bisalbumin %
ADANA	Akkapı		340	0	0
	Midik		102	0	0
		Baklılı	162	0	0
MERSİN	Karaduvar		397	35	8,8 - <sup>+</sup> 0,036 <sup>xx</sup>
TARSUS		Çatalköy (Çatalkell)	93	9	9,6 - <sup>+</sup> 0,019
HASTAHANE			2644	2	0,08 - <sup>+</sup> 0,0016
TOPLAM			3738	46	1,23 - <sup>+</sup> 0,0005

x

Saf Türkmen köyü

xx

Standart Sapma.

TABLO III

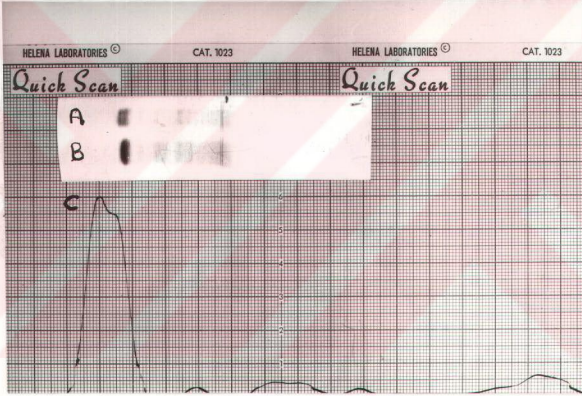
Karaduvar ve Çatalköy'de bisalbuminin cinsiyete göre dağılımı .

Bölge	Alınan Numune Sayısı	KADIN			ERKEK		
		Toplam	Bisalbumin	%	Toplam	Bisalbumin	%
Karaduvar	397	173	23	13	224	12	5
Çatalköy	93	35	4	11	58	5	9
Toplam	490	208	27	13	282	17	6

İki değişken arası ilişkinin önemliliğini belirten ( t ) testi

$p < 0,05$  ( Karaduvar ),  $p > 0,05$  ( Çatalköy ),  $p < 0,05$  ( toplam. )

Selüloz asetatta ayrılmanın daha iyi görülebilmesi için normal ve anormal albumin içeren plazmalar beraber elektroforeze tabi tutularak bölgemizde saptanan anormal albuminle normale oranla daha hızlı yürüdüğü saptandı. (Şekil 7.)



A. Bisalbumin B. Normal albumin C. Bisalbumin grafiği

Şekil 7. Selüloz asetat elektroforezi ile normal ve anormal albuminin ayrılması

Bu iki albuminin kantitatif olarak birbirine oranını bulmak amacı ile, elde edilen selüloz asetat kağıtları şeffaflaştırıldıktan sonra Helena Quick Scan

densitometrede değerlendirildi. 520 nm 'da elde edilen değerlerden gidilerek rölatif olarak iki albumin miktarları bulundu . ( Tablo IV. )

TABLO IV

A ailesinde normal ve anormal albumin miktarlarının kantitatif  
1 değerlendirilmesi

A Ailesi 1 Bireyleri	Total Albumin	
	Anormal albumin % x	Normal albumin % x
A 1	57,5 ± 0,49	42,5 ± 0,49
A 2	55 ± 0,50	45 ± 0,50
A 3	55 ± 0,50	45 ± 0,50
A 4	56 ± 0,49	44 ± 0,49
A 5	57 ± 0,49	43 ± 0,49
A 6	58 ± 0,49	42 ± 0,49
Ortalama	56,3 ± 0,49	43,7 ± 0,49

x

Standart Sapma



Tablonun incelenmesinden de görüleceği gibi anormal albumin totalin % 56,3' ünü teşkil etmektedir.

Normal ve anormal albuminin selüloz asetatta yürütme hızlarının karşılaştırılması için yapılan çalışma sonunda bütün numunelerde bisalbumindeki bir albumin bandının normal albumin yerinde bulunduğu ve diğer albumin fraksiyonunun ise normale oranla daha hızlı yürüdüğü gözlemlendi.

Bisalbumindeki bir albumin fraksiyonunun normal albumin yerinde görülmesi nedeniyle heterozigot özellik saptandı. Bu çalışmada sadece anormal bant içeren homozigot şekle rastlanmadı.

#### B. İdrar elektroforezi bulguları :

Plazma numunelerinde bisalbumin saptanan şahıslardan alınan idrarlar Lyphogel ile konsantre edildikten sonra plazmalarla aynı şartlarda elektroforeze tabi tutuldu.

Bunlardan yalnız karaciğer kanseri olan hastanın idrarında yapılan elektroforetik çalışmada albumin sahasında çift bant saptandı. Diğer şahısların idrarlarında ise bu bulgu elde edilemedi. Bu şahsın plazma ve idrarı yan yana elektroforeze tabi tutularak bu ayırım ve karşılaştırma daha iyi gözlemlendi. ( Şekil 8 )



A . Serum

B . İdrar

Şekil 8. Bisalbuminin serum ve idrarda elektroforetik ayrılması

C. HbS elektroforezi ile elde edilen bulgular :

Plazma numunelerinde bisalbumin saptanan şahıslarda bisalbumin ve HbS genleri arasında ilgi olup olmadığının anlaşılması için Kohn metoduna göre hemogloblin elektroforezi yapıldı. Bisalbumin ve HbS 'in değişik yerleşim alanlarıadaki beraberliği sayısal olarak Tablo V 'de gösterilmiştir.

TABLO V

Bölgelerdeki bisalbumin ve HbS 'in beraberlik yüzdesi

Bölge	Mahalle	Köy	Numune sayısı	Bisalbumin sayısı	HbS	% Beraberlik
Mersin	Karaduvar		397	35	11	31,4 ± 0,46 <sup>x</sup>
Tarsus		Çatalköy	93	9	3	33,3 ± 0,47

<sup>x</sup>  
Standart sapma.

İki değişken arası ilişkinin önemliliğini belirten  $\chi^2$  testi :

$p < 0,05$  ( Karaduvar ),

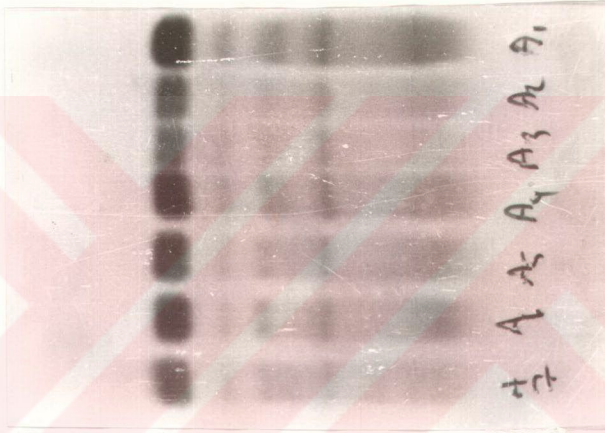
$p > 0,05$  (Çatalköy)

D. Bisalbumin üzerinde genetik araştırma sonucu elde edilen bulgular :

Hastahane popülasyonunda yapılan çalışmada iki propositusun ailesinde ( $A_1$  ve  $A_2$ ) ve alan taraması esnasında saptanan bir başka bisalbuminamik ailede (Ç) yapılan çalışmalarda anomalinin aile bireylerinde dağılımı saptandı. Bisalbumin ve HbS genleri arasındaki bağlantı hakkında fikir edinmek gayesiyle  $A_1$ , Ç,  $A_2$  aile fertlerinde aynı zamanda hemoglobin elektroforezi de yapıldı, bu iki anomalinin beraber görülme yüzdesi saptandı.

