

**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
BEZM-İ ALEM VALİDE SULTAN
VAKIF GUREBA EĞİTİM HASTANESİ
TIBBİ BİYOKİMYA BÖLÜMÜ
ŞEF:UZM.DR.AHMET RIZA URAS**

RANDOMİZE SEÇİLEN KİŞİLERDE SERBEST ANDROJEN İNDEKSİ İLE SERUM SERBEST
TESTOSTERON DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR.MEHMET TOSUN

**İSTANBUL
2005**

**Tüm bildiğim, bir şey bilmediğimdir...
SOKRATES (İ.Ö.470-399)**

Tezimin hazırlanmasında,

Her türlü eşsiz desteği için; anneme...

Konunun seçimi ve tezin kontrolündeki yardımları için; Biyokimya Şefi Ahmet Rıza Uras'a...

Sayırsz iyi niyetli felsefik desteği için; Emin Savaş Kılavuz'a...

Yardımları için; Hasan Arıcı, Ali Volkan Özdemir'e...

Tezimle ilgili kitleri temininden dolayı; BİODPC firması yetkililerine...

Parametrelerin çalışmasında gösterdiği yardımları için; Mürvet Varlı, Zuhal Işık, Nefise Erbay, Gonca Taştemur, Sevda Üzülmez, Zeynep Gözübüyüköğlü, Burcu Sayıcı Yarar, Sevgül Şahingiray, Yavuz Güneş, Mümin Polat, Emre Özdemir'e...

Radyoimmünoassey çalışmalarındaki yardımları için; Nur Gençler, Mükerrerem Duroğlü'na...

İsmiini unutmuş olabileceğim tüm dost ve müttefiklere; özürlerimle birlikte...

TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM...

KISALTMALAR

ACTH:Adrenokortikotropik hormon
AFP: α -Feto protein
ATP:Adenozin trifosfat
CEA:Karsinoembriyonik antijen
CEDIA:Klonlaşmış enzim donor immünoassey
DHEA:Dehidroepiandrosteron
DHT:Dihidrotestosteron
EIA:Enzim immünoassey
ELISA:Enzim bağılı immünosorbant assey
EMIT:Enzim-Multipliye immünölçüm tekniği
FAD:Flavin adenin dinükleotit
FAI:Serbest androjen indeks
FSH:Folükül uyarıcı hormon
GnRH:Gonadotropin salıcı hormon
hCG:İnsan koryonik gonadotropini
IGF-1:İnsülin benzeri büyüme faktörü
IRMA:İmmünoradyometrik assey
LH:Lüteinleştirici hormon
NADP:Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NSE:Nöron spesifik enolaz
PAP:Prostatik asit fosfataz
PSA:Prostat spesifik antijen
PTH:Parathormon
RAST:Radyo allerjisorbant testi
REA:Radyoenzimatik assey
RIA:Radyoimmünoassey
RNA:Ribonükleik asit
RRA:Radyoreseptör assey
SAİ:Serbest androjen indeksi
SHBG:Seks hormon bağlayıcı globulin
SPA:Sintilasyon proksimity assey
SSS: Santral sinir sistemi

TAG-72:Tümör ilişkili glikoprotein

TBG:Tiroit bağlayıcı globülin

TEBG:Testosteron-Östrojen bağlayıcı globulin

TFI:Testosteron serbest indeks

TSH: Tiroit uyarıcı hormon

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLBİLER.....	3
ÖRNEKLER VE YÖNTEMLER.....	23
BULGULAR.....	25
TARTIŞMA.....	33
ÖZET.....	38
SUMMARY.....	40
KAYNAKLAR.....	42

GİRİŞ VE AMAÇ

Erkeklerde hipogonadal durumlarla, kadınlarda hirsutizm ve virilizm gibi durumlarda serum testosteron düzeylerini ölçmek çok faydalı bilgiler verebilir. Erkeklerde testosteron başlıca testisin Leyding hücrelerinde sentezlenirken; kadınlarda adrenal bezler, yumurtalıklar ve en büyük kaynak olan perifer öncü hormon dönüşümden meydana gelir (1). Testosteron erkekte birincil ve ikincil seks özelliklerin gelişmesinden sorumlu

