

T.C.  
İstanbul Üniversitesi  
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi  
Biokimya Anabilim Dalı

16234

**ORAL GLUKOZ TOLERANS TESTİ ESNASINDA  
SERUM SİTRAT DÜZEYLERİ İLE KAN GLUKOZ VE  
İNSÜLİN DÜZEYLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİLER**

(Uzmanlık Tezi)

Dr.Dildar Konukoğlu



İstanbul - 1991

## TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim süresince yardım ve desteğini benden esirgemeyen Biokimya Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Hocam Prof.Dr.Nevzat BABAN'a,

Çalışmalarım sırasında bilgi ve düşüncelerinden her zaman yararlandığım danışman Hocam Prof.Dr.Tülay AKÇAY'a;

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji laboratuvarından yararlanmamı sağlayan, bilgi ve düşünceleriyle çalışmama katkıda bulunan Hocam Prof.Dr.H.Hüsrev HATEMİ'ye;

Eğitimim süresi içinde değerli bilgi ve birikimlerinden yararlandığım diğer tüm hocalarıma;

Bana her konuda yardımcı olan sevgili eşime ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Dildar KONUKOĞLU

## KULLANILAN KISALTMALAR

AMP	: Adenozin monofosfat
ADP	: Adenozin difosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
cAMP	: Siklik AMP
ACTH	: Adreno kortikotrop hormon
FFA	: Serbest yağ asidi
İNS-RİA	: İnsulin-Radioimmunoassay
İvGTT	: İntravenöz glukoz tolerans testi
KoA-SH	: Koenzim A
NAD	: Nikotin amid adenin dinükleotid
NADPH	: Redükte nikotin amid adenin dinükleotid
NDDG	: National Diabetes Data Group
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
PFK	: Fosfofruktokinaz
P <sub>i</sub>	: İnorganik fosfat
WHO	: World Health Organization

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. SİTRİK ASİD	3
2.1.1. Sitrik Asidin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	4
2.1.2. Sitrik Asidin Bulunduğu Yerler	6
2.1.3. Sitrik Asid Metabolizması	6
2.2. İNSULİNİN YAPISI VE SEKRESYONU	10
2.2.1. İnsulin Sekresyonunun Düzenlenmesi	11
2.2.2. İnsulinin Metabolik Etkileri	13
2.2.3. İnsulin Patofizyolojisi	14
2.3. ORAL GLUKOZ TOLERANS TESTİ	15
2.4. GENEL SİTRİK ASİD MİKTAR BELİRTİM YÖNTEMLERİ	19
3. MATERYAL VE METOD	
3.1. SERUM SİTRAT MİKTAR BELİRTİMİ	21
3.1.1. Kullanılan Çözeltiler	21
3.1.2. Analizin Yapılışı	22
3.1.3. Kullanılan Aletler	23
3.2. KAN ŞEKERİ MİKTAR BELİRTİMİ	23
3.2.1. Kullanılan Çözeltiler	24
3.2.2. Analizin Yapılışı	24
3.3. SERUM İMMUNOREAKTİF İNSULİN TAYİNİ	25
3.3.1. Kullanılan Çözeltiler	25
3.3.2. Analizin Yapılışı	25
3.4. OBEZİTE İNDEKSİNİN SAPTANMASI	26
3.5. KULLANILAN İSTATİSTİKSEL FORMÜLLER	27
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA	51
6. ÖZET	55
7. KAYNAKLAR	56

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sitrat, mitokondride sitrik asid siklusu içinde oksaloasetat ile asetil KoA'dan sitrat sentaz enziminin kataliz etkisi ile oluşur ve aynı siklusta isositrat dehidrogenaz etkisiyle isositrat'a dönüşür(27). İsoisitrat dehidrogenaz aktivitesi ATP ve ADP tarafından allosterik olarak düzenlenir. ATP düzeyi yüksek olduğunda enzim inhibe olur. Sonuçta sitrat birikir ve mitokondriden stoplazmaya geçer(43).

Sitrat, mitokondri dışında ATP-sitrat liyaz enzimi katalizi ile oksaloasetata ve asetil KoA'ya dönüşür(27). ATP-Sitrat liyaz aktivitesi beslenme ile değişir. Uzun süreli açlıkta aktivitesi azalırken, beslenme ile aktivitesi artar(10,21). Normal hayvanlara insülin verilmesiyle enzimin aktivitesinde artma gözlenmiştir(10).

Sitrat, metabolizma için önemli bazı enzimlerin aktivitesini etkiler. Bunlar, fosfofruktokinaz (PFK), asetil KoA karboksilaz ve fruktaz 1.6 bifosfatazdır(2). PFK, fruktaz 6 fosfatın fruktoz 1.6 bifosfata dönüşümünü sağlayan glikolizin anahtar enzimlerinden biridir. Bu reaksiyon irreversibil olup sitrat, yağ asitleri, keton cisimleri, ATP ve glukagon tarafından inhibe edilir. Aynı enzim AMP, fruktoz 2.6 bifosfat ve fruktoz 6 fosfat tarafından aktive edilir. İnsülinin reaksiyonu hızlandırıcı bir etkisi vardır(28). Asetil KoA karboksilaz, yağ asidi sentezinde rol alan, yağ sentezi hızını düzenleyen bir enzim olup sitrat ve insülin tarafından aktive edilir(46).

Fruktoz 1.6 bifosfataz, glikoneogenezin anahtar enzimidir. Sitrat'la aktive olurken, AMP ve fruktoz 2.6 fosfat ile inhibe olur. Böylece sitrat glikolizi inhibe ederken glukoneogenezi aktive eder(48).

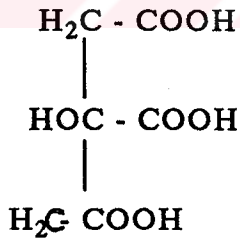
Sitratın gerek karbohidrat metabolizması enzimlerinin kontrolünde gerekse yağ metabolizması enzimlerinin kontrolünde rolü olduğu için bu çalışmamızda kan şekeri ve insülinin, kan sitrat düzeyini etkileyip etkilemediğini, glukoz toleransı ve obezite indeksi normal kişilerde, glukoz toleransı normal ve obezite indeksi yüksek kişilerde ve glukoz toleransı bozuk kişilerde bu etkinin ne derece değiştiğini araştırmak istedik.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. SİTRİK ASİD

Sitrik asid biolojik kökenli asidlerin içinde en önemlisidir. Çok fonksiyonlu olması geniş bir uygulama alanı sağlar. 3 karboksil ve 1 hidroksil grubu taşır. Bu molekül yapısı kendi çözünürlüğünü sağladığı gibi başka bileşiklerin de çözünürlüğünü değiştirme özelliği verir.



Sitrik asid gıda endüstrisinde yüksek oranda çözünürlüğünden, hafif ekşi tadından dolayı yaygın olarak kullanılır. Sitrik asid tüm hücrelerin solunum metabolizmasında önemli fonksiyon gören bir maddedir. Ayrıca asidlendirici ve tamponlayıcı özelliklerinden ilaç endüstrisinde de yararlanılır(18).

### 2.1.1. Sitrik Asidin Fiziksel ve Kimyasal özellikleri:

Sitrik asid kristalleri renksiz ve saydamdır. Tadı ekşidir. Anhidrit şeklinin ( $C_6H_8O_7$ ) molekül ağırlığı 192.12 gr olup % 37.51 oranında karbon % 4,2 oranında hidrojen, % 58,29 oranında oksijen içermektedir. Monohidrat kristalleri kuru havada suyunu kaybeder. Isıtıldığında ise 40-50° C'de suyunu kaybeder, 75° C'de yumuşar ve 100° C'de erir. Anhidrit kristallerinin erime noktası 153° C'dir.

Sitrik asid güçlü bir organik asiddir. 18° C'deki ayrışma sabiteleri şu şekilde belirlenmiştir.

$$K_1: 8.2 \times 10^{-4} \quad K_2: 1.77 \times 10^{-5} \quad K_3: 3.9 \times 10^{-6}$$

Tablo 1'de sitrik asidin anhidrat şeklinin sudaki çözünürlükleri, tablo 2'de sitrik asidin monohidrat şeklinin sudaki çözeltisinin yoğunluk değişiklikleri tablo 3'de sitrik asid çözeltilerinin donma ve kaynama noktasındaki değişiklikler, tablo 4'de sitrik asidin organik çözücülerdeki çözünürlükleri özetlenmiştir(18).

**Tablo 1 : Sitrik asidin anhidrit şeklinin sudaki çözünürlüğü (w/w)**

10° C'de	% 54	60° C'de	% 73.5
20° C'de	% 59,2	70° C'de	% 76.2
30° C'de	% 64.3	80° C'de	% 78.8
40° C'de	% 68.6	90° C'de	% 81.4
50° C'de	% 70.9	100° C'de	% 84

**Tablo 2 : Sitrik asidin monohidrat şeklinin sudaki çözeltisinin yoğunluğu**

(15°/15°)=	% 10 : 1.0392	% 40 : 1.1709
	% 20 : 1.0805	% 50 : 1.2204
	% 30 : 1.1244	% 60 : 1.2738



**Tablo 3 : Sitrik asidin donma ve kaynama noktaları değişimi**

Konsantrasyon (mmol/1000 gr H <sub>2</sub> O)	Donma Noktası (° C)	Kaynama noktası. (° C)
0.01	0.023	
0.05	0.042	
0.10	0.203	
0.50	0.965	
1.00	1.94	
2.00	1.00	1.214
5.00		3.512
10.00		8.39
20.00		16.6

**Tablo 4 : Sitrik asidin monohidrat şeklinin organik  
çözücülerdeki çözünürlüğü (g/100 g)**

Eter	2.17	Emil asetad	5.28
Kloroform	0.007	Metil alkol	197
Amil alkol	15.43	Propil alkol	62.8
Amil asetad	5.98		

Sitrik asid, tribazik özelliklerine ek olarak polibazik asitlerin özelliklerini de taşır. Bazı metalik iyonlarla dayanıklı tuz kompleksleri oluşturur. Bundan dolayı, bazı metal hidroksitleri, sitrik asid varlığında alkali solüsyonlarında çöktürülemez.

Kullanılan sitrik asid tuzları içinde en önemlisi Sodyum sitrattır. Tampon madde olarak, antikoagulan olarak, sabitleştirici ve emülsiyonlaştırıcı özelliğinden dolayı krem yapımında, effervesan tablet yapımında kullanılır. Monosodyum sitrat, potasyum sitrat, kalsiyum sitrat, magnezyum sitrat, demir tuzları, diamonyum tuzları kozmetik ve ilaç endüstrisinde kullanılan diğer tuzlardır(18).

### 2.1.2. Sitrik Asidin Bulunduğu Yerler:

Sitrik asid bitkilerde, havyan doku ve sıvılarında yaygındır (Tablo 5). Bitkilerde en iyi bilinen alifatik asidlerden biri sitrik asiddir. Serbest veya birleşmiş olarak, tuz veya ester halinde bulunabilir. Sitrik asid nar, limon, portakal, armut, kiraz, kayısı, şeftali, ananas, frenk üzümü, çilek, ahududu, kırmızı üzüm gibi meyvelerde bulunur(17).

**Tablo 5 : Biyolojik sıvıların ve besinlerin sitrat içeriği(25)**

İnsan serum	2.5 mg/dl
Portakal suyu	1390 mg/dl
Limon suyu	6580 mg/dl
Çilek suyu	17,2 mg/dl
Süt	0.2 g/litre

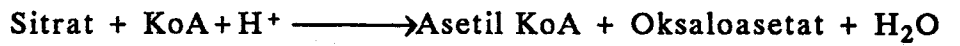
### 2.1.3. Sitrik Asid Metabolizması

Sitrat metabolizmasını ilgilendiren 3 değişik enzim vardır

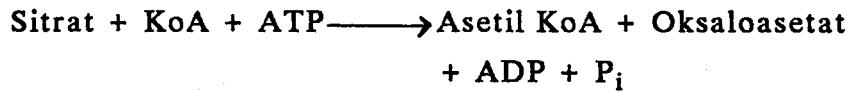
#### 1. Sitritaz



#### 2. Sitrat Sentaz



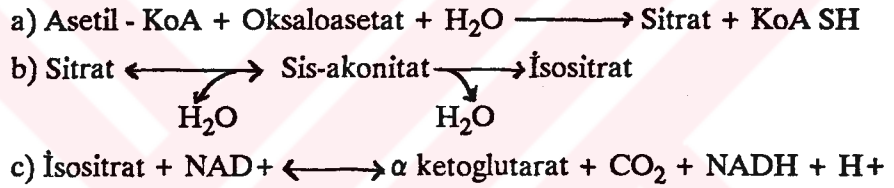
#### 3. Sitrat liyaz



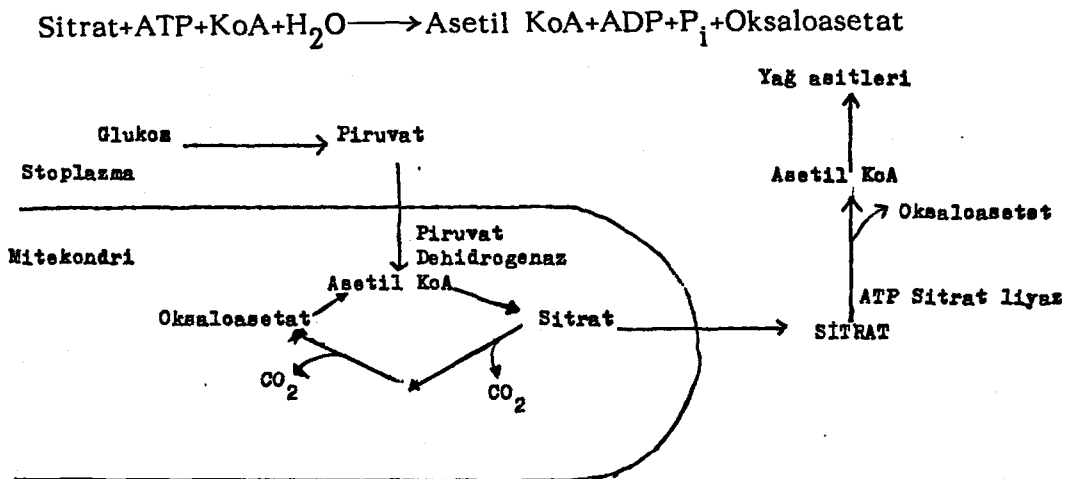
Hiçbir organizmanın bu üç enzimide içerdiği bildirilmemiştir. Sadece sitrat sentaz tüm canlılarda mevcuttur. Hatta anaeroblar da bile olduğu bildirilmiştir. Anaeroblardaki sitrat sentaz hariç, bu üç enziminde stereokimyası aynıdır(42).