30 kişilik  $A_1$  ailesinin 4 neslinde yapılan elektroforetik çalışma ile 30 kişiden 9 'unda bisalbumin saptandı. Bu ailede anomalilerin (albumin ve hemoglobin) dağılımı aşağıdaki genetik haritada gösterilmiştir. (Şekil 9.)

Aynı ailede 9 bireyin selüloz asetatta elektroforetik bisalbumin tesbiti Şekil 10 'da gösterilmiştir.

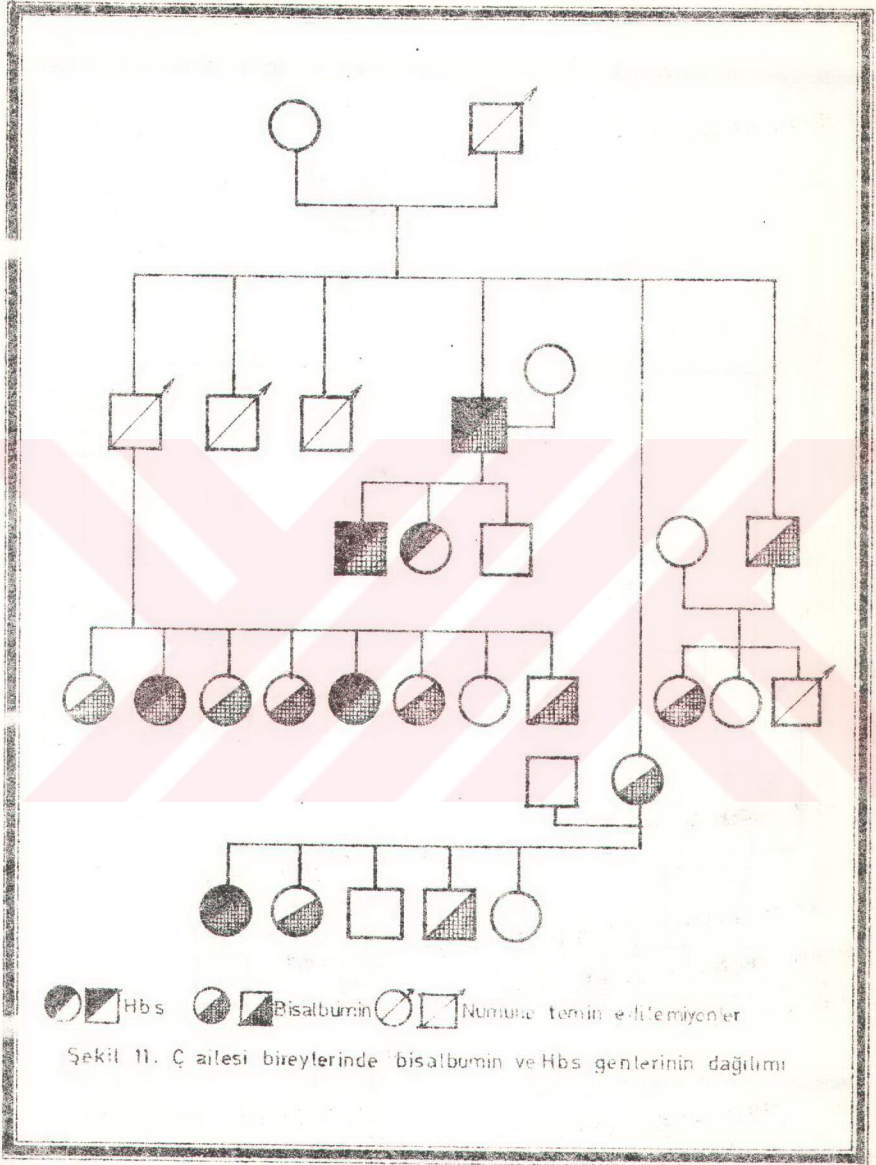


Şekil 10.  $A_1$  ailesi bireylerinin anormal albuminlerinin selüloz asetat üzerinde ayrıştırılması

İkinci ailede ( $\zeta$ ) bisalbuminin aile bireyleri arasındaki dağılımının incelenmesi sonunda 26 bireyinden 14'ünün anomaliden etkilendiği saptandı.  $\zeta$  ailesinde anomalinin 3 nesilde dağılımı aşağıdaki genetik haritada gösterilmiştir. (Şekil 11)

Üçüncü aile ( $A_2$ ) bireylerinde anormal genin dağılımı ise Şekil 12 'de görülmektedir.





$A_1$ ,  $A_2$ ,  $\zeta$  allelerindeki bisalbumin cinsiyete göre dağılımı Tablo VI 'da gösterilmiştir.

TABLO VI

Allelerde bisalbumin cinsiyete göre dağılımı

Alle	Alınan numune sayısı	KADIN			ERKEK		
		Toplam	Bisalbumin	%	Toplam	Bisalbumin	%
$A_1 + \zeta + A_2$ 1 2	74	42	15	33	32	12	37

İki değişken arasındaki ilişkinin önemliliğini veren (t) testi :  $p > 0,05$

Bu üç allede iki anomalinin (bisalbumin ve HbS) görülme beraberliği sayısal olarak Tablo VII 'de gösterilmiştir.

TABLO VII

Allelerde bisalbumin ve HbS 'in beraberlik yüzdesi

Alle	İncelenen birey sayısı	Bisalbumin	HbS	Bisalbumin + HbS	% beraberlik
$A_1$	30	9	7	5	$55,5 \pm 0,48$
$\zeta$	26	14	1	5	$35,7 \pm 0,46$
$A_2$	18	4	4	0	0
Toplam	74	27	12	10	$40 \pm 0,49$

İki değişken arası ilişkinin önemliliğini belirten  $\chi^2$  testi :  $p > 0,05$

2. Agar jel elektroforezi ile elde edilen bulgular :

Agar jel ile yapılan elektroforetik çalışma sonunda bisalbumin agar üzerinde ayrıştırılarak selüloz asetat ile elde edilen sonuçlar burada da gözlemlendi. Ayrılma ve karşılaştırmanın daha iyi gözlenebilmesi için agar üzerinde normal ve anormal albumin içeren serumlar yan yana elektroforeze tabi tutuldu. ( Şekil 13 )



1, 2, 4 Bisalbumin 3, Normal albumin

Şekil 13. Agar jel üzerinde bisalbuminin ayrıştırılması.

Agar jel üzerinde bisalbumin saptanan şahsın idrarında ( Karaciğer kanseri ) yapılan elektroforezde de ayrılma saptandı.

3. G - 200 dekstran jeli ile yapılan kromatografik ayırım sonuçları :

Bisalbuminin sefhadeks G - 200 dekstran jeli ile yapılan ( pH : 7,4 fosfat tamponu ) kromatografik ayrıştırılmasında albuminin iki fraksiyona ayrıldığı saptanılmıştır.