iken; kadınlarda fazlalığı klinik durumlara sebep olur. Testosteron salgılandıktan sonra hemen tamamı taşıyıcı proteinlere bağlanır. Az bir kısmı ise serbest olarak kalır. Birçok biyokimyasal parametrede olduğu gibi testosteronun biyolojik aktif olan kısmı serbest olanıdır. Testosteron bağlayan üç proteinden biri; ona sıkı bir şekilde bağlanan, karaciğerde sentezlenen ve bir glikoprotein olan seks hormon bağlayıcı globulin; diğerleri daha zayıf bağlanan albumin ve kortizol bağlayıcı globulindir (2). Serbest androjen indeksi ya da serbest testosteron indeksi, total testosteronun seks hormon bağlayıcı globuline oranı olup, normal olmayan androjen durumunun güçlü bir belirteçidir (3). Serbest androjen indeksi; şiddetli akne, erkek tipi kellik, hirsutizm gibi durumlarda artar. Ayrıca şişman olmayan, hirsutizm ve oligomenore şikayeti olmayan kadınlarda, erken folliküler fazda tespit edilen yüksek serbest androjen indeksi, polikistik over hastalığının sensitif ve spesifik bir belirtisi olabilir. Birçok çalışma, serbest androjen indeksinin diğer bazı biyokimyasal parametrelerle iyi uyum sağlamamasına rağmen, klinik bulgularda çok iyi uyum sağladığını göstermiştir. Zayıf bağlanan testosteron ve serbest testosteronun toplamına biyolojik yararlanılabilir testosteron denir (4). Biyolojik yararlanılabilir testosteron total testosteronun amonyum sülfatla çöktürülmesi ile elde edilir. Hirsutizm gibi bazı durumlarda biyolojik yararlanılabilir testosteron düzeyi belirlenmesi, başka tanısal teste ihtiyaç bırakmaz (5).

Serbest testosteron ölçümü için; denge diyaliz, ultrasentrifugasyon, radyoimmünoassey gibi bazı ölçüm yöntemleri sunulmuş ve bunlar serbest androjen indeksle karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalarda, serbest androjen indeksi klinik durumların değerlendirilmesinde oldukça uygun bulunmuştur (6).

Serbest testosteron ölçümünün yapılmadığı laboratuvarlarda, serbest androjen indeksten faydalanarak, klinik teşhis ve hastalığın prognozunun değerlendirilmesinde önemli ipuçları verdiğine dair literatür bilgileri bulunmaktadır. Biz de bu çalışmamızda klinik teşhis ve prognozdan bağımsız olarak; serbest testosteronun klasik ölçüm metodu radyoimmünoassey ile serbest androjen indeksini sayısal olarak kıyaslamak istedik. Amacımız klinik tutarlılıktan çok bu iki değer birbirini ile uyumluluğu idi. Bu sebeple radyoimmünoasseyden elde ettiğimiz değerleri; seks hormon bağlayıcı globulin ve total testosterondan faydalanarak hesapladığımız serbest androjen indeksle kıyaslamayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

ANDROJENLER

Genel Özellikler

Testosteron, androstenedion, dihidrotestosteron (DHT), dehidroepiandrosteron (DHEA) gibi erkek cinsiyet hormonlarını içeren hormon topluluğuna androjenler denir (7). Androjenler; testis, böbrek üstü bezi ve az miktarda olmak üzere yumurtalıklarda yapılırlar (8). Androjenler kolesterolden sentezlenirler. Kolesteroldan ilk pregnenolan meydana gelerek sentezleme zinciri başlar. Direkt olarak asetil coA'dan da sentez edilebilir (7). Androjenler 19 karbon atomlu steroid yapıda olan bileşiklerdir (9). Şekil-1'de testosteron ve testosteron öncülü pregnenolanın kimyasal yapısı gösterilmiştir. Testosteron bu topluluk içinde miktar olarak en fazla olanıdır. En etkili olanı ise hedef dokularda testosterondan dönüşümü yapılan DHT'dur.

Etkileri azdan çoğa doğru aşağıdaki gibidir (8):

- DHEA ⇒ Androstenedion ⇒ Testosteron ⇒ DHT

Bu dönüşüm, dönüşümü katalizleyen 5- α -redüktaz aktivitesi fazla olan deri ve prostat gibi organlarda olur. Bu dönüşüm sonucu testosteronların %4'ü DHT'a dönüşür (10). 5- α -redüktaz NADPH bağımlı bir enzimdir (11).