Sitrik Asid siklusunun bir ara ürünü olan sitratın organizmada önemli metabolik işlevleri vardır.

Sitrat, sitrik asid siklusu içinde mitokondrial olarak 4 karbonlu bir metabolit olan oksaloasetatın, iki karbonlu bir metabolit olan Asetil KoA ile Sitrat sentaz enziminin katalizi sonucunda meydana gelir (a). Sitrat ileri aşamada demir içeren bir enzim olan Akonitaz ile sis-Akanitat ara metaboliti üzerinden İzositratı oluşturur (b). Bu enzim fluoroasetad tarafından inhibe edilir ve sitratın birikimine neden olur. Fluoroasetad fluoroisitratı oluşturur, bu da akonitaz enzimini inhibe eder. İzositrat, NAD'a bağımlı izositrat dehidrogenaz enzimi ile  $\alpha$  ketoglutaratı oluşturur (c). Bu yolla ATP sentezi olur. İzositrat dehidrogenaz enzimi ADP tarafından aktive olur. Siklus Süksinil KoA, süksinat, fumarat, malat ve oksaloasetat oluşturarak devam eder(43).



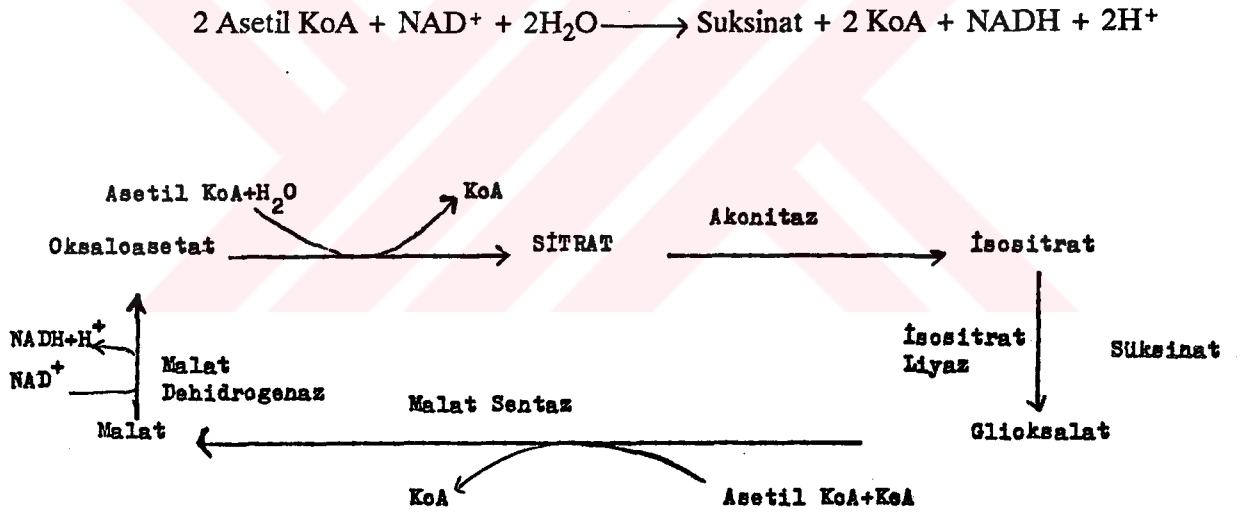
Sitrat diğer bir metabolik yol olan ekstramitokondrial olarak ATP Sitrat liyaz enzimi katalizi ile oksaloasetat ve Asetil KoA oluşturur (Şekil 1). Bu reaksiyon biyosentez ve depo yağlarının üretiminde gerekli olan Asetil KoA kaynağıdır(49). Bunu ilk olarak Siere ve Bhaduri (1962), Spencer ve Lowenstein (1962)'de bildirmişlerdir. 1967 yılında Atkinson ve Walton sitrat liyaz sisteminin adenilat kontrol sistemi ile düzenlenebileceğini ve ADP tarafından inhibe olabileceğini ileri sürmüşlerdir(45,47).



Şekil 1 : Sitratın mitokondrial ve ekstramitokondrial kullanımı(27)

*Bakteri ve bitkilerde sitrik asid metabolizması:*

Oksaloasetatın ve Asetil KoA ile oluşan sitratın akonitaz enzimi ile isositrat oluşturmasından sonra isositrat iki metabolik yol izler. Biosentez gerekli olduğunda "Glioksalat Siklusu" olarak isimlendirilen bir dizi reaksiyon gerçekleşir (Şekil 2). Bakteri ve bitkilerde bulunan izositrat liyaz enzimi, izositrattan glioksalat ve Süksinatı meydana getirir. Oluşan glioksolat, malat sentaz enziminin kataliziyle Asetil KoA ile kondanse olarak Malat'ı oluşturur. Malat'tan malat dehidrogenaz enzimi katalizi ile oksaloasetat meydana gelir(2). Bu siklusun net reaksiyonu:



Şekil 2 : Bitki ve bakterilerdeki glioksalat siklusu

İsoisitratin izlediği ikinci metabolik yol enerji üretimi için NAD'a bağlı isositrat dehidrogenaz ile  $\alpha$  ketoglutaratı oluşturarak sitrik asid siklusuna devam etmesidir.

### *Sitrat Metabolizmasının düzenlenmesi:*

Sitrat üretimi ve kullanımı sitrat sentaz, isositrat dehidrogenaz ve ATP sitrat liyazın katalizlediği basamaklarda düzenlenir. Sitrat sentazın katalizlediği sitrat oluşturan basamak ATP ve uzun zincirli KoA'lar tarafından allosterik olarak inhibe edilir. Ayrıca sitratın kendisinde negatif düzenleyicidir(4,28). İsoisitrat dehidrogenaz ve ATP sitrat liyazın etkili olduğu basamak sitratın kullanımı ile ilgilidir. NAD bağımlı isositrat dehidrogenaz enzimi ADP tarafından allosterik olarak aktive edilirken, ATP ve NADPH tarafından inhibe edilir. ADP aynı zamanda ATP sitrat liyaz enzimi için pozitif düzenleyicidir. Bu nedenlerden dolayı ATP seviyesi yükseldiği zaman, sitrat ve ATP sadece ATP sitrat liyazın katalizlediği reaksiyonda kullanılacaktır(28).

### *Sitrik asidin serum düzeyi*

Sitrik asidin enzimatik yöntemlerle yapılan analizlerde serum düzeyi ortalama % 0.9-2,5 mg bulunmuştur(13). Bu düzeyin çeşitli hastalıklarda ve bazı ilaç tedavileri ile değiştiği; raşitizmde serum sitrat düzeyinin düştüğü, D vitamini tedavisinden sonra yükseldiği, parat hormonun sitrat düzeyini arttırdığı, infeksiyonların, periferik trombozisin, adrenal steroidlerin ve östrojenin serum sitrat düzeyini azalttığı nefrektomi, fiziksel çalışma ve hepatit durumlarında ise serum sitrat düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir(8,54).

Sitrattan fakir ve normal diyetle beslenenler arasında günlük sitrat ritminde fark olmadığı beslenmeden sonra sitratın açlık değerine göre % 9-30.7 arttığı bildirilmiştir(37).

### *Sitrik asidin idrarla atılımı*

Sitrik asid böbrekte tubuluslarından serbestçe süzülür ve proksimal tübüllerde yeniden asorbe edilir(5). Ayrıca sitratın peritubuler alımında proksimal tubulda meydana gelir. Sitratın günlük atılımını tubuler transportun ve renal hücrelerin metabolizması tayin eder(38).

Günlük idrarla sitrat atılımının yaklaşık 600 mg olduğu ve bu düzeyin 300-1200 mg arasına değiştiği bildirilmiştir(34).

Sitratın idrarla atılımında kadın-erkek arasındaki fark üzerine çelişkili açıklamalar vardır. Bazı araştırmacılar kadınlarda sitrat atılımının, erkeklere oranla daha fazla olduğunu savunurlarken(24,40), diğer bazı araştırmacılar sitrat atılımında bir fark olmadığı sonucuna varmışlardır(11,15).

Sitratın idrarla atılımı, farklı fizyolojik koşullarda değişiklik gösterir. Erkeklerde yaşın ilerlemesiyle idrar sitrat atılımında artış olduğu, diyetin asit içeriği ile atılımın değiştiği, asit baz dengesindeki değişikliklerden ve böbrek fonksiyon bozukluklarından sitratın idrarla atılımının etkilendiği bildirilmiştir(38).

## 2.2. İNSULİNİN YAPISI VE SEKRESYONU

1896 yılında Langerhans adacıklarını Langerhans keşfetmiş ve aynı yıllarda Klebs ve Munk, pankreatektomi ile diabet oluşumu arasındaki ilişkiyi bularak, diabet etiolojisinde pankreasın rolüne ilk defa dikkat çekmiştir. 1921'de önce Romanyalı Paulesca, daha sonra Banting ve Best'in insulini izole etmelerinden sonra, 1926'da Abel, insulini kristalize etmeyi başarmıştır(12).

İnsulin, pankreasın  $\beta$  hücrelerinde sentezlenen globüler yapıda bir protein olup, molekül ağırlığı yaklaşık 5734 kadardır. Aktif hormon 21 aminoasid içeren A, ve 30 aminoasid içeren B polipeptid zincirlerini kapsar. Bu zincirlerde, bir tanesi A zinciri içinde, ikisi A ve B zincirleri arasında bulunan toplam üç adet disulfid bağı vardır. Hormon fazla miktarda hidrofobik yapıda aminoasid içerir(44).

İlk sentez ürünü, preproinsulindir. Endoplazmik retikulumda başlayan insülin sentezi, endoplazmik retikulum sarnıç aralıklarında devam eder. Preproinsülinin "pre" kısmının yarı ömrü 1 dakikadır. Oluşan proinsülin üç kısımdan meydana gelir.

- a) A zinciri (21 aminoasid)
- b) B zinciri (30 aminoasid)
- c) C zinciri (31 aminoasid)

Proinsülin golgi aygıtına girer, burada modifikasyon tamamlanır ve veziküller içine alınır. Vezikül içindeki proinsülin proteolize uğrar, insülin ve C peptid meydana gelir. İnsülin molekülleri, insülin konsantrasyonuna bağlı olarak polimerleşir. Önce dimerik yapılar, insülin konsantrasyonu en yüksek düzeye geldiğinde ise heksamerik yapılar oluşur. İnsülin molekülleri çinko atomları ile kompleks yaparlar. Çinko atomlarının insülinin heksamerik yapısını sabitleştirdiği düşünülmektedir. İnsülin depolanmış veziküller hücre membranına doğru hareket ederler. Bu dönemde kalsiyum girişi arttığından sitoplazmadaki kalsiyum iyon konsantrasyonu artar, veziküller plazma membranı ile kaynaşır ve ekzositoz ile ekstrasellüler ortama atılır. İnsüline eşdeğer miktarda C peptid'de ekstrasellüler ortama geçer(29).

### 2.2.1. İnsülin Sekresyonunun Düzenlenmesi

İnsan pankreası günde 40-50 ünite insülin salgılar. Normal ve obez olmayan kişinin plazmasında 5-15 mikroünite/cm<sup>3</sup> immunoreaktif insülin bulunur. İnsülin sekresyonu birçok faktörlerden etkilenir. Bunlar şu şekilde özetlenebilir(12).

*A- Glukoz:* Ekstrasellüler ortamdaki glukoz konsantrasyonu ile, salgılanan insülin miktarı arasında doğru orantı vardır. Ortamda % 80 mg'ın altında glukoz varsa, insülin salgılanması çok zayıftır. Glukozun insülin üzerine ilave etkisi % 80-120 mg arasında başlar. % 120-300 mg arasında insülin sekresyonu, glukoz miktarıyla doğru orantılı olarak artar % 300 mg'ı

aşan glukoz miktarlarında ise insulin salgılanması daha fazla artmayarak düz çizgi çizer. % 500 mg glukoz değerinde, insulin sekresyonu, 300 mg değerinden çok az miktarda daha fazla olur. Glukoz, sadece insulin salınımı uyarıcısı olmayıp aynı zamanda sentezinde uyarıcısıdır. İnsulin salgılanması 2 aşamalıdır: Birincisi glukoz uyarımından sonra başlayan ve 5-7 dakika süren erken fazdır. Bunu izleyen fazda orta dereceli yükselir. Birinci fazda depolanmış insulin, ikinci fazda yeni sentez edilen insulin ortama verilir.

Oral verilen glukoz, intravenöz verilen glukozdan daha hızlı insulin serbestleşmesine neden olur. Çünkü çeşitli gastrointestinal hormonlar (sekretin, glukagon, gastrin) insulin serbestleşmesini arttırır.

Glukozun, beta hücrelerini nasıl uyardığı konusunda 2 hipotez vardır.

a) Reseptör hipotezi,  $\beta$  hücresi plazma membranında glukozu özgü reseptörlerin olması

b) Metabolik hipotez; Glukozdan oluşan bir metabolitin insulin salgılanmasını uarması

*B-cAMP ve insulin sekresyonu:* cAMP miktarı ile insulin salgılanması arasında pozitif korelasyon vardır. Alifatik, yani düz zincirli olan adenosin monofosfat (AMP), adenilat siklaz enzimi ile halkalı yapılı olan siklik AMP'ye dönüşür. Birçok hormonun etki göstermesinde ikinci haberci siklik AMP (cAMP)'dir. cAMP artışı parçalanmayı sağlayan fosfodiesteraz enziminin inhibisyonu ile de saptanır. Metil ksantinler bu yoldan c-AMP birikimine yol açar ve insulin salgılanmasını uyarırlar.

*C- Aminoasidler ve insulin sekresyonu:* İnsanda insulin salgılatan aminoasidleri güçlüden zayıfa olmak üzere arginin, lizin, lösin, fenilalanin, valin, metionin şeklindedir. Ortamda bulunan glukoz insulin salgılanması etkilerini güçlendirir.



*D- Katyonlar ve insulin sekresyonu:* Potasyum artışı  $\beta$  hücrelerine kalsiyum girişini arttırdığından insulin salgılanmasını uyarır. Kalsiyum yoğunluğunun artmasında insulin salgılanmasını uyarır. Magnezyum salgılanma üzerine inhibitör etkilidir.

*E- Otonom sinir sistemi ve insulin sekresyonu:* Alfa adrenerjik reseptörleri uyaran maddeler insulin salgılanması üzerine inhibitör etkilidir. Alfa adrenerjik blokerler, bu inhibisyonu ortadan kaldırırlar. Beta adrenerjik reseptörleri uyaran maddeler ise insulin salgılanmasını uyarırlar.

