

İNSAN TÜKÜRÜĞÜNDEKİ ARGİNAZ ENZİMİNİN AKTİVİTESİ İLE PROTEİN VE ÜRE DÜZEYLERİNİN İLİŞKİSİ

Hidayet ŞEKER^a, Şendoğan GÜLEN^b

ÖZET

Bu çalışmada insan tükürüğündeki arginaz enziminin aktivitesi ile protein ve ure düzeyleri arasındaki ilişkinin varlığı araştırılmıştır. Çalışma Edirne merkez ilçesinde sosyoekonomik düzeyleri, yaşam koşulları farklı olan iki ilkokulun üçüncü sınıf öğrencilerinden alınan tükürük örneklerinde gerçekleştirilmiştir.

İnsan eritrosit arginaz enziminin aktivitesi cinsiyete bağlı olarak değişim gösterirken tükürük arginaz aktivitesi cinsiyet farkından etkilenmemektedir. Gelir düzeyi yüksek olan ailelerin çocukların tükürüklerinde arginaz aktiviteleri, protein ve ure düzeyleri gelir düşük ailelerin çocuklarına oranla daha yüksek bulunmaktadır. Her iki gruptaki çocuklarda tükürükde bulunan arginaz aktivitesi, protein ve ure düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmiştir. Roman ve Roman olmayan kesime ait öğrenciler arasında anılan parametreler bir farklılık göstermemiştir. Bu parametrelerin daha ziyade beslenme koşulları ile etkileneceği ortaya çıkmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Arginaz, Protein, Ure, Tükürük

SUMMARY

THE CORRELATION BETWEEN ARGINASE ACTIVITY, PROTEIN AND UREA LEVELS IN HUMAN SALIVA

In this study, the correlation between arginase activity, protein and urea levels in human saliva was investigated. This study was accomplished in the saliva obtained from the third grade students, from two schools, who were socio-economically, living conditionally and sexually different.

Although human erythrocytes show significantly different arginase activities depending on sex, females always having higher enzyme activity, whereas salivary arginase did not show any change in both sexes. Protein and urea contents, and the magnitudes of arginase activities always showed higher levels among the children of the higher income families than the children of the lower income group. The differences between salivary arginase activity, protein and urea levels in both group children were statistically significant. There is no differences between Gypsy and other children in this parameters. This parameters were also affected by nutritional conditions.

Key Words: Arginase, Protein, Urea, Saliva

^a Uzm.Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalı, EDİRNE.

^b Prof.Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalı, EDİRNE.

GİRİŞ

Arginaz (L- Arginin üreohidrolaz E.C.3.5.3.1) üreotelik canlılarda Krebs-Henseleit üre döngüsünün en son basamağında argininin üre ve ornitine dönüşümünü katalize eden bir enzimdir (1,2). Schimke tarafından yapılan çalışmalarda diyette protein içeriğinin yüksek oluşunun arginaz enziminin kinetik özelliklerini değiştirmediği; buna karşılık enzim proteininin miktarını arturduğu gösterilmiştir (3). Malnutrisyonlu çocukların tükürük ve serum arginaz aktiviteleri, protein ve ferritin düzeyleri malnutrisyon derecesi ile ilişkili olarak azalmaktadır (4). Üre döngüsü enzimleri fazla karbonhidrat alınımıyla azalmakta, karbonhidrat alınımının azalması sonucu ise üre döngüsü enzimleri artmaktadır (3).

Tükürük arginazı eritrosit arginazının aksine cinsiyet farkından etkilenmemektedir (5).

Bu çalışma yaşam koşulları, ekonomik düzeyleri farklı olan iki ilkokulda bulunan üçüncü sınıf öğrencilerinin tükürüklerindeki arginaz aktiviteleri ile protein ve üre düzeylerinin ilişkisini araştırmak ve bunlara cinsiyet, yaşam koşulları, ekonomik faktörlerin etkisini değerlendirmek amacıyla düzenlenmiştir.

GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Araştırmamızda kullanılan tükürük örnekleri sabah saat 9⁰⁰da 10-20 dakika içinde alınmış ve işleme kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır (4).

Alınan tükürük örnekleri 60-90 saniye vorteks karıştırıcı ile karıştırılmış; 9.000 rpm'de 15 dakika süre ile +4 °C de santrifüje edilmiştir.

Endogen ve biyokimyasal reaksiyon sonucu oluşan üre düzeyleri Tiyosemikarbazid N.asetil monoksim üre (TDMU) yöntemi ile saptanmış (6), ve ünite cinsinden tanımlanmıştır.

ÜNİTE: 1 mikromol üre/mg. protein/saat olarak alınmıştır.

Protein miktarları ise değiştirilmiş Lowry yöntemi ile saptanmıştır (7).

BULGULAR

Edirne merkez ilçesinde genellikle düşük gelirli ailelerin bulunduğu Küçük Pazar Mahallesi'ndeki Gazi İlkokulu'na devam eden öğrencilerden elde edilen tükürük örneklerinde arginaz enzim aktiviteleri, üre ve protein düzeyleri gelir düzeyi daha yüksek olan ailelerin oturduğu Kocasinan Mahallesi'ndeki Yüksel Yeşil İlkokulu'na devam eden üçüncü sınıf öğrencilerinden alınan tükürük örnekleri ile karşılaştırıldığında; Gazi İlkokulu'na devam eden öğrencilerin gerek tükürük arginaz enzim aktivitelerinin gerekse üre ve protein düzeylerinin diğer okula devam eden öğrencilerden oldukça farklı olduğu tespit edilmiştir (Tablo I).

Tablo I: Gazi ve Yüksek Yeşil İlkokulu kız ve erkek öğrencilerinin tükürük arginaz aktiviteleri, üre ve protein düzeylerinin karşılaştırılması.

	Tükürük arginaz aktivitesi (Ünite)	Tükürük protein düzeyi (mg/ml.)	Tükürük üre düzeyi (mg/dl.)	P değeri
GAZİ İLKOKULU	Kız (n:20)	5.80±1.46	1.04±0.22	6.26±1.08
	Erkek (n:20)	6.04±1.11	1.03±0.17	6.22±1.29
	Toplam (n:40)	5.93±1.33	1.04±0.20	6.24±1.18
Y. YEŞİL İLKOKULU	Kız (n:20)	8.42±1.73	1.26±0.27	7.27±2.20
	Erkek (n:20)	8.34±1.48	1.30±0.21	7.85±1.43
	Toplam (n:40)	8.39±1.59	1.28±0.25	7.56±1.86
P değeri	P<0.001	P<0.001	P<0.001	

Her iki ilkokula devam eden kız ile erkek öğrenciler arasında tükürük arginaz aktiviteleri, protein ve üre düzeyleri açısından bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo I).

Tükürük örnekleri alınan öğrencilerin aileleri gelir düzeylerine göre üç gruba ayrıldığında; tükürük arginaz aktiviteleri, protein ve üre düzeyleri ile ailelerin gelir düzeyleri arasında paralel bir dalgalanma olduğu gözlenmiştir. Özellikle gelir düzeyi ile arginaz aktivitesi arasındaki ilişki oldukça anlamlıdır ($p<0.001$). Oysa gelir düzeyi ile protein ve üre düzeyleri arasındaki anlamlılık daha azdır ($p<0.005$). Hatta düşük gelirli ailelerin çocukları ile orta gelirli ailelerin çocukların tükürük örneklerindeki üre düzeyleri arasında farklılık olmasına rağmen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir. Oysa düşük gelirli ailelerin çocukları ile yüksek gelirli ailelerin çocukların tükürüklerindeki protein ve üre düzeyleri arasında istatistiksel olarak belirgin bir farklılık bulunmaktadır (Tablo II).