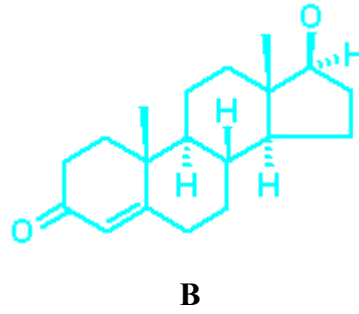
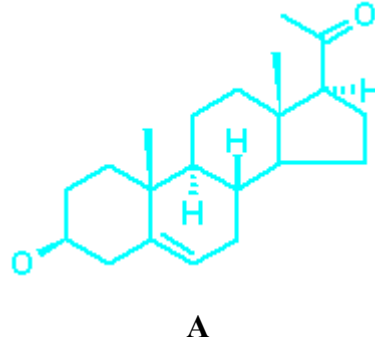
Testosteron, leyding (interstisyel) hücrelerinde sentezlenir. Bu oluşum ön hipofiz hormonu LH'nin etkisi altındadır. Testosteron, SSS'ne girebilir ve orada negatif geri beslenme etkisi ile hipotalamustan GnRH salınımını inhibe edebilir. Testosteronun ayrıca LH üzerinde de negatif geri beslenme yapabilme etkisi vardır (7). DHEA ve androstenedion; adrenal korteksten en fazla salınan androjenik maddelerdir. Androjenlerin bir kısmı hedef hücrelerde ve yağ dokusunda aromataz enzimi tarafından östrojenlere çevrilir. Bu dönüşümden oluşan östrojenler aşağıdaki gibidir:

- Testosteron ⇒ Östradiol
- Androstenedion ⇒ Östron

Genel olarak tüm androjenler karaciğerde metabolize edilirler ve 17-ketosteroid türevlerine yıkılırlar.

Diğer steroid hormonlar gibi, androjenler hücreye girerek sitoplazmik reseptörlere bağlanırlar. Hormon reseptör kompleksi hücre çekirdeğine girerek bazı genlerin ekspresyonunu düzenler.

Testislerin yaptığı hormonlarda yaşla birlikte önemli değişiklikler görülür. Rahim içi hayatta ve yeni doğanda testosteron yapımı daha fazla iken; yenidoğandan sonra androsteron yapımı baskın hale gelir. Ergenlikle testisler tekrar testosteron üretimine başlarlar ve bu yaşam boyu devam eder. Diğer steroid hormonlar gibi testosteron da sentezlendiğinde hemen plazmaya salınır.



Şekil-1: A-Pregnenalon, B-Testosteron (12)

Serbest Testosteron ve Testosteronun Taşınması

Birçok biyokimyasal maddede olduğu gibi testosteronun biyolojik olarak etkin kısmı serbest kısmıdır. Bir plazma β -globulini özel olarak ve yüksek bir ilgi ile, fakat sınırlı bir şekilde androjenleri bağlar ve taşır (11). Bu protein karaciğerde yapılan seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) ya da testosteron-östrojen bağlayıcı globulin (TEBG)'dir. SHBG testosterona sıkı bir şekilde bağlanır. Testosteron kanda 30 dakika ile bir saat kadar taşınır. Bu geçen süreden sonra ya hedef dokuya girer, ya da yıkım ürünlerine parçalanarak metabolize edilir (7).

SHBG yapımını östrojen uyarır. Bundan dolayı kadınlarda iki kat fazladır. Ayrıca bazı karaciğer hastalıkları ve hipertiroidizm yapımını artırır (11). Androjenler; ilerleyen yaş, hipotiroidizm ile yapımını azalır. Ayrıca albumin ve kortizol bağlayıcı globulin de bir miktar testosteron bağlayabilir. Fakat burada albumin ve testosteron birbirine zayıf olarak bağlanır (7). SHBG ve albumin yaklaşık olarak %97 ile %99 arasında testosteron bağlar. Bundan dolayı serbest ve biyolojik aktif testosteron toplam miktarı %3 ile %1 arasındadır (11). SHBG'nin başlıca görevi, serumdaki serbest kısmı belli bir miktarda tutmaktır. Testosteron östrojenden daha fazla ilgiyle SHBG'ye bağlanır. Bundan dolayı SHBG derişimindeki değişiklikler serbest testosteron miktarını serbest östrojenden daha fazla etkiler.