*F- Hormonların insulin salgılanmasına etkisi*

Salgılanmayı uyaran hormonlar: Tiroidstimulan hormon, ACTH, gastrin, sekretin, büyüme hormonu, kortizol, östrojen

Salgılanmayı inhibe eden hormonlar; Somatostatin, prostaglandin.

2.2.2 İnsulinin Metabolik Etkileri:

*Karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi:* İnsulin glukozun hücreye girişini ve metabolizmasını arttırır. Toplam etki glikolizin ve glukojenolizin artması, glukoneogenezin azalmasıdır. Bunları aşağıdaki enzimlerin aktivitelerini etkileyerek yapar(44).

a) Aktivitesi artan enzimleri:- Glukokinaz

- Fosforfruktokinaz
- Piruvat Kinaz
- Glikojen Sentaz

b) Aktivitesi azalan enzimler:- Glukoz 6-fosfataz

- Fruktoz 1.6 bifosfataz
- Fosfoenol piruvat karboksi kinaz
- Piruvat karboksilaz
- Glikojen fosforilaz

**Yağ metabolizması üzerine etkisi:** Aşağıdaki enzimlerin aktivitesini etkileyerek lipogenezi aktive ederken lipolizi inhibe eder.

a) Aktivitesi artan enzimler: Asetil KoA karboksilaz

Yağ asidi sentetaz

Piruvat dehidrogenaz

Lipoprotein Lipaz

ATP sitrat Liyaz

Hidroksimetil glutaril KoA redüktaz

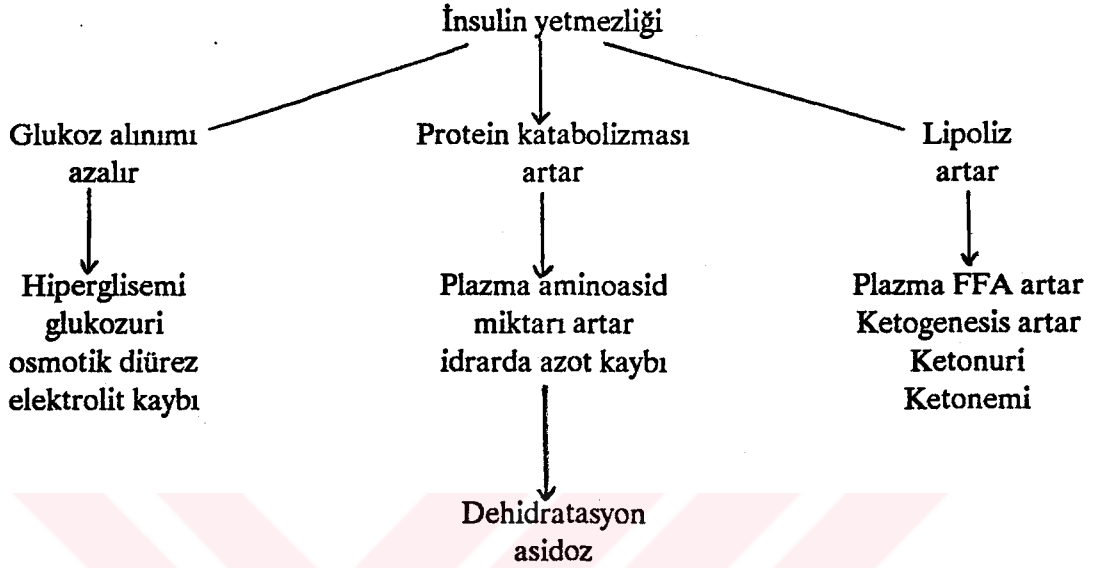
b) Aktivitesi azalan enzimler: Hormona duyarlı trigliserid lipaz

**Protein metabolizması üzerine etkisi:** Anabolizan etkili olup hücrelere aminoasid girişini ve aminoasidlerden proteini sentezini arttırır.

İnsulin, metabolizma üzerine etkilerini cAMP düzeyini azaltarak yapar. Bu etkisini fosfodiesterazı aktive ederek gösterir. Enzimlerin fosforillenerek aktivasyonlarına veya inaktivasyonlarına yol açar.

### 2.2.3. İnsulin Patofizyolojisi

İnsulin yetmezliği veya direnci "Diabetes Mellitus" klinik tablosuna yol açar. En büyük belirtisi hiperglisemidir. Glukozun hücreye alınmasında azalma, utilizasyonunda azalma ve karaciğerde glukoneogenezin artışı buna neden olur. (Şekil 3)(29).



Şekil 3 : İnsulin yetmezliği (veya glukagon fazlalığı)

### 2.3. ORAL GLUKOZ TOLERANS TESTİ

Oral glukoz tolerans testi (OGTT) aşağıdaki şu durumlarda önerilmektedir(13).

- 1- Açlık ya da postprandial plazma glukoz düzeyi sınır değerde olanlara
- 2- Diabetin klinik semptomlarını taşımayan açlık ve tokluk kan glukoz düzeyi normal olan geçici glikozürisi olan kişilere,
- 3- Diabet semptomlarını taşıyan, glikozürisi olmayan ve açlık kan glukoz düzeyi normal olanlara,
- 4- Ailesinde diyabet öyküsü olan, ancak klinik belirti göstermeyenlere,
- 5- Glukozuri ile birlikte gebelik, tirotoksikoz, karaciğer hastalığı veya enfeksiyonu olanlara.

6- Yüksek doğum ağırlıklı bebek doğuran kadınlara,

7- Nedeni belli olmayan nöropatisi ve retinopatisi olan hastalara uygulanır.

WHO/NDDG standardizasyonuna göre OGTT'nin aşağıda belirtilen esaslara göre uygulanması gerekmektedir(33).

1- Test öncesinde en az 2 haftalık sürede fiziksel aktivitesi kısıtlı olmayan, testi etkilediği bilinen ilaçları kullanmayan kişilerde yapılmalıdır.

2- Kişilerin, test öncesinde en az 3 gün süre ile en az 150 g karbohidrat içeren diyetle beslenmiş olmalıdır.

3- Test, 10-16 saatlik açlık sonunda, sabah saat 7.00-9.30 arasında uygulanması gerekir. Açlık süresinde su içimi serbest olup, kahve ve sigara içimine izin verilmemelidir.

4- Kısa yürüyüşler dışında ekzersiz yapmasına izin verilmemelidir.

5- Açlık kan örneği alındıktan sonra glukoz yüklenmelidir. Yükleme dozu; erişkinlerde 75 g, gebelerde 100 g, çocuklarda ise 75 g'ı geçmek kaydı ile 1.75 g/kg'dır.

6- Glukoz verilmesinden 30,60,90,120 gerekirse 180 ve 240' dakika sonra kan örnekleri alınır.

Glukoz analizi derhal yapılmayacak ise kan örneği sodyum florür içeren (30 mg NaF/5 ml kan) tüpe alınması, 4 saat içinde santrifüj edilmesi ve plazmanın dondurularak saklanması gerekir.

Serum glukoz değerleri, eğer kan soğukta pıhtılaşmış ve serum 30 dakika içinde ayrılmış ise plazma glukoz değerleri ile eř değerdedir. Kapiller kan örneklerinde saptanan glukoz değerleri arteryel değerlere daha yakındır. Erişkinde, açlık durumunda kapiller ve venöz kan glukoz değerleri eř düzeyde olup, besin alınımından iki saat sonra ise kapiller kan glukoz konsantrasyonu daha yüksektir. Tanı testlerinde venöz kan tercih edilir. Tam kan ve plazmada saptanan glukoz değerlerinden plazmaya ait olanı % 15 oranında daha yüksektir. Plazma glukoz değerleri tam kan glukoz değerlerinden daha stabildir(1).

### **Glukoz Toleransını Etkileyen Faktörler(22):**

1. *Diyet:* Uzun süreli açlık ya da karbonhidrat içeriği düşük olan diyetle beslenmiş olan kişilere glukoz yüklendiğinde diabetik cevap alınabilir. Klinik uygulamada karbonhidrat içeriği en az 200-300 g olan, tatlı ve pasta da içeren bir diyet ile hasta en az 3 gün beslenmiş olmalıdır. Yeterli miktarda protein ve kalori ile 125 g. Karbonhidratın yeterli olduğu bildirilmiş ise de günlük karbohidrat tüketiminin en az 200 g olması tercih olunmaktadır.

2. *İnsulin ve oral hipoglisemik ilaçlar:* Test ncesi dönemde regular insulinin 3 gün, orta veya uzun süreli insulinin 1 hafta süre ile kullanılmamış olması gerekmektedir. Oral hipoglisemikler içinde aynı kısıtlama gereklidir. Bu ilaçların test öncesinde uygulandığında glukoz toleransını geçici olarak azalttığı saptanmıştır.

3. *Fiziksel inaktivite:* Uzun süreli fiziksel inaktivite karbohidrat toleransını azaltır. Bu nedenle yaşlılarda ve yatak istirahati yapan kişilerde glukoz tolerans testi cevabının bozuk çıkma olasılığı yüksektir.

4. *İnfeksiyonlar:* Enfeksiyonu olan ya da ateşli olan kişilerde tanı amacıyla test yapılmamalıdır. Standart bir işlem olarak her testin başlangıcında vücut ısısı llmeli ve kaydolunmalıdır.

5. *Hastalıklar ve diabet dışındaki anormal durumlar:* Obesite hipertiroidi akromegali, hipertansiyon, gebelik, kanser, kronik nörolojik hastalıklar, serebrovasküler travma ve akut myokard enfarktüsü gibi diabet dışı hastalıklarda da glukoz tolerans testi bozulabilir.

6. *İlaçlar:* Glukoz toleransını azalttığı bilinen benzotiadiazin, nikotinik asid, salisilat, steroid grubu ilaçların ve oral kontraseptiv ilaçların test öncesinde en az 3 gün süre ile kullanılmamaları gerekir.

7. *Testin uygulandığı zaman:* Belirli miktardaki glukozu karşı alınan glisemi cevabının öğleden önce uygulanan testlere göre öğleden sonra uygulanan testlerde daha yüksek olduğu saptanmıştır.

8. *Yaş:* Yaşın glukoz toleransı üzerine etkisi uzun zamandan beri bilinmektedir. Yaş ilerledikçe toleransın azaldığı kabul edilmektedir.

WHO kriterlerine uyan olgular, normal glukoz toleransı gösteren, bozulmuş glukoz toleransı gösteren ve Diabetes Mellitus grubu olmak üzere 3 gruba ayrılır(20).

1- Açlık plazma glukoz konsantrasyonuun 140 mg/dl'nin üzerinde veya 2 saatlik plazma şeker değerinin 200 mg/dl'nin üzerinde olması Diabetes Mellitus'u belirtir.

2- Açlık plazma glukoz değerinin 140 mg/dl'nin altında ve, iki saatlik plazma glukoz değerinin 140 mg/dl'nin üstünde, 200 mg/dl'nin altında olması bozulmuş glukoz toleransını belirtir.

3- Açlık ve 2 saatlik plazma glukoz değerinin 140 mg/dl'nin altında olması normal glukoz toleransını belirtir.

## 2.4. GENEL SİTRİK ASİD MİKTAR BELİRTİM YÖNTEMLERİ

### *Kolorimetrik Yöntemler:*

1) Genellikle kullanılan bu yöntemde(6,30) sitratın, potasyum permanganat ve sodyum bromid'in etkisi ile pentobromoasetona dönüşmesi prensibine dayanan bir yöntemdir. Tiyoüre ile sarı renkli çözüner bir kompleks oluşturduktan sonra pentobromoaseton 420 nm'de ölçülür. Ancak bu metod çok zahmetli ve uzun zamana ihtiyaç gösteren bir metoddur. Bu metodun serum için normal sitrat değeri 1.7-3.0 mg/dl'dir.

2) Diğer bir kolorimetrik yöntemde ise, alkali ortamda, fosfatı çöktürülmüş olan numunedeki sitratın 3 değerli demirle vermiş olduğu sarı renkli kompleksin 390 nm'de fotometrede ölçülmesi prensibine dayanır. Bu yöntem idrardaki sitrit asid miktar belirtimi için kullanılmıştır(24).

### *Fluorimetrik yöntemler:*

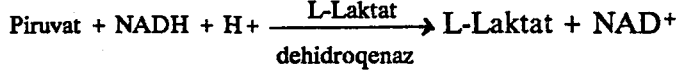
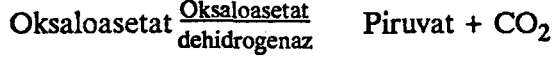
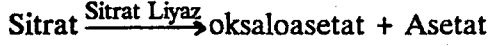
Tomisek ve arkadaşları(51). Sitrat liyaz enzimi kullanarak, NADH konsantrasyonlarındaki azalmayı fluorimetrik olarak ölçmüşlerdir. Bu metodla serum sitrat düzeyini ortalama % 2.86 mg olarak saptamışlardır.

### *İyon Kromatografi Yöntemleri:*

Dionex AG3 P/N 030986 anyon değiştirici kolonunda 2.2. ml/min<sup>-1</sup>'lik sodyum karbonat (8 mM) akışı sağlanarak idrarda sitrat tayini yapılmıştır(42).

### *Enzimatik Yöntemler:*

Aerobacter aerogenes'ten elde edilen bir bakteriyal enzim olan sitrat liyaz, sitratı oksalasetat ve asetata dönüştürür(25,52). Oluşan oksaloasetat ve onun dekarboksilasyon ürünü piruvat, malat dehidrogenaz ve L-Laktat dehidrogenaz, enzimlerinin varlığında sırasıyla L-malat ve L-Laktat'a dönüşürler. Bu sırada oluşan NADH'daki azalma 340 nm'de UV spektrofotometresinde ölçülür. Reaksiyonda oksitlenmiş NADH'ın miktarı, sitratın miktarı ile sitokimetriktir.



Günümüze kadar, klinik örneklerde sitrat tayini için kullanılan metodlar zahmetli, nonspesifik ve hızlı tayinler için uygun değildir. Ancak günümüzde, klinik örnekler dışında çeşitli yiyecek ve içeceklerde bile sitrat tayini, bakteriyel sitrat liyaz içeren spesifik bir enzim metodu ile yapılmaktadır. Bir kısım çalışmada(36,52,53). Serum proteinleri çöktürülmek veya ultrafiltrasyon yoluyla uzaklaştırılmış, bir kısım çalışmada ise(3,23,57) proteinlerin giderilmesinin gereksiz olduğu vurgulanmıştır. Worty ve akarakadaşları(52) serumun filtrasyondan sonra filtre edilmemişlere göre sitratin daha yüksek olduğunu ve proteinlerin uzaklaştırılması gerektiğini göstermişler ve glukoz, keton cisimleri, bilirubin, hemoliz ve antibiotiklerle yöntemin spesifikliğinin bozulmadığını bildirmişlerdir.