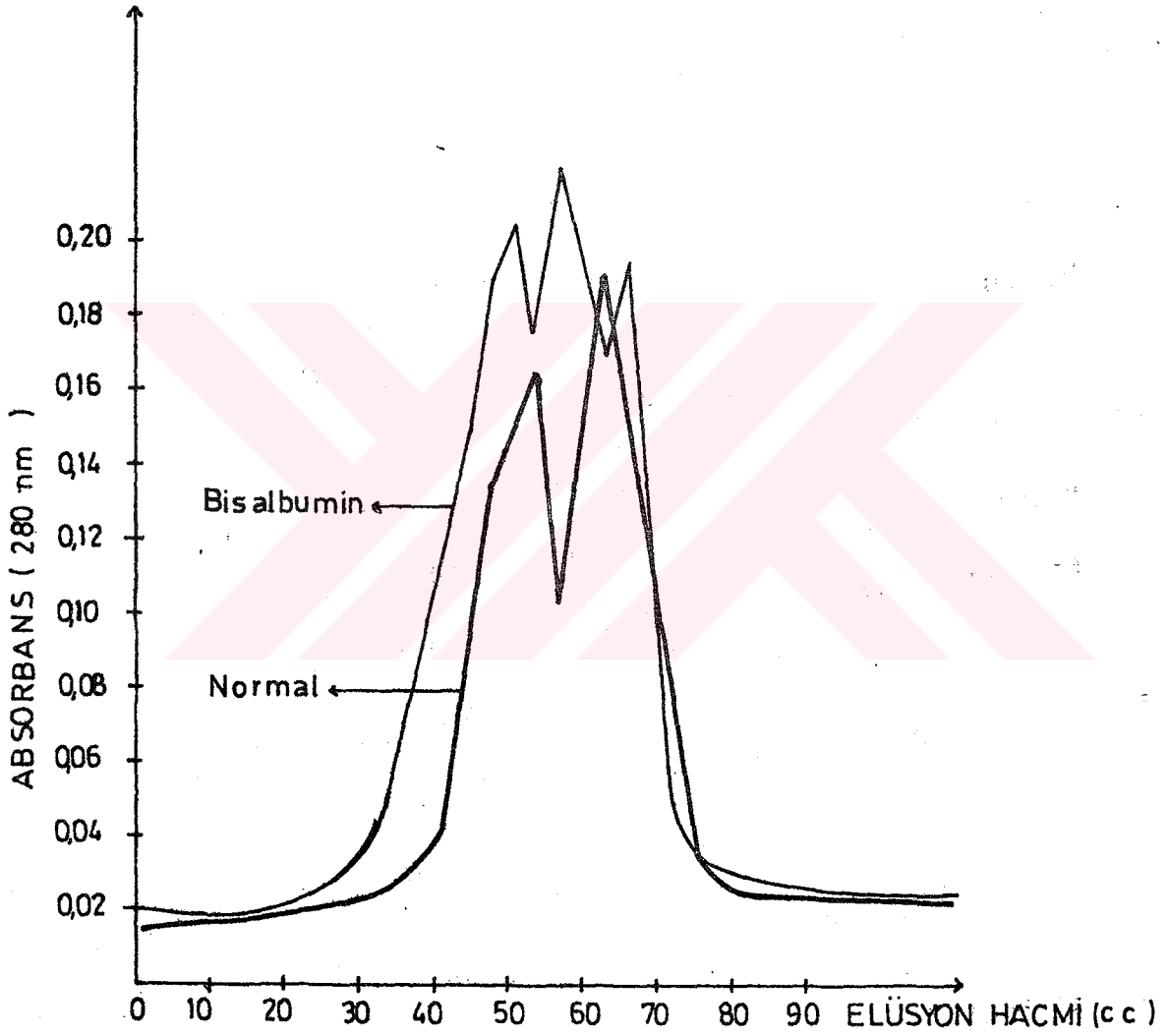
Normal serum ve bisalbumin' kolondan geçirildiğinde elde edilen eğriler Şekil 14 ' de görülmektedir.

Şekil 6 ' da gösterilen kalibrasyon eğrisinden faydalanılarak bu fraksiyonların molekül ağırlıkları 69.000 ve 89.000 bulunmuştur. A<sub>1</sub> ailesinin bisalbumin saptanan fertlerinden 10 tanesinden 9 ' unda yukarıda belirtilen sonuçlar elde edilmiştir.

G - 150 ile yapılan kromatografik ayırmada ise kesin bir sonuç elde edilememiştir.

4. Kolesterol tayin sonuçları :

Bisalbumin saptanan A<sub>1</sub> ailesi bireylerinde yapılan kolesterol tayini sonunda elde edilen değerler Tablo VIII ' de gösterilmiştir. Ailede anomali- den etkilenen ve etkilenmeyen bireylerde kolesterol tayini beraber yapılarak anomalinin kolesterol seviyesini etkileyip etkilemediği istatistiksel olarak hesaplandı.



Şekil 14. Sephadex G-200 ile normal albumin ve bisalbuminin ayrılması.

TABLO VIII

A<sub>1</sub> ailesi bireylerinde saptanan total kolesterol değerleri

Alle Bireyleri	Bisalbumin	Kolesterol	Alle Bireyleri	Bisalbumin	Kolesterol
A 1	+	186	A 2	-	220
A 5	+	240	A 3	-	374
A 6	+	190	A 4	-	230
A 8	+	176	A 7	-	220
A 10	+	220	A 9	-	196
p > 0,05			p > 0,05		

Kullanılan metoda göre standart kolesterol : 195

Kütle ortalaması ile örnek ortalamasının farkının önem kontrollü ( t ) testi

5. Total protein tayin sonuęları :

Yine A<sub>1</sub> ailesi bireylerinde yapılan total protein ile aynı ilişki araştırıldı. Elde edilen değerler Tablo IX 'da görülmektedir.



TABLO IX

A alleli bireylerinde saptanan total protein değerleri  
1

Alle Bireyleri	Bisalbumin	Total Protein	Alle Bireyleri	Bisalbumin	Total Protein
A 1	+	7,3	A 2	-	6,6
A 5	+	7,3	A 3	-	6,3
A 6	+	6,8	A 4	-	7,0
A 8	+	7,3	A 7	-	6,3
A 10	+	6,8	A 9	-	6,4
$p > 0,05$			$p > 0,05$		

Kullanılan metoda göre standart total protein : 7,0

Kütle ortalaması ile örnek ortalamasının farkının önem kontrollü (t) testi

## BÖLÜM V

### TARTIŞMA VE SONUÇ

#### 1. Tartışma

Genetik bir bozukluk olan bisalbumin Dünya 'nın belirli bölgelerinde bulunan çeşitli etnik gruplarda saptanan bir anomalidir ( 13, 16, 33, 49, 71 . )

Türkiye 'de tarihi özellikleri ve göç yollarının üzerinde bulunması dolayısıyla çeşitli ırk ve kavimlerin birbiriyle karışmasına olanak bulunan bir ülke olduğundan bu tür genetik bozuklukların çok görüldüğü bir ülke olarak kabul edilmektedir ( 1, 2, 3, 4, 7 . )

Türkiye 'nin güney kesiminde akraba evlenmeleri daha çok olduğundan genetik bozukluklara bu bölgede sık rastlandığı daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. ( 2, 3, 4 . )

Elağöl ve Aydın 1975 yılında Mersin ve yöresinde yaptıkları araştırmada 400 kan numunesini selüloz asetat elektroforezi ile incelemişlerdir. Çalışma sonucu 2 vak 'ta sağa hızlı yürüyen anormal albumin bandı saptayarak bu bandın normale oranını 1:1 bulmuşlardır. Aynı numunelerde hemoglobinopati



araştırması da yaparak iki genin ayrı kromozomlarda yer aldığı sonucuna varmışlardır ( 17. )

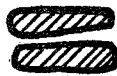

Bu noktadan hareket edilerek bu çalışmada Mersin, Tarsus, Adana çevresindeki bisalbumin varlığını saptamak amacı ile elektroforetik bir tarama çalışması yapılmıştır. Numune alınması ve taşınmasının kolaylaştırılması bakımından mikro metod kullanılmıştır.