Tükürük protein düzeyleri ile arginaz aktiviteleri arasında oldukça anlamlı bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir. Protein düzeyleri arttıkça buna paralel olarak arginaz aktiviteleri de artmaktadır ($r: 0.4710, p< 0.001$).

Tükürük protein düzeyleri ile üre düzeyleri arasında ise daha zayıf bir ilişki bulunmaktadır ($r: 0.1204, p<0.005$).

Yine, tükürük arginaz aktiviteleri ile üre düzeyleri arasında da paralel bir ilişki bulunduğu; yalnız, bu ilişkinin istatistiksel olarak zayıf olduğu tespit edilmiştir ($r: 0.1023, p<0.005$).

Gazi İlkokulu'na devam eden Roman diye adlandırılan kesime ait öğrencilerle Roman olmayan öğrencilerin tükürük arginaz aktiviteleri, protein ve üre düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo III).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışma sonuçlarında; ailelerin gelir düzeyleri arttıkça çocukların tükürüklerindeki protein düzeyi de buna paralel olarak artmaktadır, aynı şekilde tükürük arginaz enzim aktiviteleri ve üre düzeyleri de birbiriyle ilişkili olarak yükselmektedir. Ancak artan

Tablo II. Tükürük arginaz aktiviteleri, protein ve üre düzeyleri ile gelir düzeyleri arasındaki ilişkinin karşılaştırılması.

	Tükürük arginaz aktivitesi (Ünite)	Tükürük protein düzeyi (mg/ml)	Tükürük üre düzeyi (mg/dl)
Düşük Gelirliler (n:16)	5.31±1.32	0.95±0.14	5.88±0.97
Orta Gelirliler (n:32)	6.93±1.48	1.12±0.21	6.73±1.50
Yüksek Gelirliler (n:32)	8.29±1.74	1.31±0.24	7.57±1.83
P Değeri	P<0.001	P<0.05	P<0.05

gelir düzeyi ile üre miktarının da artmasına karşılık özellikle düşük ve orta gelirliler arasında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmemiştir. Bununla birlikte gelir düzeyi düşük ve yüksek olan gruplar arasında üre düzeyleri anlamlı olarak farklı bulunmuştur. Bu bulgulara göre protein içeriği bakımından zengin beslenmenin arginaz aktivitesi ve üre düzeylerini artırılmış olabileceği söyleyenbilir. Malnutrisyonlu çocukların tükürük örneklerinde ve serumlarında protein düzeylerinin malnutrisyon derecesi ile ilişkili olarak anlamlı bir şekilde azalmakta ve buna paralel olarak tükürük ve serum arginaz aktiviteleri de azalmaktadır (4). Tükürük toplamak basit, nontravmatik olduğundan alan taraması için uygun olabileceği; yetersiz beslenmelerin bu sayede erken safhada da teşhis edilebileceği bildirilmiştir (4).

Schimke sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmalarda protein alımının enzim kinetik özelliklerini değiştirmedigini, buna karşılık enzimin protein miktarını artırdığını göstermiştir (3).

Arginaz enzim aktivitesinin azalmasından ya arginaz enziminin yarı ömrünün azalması yada DNA zincirindeki kırılmaların muhtemelen arginaz genini de etkiliyor olmasının sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (8).

Tükürük üre düzeyinin protein üre düzeyi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Protein içeriği bakımından zengin diyetle beslenmede ve açlıkta arginaz enzimi dışındaki karaciğer üre döngüsü enzimlerinin aktiviteleri artmakta ve üre miktarı da üre döngüsü enzimleri ile ilişkili olarak değişmektedir. Açlıkta karaciğer üre döngüsü enzimlerinin aktivitelerinin ve üre düzeylerinin artması organizmada protein yıkım hızının artmasıyla orantılıdır (9).

Protein bakımından zengin diyetle beslenme sonucu karbamoilfosfat sentetaz, N-asetil glutamat sentetaz enzim aktiviteleri artar. Bunlara karaciğer üre sentezinin artması eşlik eder (10,11).