### 3. MATERYAL VE METOD

OGTT sırasında serumda sitrik asit miktar belirtimi için enzimatik yöntem olan sitrat liyaz yöntemi(52), immunoreaktif insulin tayini için Medgenix diagnostiesin İNS-RIA-100 kiti(26), kan şekeri miktar belirtimi için Hagedorn Jensen(56) yöntemi kullanıldı.

Deneydeki kişiler, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji Servisine çeşitli nedenlerden dolayı başvurmuş OGTT uygulama kriterlerine uygun olanlardan ve Biokimya Anabilim Dalında görevli arkadaşlarımız arasından seçilmiştir.

#### 3.1. SERUM SİTRAT MİKTAR BELİRTİMİ

*Prensip:* Serumda bulunan sitrat, sitrat liyazı ile oksoloasetat ve asetat'a dönüşür. Oluşan oksoloasetat ve onun dekarboksilasyonu ile oluşan piruvat, malat dehidrogenaz enzimlerinin katalizleriyle sırasıyla L-malat ve L-Laktat'a dönüşürler. Bu sıradaki NADH'daki azalma 340 nm'de UV spektrofotometrisinde ölçülür.

##### 3.1.1. Kullanılan Çözeltiler

1- 1.4 g liyofilizat karışımı (glisilglisin tamponu, pH 7.8, malat dehidrogenaz, 136 Ü; L-Laktat dehidrogenaz, 280 Ü; NADH, 6.0 mg).

Bu karışım kullanılacağı zaman 12 ml deiyonize su ile çözülür, oda sıcaklığına getirilir. Çözelti +4° C'de 2 hafta, -20° C'de 4 hafta dayanıklıdır.

2- Sitrat liyaz çözeltisi: 50 mg. 12 Ü liyofilize sitrat liyaz içerir. Kullanılacağı zaman 0.3 ml deiyonize suda çözülür. Çözelti +4° C'de 1 hafta, -20° C'de 4 hafta dayanıklıdır.

3- Standart sitrik asit çözeltisi: Litrede 1 gr standart sitrik asit içeren çözeltidir.

Tüm çözeltiler kullanılmadan önce 20-25° C'ye getirilir.

4- Perklorik Asit: % 60'lık perklorik asit çözeltisinden, 1 mol/lt hazırlanır.

5- Potasyum karbonat; Litrede 0,3 mol olarak hazırlanır.

### 3.1.2. Analizin Yapılışı

Olgulardan oral glukoz tolerans testi sırasında; açlık ve 75 gr glukoz yüklenmesini izleyen 60,120,180,240'ıncı dakikalarda kol ven kanı alındı. Kanın oda ısısında pıhtılaşması sağlanarak serumu ayrıldı. Örnekler -20° C'de saklandı. Analizden önce oda ısısına gelene kadar bekletildi. Oda ısısına gelen serumun 1 ml'si 1 ml soğuk perklorik asid (1 mol/lt) ile karıştırılarak 5 dakika beklenerek proteinlerin çökmesi sağlandı. 10 dakika 2000 pm'de santrifüj edildi. Üst fazdan 1 ml alınarak 0,5 ml potasyum karbonat (0.3 mol/lt) ile nötralize edildi. 10 dakika +4° C'de inkübe edildikten sonra filtre edildi. Filtrattan 0,2 ml pipetlenerek 1,8 ml deiyonize su ile 2 ml'ye tamamlandı. Kör için 2 ml deiyonize su kullanıldı. Bu karışımlara glisil-glisin tampon, NADH, malat dehidrogenaz ve L-Laktat dehidrogenaz enzimi içeren çözeltiden 1 ml ilave edildi. İyice karıştırıldıktan sonra yaklaşık 5 dakika sonra 340 nm'de UV spektrofotometresinde absor-

banları ölçüldü ( $A_1$ ). Daha sonra sitrat liyaz içeren çözeltiden 0.02 ml eklenerek tüpler yeniden karıştırıldı ve yaklaşık 5 dakika sonra absorbansları tekrar ölçüldü ( $A_2$ ).

### HESAP

$$c = \frac{V \times MW}{\sum x d \times V \times 1000} \times \Delta A \text{ (g/dl)}$$

$c$  = Konsantrasyon (g/L)

$V$  = Son hacim (ml)

$V$  = Numune hacmi (ml)

$MW$  = tayin edilecek maddenin molekül ağırlığı (g/mol)

$d$  = Işığın uzaklığı (cm)

$\Sigma$  = NADH'in absorpsiyon koeffisenti (340 nm = 6.3 (1xmmol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>))

$\Delta A$ : Numunelerin Absorbans farkından körlerin absorbans farkını çıkarılmasıyla elde edilen değerdir.

$$\Delta A = \Delta A_{\text{numune}} - \Delta A_{\text{KÖR}}$$

$$\Delta A_{\text{numune}} = A_{1\text{numune}} - A_{2\text{numune}}$$

$$\Delta A_{\text{kör}} = A_{1\text{KÖR}} - A_{2\text{KÖR}}$$

Nadir olarak, kör absorbans farkları negatif bir değer çıkabilir; bu durumda çıkan değer numune absorbans farkına eklenmelidir. Eğer sulandırma yapılmışsa, sulandırma faktörü ile çarpılmalıdır.

#### 3.1.3. Kullanılan Aletler

A) Chriss 11 Ks santrifüj aleti

b) Perkin - Elmer Lambda 1A UV/VIS Spektrofotometre

### 3.2. KAN ŞEKERİ MİKTAR BELİRTİMİ

Hagedorn Jensen Yöntemi(56).

Prensip: Çinkohidrositle proteinsizleştirilmiş serum süzüntüsü, alkalik potasyum ferrisiyonür çözeltisi ile ısıtılır, şeker ferrisiyanür anyo-

nunu ferrosiyandır anyonuna indirger. Katılan çinko sülfatla, çinko-ferrosiyandır kompleksi oluşturan ferrosiyandır anyonları ortamdaki uzaklaştırıldıktan sonra mevcut ferrosiyandır anyonlarının miktarı iometrik olarak yapılır.

### 3.2.1. Kullanılan Çözeltiler

1- Çinkosülfat (0,45 g/100 ml hazırlanır). Kullanılacağı zaman 1:100 oranında seyreltilir.

2- Sodyum hidroksit: (4 g/Litre)

3- Potasyum ferrisiyanür (N/200)

4- Potasyum iyodür/çinkosülfat/sodyum klorür ayırıcı

5- Nişasta (% 1): Doymuş NaCl çözeltisi ile hazırlandı.

6- Sodyum tiosülfat (N/200)

7- Asetik Asid (% 3)

8- Potasyum iodat (N/200).

### 3.2.2. Analizin Yapılışı

Açlık ve 75 gram oral glikoz alınımlarını izleyen 60,120,180 ve 240.cı dakikalarda alınan venöz kanlar sodyum florürlü tüp içinde konuldu ve iyice karıştırıldı. Her numune için deney tübü olarak işaretlenmiş iki tüpe 1 ml sodyum hidroksit ve 5 ml çinko sülfat çözeltisi konduktan sonra 0,1 ml sodyum florürlü venöz kan pipetlendi. Kör olarak işaretlenmiş iki tüpe ise kan pipetlenmedi. Tüpler 3 dakika süre ile kaynar su banyosunda tutularak deproteinize edildi. Oda ısısına getirilerek kaynamış distile su ile yıkanmış pamuklu cam hunilerden hagedorn tüplerine süzüldü. Tüpler 3'er kez 3 ml kaynamış distile su ile yıkanıp, yıkama sularında hagedorn tüplerine süzüldü. Hagedorn tüplerine 2 ml potasyum ferrosiyandır çözeltisi konularak 15 dakika kaynar su banyosunda tutuldu. Oda ısısına getirilen tüplere 2 ml potasyum iyodür, çinkosülfat ve sodyum klorür, içeren tuz çözeltisi ve 2 ml asetik asid çözeltisi pipetlendi. Nişasta indikatörlüğünde N/200'lük sodyumtiosülfat çözeltisiyle titrasyon yapıldı. Numune kör olarak işaretlenmiş tüplerin sodyumtiosülfat harcamasına eşit gelen şeker konsantrasyonları % mg cinsinden hagedorn tablosunda bulundu.

### 3.3.SERUM İMMUNOREAKTİF İNSÜLİN TAYİNİ

**Prensip:** Radyoimmunassay olarak işaretlenmiş bir antijen ile işaretlenmemiş bir antijen arasında spesifik antikörler için yarışma prensibine dayanır(26).

#### 3.3.1. Kullanılan Ayıraçlar

1. İşaretli insulin ( $I^{125}$  Tyr. A-14 insülin)
- 2- İnsulin standartları (0,5-10-20-50-100-200-500  $\mu$ ü/ml)
- 3- İnsülin antiserumu
- 4- DA-PEG çözeltisi
- 5- N.S.B. tamponu (Non spesifik bağlanma)
- 6- Kontrol insan serumu

#### 3.3.2. Analizin Yapılışı

Grupların açlık ve 75 g oral glikoz alınımasını izleyen 60., 120., 180., ve 240.cı dakikalarda alınan venöz kandan elde edilen serumlarda immunoreaktif insulin tayini Nükleer Tıp Ana Bilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır. Analiz gününe kadar serumlar - 20° C'de saklanmıştır.

Eser miktarda lyot-125 ile işaretlenmiş insulin, kobayda oluşturulmuş insulin-anti serumu ile oda sıcaklığında 90 dakika inkübe edilir. İnkübasyon ortamı ayrıca bilinen miktarda işaretlenmemiş insan insulini içerir. İnkübasyondan sonra kobay-antigama globulin antiserumu ile karıştırılmış PEG çözeltisi (PA-PEG) tüm tüplere ilave edilir. Oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyondan sonra  $I^{125}$  ile işaretli insülin-antikör kompleksi çöker. Tüpler santrifüj edilir ve çözeltinin radyoaktivitesi belirlenir. Standart bir eğri çizilir ve örneklerin konsantrasyonu bu egriden belirlenir.

### 3.4. OBEZİTE İNDEKSİNİN SAPTANMASI

Obezitenin derecesi "Body Mass İndex" (BMI) değeri ile saptandı.

W: Elbisesiz olarak ölçülen vücut ağırlığı (kg),

H: Çıplak ayakla ölçülen boy uzunluğu (m)

BMI:  $W/H^2$ 'dir.

Erişkin erkek ve kadınlarda obezite indeksinin en düşük değerleri tablo 6'da görülmektedir. Olguların obez olup olmamalarına bu tablo kullanılarak karar verildi(19).

**Tablo 6 : Erişkin ve kadınlarda en düşük BMI değerleri**

	İnce yapılı	Orta yapılı	İri yapılı
Erkek	25.4	27.5	29.9
Kadın	24.7	27.0	29.5

### 3.5. BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİNDE KULLANILAN İSTATİSTİKSEL FORMÜLLER(55)

1) Aritmetik ortalama:  $x : \frac{\sum x_i}{n}$

2) Standart sapma:  $SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x)^2}{n-1}}$

3) t testi: a) Aynı grup içinde;

$$t = \frac{|m-O|}{S/\sqrt{n}} \quad m = \frac{x_1 - x_2}{n} \quad (\text{farkların ortalaması})$$

Serbestlik derecesi:  $n_1 + n_2 - 1$

b) Farklı grup içinde:

$$S^2 = \frac{\Sigma(x-m_1)^2 + \Sigma(x-m_2)^2}{n_1+n_2-2}$$

$$t = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\frac{S^2}{n_1} + \frac{S^2}{n_2}}} \quad \text{Serbestlik derecesi: } n_1+n_2-2$$

4) Korelasyon katsayıları

$$r = \frac{\Sigma xy - \frac{\Sigma x \Sigma y}{n}}{\sqrt{(\Sigma x^2 - \frac{\Sigma x^2}{n}) \times (\Sigma y^2 - \frac{\Sigma y^2}{n})}}$$

5) Korelasyon anlamlılığı

$$t = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \sqrt{n-2} \quad \text{Serbestlik derecesi} = n-2$$

#### 4. BULGULAR

Kan şekeri ve insülinin, gerek glukoz toleransı normal gerekse de bozuk olanlarda kan sitrat düzeyini etkileyip etkilemediğini ve bu etkinin ne derecede olduğunu araştırmak için yaptığımız çalışmanın sonuçları.

Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) uygulanarak WHO kriterlerine göre(53) glukoz toleransı normal ve obesite indeksi normal olan on kişinin (kontrol grubu) tablo 7'de, glukoz toleransı normal ve obesite indeksi yüksek olan on kişinin (obez grup) tablo 12'de, glukoz toleransı bozulmuş on bir kişinin tablo 17'de yaş, boy, kilo ve obesite indeksleri belirlendi.

Kontrol grubunun OGTT sırasında kan şekeri değerleri tablo 8'de, serum sitrat değerleri tablo 9'da, serum insülin değerleri tablo 10'da, insülojenik indeks değerleri tablo 11'de belirlenmiştir.

Obez grubun, OGTT sırasında kan şekeri değerleri tablo 13'de, serum sitrat değerleri tablo 14'de, serum insülin değerleri tablo 15'de, insülojenik indeks değerleri tablo 16'da belirlenmiştir.

Glukoz toleransı bozulmuş grubun, OGTT sırasında kan şekeri değerleri tablo 18'de, serum sitrat değerleri tablo 19'da, serum insülin değerleri tablo 20'de, insülojenik indeks değerleri tablo 21'de belirlenmiştir.



*Grupların kendi içlerinde istatistiksel anlamlılık değerlendirilmesi yapıldığında elde edilen sonuçlar:*

1- Kontrol grubu (tablo 8) ve obez grupta (tablo 13) kan şekeri değerleri 1. saat değeri açlık değeri ile karşılaştırıldığında 1. saat değerinde anlamlı bir yükseklik saptandı ( $p < 0.001$ ). 2., 3., 4. saatlerdeki değerler açlık değerleri ile karşılaştırıldığında fark saptanmadı.

2- Kontrol grubu (tablo 9) ve obez grupta (tablo 14) serum sitrat değerlerinden 1. ve 2. saat değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir yükseklik saptandı ( $p < 0.001$ ). Ancak 3. ve 4. saat değerleri açlık değeri ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı.