Selüloz asetat elektroforezi kullanılarak yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bulgular Tablo III ' te gösterilmiştir. Adı geçen tablonun incelenmesiyle görülebileceği gibi bisalbumin saptanan Karaduvar ve Çatalköy yerleşim merkezleri " Eti Türkleri " nin yoğun olduğu bölgeler olup coğrafi olarak da aynı kıyı şeridinde bulunurlar. En yüksek insidans Mersin Karaduvar ' da % 8,8 , Tarsus Çatalköy ' de % 9,6 olarak tesbit edilmiştir. Toplam 3738 numune üzerinde bu dağılım yapılacak olursa bu yüzdenin % 1,23 olduğu görülür. Bu iki yerleşme merkezinde ( Karaduvar, Çatalköy ) saptanan oranların oldukça yüksek olmasını tarama yapılan köyler ve küçük yerleşme merkezlerindeki kapalı yaşayış biçimi ve akraba evlenmelerinin sıklığından dolayı anormal genin seyretmesine olanak bulunmaması ile açıklayabiliriz.

Çukurova bölgesinde bisalbumin tesbit edilen yerleşme alanları aşağıdaki haritada gösterilmiştir ( Şekil 15. )

Bisalbumin tesbit edilen bölgelerde anomalinin kadın ve erkekler ara-



-  } Bisalbumin saptanan bölgeler  
 } Bisalbumin saptanmayan bölgeler

Şekil 15 . Çukurova bölgesindeki bisalbumin dağılımı.

sındaki dağılımı Tablo IV 'de gösterilmiştir. Tablonun incelenmesiyle anlaşılacağı gibi Karaduvar 'da erkeklere nazaran anomalinin kadınlarda görülme sıklığı daha fazla olup istatistiksel olarak da önem taşımaktadır. Çataköy'de ise bu dağılım farklılık göstermemektedir. Alınan numune sayısının Karaduvar 'a nazaran az olması nedeni ile bu durum izah edilebilir. Bu iki yerleşme alanındaki toplam kadın erkek arasındaki dağılım göz önüne alındığında istatistiksel olarak önemli sayılabilecek bir fark bulunmamaktadır.

Bunun yanında Adana 'nın iki Etil Türk 'ü mahallesinden ( Akkapı, Mırdık ) sağlanan 442 numune üzerinde yapılan çalışma sonucu bu bölgede bisalbumin saptanamamıştır. Akkapı , Mırdık , Karaduvar . ve Çataköy 'de HbS taraması yönünden yapılan bir çalışma sonunda ise hepsinde yüksek oranda HbS saptanmıştır ( 31. ) Bu bulgulardan hareket edilerek bisalbumin yoğunluğu çok fazla bulunan Karaduvar ve Çataköy Etil Türk'leriyle Akkapı, Mırdık mahallelerinde bulunan Etil Türk'lerinin farklı kavimlerden türemiş olması ihtimal dahilindedir. Saf Türkmen köyünde yapılan bir araştırmada HbS (31.) ve bisalbumine rastlanmaması da bu anomalinin etnik gruplara özel oluşunu doğrular mahiyettedir.

Anormal albuminin normal serum albuminine nazaran elektroforetik alanda yürüme hızı mukayeseli çalışmalarla gösterilip tipi tayin edilerek Weitkamp , Franglen ve Arends 'in çalışmalarında buldukları gibi hızlı yürüyen albumin olduğu gösterilmiştir ( 8, 27, 61, 65. ) İki albuminin yürüme hızla-

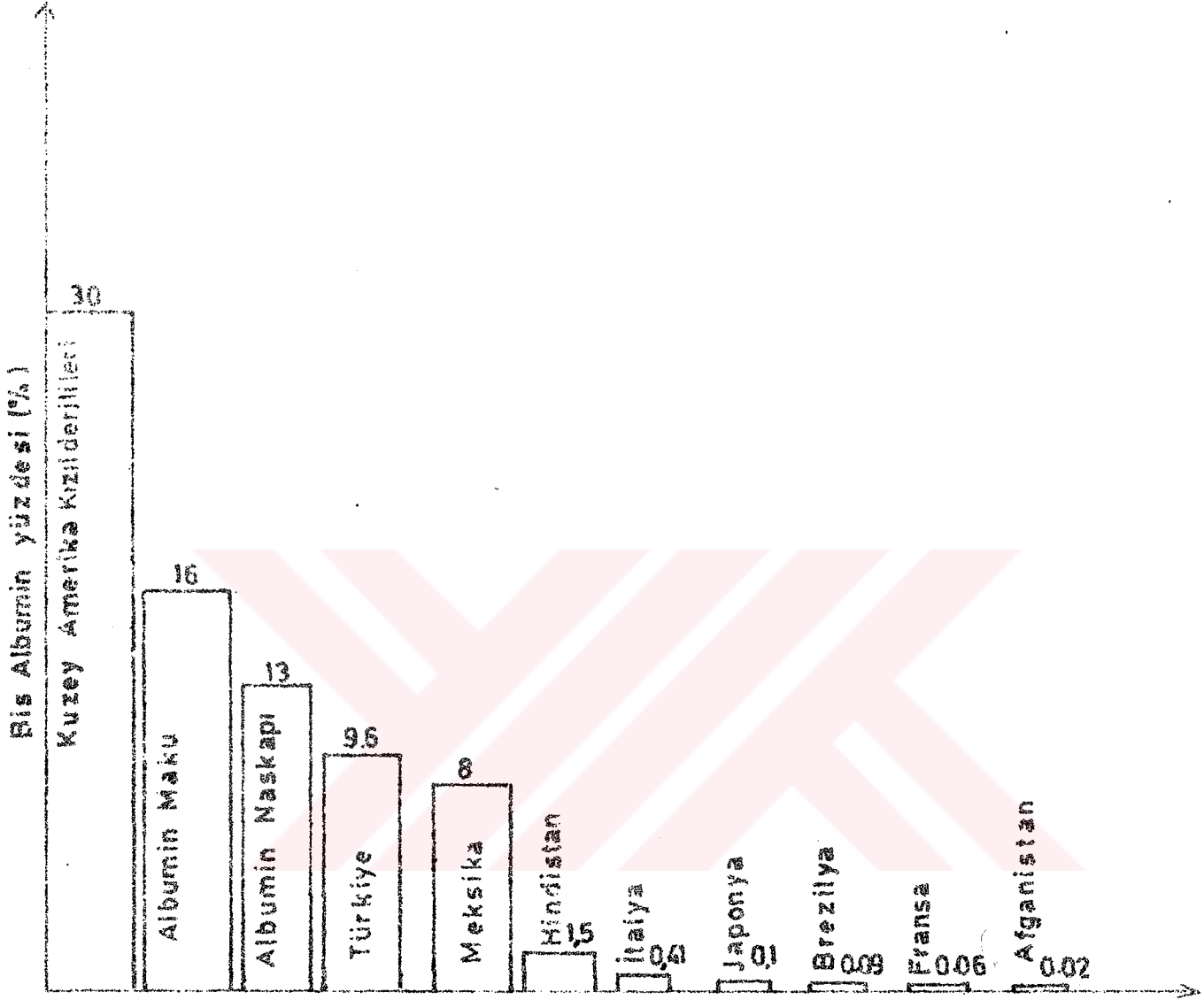
riinin mukayeseli çalışması sonunda sellüloz asetat kağıdında bütün numunelerde anormal albuminin normal albumin yerinde yürüyen hastla beraber bulunması bu genin heterozigot karakter taşıdığını göstermiştir. Bu bulgu da Knedel ve Earle tarafından yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara uygun düşmektedir ( 24, 24, 35. )

Bütün numunelerde anormal albuminin total albuminin % 56,3 'ünü teşkil ettiği Tablo V 'de görülmektedir. Dünya 'daki çeşitli etnik gruplarda daha önce yapılan çalışmalarla anormal albuminin normale oranı farklı topluluklarda değişik olarak bulunmuş ve bu hal mutant genin toplumdan topluma etkisininin rölatif olacağı fikri ile izah edilmeye çalışılmıştır ( 8, 24, 30, 55. ) Bizim bulgumuz da bu hipotezi doğrular niteliktedir.