Serbest testosteronun bu çalışmadaki yöntemle bildirilen referans değerleri Tablo-1'de gösterilmiştir:

Tablo-1: Serbest Testosteronun Referans Değerleri (13)

Erkek	Yaş	Kadın
Normal(pg/mL)		Normal(pg/mL)

8,8-27	20-39	0,06-2,57
7,2-23	40-59	0,04-2,03
5,6-19	60-80	0,03-1,55

SHBG diğer bazı hormonları da bağlayabilir. Bunlardan bazıları şunlardır :

- ❑ 17 β - östradiol
- ❑ Dihidrotestosteron
- ❑ Diğer 17 β – hidroksisteroidlerdir.

Serbest Androjen İndeksi:

Serbest androjen indeksi [Free androjen index (FAI)], biyolojik olarak aktif olan testosteron miktarını değerlendirmek için kullanılan basit bir orandır. Testosteron free index (TFI) olarak da adlandırılır. Total testosteronun SHBG'e oranıdır. Bu oran daha sonra 100 ile çarpılır. Burada total testosteron ve SHBG nmol/L biriminde ifade edilir (14). Bozulmuş androjen durumlarını belirlemede klinik önemi gösterilmiş bir orandır (15). Klinik belirtilerle iyi bir uygunluk gösterir. En iyi dihiroepiandrosteron sülfatla korelasyon gösterir (16). Tükrükteki testosteron miktarı da, serbest androjen indeksle çok iyi bir uyum gösterir (17). Serbest androjen indeksi, IGF-1 ile pozitif korelasyon gösterir (18). Serbest androjen indeksi, insülin fazlalığı ile de birliktedir (19). α -interferon uygulanınca serbest androjen indeksde anlamlı artmalar olur (20). Prekoks pubarşı olan kızlarda yapılan bir çalışmada serbest androjen indeksi, leptin ile pozitif ilişkisi gösterilmiştir (21). Androjen resöptör direnci olan durumlarda serbest androjen indeksi artar (22). Beden kütle indeksi, yaş, menstürel siklus serbest androjen indeksi etkilemektedir (23). Serbest androjen indeksi, ağır aknede, erkek tip saç dökülmesinde, hirsutizmde artar. Bu klinik durumlarda total testosteron normal olabilir (15). Prepubertal kızlarda yapılan bir çalışmada serbest androjen indeksle hipertrikoz arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (24). Azalmış serbest androjen indeksin, erkeklerdeki idyopatik osteoporozun bir belirtisi olabileceği savunulmuştur (25). Şişman olmayan, hirsutizm sorunu bulunmayan oligomenoreik kadınlarda artmış serbest androjen indeksi; polikistik over hastalığının erken ve sensitif bir göstergesi olabilir (15). Serbest androjen indeksteki artış özellikle postmenapozal kadınlarda kardiyovasküler hastalık riskini artırır (26). Serbest androjen indeksi, normogonadotropik oligomenoreik kısırlıkta indüksiyon tedavisinde yumurtalık cevabın çok önemli bir belirteçidir (27). Alzheimer hastalığında serbest androjen indeksi artar (28). Serbest androjen indeksin kemik mineral dansitesi ile pozitif bir ilişki vardır (29). Alkolik karaciğer hastalığında bu oran azalır (30). Bu oran aynı zamanda hemodiyalize giren hastalarda da azalır (31). Serbest androjen indeksi; aterojenik lipit profili, yüksek LDL, trigliserit düzeyleri ile korelasyon gösterir (32). Saldırğan kişilik özelliğine sahip bireylerde serbest androjen indeksi yüksek bulunmuştur (33). Çoklu ilaç tedavisi alan epileptik hastalarda serbest androjen indeksi düşüktür (34).

Literatürde serbest androjen indeksi için çeşitli referans değerler mevcuttur. Bunlardan iki tanesi Tablo-2 ve Tablo-3'de gösterilmiştir:

Tablo-2: Serbest Androjen İndeksi Referans Değerleri (35)

Cinsiyet	Serbest Androjen İndeks
Erkek	>30
Kadın	<5

Tablo-3:Serbest Androjen İndeksi Referans Değerleri (36)

Erkek		Kadın	
Yaş	Normal	Yaş	Normal
20-30	30-128	20-50	0.4-8.4
30-40	24-122	50 Üstü	0.4-6.6
40-50	14-126		
50 Üstü	18-82		

Bu çalışmada kullandığımız kemilüminesans yöntemiyle verilen serbest androjen indeksi referans değerleri Tablo-4'de gösterilmiştir.