3- Kontrol grubu (tablo 10) ve obez grupta (tablo 15) serum insulin değerlerinden 1. ve 2. saat değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir yükseklik saptandı ( $p < 0.05$ ). 3. ve 4. saat değerleri ise açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı. Aynı bulgular insulojenik indeksler karşılaştırıldığında da saptandı (Tablo 11, tablo 16).

4- Glukoz toleransı bozulmuş grupta (tablo 18) kan şekeri değerlerinden 1 ve 2. saat değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir yükseklik saptandı ( $p < 0.001$ ). 3 ve 4. saat değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı.

5- Glukoz toleransı bozulmuş grupta (tablo 19) serum sitrat değerlerinden 1. ve 2. saat değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı yükseklik saptandı ( $p < 0.001$ ), 3. ve 4. saat değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı.

6- Glukoz toleransı bozulmuş grupta (tablo 20) 1. ve 2. saat serum insulin değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir yükseklik saptandı ( $p < 0.005$ ), 3 ve 4. saat insulin değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı. İnsulojenik indeks değerlerinden (tablo 21) 1. ve 2. saat değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında

da anlamlı bir yükseklik saptandı ( $p < 0.001$ ), 3. ve 4. saat değerleri ise açlık değerleri ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı.

*Gruplar arasında istatistiksel anlamlılık değerlendirilmesi yapıldığında elde edilen sonuçlar:*

1- Kontrol grubu ile obez grubun açlık kan şekeri değerleri ( $G_0$ ), en yüksek kan şekeri ( $G_{max}$ ), toplam kan şekeri değerleri ( $G_t$ ),  $G_t - G_0$  değerleri ( $\Delta G$ ) istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (tablo 22, şekil 4).

2- Kontrol grubu ile obez grubun açlık serum sitrat değerleri ( $S_0$ ), en yüksek serum sitrat değerleri ( $S_{max}$ ), toplam serum sitrat değerleri ( $S_t$ ),  $S_t - S_0$  değerleri ( $\Delta S$ ) istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 23, Şekil 5).

3- Kontrol grubu ile obez grubun açlık serum insulin değerleri ( $I_0$ ), en yüksek serum insulin değerleri ( $I_{max}$ ), toplam serum insulin değerleri ( $I_t$ ),  $I_t - I_0$  değerleri ( $\Delta I$ ) istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 24, şekil 6).

4- Kontrol grubu ile obez grubun, açlık insulojenik indeks değerleri ( $\dot{I}_0$ ), en yüksek insulojenik indeks değerleri ( $\dot{I}_{max}$ ), toplam insulojenik indeks değerleri ( $\dot{I}_t$ ),  $\dot{I}_t - \dot{I}_0$  değerleri ( $\Delta \dot{I}$ ), istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (Tablo 25, şekil 7).

5- Kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun  $G_0$ ,  $G_{max}$ ,  $G_t$ ,  $\Delta G$  değerleri karşılaştırıldığında her bir değeri için anlamlı fark saptandı ( $p < 0.001$ ). (Tablo 26, şekil 4).

6- Kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun  $S_0$ ,  $S_{max}$ ,  $S_t$  ve  $\Delta S$  değerleri karşılaştırıldığında her bir değeri için anlamlı fark saptandı ( $p < 0.001$ ). (Tablo 27, şekil 5).

7- Kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun  $I_0$ ,  $I_{max}$ ,  $I_t$  ve  $\Delta I$  değerleri karşılaştırıldığında  $I_t$  ve  $\Delta I$  değerleri glukoz toleransı bozulmuş grupta anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p < 0.005$ )  $I_0$  ve  $I_{max}$  değerleri açısından anlamlı fark saptanmadı.

8- Kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun  $II_0$ ,  $II_{max}$ ,  $II_t$  ve  $\Delta II$  değerleri (tablo 29, şekil 7) istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı.

9- Enjeksiyonla yaratılan stresten dolayı epinefrin salınımının serum sitrat düzeyine etkisini incelemek amacıyla 4 sağlıklı laboratuvar arkadaşımızdan enjeksiyon ile açlık kan örneği alınıp serum sitrat düzeyi saptandı. Bir saat sonra tekrar enjeksiyon ile kan alınıp serum sitrat düzeyi saptandı. Açlık ve bir saat sonrası açlık değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadığı gibi her bir şahsın bir saat sonraki serum sitrat düzeyleri açlık değerlerinden daha az veya aynı olarak belirlendi (tablo 30).

10- 5 sağlıklı laboratuvar arkadaşımızın açlık ve Karbohidratça zengin kahvaltıdan bir saat sonraki kan örnekleri alınarak serum sitrat değerleri ölçüldü. İstatistiksel olarak serum sitrat değerleri karşılaştırıldığında tokluk değerleri açlık değerinden anlamlı olarak yüksek saptandı (tablo 31).

*Tüm gruplar gözönüne alınarak korelasyon analizleri sonuçları*

**Açlık ve 4. saat arasında:**

sitrat - insulin;  $r: 0.419$  ( $p < 0.001$ )

Sitrat - kan şekeri;  $r: 0.70$  ( $p < 0.001$ )

Kanşekeri - İnsulin 0;  $r: 0.52$  ( $p < 0.001$ )

**Açlık ve 1. saat arasında**

Sitrat - insulin;  $r: 0.442$  ( $p < 0.001$ )

Sitrat - Kanşekeri;  $r: 0.789$  ( $p < 0.001$ )

Kan şekeri - insulin;  $r: 0.511$  ( $p < 0.001$ )

**1. saat - 4. saat arasında****Sitrat - insulin; r: 0.418 (p<0.001)****Sitrat - kan şekeri r: 0.722 (p<0.001)****Kan şekeri - İnsulin r: 0.477 (p<0.001)****Kontrol grubunda açlık ve 4. saat arası korelasyon analizleri sonuçları****Sitrat - İnsulin; r: 0.39 (p<0.001)****Sitrat - kan şekeri r: 0.51 (p<0.001)****Kanşekeri - İnsulin r: 0.77 (p<0.001)****Obez grupta açlık ve 4. saat arası korelasyon analizleri sonuçları****Sitrat - İnsülin; r: 0.67 (p<0.001)****Sitrat-Kan şekeri: r: 0.44 (p<0.001)****Kanşekeri - İnsulin; r: 0.64 (p<0.001)****Glukoz toleransı bozulmuş grupta açlık ve 4. saat arası korelasyon analizleri sonuçları****Sitrat-İnsulin; r: 0.37 (p<0.001)****Sitrat-Kan şekeri r: 0.59 (p<0.001)****Kanşekeri - İnsulin r: 0.45 (p<0.001)**

Tablo 7 : Kontrol grubunun özellikleri

İsim	Cinsi	Yaş	Boy (cm)	Ağırlık (kg)	Obezite İndeksi
H.K.	E	23	170	66	22.84
K.K.	K	69	152	67	28.99
V.C.	E	50	189	78	21.83
M.Y.	E	38	170	70	24.22
B.K	E	40	166	76	27.58
A.D.	K	51	154	50	21.08
S.İ.	K	43	158	62	24.84
N.D.	K	28	158	53	21.23
Y.Y.	K	50	161	72	27.79
E.A.	K	22	162	52	19.81
$\bar{x}$		41.4	164	64.6	24.02
S.D.		14.57	10.69	10.07	3.20

**Tablo 8 : Kontrol grubunun OGTT'de kan şekeri değerleri**

<b>Kan şekeri (% mg)</b>					
<b>İsim</b>	<b>Açlık</b>	<b>1.saat</b>	<b>2.saat</b>	<b>3.saat</b>	<b>4.saat</b>
H.K.	85	105	70	68	60
K.K.	70	150	75	72	70
V.C.	100	190	70	68	65
M.Y.	70	140	110	85	80
B.K.	100	130	65	65	75
A.D.	75	90	100	90	75
S.İ.	78	136	100	78	74
N.D.	70	124	92	80	70
Y.Y.	74	144	92	85	80
E.A.	76	84	72	70	68
$\bar{X}$	80.27	129.3	84.6	76.1	71.7
S.D.	11.09	31.09	15.95	8.68	6.37

**Tablo 9 : Kontrol grubunun OGTT'de serum sitrat değerleri**

<b>Serum sitrat (% mg)</b>					
<b>İsim</b>	<b>Açlık</b>	<b>1. saat</b>	<b>2. saat</b>	<b>3.saat</b>	<b>4.saat</b>
H.K.	1.16	2.78	2.42	1.88	1.25
K.K.	2.15	3.59	3.23	2.60	1.97
V.C.	1.79	2.42	2.06	1.88	1.70
M.Y.	1.72	2.31	2.24	1.97	1.82
B.K.	2.15	3.59	2.87	2.15	2.09
A.D.	2.01	2.88	2.55	2.40	2.25
S.İ.	2.51	2.92	2.50	2.33	2.40
N.D.	1.87	2.14	2.50	1.85	1.59
Y.Y.	1.94	2.84	2.59	2.30	1.97
E.A.	1.70	2.60	2.15	1.65	1.70
$\bar{X}$	1.90	2.80	2.51	2.09	1.87
S.D.	0.35	0.48	0.34	0.30	0.33

Tablo 10 : Kontrol grubunun OGTT'de serum insülin değerleri

Serum insülin ( $\mu$ Ü/ml)					
İsim	Açlık	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat
H.K.	15	100	86	40	16
K.K.	6.5	85	25	17.5	8.5
V.C.	17	240	46	37	15
M.Y.	8	90	110	75	12
B.K.	1.2	108	9.5	6	3.5
A.D.	6.6	24	14	7.4	5.6
S.İ.	5.6	36	19	11.5	4.6
N.D.	5	15.5	30	15	2.9
Y.Y.	32	180	46	38	5.2
E.A.	8	34	19	7	5.4
$\bar{X}$	10.49	92.25	40.45	22.22	7.87
S.D.	8.87	72.25	33.16	21.19	4.79

Tablo 11 : Kontrol grubunun OGTT'de İnsülojenik indeks değerleri

İnsülojenik indeks ( $\mu$ Ü/ml insülin/% mg kan şekeri)					
İsim	Açlık	1. saat	2. saat	3.saat	4.saat
H.K.	0.176	0.952	1.128	0.588	0.266
K.K.	0.093	0.566	0.333	0.243	0.121
V.C.	0.170	1.263	0.657	0.528	0.230
M.Y.	0.114	0.642	1.000	0.882	0.150
B.K.	0.012	0.830	0.146	0.092	0.046
A.D.	0.088	0.155	0.140	0.082	0.074
S.İ.	0.071	0.264	0.190	0.147	0.062
N.D.	0.071	0.125	0.326	0.187	0.041
Y.Y.	0.432	1.250	0.500	0.447	0.065
E.A.	0.105	0.404	0.263	0.100	0.079
$\bar{X}$	0.133	0.645	0.478	0.329	0.113
S.D.	0.115	0.421	0.355	0.256	0.071

Tablo 12 : Obez grubunun özellikleri

İsim	Cinsi	Yaş	Boy (cm)	Ağırlık (kg)	Obezite İndeksi
N.K.	K	54	159	94	37.18
H.S.	K	40	160	91	35.54
İ.T.	E	14	170	90	31.14
N.P.	K	43	165	85	33.62
N.D.	K	45	159	120	47.46
S.Ç.	K	52	154	76.5	32.26
A.K.	K	26	163	117	44.05
K.G.	K	14	163	98	36.89
N.Ö	K	48	150	68	30.22
T.Y.	E	30	174	90	29.80
$\bar{X}$		36.6	161.7	92.95	35.81
S.D.		14.79	7.05	16.03	5.90



Tablo 13 : Obez grubunun OGTT'de kan şekeri değerleri

Kan şekeri (% mg)					
İsim	Açlık	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat
N.K.	90	130	86	80	78
H.S.	70	145	110	80	75
İ.T.	90	120	70	68	70
N.P	68	128	94	78	65
N.D.	105	180	96	90	85
S.Ç.	108	190	85	78	72
A.K.	90	170	105	95	65
K.G.	70	125	100	75	60
N.Ö.	80	125	90	85	70
T.Y.	75	140	82	75	70
$\bar{X}$	84.6	145.3	91.8	80.4	71
S.D.	14.4	25.46	11.78	7.82	7.13

Tablo 14 : Obez grubunun OGTT'de serum sitrat değerleri

Serum sitrat (% mg)					
İsim	Açlık	1. saat	2. saat	3.saat	4.saat
N.K.	2.25	3.01	2.76	2.42	2.21
H.S.	2.03	2.94	2.50	2.24	1.97
İ.T.	2.32	3.49	2.98	2.49	2.27
N.P	2.06	2.50	2.14	2.06	2.01
N.D	1.77	2.69	2.32	1.88	1.70
S.Ç.	1.86	2.06	1.70	1.52	1.61
A.K.	1.61	2.62	2.04	1.70	1.52
K.G.	1.88	2.87	2.69	2.15	1.70
N.Ö.	2.06	3.76	3.42	2.72	2.46
T.Y.	1.72	2.96	2.42	2.01	1.86
$\bar{X}$	1.96	2.89	2.49	2.12	1.93
SD.	0.22	0.48	0.49	0.36	0.31

Tablo 15 : Obez grubunun OGTT'de serum insülin değerleri

Serum insülin ( $\mu$ Ü/ml)					
İsim	Açlık	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat
N.K.	24	210	56	4.6	9.5
H.S.	9.5	380	10.5	11	9
İ.T.	38	220	44	25	17
N.P.	7.50	105	34	11	13
N.D.	29	175	85	10.5	18
S.Ç.	10.5	72	52	18	7.5
A.K.	6.2	66	30	27	1.4
K.G.	5.5	95	65	15	7.5
N.O.	14	200	80	70	5
T.Y.	10	85	14	2.8	18
$\bar{X}$	15.42	160.8	47.05	19.49	10.59
S.D.	11.07	97.62	25.49	19.39	7.72

Tablo 16 : Obez grubunun OGTT'de İnsülojenik indeks değerleri

İnsülojenik indeks ( $\mu$ Ü/ml insülin/% mg kan şekeri)					
İsim	Açlık	1. saat	2. saat	3.saat	4.saat
N.K.	0.266	1.615	0.651	0.057	0.121
H.S.	0.135	2.620	0.095	0.137	0.120
İ.T.	0.422	1.833	0.628	0.367	0.242
N.P.	0.110	0.820	0.361	0.141	0.200
N.D.	0.276	0.972	0.885	0.116	0.211
S.Ç.	0.097	0.423	0.541	0.230	0.104
A.K.	0.068	0.388	0.352	0.284	0.280
K.G.	0.078	0.760	0.650	0.200	0.125
N.O.	0.175	1.600	0.888	0.823	0.071
T.Y.	0.133	0.607	0.170	0.037	0.257
$\bar{X}$	0.176	1.163	0.522	0.239	0.173
S.D.	0.112	0.725	0.273	0.228	0.073