Çukurova bölgesinde Mersin Karaduvar ve Tarsus Çatakköy 'de insidans ( % 8,8 , % 9,6 ) saptanmıştır. Dünya 'da şimdiye kadar tesbit edilebilen insidanslarla karşılaştırıldığında bu bölgelerin anormal gen yoğunluğu bakımından oldukça önde gittiği görülmektedir ( Şekil 16. ) , ( 9, 19, 46, 47, 53, 54, 60, 61. )

Bizim saptadığımız oranın diğer yüzdelerle mukayesesi istatistiksel olarak aşağıdaki tabloda görülmektedir. (Tablo X )

Tablo X 'un incelenmesiylede görüleceği gibi Türkiye istatistiksel olarak Kuzey Amerika kıızılderilileri ve Maku 'da saptanan % 'lerden önemli derecede farklılık göstermekte olup değeri bunlardan düşüktür. Diğer memleketlerle ise yine önemli derecede farklılık gösterdiği ve bunlardan yüksek bir



Yüzdelerin tesbit edildiği memleketler.

Şekil 16. Bisalbuminin Dünyada ve Türkiye (Çukurova Bölgesi) deki dağılımı.

TABLO X

Türkiye 'de saptanan bisalbumin oranının ( % 9,6 ) diğer ülkeler % ' leriyle  
istatistiksel karşılaştırılması

Yer	%	$\bar{x}$ t	p
Kuzey Amerika Kızılderilileri	30	10,2	$p < 0,01$
Maku	16	3,2	$p < 0,01$
Naskapi	13	1,36	$p > 0,01$
Meksiko	8	0,8	$p > 0,01$
Hindistan	1,5	4,0	$p < 0,01$
İtalya	0,41	4,6	$p < 0,01$
Japonya	0,1	4,7	$p < 0,01$
Brezilya	0,09	4,7	$p < 0,01$
Fransa	0,05	4,7	$p < 0,01$
Afganistan	0,02	4,7	$p < 0,01$

x  
İki kitle % ' sinin karşılaştırılması ( t ) testi .

değerde olduğu görülmektedir. P değerlerinden de anlaşılacağı gibi Türkiye Naskapi, Meksika %'leriyle ösamsiz fark göstermekte, yani bunların arısında yer almaktadır.

Anomaliden etkilenen şahısların idrarlarının elektroforetik çalışması sonucunda 44 şahıstan birinde idrar albumininde çift band saptanmıştır. Earle plazma elektroforezinde albumin sahasında görülen çift banda ilaveten bu şahısların protein içeren vücut sıvılarıyla ( idrar, tükürük, E.O.S. ) yapılan elektroforezlerde de bu anormal çift bandın bulunabileceği fikrini ileri sürmüştür ( 23. ) Bizim bulgumuzda bu sonuca uygun düşmektedir. İdrarında bisalbumin tesbit edilen bu çift albuminin idrarda da bulunması bu şahsın böbrek fonksiyonlarının bozulmuş olması ile izah edilebilir.

Bu topluluklarda bisalbumin tesbit edilen şahıs ve ailelerde yapılan HbS araştırmasında bu genin yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır. Daha önce bu bölgede HbS yönünden yapılan çalışmalar sonucu Afrika'daki yoğunluğa yaklaşan sıklıkla HbS insidansı tesbit edilmiştir ( 1, 2, 4, 31. )

Wieme bisalbumin yapan genle HbS yapan gen arasında bir ilgi bulunduğunu ileri sürerek bunların muhtemelen aynı kromozomda yer alması gerektiği fikrini ileri sürmüştür ( 68. ) Biz de bölgemizde bisalbumin saptanan şahıslarda aynı zamanda HbS taraması da yaparak Wieme'nin hipotezinin doğruluğunu araştırmak amacı ile bu iki anomalinin beraber görülme sıklığını saptadık. Karaduvar'da bu oran % 31, 4 bulunarak istatistiksel açıdan

iki gen arasında önemli bir beraberlik olmadığı, Çatalhöyük'te de aynı duruma gözlendiği (% 33,3) Tablo VI'den anlaşılmaktadır. Bu yüzden bu beraberlik iki anomalinin bu topluluklarda ayrı ayrı yüksek oranda bulunmasının bir sonucu olarak izah edilebilir kanısındayız.

Gelphı'nın hipotezine göre HbS saptanan toplumların Afrika orijini olmaları gerekmektedir. (1.) Diğer bir hipoteze göre ise (Lehmann) HbS geni Hindistan veddoidlerinden köken almaktadır (3.) Bısalbumın Dünya'nın muhtelif yerlerinde bulunan Hintli kabilelerde ve Hindistan'da % 1,5'a varan insidanda saptanmıştır. (Tablo X, Şekil 16.), (9, 39, 43, 47, 53, 61, 64.) Türkiye 3 büyük kıta ile doğrudan bağlantılı olması, göç yolları üzerinde bulunması ve tarihi özelliklerinden dolayı bu tür karışımlara çok uygun bir ortam durumunda gözükmektedir. Bu yüzden incelediğimiz toplulukları Hindistan veddoidleri ve Afrika orijinal kavimlerin karışması sonunda meydana gelen bir ırk olabileceği düşünülebilir.

Bunlara paralel olarak yapılan allel çalışmalarıyla bu genetik anomalinin Atal, Earle, Laurel'in çalışmalarında da belirtildiği gibi Dominant bir karakter taşıdığı ve genin allel bireylerinde dağılımında Arends, Mc Dermid, Weiskamp'in çalışmalarında gösterildiğinin aksine cinsiyet bakımından bir farklılık görülmediği anlaşılmıştır (8, 43, 60.) Genetik bozukluğun dominant karakter taşıması anomaliden etkilenmeyen bireylerin bunu çocuklarına geçirmemeleri ile de izah edilebilir.



Bu anomaliden etkilenen şahıslarda bunun patolojik bir bozuluğa sebep olmadığı tarama çalışmaları sırasındaki gözlemlerden (genel görünüm, çalışma gücü) hareket edilerek söylenebilir. Bu bulgu da bu konuda yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara paralellik gösterir (21, 24.)

Bisalbuminin fizikokimyasal özelliklerini belirlemek için G - 150 dekstran jeli kullanılarak yapılan Jel filtrasyonu ile bir ayırım elde edilememiştir. Bu yüzden ayırmada Jel seçiminin de önemli ve sonuç üzerinde etkili olduğu anlaşılmaktadır.

G - 200 dekstran jeli kullanılarak yapılan Jel filtrasyonu ile normal serum albumini ve bisalbumin kolondan geçirildiğinde iki albuminin farklı tüpte en yüksek absorbanı verdiği görüldü. İki albuminin molekül ağırlığı farklı olmasaydı aynı eluatta çıkması gerekirdi. Bu yüzden iki eğri karşılaştırıldığında (Şekil 14.) albumin pikinde ikiye ayrılma görülmektedir. Bu ayrılma ya iki albuminin molekül ağırlıklarının farklı olması, veyahut moleküllerin dimer yapıya sahip olması ile izah edilebilir. Bizim saptadığımız albumin molekül ağırlığının normale oranla fazla bulunması ile dimer yapı fikri bertaraf edilmiş olmaktadır. Literatürde çeşitli dekstran jeli kullanılarak yapılan analizlerde iki albuminin aynı tüpte toplandığı ve molekül ağırlıkları bakımından bir farklılık olmadığı, tek farklı davranışın elektroforetik alan-  
daki L-mobilite farkı olduğu ileri sürülmüştür. Bu mobilite farkı da anormal albuminde normal albumindeki glutamik asit yerine lizinin geçmesiyle

izah edilmeye çalışılmıştır. ( 24, 45, 69. )

Ayrıca diğer molekül ağırlığı tayin metodları ile yapılan çalışmalar ( Ultra santrifüj , immünoloji ) ile de iki albumin molekül ağırlığı bakımından farklılık göstermemiştir ( 46, 56, 59, 68. ) Bizim bölgemizde saptanan bisalbumin normal albumine oranla molekül ağırlığının farklı bulunması ( 69.000 , 89.000 ) bu anomalinin en belirgin özelliği olup muhtemelen amino asit sıra ve sayısı bakımından diğer mevcut varyantlardan farklılık göstermekte olduğu düşünülebilir .