Malnutrisyonlu çocukların karaciğerinde argininosüksinaz aktivitesinin azlığı ve bu azalmanın normal besin alınmasıyla artabileceği gösterilmiştir (11).

Roman ve Roman olmayan kesime ait öğrenciler arasında arginaz enzim aktivitesi açısından farklılık olmaması arginaz enzimindeki değişikliklerin genetik faktörlerden değil de tamamen beslenme koşullarından etkilendiğini göstermektedir.

Tablo III. Roman ile Roman olmayan öğrencilerin tükürük arginaz aktiviteleri, protein ve üre düzeylerinin karşılaştırılması.

		Tükürük Arginaz Aktivitesi (Ünite)	Tükürük Protein Düzeyi (mg/ml)	Tükürük Üre Düzeyi (mg/dl)	P Değeri
Roman Öğrenciler (n:13)	Kız (n:8)	5.34±1.65	1.04±0.15	6.48±1.10	P>0.05
	Erkek (n:7)	5.57±1.15	1.06±0.17	6.51±1.38	
	Toplam (n:13)	5.45±1.39	1.05±0.18	6.49±1.19	
Roman olmayan öğrenciler (n:25)	Kız (n:12)	6.12±1.30	1.04±0.25	6.12±1.10	P>0.05
	Erkek (n:13)	5.99±1.32	1.01±0.18	5.91±1.24	
	Toplam (n:25)	6.21±1.19	1.03±0.22	6.09±1.17	
P Değeri		P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05	

Sonuç olarak; tükürükte bulunan arginaz enzim aktivitesinin beslenme koşullarına bağlı olarak protein miktarı ile paralel bir dalgalanma gösterdiğini ve beslenme durumunu saptamada bir kriter olarak kullanılabileceği ileri sürülebilir. Tükürük toplamak basit ve nontravmatik olduğundan yetersiz beslenme durumlarını ortaya çıkarmak üzere tarama için uygun olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Garganta CL, Bond JS. *Assays and kinetics of arginase*. Analitic Biochem 154: 338-394, 1986.
2. Jackson JM, Beaudet LA, O'Brien EW. *Mammalian urea cycle enzymes*. Ann Rev Genet 20: 431- 464, 1986.
3. Schimke RT. *Adaptive characteristic of urea cycle enzymes in the rat*. J Biol Chem 237: 459-468, 1962.
4. Agarwal PK, Agarwal KN, Agarwal DK. *Biochemical changes in saliva of malnourished children*. Am J Clin Nutr 39: 181-184, 1984.
5. Özdemir N, Gürsu F, Ozan S ve Gülen Ş. *Kıvırcık ve düz saçlı erkek ve kız öğrencilerin eritrositlerinde ve tükürüklerindeki arginaz enzim aktiviteleri arasındaki ilişki*. F.U. Sağlık Bilimleri Dergisi 7: 84-89, 1993.
6. Gayer JW, Dabich D. *Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates*. Anal Biochem 39: 412-417, 1986.
7. Lowry OH, Rosenbrough R, Randall J. *Protein Measurement with the folin reagent*. J Biol Chem 193: 265-275, 1951.
8. Türkoglu S, Gülen Ş. *Dietteki orotik asitin sıçan karaciğer ornitin transkarbamilaz ve arginaz aktiviteleri üzerine etkisi*. Biyokimya Dergisi XVII: 1-11, 1992.

9. Takeuchi H, Huyakka K, Narita K, Muramatsu K. *Changes in creatine and urea formation in rats fasted and fed low protein diets.* Agr Biol Chem 34: 1610-1617, 1970.
10. Nikumb SK, Santanam K, Rama Rao MV. *Hepatic and serum arginase and ornithine transcarbamylase activities of rats maintained on diets of different protein quality.* Ann Nutr Metab 31: 387-394, 1987.
11. Colombo JP. *Some regulatory aspects of urea synthesis.* Enzyme 26: 225-232, 1981.