**Tablo 17 : Glukoz toleransı bozulmuş grubun özellikleri**

İsim	Cinsi	Yaş	Boy (cm)	Ağırlık (kg)	Obezite İndeksi
N.B.	E	57	166	70	25.41
A.O.	E	41	177	84	26.81
B.U.	K	27	163	87	32.75
E.A.	E	45	169	68	23.81
B.Z.	K	62	156	72	29.58
Z.D.	K	45	160	76	29.69
F.D.	K	34	155	93	38.71
H.G	E	57	164	94	34.95
S.Y.	K	38	160	85	33.20
T.O.	E	51	179	101	31.52
H.E	K	50	172	101	34.14
$\bar{X}$		46.09	165.54	84.63	30.96
SD.		10.65	7.99	11.93	4.41

**Tablo 18 : Glukoz toleransı bozulmuş grubun OGTT'de kan şekeri değerleri**

Kan şekeri (% mg)					
İsim	Açlık	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat
N.B.	155	275	155	95	90
A.O.	95	205	120	90	100
B.Ü.	90	195	155	130	80
E.A.	110	250	155	130	125
B.Z.	108	198	136	118	64
Z.D.	110	225	160	150	115
F.D.	122	180	158	136	108
H.G.	122	190	128	82	100
S.Y.	82	222	172	140	110
T.O.	136	144	258	136	108
H.E.	90	264	218	180	120
$\bar{X}$	110.9	213.45	165	126.09	101.8
S.D.	21.89	38.76	40.14	28.59	17.99

**Tablo 19 : Glukoz toleransı bozulmuş grubun OGTT'de serum sitrat değerleri**

Serum sitrat (% mg)					
İsim	Açlık	1. saat	2. saat	3.saat	4.saat
N.B.	3.05	6.89	5.38	4.21	3.32
A.O.	2.87	4.03	3.32	2.90	2.69
B.Ü.	2.33	3.23	2.87	2.60	2.44
E.A.	3.59	4.75	4.39	4.12	3.50
B.Z.	2.51	3.23	2.87	2.42	2.15
Z.D.	4.32	5.32	4.59	4.15	4.25
F.D.	3.60	4.14	3.87	3.42	3.06
H.G.	2.34	2.87	2.42	2.15	2.24
S.Y.	2.87	3.68	3.14	2.60	2.42
T.O.	3.05	3.41	2.96	2.69	2.51
H.E.	3.61	4.42	4.06	3.70	3.61
$\bar{X}$	3.10	4.17	3.62	3.17	2.92
S.D.	0.62	1.15	0.90	0.76	0.67

**Tablo 20 : Glukoz toleransı bozulmuş grubun OGTT'de serum insülin değerleri**

Serum insülin ( $\mu$ Ü/ml)					
İsim	Açlık	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat
N.B.	21	198	72	31	25
A.O	15	130	62	41	20
B.Ü.	20	240	105	19	16
E.A	13	70	170	115	80
B.Z.	9.5	62	50	7.5	6.6
Z.D.	11	62	80	22	15
F.D.	19	72	100	56	42
H.G	8.5	85	9.7	7	11
S.Y.	17.5	130	115	82	32
T.O.	16.5	380	24	22	15
H.E	9.5	70	58	32	11
$\bar{X}$	14.59	136.27	80.51	39.50	24.87
S.D.	4.54	100.31	49.59	33.20	20.97

**Tablo 21 : Glukoz toleransı bozulmuş grubun OGTT'de İnsülojenik indeks değerleri**

İnsülojenik indeks ( $\mu$ Ü/ml insülin/% mg kan şekeri)					
İsim	Açlık	1. saat	2. saat	3.saat	4.saat
N.B.	0.135	0.720	0.464	0.326	0.277
A.O.	0.157	0.634	0.516	0.455	0.200
B.Ü.	0.222	1.230	0.677	0.146	0.200
E.A.	0.111	0.280	1.096	0.884	0.640
B.Z.	0.087	0.313	0.367	0.063	0.103
Z.D.	0.100	0.275	0.500	0.146	0.130
F.D.	0.155	0.400	0.632	0.411	0.388
H.G.	0.070	0.447	0.075	0.085	0.110
S.Y.	0.213	0.585	0.0901	0.585	0.290
T.O.	0.121	2.630	0.093	0.161	0.138
H.E.	0.105	0.265	0.266	0.177	0.091
$\bar{X}$	0.134	0.707	0.507	0.312	0.233
S.D.	0.048	0.698	0.313	0.253	0.163

Tablo 22 : Kontrol grubu ile obez grubun  $G_0, G_{max}, G_t, \Delta G$  değerleri

Gruplar	$G_0$	$G_{max}$	$G_t$	$\Delta G$
Kontrol grubu (n:10)	80.27 $\pm 11.09$	129.3 $\pm 31.09$	440.5 $\pm 26.43$	360.7 $\pm 28.89$
Obez grup (n: 10) p ( anlamlılık)	84.60 $\pm 14.40$ <0.5	145.30 $\pm 25.46$ <0.5	473.1 $\pm 29.77$ <0.3	389.5 $\pm 32.09$ <0.5

Tablo 23 : Kontrol grubu ile obez grubun  $S_0, S_{max}, S_t, \Delta S$  Değerleri

Gruplar	$S_0$	$S_{max}$	$S_t$	$\Delta S$
Kontrol grubu (n: 10)	1.90 $\pm 0.35$	2.80 $\pm 0.48$	11.19 $\pm 0.50$	9.29 $\pm 0.51$
Obez grup (n:10) p( anlamlılık)	1.96 $\pm 0.23$ <0.3	2.89 $\pm 0.48$ <0.5	11.39 $\pm 0.52$ <0.5	9.43 $\pm 0.54$ <0.5

Tablo 24 : Kontrol grubu ile obez grubun  $\dot{I}_0, \dot{I}_{max}, \dot{I}_t, \Delta \dot{I}$  değerleri

Gruplar	$\dot{I}_0$	$\dot{I}_{max}$	$\dot{I}_t$	$\Delta \dot{I}$
Kontrol grubu (n:10)	10.49 $\pm 8.87$	94.7 $\pm 70.89$	175.50 $\pm 46.56$	165.01 $\pm 50.33$
Obez grup (n:10)	$\pm 15.42$ $\pm 11.07$	160.8 $\pm 97.62$	253.35 $\pm 71.73$	237.93 $\pm 77.36$
p (anlamlılık)	<0.5	<0.3	<0.3	<0.3

Tablo 25 : Kontrol grubu ile obez grubun  $\ddot{I}_0, \ddot{I}_{max}, \ddot{I}_t, \Delta \ddot{I}$  Değerleri

Gruplar	$\ddot{I}_0$	$\ddot{I}_{max}$	$\ddot{I}_t$	$\Delta \ddot{I}$
Kontrol grubu (n: 10)	0.133 $\pm 0.112$	0.728 $\pm 0.438$	1.747 $\pm 0.354$	1.614 $\pm 0.373$
Obez grup (n: 10)	0.176 $\pm 0.112$	1.175 $\pm 0.713$	2.270 $\pm 0.512$	2.098 $\pm 0.549$
p (anlamlılık)	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3

**Tablo 26 : Kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun  $G_0$ ,  $G_{max}$ ,  $G_t$ ,  $\Delta G$  değerleri**

Gruplar	$G_0$	$G_{max}$	$G_t$	$\Delta G$
Kontrol Grup (n:10)	80.27 $\pm 11.09$	129.3 $\pm 31.09$	440.5 $\pm 26.43$	360.7 $\pm 28.89$
Glukoz toleransı bozulmuş grup (n:11)	110.90 $\pm 21.89$	213.45 $\pm 38.76$	717.27 $\pm 50.52$	600 $\pm 53.65$
p (anlamlılık)	$0.01 > p > 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$

**Tablo 27 : Kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun  $S_0$ ,  $S_{max}$ ,  $S_t$ ,  $\Delta S$  Değerleri**

Gruplar	$S_0$	$S_{max}$	$S_t$	$\Delta S$
Kontrol Grup (n:10)	1.9 $\pm 0.35$	2.8 $\pm 0.48$	11.19 $\pm 0.50$	9.29 $\pm 0.51$
Glukoz toleransı bozulmuş grup (n: 11)	3.10 $\pm 0.62$	4.17 $\pm 1.15$	17.1 $\pm 0.92$	13.9 $\pm 0.97$
p (anlamlılık)	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$	$< 0.001$



Tablo 28 : Kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun  $\dot{I}_0, \dot{I}_{max}, \dot{I}_t, \Delta \dot{I}$  değerleri

Gruplar	$\dot{I}_0$	$\dot{I}_{max}$	$\dot{I}_t$	$\Delta \dot{I}$
Kontrol Grup (n:10)	10.49 $\pm 8.87$	94.70 $\pm 70.89$	175.50 $\pm 46.56$	165.01 $\pm 50.33$
Glukoz t�leransı bozulmuş grup (n:11)	14.59 $\pm 4.54$	151.81 $\pm 94.79$	295.75 $\pm 67.46$	281.16 $\pm 71.16$
p (anlamlılık)	<0.1	<0.1	<0.001	<0.001

Tablo 29 : Kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun  $\ddot{I}_0, \ddot{I}_{max}, \ddot{I}_t, \Delta \ddot{I}$  Değerleri




Gruplar	$\ddot{I}_0$	$\ddot{I}_{max}$	$\ddot{I}_t$	$\Delta \ddot{I}$
Kontrol grup (n:10)	0.133 $\pm 0.112$	0.728 $\pm 0.438$	1.747 $\pm 0.354$	1.614 $\pm 0.373$
Glukoz t�leransı Bozulmuş grup (n:11)	0.134 $\pm 0.048$	0.654 $\pm 0.718$	1.843 $\pm 0.405$	1.708 $\pm 0.433$
p (anlamlılık)	<0.5	<0.5	<0.3	<0.3

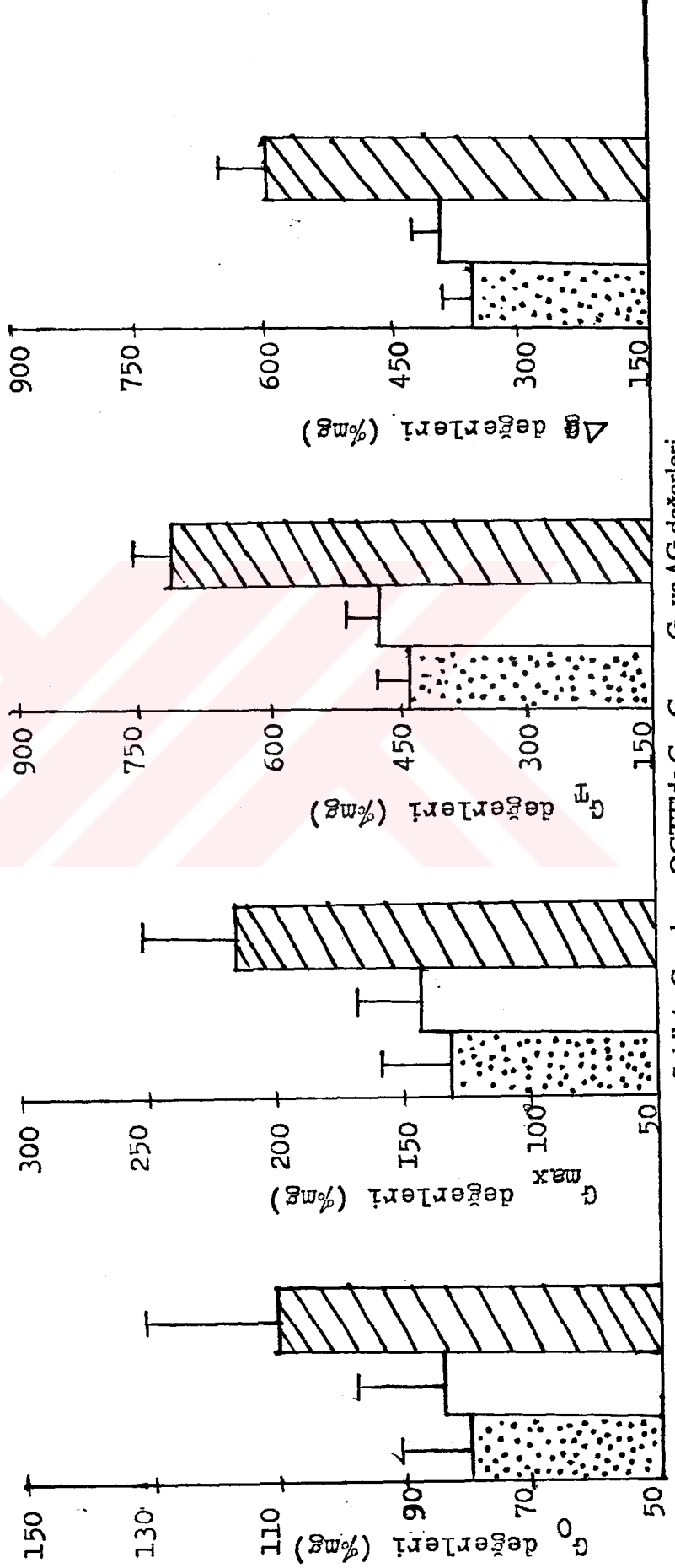
**Tablo 30 : Açlık serum sitrat değerleri**  
**Serum Sitrat (% mg)**

İsim	Açlık	1 saat sonraki Açlık
AG	1.97	1.95
SE	2.04	1.98
HG	2.24	2.20
TA	2.40	2.34
X	2.16	2.11
SD	0.19	0.18