Atal , Sarcione , Tarnoky ve Wieme bisalbumin saptanan şahısların kolesterol ve total protein miktarlarında normale oranla bir artma gözlemişlerdir ( 9, 56, 59, 68. ) Bölgemizde bisalbumin saptanan şahıslarda yapılan total kolesterol ve total protein tayinleri sonunda bu değerlerde normale oranla bir sapma görülmemektedir ( Tablo VIII , IX ) Sayısal olarak pek az bir farklılık görülmesine rağmen istatistiki açıdan katı bir sonuç alınabilmesi için numune sayısının artırılması gerektiği düşüncesindeyiz .

## 2. Sonuçlar

Bu araştırma sonucu aşağıda belirtilen bulgular elde edilmiştir .

1- Dünya ' da ender görülen bir albumin sentezi bozukluğu olan bisalbuminin memleketimizin bu kesiminde literatürde saptanan en yüksek oranlara yaklaşan bir yoğunluğa ulaştığı gösterilmiştir.

2- Araştırma sonucu incelenen topluluklarda bisalbumin ve HbS ' in

aynı şahıslarda görülme beraberliği % 33,3 gibi oldukça yüksek bir oranda saptanmasına rağmen istatistiksel olarak bu beraberlik önemli bulunmamış bunun yanında bu toplumlarda bu iki anomali ayrı ayrı da çok yüksek oranda bulunmuştur ( 17, 31. ) Bu beraber görülme sıklığı yukarıdaki durum ile izah edilerek iki genin ayrı kromozomlarda yer alması gerektiği ileri sürülmüştür.

3- İki albumin özellikleri G - 200 jekstran jeli kullanılıp kolon kromatografisi ile mukayese edilerek molekül ağırlıklarının farklı olduğu gözlemlenmiştir. Normal serum albumininin molekül ağırlığı 69.000 , anormal albumininin molekül ağırlığı ise 89.000 bulunmuştur.

4- Kolesterol ve total protein tayinleri sonunda bu değerlerde anomaliye bağlı istatistiksel değer arz edecek kadar bir sapma olmadığı saptanmıştır. Bu konuda numune sayısının artırılması ile daha kesin sonuçların elde edilebileceği kâsındayız.

5- Bölgemizde iki yerleşme alanında saptanan bisalbumininin bu konuda Dünya ' da şimdiye kadar tesbit edilen 27 albumin varyantından biri veya yeni bir varyant olduğu elimizde standart numunenin bulunamamasından dolayı ayırd edilememiştir. Sadece normal albumine nazaran hızlı yürüyen , dominant , heterozigot bir anomali olduğu, anormal albumininin total albumininin % 56,3 ' ünü teşkil ettiği ve dağılım ve anomalinin nesilden nesile geçişinde cinsiyet bakımından bir farklılık göstermediği saptanmıştır.

### Ö Z E T

Dünya ' da nadir görülen bir albumin sentezi bozukluğu olan bisalbumin Dünya ' nın çeşitli bölgelerinde bulunan etnik gruplara özgü genetik bir bozukluktur.

Türkiye de coğrafi konumu ve tarihi özellikleri nedeniyle bu tür kalıtsal hastalıkları içerisinde bulunduran bir ülkedir.

Bu çalışmada Çukurova da değişik yerleşme alanlarından temin edilen 3786 kan numunesi üzerinde bisalbumin araştırması yapılmıştır. Numune temini ve analizlerin tümü mikro metotlar kullanılarak yapılmış ve bölgemizde bisalbumin varlığı ve yoğunluğu saf Eti Türk ' ü ve Türkmen topluluklarından elde edilen numunelerde yapılarak bu genetik bozukluğun etnik gruplara özgü oluşuna açıklık getirilmeye çalışılmıştır.

Daha önce bazı çalışmalar ile ileri sürüldüğü gibi bisalbumin ve HbS genlerinin aynı şahıslarda bulunması nedeniyle bu iki gen arasında bir ilişki bulunup bulunmadığını saptamak amacı ile bisalbumin tesbit edilen şahıslarda Elektromoglobin elektroforezi de yapılmıştır.

Araştırma sonucu iki Eti Türk ' ü topluluğunda literatürde tesbit edilen en yüksek oranlara yaklaşan yoğunlukta bisalbumin saptanmıştır. Bisalbumin yoğunluğu Tarsus Çatalköy ' de % 9,6 , Mersin Karaduvar ' da % 8,8 bulunmuştur. Adana ' nın Eti Türk ' ü bakımından yoğun olan iki mahallesinde ve saf Türkmen köyünde yapılan araştırma sonucu bisalbumin vak ' asına rastlanmamıştır.

Tesbit edilen bisalbumin vakalarında yapılan HbS araştırması sonucu bisalbumin ve HbS ' in beraber görülme oranının Çatalköy ' de % 33,3 , Karaduvar ' da % 31,4 ' e ulaştığı görülmüştür. Fakat sayısal olarak görülen bu beraberliğin istatistiksel bir değer ifade etmemesinden, bunlar arasındaki ilgidenden ziyade ayrı ayrı iki genin bu topluluklarda çok yüksek oranda bulunmasından ileri gelen bir durum olduğu kanısına varılmıştır.

Saptanan bisalbuminin fizikokimyasal özellikleri ve normal albuminle mukayesesi jel filtrasyon metodu ile G - 200 dekstran jeli kullanarak yapılmıştır. Bu çalışma sonucu bu konuda şimdiye kadar yapılan çalışmaların aksine iki albuminin molekül ağırlığı bakımından da farklılık gösterdiği bulunmuştur. Normal albumin yerinde görülen fraksiyonun molekül ağırlığı 69.000 , anormal bandın ise 89.000 bulunmuştur.

Yapılan kolesterol ve total protein tayinleri sonunda bu değerlerde normal oranla bir farklılık bulunmamıştır.

Böylece elektroforetik mobilite farkı yanında bisalbuminin molekül ağırlığı bakımından da farklılık gösterdiği ve bu sebepten bölgemizde saptanan bu anomalinin yeni bir albumin varyantı olabileceği söylenebilir.

Bütün bu çalışmalar sonucu , Dünya 'da belirli etnik gruplara özgü olan bisalbuminin Türkiye 'nin bu kesiminde iki Eti Türk 'ü toplumunda oldukça yüksek oranda bulunduğu, dominant , heterozigot bir özellik gösterdiği ve normal albumine oranla hıal yürüyen tip olduğu saptanarak Türkiye 'de bu konuda ilk defa geniş kapsamlı bir çalışma yapılmıştır.

## Bulguların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatistiksel

### Metodlar

#### 1- Standart sapma :

Çalışma sonunda elde edilen tablolardaki % değerler standart sapma - ları ile birlikte gösterilmiştir . % için kullanılan standart sapma formülü aşağıdaki gibidir.

$$S : \sqrt{p \times q}$$

S : Standart sapma

p : Analiz sonunda elde edilen % değeri ( oluş ihtimali )

q : 1 - p ( olmayış ihtimali )

#### 2- İki % değer arası farkın önemliliğini belirten ( t ) testi.

$$S_p : \sqrt{p(1-p)(1/N_1 + 1/N_2)}$$

$$t : \frac{P_1 - P_2}{S_p}$$

$S_p$  : % değerinin standart hatası

$P_1$  : 1. grupta görülme yüzdesi

$P_2$  : 2. grupta görülme yüzdesi

$p$  : İki gruba ayrılmadan hesaplanan genel % değeri .

$N_1$  :  $P_1$  % 'sinin elde edildiği toplam vak'a sayısı.

$N_2$  :  $P_2$  % 'sinin elde edildiği toplam vak'a sayısı.

Elde edilen  $t$  değerleri ,  $t$  dağılım tablosundaki ilgili serbestlik derecesi ve yanılma olasılığı ( $p$ ) nun kesiştiği noktadaki  $t$  değerleri ile karşılaştırılmıştır. ( Kutsal A, Mutuk FZ : Uygulamalı temel istatistik 1975 , Ank. )

Eğer hesaplanan  $t$  değeri 0,05 olasılıktaki ve belirli serbestlik derecesindeki

a. Tablodaki  $t$  değerinden büyükse  $p < 0,05$  sembolü ile belirtilip iki yüzde arası farkın istatistiksel açıdan da önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

b. Hesaplanan  $t$  değeri tablodaki  $t$  'den küçükse  $p > 0,05$  sembolü ile belirtilip aradaki farkın istatistiksel açıdan önemsiz ve tesadüfe bağlı olduğu sonucuna varılmıştır.

3- İki değişken arası ilişkinin önemliliğini belirten  $\chi^2$  testi.

		Değişken 2		
		+	-	
Değişken 1	+	a	b	a+b
	-	c	d	c+d
		a+c	b+d	N

Dört gözlü tablo



$$\chi^2 = \frac{[(ad - bc) - N/2]^2 N}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

a, b, c, d : Tablo içindeki gözlerde bulunan vak'a sayıları.

(a+b), (c+d) : Satırlardaki toplam vak'a sayısı

(a+c), (b+d) : Sütun toplamları

N : Total numune sayısı

4- Kitle ortalaması ile örnek ortalamasının farkının önemliliği (t) testi.

$$s_d = \frac{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2}}{n - 1}$$

$$s_x = \frac{s_d}{\sqrt{n}}$$

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s_x}$$

$s_d$  : Standart sapma

$x$  : Numune değerleri

$\bar{x}$  : Numune değerleri ortalaması

$n$  : Total numune sayısı.

$S_x$  : Örnek ortalamasının standart hatası.

$\mu$  : Kitle ortalaması

Bölümün başında belirtilen şekilde bulunan t değeri tablodaki t değerleri ile karşılaştırılarak önem kontrolü yapılmıştır.

5- Bulunan oranların diğer kitle oranları ile karşılaştırılması (t) testi.

$$t = \frac{p - p_m}{S_p}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{p \times q}{n}}$$

$p$  : Bizim bulduğumuz % değer

$p_m$  : Mukayese edilmek istenen % değer ( kaynaklardan alınan )

$n$  : % değerın elde edildiği total vak'a sayısı .

$q$  :  $1 - p$

### KAYNAKLAR

- 1 - Aksoy M , Erdem Ş : Kordon kanında talassemik gruplarda G - 6 - P - D ve diğler enzimlerin anormal ve fetal hemogloblerinde serbest alfa , beta zincirlerinin ve haptoglobulinlerin tayini. İst. Tıp Fak Mec 31 : 1-6 , 1968
- 2 - Aksoy M : Sickle cell trait in south Turkey, Lancet 19 : 598 , 1955
- 3 - Aksoy M : Hemoglobüno patiler ve anormal hemoglobünlere , Türk Tıp Cem Mec 5 : 1958
- 4 - Aksoy M , İkin EW , Maurant AE , Lehmann H : Blood groups , Haemoglobins and thalassaemia in Türks in southern Turkey and Eti - Türks. Brit Med J 2 : 937 , 1958
- 5 - Andrews P : The jell filtration behaviour of proteins related to their molecular weights over a wide range . Biochem J 98 : 595 , 1965
- 6 - Aras K , Ersen G : Klinik Biokimya . Ank Üniv Bas 416 ; Ankara, 1975
- 7 - Arcasoy A , Çavdar AO : Türkiye \*de talassemia ve anormal hemoglobin nisbeti. Ank Üniv Tıp Fak Mec 3 : 23 , 1970
- 8 - Arends T , Gallange ML , Layrisse M , Wilbert J , Hernen ED : Albumin Warao , A new type of human alloalbuminemia . Blood 33 : 414 - 420 , 1969
- 9 - Atal PR , Mital VP , Kulshrestha RC : Heterogeneity of human serum

albumia report of a case of bisalbuminemia . Ind Jour Med Sci I :  
796 - 800 ,1970

- 10 - Bell HE , Nicholson SF , Thompson ZR : Bisalbuminaemi of the fast type with a homozygote . Clin Chim Acta 15 : 247 - 252 , 1967
- 11 - Bergstrand CG , Czar B : Demonstration of a new protein fraction in serum from human fetus . Scand J Clin Lab Invest 8 : 174 , 1956
- 12 - Bergstrand CG , Czar B : Paper Electrophoretic study of human fetal serum proteins with demonstration of a new protein fraction . Scand J Clin lab Invest 9 : 268 - 277 , 1957
- 13 - Bhagavan NV : Biochemistry : A Comprehensive Review JB Lippincott company 893 , 1974
- 14 - Bhowmick EK , Kubik MM : Bisalbuminaemia in a Indian family . Practitioner 213 ; 690 - 693 , 1974
- 15 - Bianchi R , Mariani G , Pilo A , Toni MG , Micheli G : Metabolism of the two albumin components in human slow bisalbuminemia J Nucl Biol Med 3 , 13 : 91 - 97 , 1974
- 16 - Bingöl G : Proteinler . Ank Üniv Ecz Fak . 38 , Ank . 1972
- 17 - Bingöl G , Ayanoğlu G : Albumin Mersin , yeni bir albumin varyantı . TETAK V Bilim Kongresi tebliğ özetleri . 1975 . İst
- 18 - Blumberg BS , John MD , Martin MD , Melartin L : Alloalbuminemia . JAMA 203 : 180 - 186 , 1968

- 19 - Bonazzi L : On a rare genetic variation of plasma albumin , Bisalbuminemia. Clin Chim Acta 20 : 362 -363 , 1968
- 20 - Bradwell A, Deverill I and Jeffers K : Bisalbuminemia Birmingham , a new variant in an Indian family. Vox sang 28 : 383 -388, 1975
- 21 - Conn E E, Stumppf PK : Outlines of Biochemistry . Jhon wiley sons inc 106 , Newyork,1976
- 22- - Donhoffer H , Ludany A, Kellenmayer M, Jobst K : Bisalbuminemia in a Central European Family . Ann Clin Biochem 13 : 369 , 1976
- 23 - Earle DP , Hutt MP , Schmid K , Gitlin D : A Unique human serum albumin transmitted genetically . International congress of Biochemistry Wienn Abstract 15 : 20 , 1958
- 24 - Earle DP , Hutt MP , Schmid K , Gitlin D : Observations on double albumin : A genetically transmitted serum protein anomaly . J Clin Invest 38 : 1412 , 1959
- 25 - Efremow G , Braend M : Serum albumin polymorphism in man . Sci 146 : 1679 - 1680 , 1964
- 26 - Emanuelli G , Molai A, Coughin P , Polombo T , Pilleri G : Bisalbuminaemia of the fast type . Acta haemat 44 : 246 -250 , 1970 .
- 27 - Franglen G, Martin MH , Hangreaves T, Smith MJH , Williams DI : Bisalbuminemia , a hereditary albumin abnormality . Lancet 2 : 307-309 , 1960