**Tablo 31 : Açlık ve beslenme sonrası serum sitrat değerleri**  
**Serum Sitrat (% mg)**

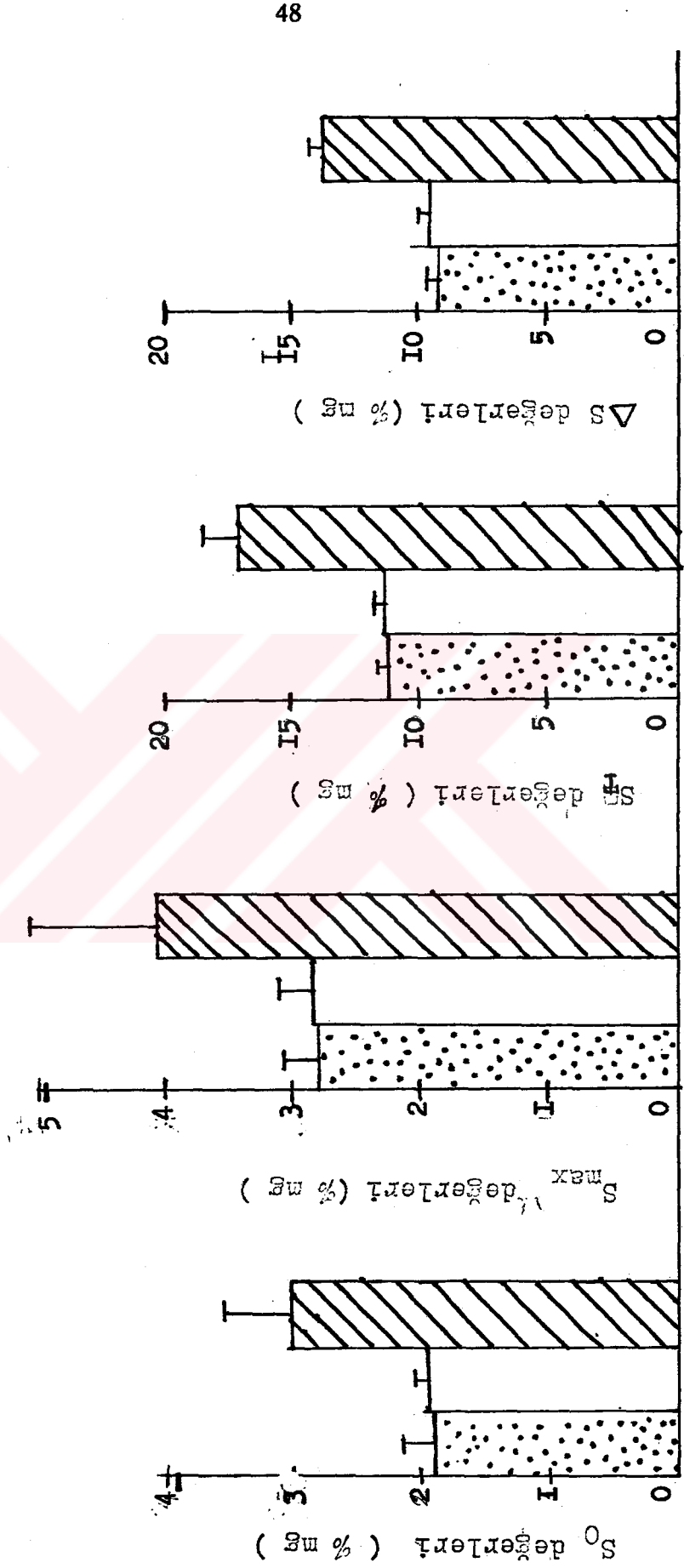
İsim	Açlık	Tokluk
AG	1.97	2.25
SE	2.04	2.59
HG	2.24	2.69
TA	2.40	3.05
ÖS	2.42	2.86
X	2.21	2.68
SD	0.20	0.30

-  Kontrol grubu (n:10)  
 Obez grup (n:10)  
 Glukoz toleransı bozulmuş grup (n:11)

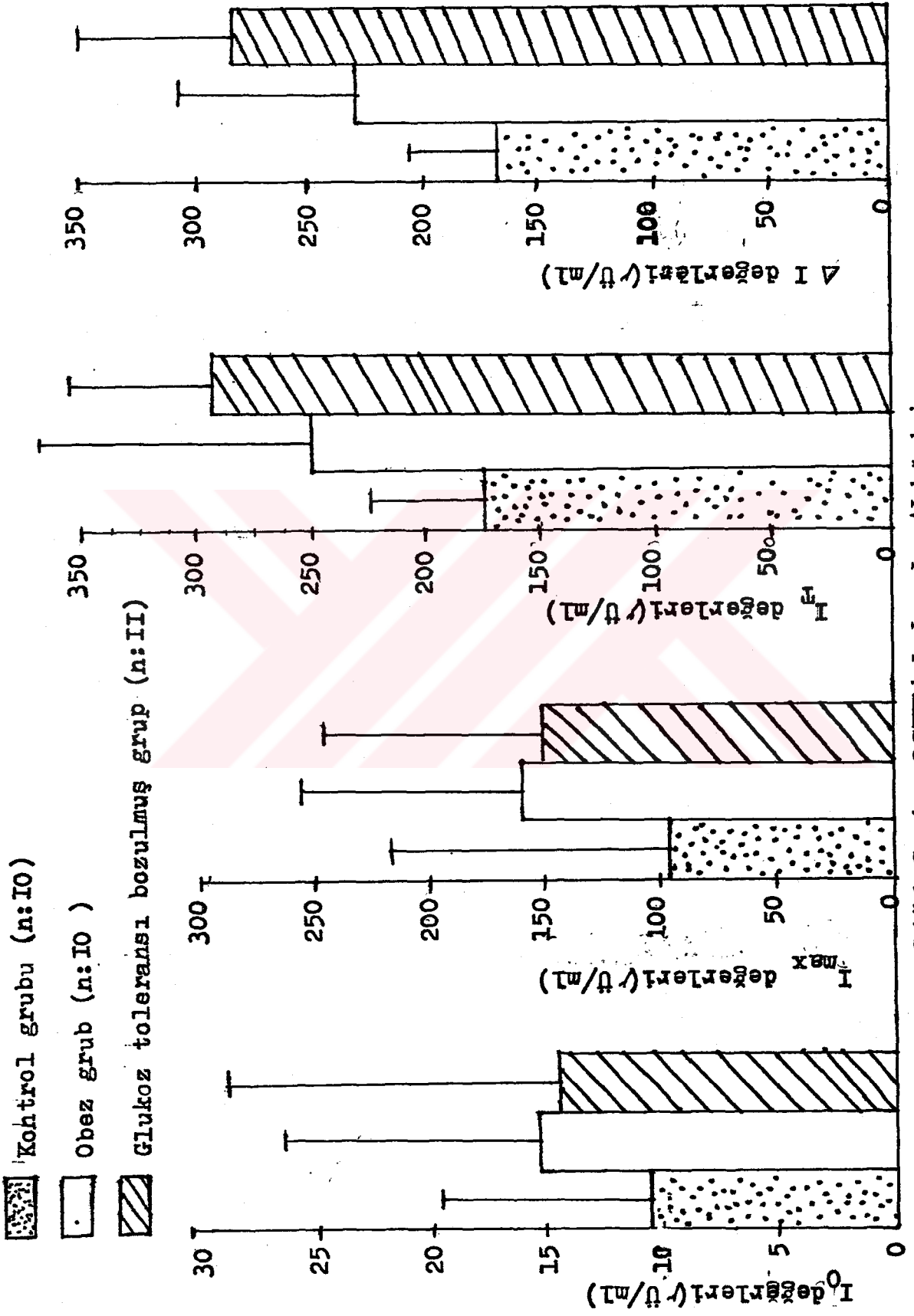





Şekil 4 : Grupların OGTT'de  $G_0$ ,  $G_{max}$ ,  $G_t$  ve  $\Delta G$  değerleri

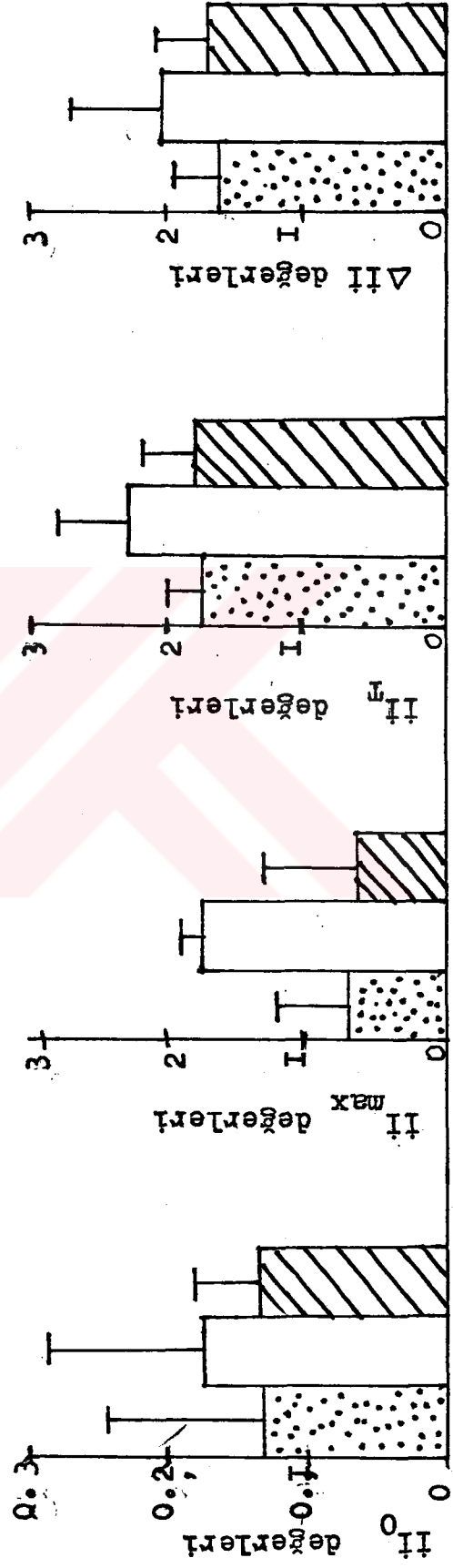
-  Kontrol grubu (n:10)
-  Obez grup (n:10)
-  Glukoz toleransı bozulmuş grup (n:11)



Şekil 5 : Grupların OGTT'de  $S_0$ ,  $S_{max}$ ,  $S_1$  ve  $\Delta S$  değerleri

Şekil 6 : Grupların OGTT'de  $I_0$ ,  $I_{max}$ ,  $I_1$  ve  $I_2$  değerleri

-  Kontrol grubu (n:10)
-  Obez grup (n:10)
-  Glukoz toleransı bozulmuş grup (n:11)



Şekil 7 : Grupların OGTT'de  $I_0$ ,  $I_{max}$ ,  $I_{II}$  ve  $\Delta II$  değerleri

## 5. TARTIŞMA

İnsan serum sitrat konsantrasyonu çeşitli hormonların kontrolünde olup, nispeten dar sınırlar içinde kalır. Bu ayarlama mekanizması olmasaydı sitratla kalsiyum kompleks yaptığından serum kalsiyum düzeyi çok değişebilirdi(51). İnsulin ve glukoz verilmesinin serum sitrat düzeyini azalttığı(31,32), epinefrin ve kortikotropinin (ACTH) intravenöz verilmesinin anlamlı olarak serum sitrat düzeyini arttırdığı(32,39,51), serum sitrat düzeyinin kalsiyum düzeyindeki değişikliklerle paralel olduğu(51) bildirilmiştir.

OGTT sırasında serum sitrat düzeyini takip edip, kan glukoz düzeyi ve insulin düzeyi ile ilişkisini görmek isteyen az sayıdaki çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir(8,31,51).

Natelson S. ve arkadaşlarının(31) pentabromoaseton yöntemi kullanılarak yaptıkları çalışmada oral glukoz yüklenmesinden sonra kontrol grubunun serum sitrat düzeyini açlık düzeyine göre % 25-35 düşük saptamışlar ve sadece nörolojik bozukluk gösteren bazı diyabetiklerde oral glukoz yüklenmesinden sonra anormal bir yükselme olduğunu bildirmişlerdir.

Serumda sitrat düzeyini belirlemek için sitrat liyaz kullanarak fluorimetrik yöntem bildiren Tomisek A.J. ve arkadaşları(51) bu yöntemin çalışmasını izlemek amacıyla OGTT testi sırasında serum sitrat belirtimi yanısıra insulin düzeylerininide saptamışlar, sitrat düzeyinin ilk yarım veya bir saate kadar arttığını ve hemen sonra azalarak, üçüncü saatin sonunda bile başlangıç değerinin altında kaldığını, insulin ile glukoz düzeylerinin normal düzeye dönmesinden çok sonra normale döndüğünü bildirmişlerdir. Natelson S. ve arkadaşları ise(31) OGTT sırasında azalan sitrat düzeyinin 5 saat sonra başlangıç değerine döndüğünü ileri sürmüşlerdir. Bu bulguya dayanarak Tomisek A.J. ve arkadaşları(51) ilk yarım veya bir saatteki sitrat düzeyindeki artışın stresten dolayı epinefrin salgılanmasına bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Darral D.C. ve arkadaşları glukoz verildikten sonra plazma sitrat düzeyinde düşüş bulmalarını kendilerinden önce öne sürülen bir bulguya dayanarak krebs siklusunda piruvat ile sitrat arasındaki basamakta blok olabileceği şeklinde açıklamışlardır(8).

Literatürdeki bu çelişkiler kullanılan yöntemin spesifik olmayışı ve uzun süreli titiz bir çalışma istemelerinden olabilir(19,36,46).

Tomisek A.J. ve arkadaşları(51) önerdikleri fluorometik sitrat liyaz yöntemi ile pentabromoseton yöntemi mukayese ederek, ortalama sitrat değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığı bildirmişlerdir. Bu bulgu bize Kabayaski K. ve arkadaşlarının fluorometik yöntemin glukoz ile interfere olduğunu bildirmesine dayanarak(16), pentobromoaseton yönteminde glukoz ile interfere olduğunu düşündürür. Dolayısıyla bu yöntemlerde gerek glukoz verildikten sonra gerek diabetiklerdeki neticeler yanıltıcı olabilir.

Güvenilir ve kısa sürede uygulanan enzimatik yöntem(36,52,53) kullanarak serum sitrat düzeyinin OGTT sırasında saptandığı ve insulin değerlerinin takip edildiği çalışmamızda; glukoz toleransı normal, obezite indeksi normal kontrol grubunda, glukoz toleransı bozulmuş grupta serum



sitrat düzeyi her bir şahısta daima ilk bir saatte en yüksek değerine ulaştığını ve daha sonra azaldığını, 1. ve 2. saatlerin sitrat değerleri açlık değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamı yüksek bulunduğunu saptadık ( $p < 0.001$ ). Her üç grupta 3. ve 4. saatte ortalama sitrat düzeyi açlık düzeyine düşmekte olup açlık değerine göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık.

Gerek glukoz verildikten sonra 1. saat kan sitrat değerinde gerekse de karbohidrattan zengin kahvaltıdan 1 saat sonraki serum sitrat düzeyinin, her bir şahısta, açlık sitrat düzeyine göre daha yüksek olması (tablo 31)(37), yüksek ATP düzeyinin isositrat dehidrogenazı inhibe etmesiyle biriken sitratın mitokondriden sitoplazmaya geçip artan asetil KoA'nın sitrat liyazı inhibe edebileceğini düşündürür. Ayrıca biz sağlıklı laboratuvar arkadaşlarımızdan aç karnına enjeksiyonla kan alıp, bir saat sonra tekrar alın sitrat düzeyini belirlediğimizde her deneyde birinci saat sonu serum sitrat düzeylerinin ilk sitrat düzeylerine göre artmadığını saptadığımızdan (tablo 30) Tomisek A.J. ve arkadaşlarının ileri sürdüğü sitrat düzeyindeki artışın stresten dolayı epinefrin salgılanmasına bağlı olduğu görüşüne katılmıyoruz.

Kolorimetrik sitrat liyaz yöntemi kullanarak günlük sitrat ritmini inceleyen Nielsen T.T. ve arkadaşları(37), beslenme sonrasında serum sitrat düzeylerinin arttığını, insulin konsantrasyonları ile glukoz konsantrasyonları arasında lineer ilişki saptandığını ancak insulin ile sitrat arasında ilişki saptanmadığını bildirmişlerdir. Biz de çalışmamızda açlık ile 4 saatlik insulin ve sitrat düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon belirleyemedik, ancak glukoz ile sitrat arasında orta dereceli bir korelasyon saptadık ( $r: 0.70, p < 0.001$ ).

Her ne kadar sitratın yağ metabolizmasında rolü olsa da(7,41,44,46,49) çalışmamızda obez grupta OGTT sırasında kan şekeri ve serum sitrat değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark olmadığını izledik (tablo 23). Bu bulgu Nielsen T.T.'nin çalışması-

nı(35) desteklemektedir. Nielsen T.T. İ<sub>v</sub> GTT sırasında plasma sitrat ve insulin düzeylerini obez ve obez olmayan normal şahıslarda karşılaştırmış ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulmamıştır.

Glukoz toleransı bozulmuş grupta oral glukoz yüklenmesinden sonra daha yüksek İ<sub>t</sub> düzeyi belirlenmesine rağmen, İİ<sub>t</sub>'in daha yüksek olmadığı görülmüştür. Bu da literatüre uygunluk gösterir(9).

31 kişinin OGTT sırasında tüm glukoz ile sitrat değerleri arasında orta dereceli bir korelasyon olduğundan, kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun G<sub>o</sub>, G<sub>max</sub>, G<sub>t</sub>, ΔG değerlerinin istatistiksel karşılaştırılmasında olduğu gibi S<sub>o</sub>, S<sub>max</sub>, S<sub>t</sub>, ΔS değerlerinde de her bir değer için anlamlı fark saptandığından (p<0.001) ve sitratın standart sapmalarının glukozun standart sapmalarına göre daha küçük olduğundan, ayrıca kontrol grubu ile obez grup arasında S<sub>o</sub>, S<sub>max</sub>, S<sub>t</sub>, ΔS değerleri açısından fark bulunmamasından OGTT'nin glukozla takibi gibi sitratla takibide ilgi çekici yorumlara yol açabilir. Bu çalışma, OGTT'si bozuk grubun açlık serum sitrat düzeyleri kontrol grubunun düzeylerine göre daha anlamlı yüksek olduğundan glukoz yüklemesi yanında açlık serum sitrat değerleri ile de glukoz tolerans durumu hakkında karar verilebileceğini düşündürmektedir.

## 6. ÖZET

Serum sitrat düzeyi kolorimetrik olarak sitrat liyaz kullanılarak glukoz toleransı normal ve obezite indeksi normal kontrol grubunda glukoz toleransı normal ve obezite indeksi yüksek obez grupta ve glukoz toleransı bozulmuş grupta serum sitrat düzeyi ile kan şekeri ve insülin düzeyleri arasındaki ilişkiyi görmek amacıyla ölçüldü.

Serum sitrat düzeyleri hem glukoz yüklenmesinden sonra hem de karbohidrattan zengin beslenmeden sonra açlık düzeyleri ile karşılaştırıldığında yüksek bulundu. Bu da artmış ATP düzeyinin isositrat dehidrogenazı inhibe etmesi ve artmış asetil KoA'nın sitrat liyazı inhibe etmesiyle açıklanabilir.

OGTT'de 31 kişinin tüm kan şekeri ve sitrat düzeyleri arasında orta dereceli bir korelasyon olduğundan ve kontrol grubu ile glukoz toleransı bozulmuş grubun  $G_o$ ,  $G_{max}$ ,  $G_t$  ve  $\Delta G$  değerleri ve  $S_o$ ,  $S_{max}$ ,  $S_t$ ,  $\Delta S$  değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmasında anlamlı farklılık izlendiğinden ayrıca sitrat değerlerinin standart sapmasının glukoz değerlerinden daha düşük olması nedeniyle OGTT'nin sitratla takibi ilgi çekici yorumlara yol açabilir.

Bu çalışma açlık sitrat düzeylerinin glukoz toleransı bozulmuş grupta, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde yüksek olduğundan glukoz yüklemesi yanında açlık serum sitrat değerleri ile de glukoz tolerans durumu hakkında karar verilebileceğini düşündürmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- Alejandro R., Skyler J.S.: Diabetes Mellitus and Obesity. Chap. 45, Williams and Wilkins 400-406, 1982.
- 2- Atkinson D.E.: Citrate and the citrate cycle in the regulation of energy metabolism. In Metabolic Roles of Citrate. T.W. Goodwin Academic Press. Inc. 27, 1968.
- 3- Borland W.W., Fergusson J.C.: A fast automated method for measuring serum and urine citrate. Ann. Clin. Biochem. 26:286-288, 1989.
- 4- Bremer J.L., Davis J.: Citrate as a regulator of acetyl-CoA metabolism in liver mitochondria. Biochem. Biophys. Acta. 370 (2):564-572, 1974.
- 5- Brodwall E.K., Laake H.: The renal metabolism of citric acid. Acta Med. Scan. Vol: 174, 4: 501-505, 1963.
- 6- Caup J.B., Former L: A rapid spectrophotometric method the determination of citric acid in blood. Clin. Chem 13:501-505, 1967.

- 7- Cheema S.D., Mitchell L.H.: The role of the mitochondrial citrate transporter in the regulation of fatty acid synthesis: Effect of fasting and Diabetes. *Can. J. Biochem.* 51:1542-1543, 1973.
- 8- Darrall D.C., Dixit P.K., Lazarow A.: Citrate metabolism in diabetes. I-Plasma citrate in alloxan diabetic rats and clinical diabetes. *Metabolism* 15:458-464, 1966.
- 9- Deniz S.: Glukoz tolerans durumunun araştırılmasında erken insulin salgı fazının değeri, Uzmanlık Tezi. İstanbul, 1990.
- 10- Goodwin J.W.: Citrate and the conversion of corbonhydrate into fat in metabolic roles of citrate. New York, Academic Press, Inc. 11, 1968.
- 11- Grass L., Locke S., Rapaport A., Oreopoulos D.: Colorimetric and enzymatic methods compared for assay of citrate in urine. *Clin. Chem.* 33:1074, 1987.
- 12- Hatemi H.: Diabetes Mellitus. İstanbul, 84-90, 1988.
- 13- Henry, J.B.: Clinical Chemistry. In clinical diagnosis by laboratory methods, 15 ed. London, Toronto, 607, 1974.
- 14- Henry J.R., Cannon D.C., Winkelman J.W.: Clinical chemistry principles and technics, 2. ed. London, 1348, 1974.
- 15- Holt C., Cowley D.M., Chalmers A.H.: Rapid estimation of urinary citrate by use of a centrifugal analyzer. *Clin. Chem* 31:779-780, 1985.
- 16- Kabayashi K., Hitoko K., Keiko M.: Glucose interferes in fluorometry of serum citrate in Diabetic patient with hyperglycemia. *Clin. Chem* 33: 1940, 1987.

- 17- Keskin H.: Besin kimyası. Fatih yayınevi matbaası, cilt 1:548, 1981.
- 18- Kırk O.: Encyclopedia of chemical technology, second ed., London. Volume, 5:524-540, 1964.
- 19- Köksal O.: Beslenme düzeni ve uygulamaları ile metabolizma hastalıkları arasında etkileşimler. Diabet yaylığı: 3, İstanbul: 152, 1986.
- 20- Little Randi R., England J.D., Wiedmeyer H.M., Pettit D.J., Knowler W.C., Goldstein D.E.: Relationship of glycosylated hemoglobin to oral glucose tolerance. Diabetes 37:60-64, 1988.
- 21- Lynen F.: Modulation of enzyme activities by metabolites Churchill London: 28-32, 1970.
- 22- Marble A., Krall L.D., Bradley R.F.: Joslin's Diabetes Mellitus, 12. Edition, Philadelphia: 334-342, 1985.
- 23- Mc Whinney B.C., Cowley D.M., Chalmers A.H.: An outomated method for measuring plasma citrate without protein precipitation, Clin.Chem. 31:1578, 1985.
- 24- Millan A., Conte A., Garcia R.A., Grases F.: Determination of citrate in urine by simple direct photometry. Clin.Chem. 33:1259-1260, 1987.
- 25- Mollering H., Gruber W.: Determination of citrate with citrate lyase. Anal. Biochem. 17; 369-376. 1966.
- 26- Morgan C.R., Lazarow A.: Immunoassay of insulin: Two antibody system: Plasma insulin levels of normal, subdiabetic and diabetic rats. Diabetes 12: 115-126, 1963.

- 27- Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W.: Harper's biochemistry. 21. edition., Appleton and Lange. Chap 17:151-156, 1988.
- 28- Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell W.H.: Harper's Biochemistry. 21. edition. Appleton and Lange. Chap: 22 191-194, 1988.
- 29- Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.H.: Harper's Biochemistry. 21. edition. Appleton and Lange. Chap 51:548-554, 1988.
- 30- Natelson S., Pincus J.B., Lugouay J.K.: Microestimation of citric acid: a new colorimetric reaction for pentabromo acetone J. Biol. Chem. 170:597, 1947.
- 31- Natelson S., Pincus J.B.: The response of citric acid levels to oral administration of glucose. Chem. Abst. 44:10807, 1950.
- 32- Natelson S., Pincus J.B., Rannazzisi G.: Dynamic control of calcium, phosphate, citrate, and glucose levels in blood serum. Clin. Chem. 9:31-60, 1963.
- 33- National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other, categories of glucose intolerance. Diabetes, 28:1039-1057, 1979.
- 34- Nicar M.J., Skurla C., Sakhaee K., Charles Y.C.: Low urinary citrate excretion in nephrolithiasis. Urol 21:8-14, 1983.
- 35- Nielsen T.T.: Plasma citrate, IvGTT (k-values), plasma insulin and free fatty acids in obese and normal persons. Diabetologia 11:366, 1975.

- 36- Nielsen T.T.: A method for enzymatic determination of citrate in serum and urine. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 36, 513-517, 1976.
- 37- Nielsen T.T., Sorensen N.S.: Daily plasma citrate rhythms in man during feeding and fasting. *Scand J. clin. Lab. Investion* 41:281-287, 1981.
- 38- Oqawa Y., Morozumi M., Tanaka T., Yamauchi K.: Determination of urinary citrate by ion chromatography. *The Journal of Urol.* 135:178-180, 1986.
- 39- Pincus J., Natelson S., Lugovay J.K.: Response of citric acid levels of normal adults and children to intramuscular injection of epinephrine. *J. Clin. Invest.* 22:741-745, 1948.
- 40- Pudek M.R., Whitta L.: Citrate in urine estimated by a citrate lyase adapted to the cobas-bio. *Clin. Chem.* 3: 1948-1949, 1987.
- 41- Schloz R.W.: Lipid metabolism by rat lung in vitro, utilization of citrate by normal and starved rats. *Biochem. J.* 126:1219-1224, 1972.
- 42- Sing R.P., Nancollas G.H.: Determination of urinary citrate by high performance ion chromatography. *Kidney Int.* 28:985-987, 1985.
- 43- Smith E.L., Hill R.L., Lehman I.R., Lefkowitz R.J., Handler P., White A.: *Principles of Biochemistry. General Aspects. Seventh ed., Singapore, 323-325, 1985.*
- 44- Smith E.L., Hill R.L., Lehman I.R., Lefkowitz R.J., Handler P., White A.: *Principles of Biochemistry. Mammalian Biochemistry. Seventh ed., Singapore: 476-480, 1985.*



- 45- Srere P.A.: Studies on purified citrate-enzymes: Metabolic interpretations. In metabolic roles of citrate, T.W.Goodwin Ed. New York. Academic Press. Inc: 11, 1968.
- 46- Start C., Newsholme E.A.: The effects of starvation and Alloxan-Diabetes on the contents of citrate and other metabolic intermediates in rat liver. *Biochemistry J.* 107:411-415, 1968.
- 47- Stryer L.: *Biochemistry, Fatty acid metabolism.* 3 rd ed. New York:1Freeman Co., 1988, 388-389, 1988.
- 48- Stryer L.: *Biochemistry: Citric acid cycle.* 3 rd. New York: Freeman, Co.1988; 443.
- 49- Stryer L.: *Biochemistry: Fatty acid metabolism.* 3 rd. New York: Freeman Co. 1988; 488.
- 50- Todorow J.T., Dikow A.L.: Changes of blood citric acid level during glucose loading in normal subjects, diabetics and hyperthyroid patients. *Clin. Chim. Acta* 5:762-765, 1960.
- 51- Tomisek A.J., Winkler E.M., Natelson S.: Fluorometry of citrate in serum with use of citrate (pro.35) lyase. *Clin Chem* 21:730-734, 1975.
- 52- Warty V.S., Busch R.R., Virgi M.A.: A kit for citrate in foodstuffs adapted for assay of serum and urine. *Clin.Chem.* 30:1231-1233, 1984.
- 53- Welshman S.G., Mc Cambridge H.: The estimaton of citrate in serum and urine using a citrate lyase technique. *Clin. Chim. Acta* 46:243-246, 1973.

- 54- Williams R.H. Textbook of endocrinology. Third edition. Philadelphia and london W.B. Saunders Co.:749-750, 1962.
- 55- Velican S.: Biyoistatistik. İstanbul, Filiz Kitapevi: 164-192, 1984
- 56- Yenson M.: Klinik Biokimya, 6. Baskı, Sermet Matbaası: 369-372, 1986.
- 57- Zender R.: Analyse du citrate plasmatique par voie enzymatique sans deproteinisation. Clin. Chim. Acta 24: 335-340, 1968.