- 28 - Frankel S, Reitman S, Sonnenwirth AC : Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis , 55, C.V Mosby Company , St Lois , 1970
- 29 - Gitlin D, Janeway A, Farr LE : Studies on the metabolism of plasma proteins in the Nephrotic syndrome , Albumin , Y globulin and iron - binding globulin J. Clin Invest 35 : 44 , 1956
- 30 - Gitlin D , Schmid K, Earle DP , Ginelker H : Observation on double albumin II : A peptid difference between two genetically determined human serum albumins . J. Clin Invest 40 : 820 , 1961
- 31 - Gözen B : Çukurova bölgesinde HbS ve diğer hemoglobin varyanlarının araştırılması . İhtisas tezi , Adana, 1976
- 32 - Harper H A : Review physiological chemistry . Blackwell scientific publication, Oxford , 200 , 1975
- 33 - İmren A H : Klinik tanıda laboratuvar , Menteş matbaası , 159 , Ank , 1975
- 34 - Knedel M : Die Doppel albuminämie , eine neue erbliche protein anomalie, Blut 3 : 129 , 1958
- 35 - Kohn J : Separation of haemoglobins on cellulose acetate. Jour of Clin path. 22 : 109 , 1969
- 36 - Kneppers F , Holland PV , Weit kamp LR : Albumin Santa Ana , a new inherited variant. Hum Hered 19 : 378 - 384 , 1969
- 37 - Latner AL : Clinical Biochemistry , W B Saunders comp , 189 , 1975

- 38 - Laurel C B , Nilehn J E : A new type of inherited serum albumin anomaly . J Clin Invest 45 : 1935 - 1944 , 1966
- 39 - Lau T , Sunderman F W , Agarwall SS , Sutnick A F , Blumberg B S : Genetics of albumin Gainesville , a new variant of human serum albumin . Nature 221 ; 66 - 68 , 1969
- 40 - Msker R , Cobo L , Mora G : Distribution of albumin variants in Indians and non Indians of Mexico . Am J Phys Antrop 35 : 119-124 , 1971
- 41 - Lynch M J , Raphael S S , Meller L D , Spore P D , Inwood M S H : Medical laboratory technology and clinical pathology . W B Saunders Comp , 197 , 1969
- 42 - Margni R A , Heer E. E , Acerbo E , Hajos S , Belliveau M , Bobbi M E : Immunochemical and genetic studies in two bisalbuminaemic families . Clin Chim Acta 29 : 219 - 225 , 1970
- 43 - Mc. Dermid E M : Variants in human serum albumin and caeruloplasmin in population from Australia , New Guinea , South Africa and India . Aust J Exp Biol Med Sci 49 : 309 - 312 , 1971
- 44 - Mc Gilvery R W : Biochemical Concepts , W B Saunders Company , 81 , 1975
- 45 - Meiers H G , Strassburger D , Stephan W , Just I and Jantzen W . Nachweis von alloalbuminamien ( Bisalbuminamien. ) Dtsch Med Wochschr 98 : 210 - 213 , 1973

- 46 - Melartin L, Blumberg B S : Albumin Naskapi , a new variant of serum albumin . Sci 153 : 1664 - 1666 , 1966
- 47 - Melartin L , Blumberg B S , Lisker R : Albumin Mexico , a new variant of serum albumin . Nature 215 : 1288 - 1289 , 1967
- 48 - Melartin L , Blumberg B S , Martin J R : Albumin polymorphism ( Albumin Naskapi ) in Eskimos and Navajos . Nature 218 : 787 - 789 , 1968
- 49 - Nelson W E : Textbook of pediatrics . W B Saunders Comp, London , 286 , 1964
- 50 - Nowotny A : Basic exercises in immunochemistry . A laboratory manual , 6 , 1969
- 51 - Page L B , Culver P J : Laboratory examinations in clinical diagnosis , 422 , 1961
- 52 - Petrini C , Giorelli F , Porta F , Fruecazo M : A hemozigot for a serum albumin variant of the slow type . Hum Genet 26 : 245 - 248 , 1975
- 53 - Polesky H F , Rokala D A : Serum albumin polymorphism in North American indians . Nature 216 : 184 - 186 , 1967
- 54 - Salzano F M , Helena M , Franco L P , Ayres M : Alloalbuminemia in two Brazilian populations , a possible new variant . Am J Hum Genet 26 : 54 - 58 , 1974
- 55 - Sander G , Martin L , Porsin M , Rousseau A , Martin R : A new bisal-



- buminaemic family . Nature 208 : 1222 , 1965
- 56 - Sarciene E J , Aungst C W : Studies in bisalbuminemia , binding properties of the two albumins . Blood 20 : 156 - 165 , 1962
- 57 - Standbury J B , Wyngoarden D S , Fredrickson D S : The metabolic basis of inherited disease . Mc Graw Hill Book Comp. 1323 , 1966
- 58 - Tarnoky A L , Dowding B , Lakin A L : Eight types of bisalbuminemia . Nature 225 : 742 - 743 , 1970
- 59 - Tarnoky A L , Lestas A N : A new type of bisalbuminaemia . Clin Chim Acta 9 : 551 - 559 , 1964
- 60 - Weitkamp L R , Buck A A : Phenotype Frequencies for four serum protein in 'Afghanistan : Two new albumin variants . Hum Gen 15 : 335 - 340 , 1972
- 61 - Weitkamp L R , Chagnon N A : Albumin Maku, a new variant of human serum albumin . Nature 217 : 758 - 759 , 1968
- 62 - Weitkamp L R , Chagnon N A , Saave J , Salzano F , Gall J : Serum albumin variants in American and New Guinea Indigenas . Clin Research 16 - b : 298 , 1968
- 63 - Weitkamp L R , Mc Dermid E M , Neel J V , Fine J M , Petrini C , Bonassi L , Ortali V , Porta F , Tanis R , Harris D J , Peters I , Ruffini G , Johnston E : Additional data on the population distribution of

- human serum albumin genes three new variants . Ann Hum Genet  
37 : 219 , 1973
- 64 - Weitkamp L R , Salzano F W , Neel J V , Porta F , Geerdink R A , Tarnoky A L : Human serum albumin twenty three genetic variants and their population distribution. Ann Hum Genet 36 : 381 - 393 , 1973
- 65 - Weitkamp L R , Shreffler D C , Robbins J L , Drochman O , Adner P L , Wieme R J , Simon NM , Cooke K B , Sandor G , Wuhrmann F , Braend M and Tarnoky A L : An electrophoretic comparison of serum albumin variants from nineteen unrelated families . Acta Genet Basel 17 : 399 - 405 , 1967
- 66 - Weitkamp L R , Yamamoto M , Nishiyama J : Population distribution of uncommon inherited albumin variants : Two examples from Japan . Ann Hum Genet 37 : 485 - 489 , 1974
- 67 - White A , Handler P , Smith E : Principles of Biochemistry, 37 , 1973
- 68 - Wieme R J : On the Presence of two albumins in certain normal human sera and its genetic determination . Clin Chim Acta , 5 : 443 - 445 , 1960
- 69 - Winter W P , Weitkamp L R , Rucknagel D L : Amino acid substitution in two identical inherited human serum albumin variants : Albumin Olupant and Albumin Ann Arbor . Biochem 11 : 889 - 896 , 1972

- 70 - Yensoy M : Genel insan Biokimyası Dersleri . İsmail Akgun Matbaası.  
338 , İstanbul , 1965
- 71 - Zilva F J , Pannall P R : Clinical Chemistry in diagnosis and Treatment 231 , 1972 .