Tablo-4:Kullanılan Yöntemde Serbest Androjen İndeks Referans Değerleri

Sağlıklı Erkek	14.8-95
Menstrual Periyot (Tüm Periyot)	0.8-10
Menstrual Periyot (Foliküler Faz)	0.8-9.3
Menstrual Periyot (Midcycle)	1.3-17
Menstrual Periyot (Luteal Faz)	0.8-11
Oral Kontraseptif Kullananlar	0-3.4
Tedavi Edilmemiş Menopoz	0-6.6
Hirsutizmde	1.7-20.6

Etki Mekanizması

Serbest Testosteron, pasif yada kolaylaştırılmış diffüzyona uğrayarak hücre zarını geçerek sitoplazmaya girer. Hedef hücre içinde hücre içi reseptöre bağlanır. Birçok hücre sitoplazması testosteronu DHT'na çeviren 5- α -redüktaz içerir. DHT ve testosteron için tek reseptör vardır; fakat DHT'un reseptöre bağlanma ilgisi daha fazladır. Androjen etkisinin meydana gelebilmesi için reseptör-hormon kompleksinin hücre çekirdeğine giderek ilgili kromatine bağlanıp, hormon cevabını ortaya çıkaracak protein sentezini başlatması gerekir. DHT-reseptör kompleksi, testosteron-reseptör kompleksinden daha fazla ilgi ile kromatine bağlanır. Bu DHT'nun niçin daha güçlü bir androjen olduğunun bir izahıdır. Testosteron, toplam RNA miktarını artırarak protein sentezini artırır (11).

Etkileri

Androjenler, özellikle Testosteron ve DHT aşağıdaki olaylarda yer alır :

- Fetal hayatta testislerin skrotuma inmesini sağlar (7).
- Spermatogenez sürecinde yer alır (11). Bu süreçte FSH da önemlidir.

- Erkek tip psikoloji gelişimini sağlar (11).
- Testosteron, erkek fetüsün ve erken çocukluk dönemi normal gelişimi için gereklidir.
- Ergenlik döneminde olan değişikliklerden sorumludur. İkincil seks karakterlerinin (penisin büyümesi; gırtlak ve kaslı yapının gelişmesi; yüz, kasık ve koltukaltı kıllanmanın oluşması; cildin koyulaşması) ortaya çıkmasını sağlar.
- Anabolik etkileri vardır. Pozitif nitrojen dengesi yapar. Bu özelliğin sporcular tarafından kötü kullanımı mevcuttur.
- Kemiklerde kalsiyum depolanmasını artırır. Kemik kalınlığı ve kuvvetini artırır. Bu özelliği ileri yaşlarda erkeklerde görülen osteoporozda kullanılmasını sağlamıştır (7).
- Temel metabolik hızı artırır (7).
- Kırmızı kan hücrelerinin yapımı artırır (8).
- Böbrek distal tübüllerinde sodyum tutulumunu artırır. Fakat bu diğer steroid (ör.aldosteron) hormonlara kıyasla daha az etkilidir (7).
- Böbrek, androjenler için ana hedef dokulardandır.Bu hormonlar çeşitli enzimlerin yapımını aktive ederek, böbrekte genel bir büyüme yol açar (11).
- DHT ve testosteron; östradiol ile birlikte prostat dokusunda fazla bölünmeye yol açarak, iyi huylu prostat hipertrofisine yol açabilir(11).

Şekil-2:Testosteron Metabolizması (12)

Testosteron Metabolizması

Şekil-2’de testosteron oluşması ve metabolizması toplu olarak gösterilmiştir.

Testosteron metabolizması başlıca iki şekilde olur (11) :

1-17.karbon pozisyonunda yükseltgenme : Çoğu dokuda meydana gelir. Neticede 17-ketosteroidler meydana gelir.Bunlar genellikle az aktif yada aktif olmayan yapılardır.

2-Çift bağ ve 3-ketondaki indirgenme: Daha az etkindir.Neticede aktif ürün DHT meydana gelir.

Testosteronun en önemli metabolik ürünü DHT’dur.DHT plazma testosteronun yaklaşık onda biridir. Daha aktif bir metabolite döndüğünden dolayı testosteron bir ön hormondur.

Küçük bir kısmı aromatisasyon ile östradiole dönüşür. Androstanediol testosterondan yapılan diğer etkili bir androjendir.

Başlıca önemli 17-ketosteroid metabolitleri, androsteron ve etiokolanondur. Bunlar karaciğerde glukuronid ve sülfatla konjuge edilerek suda çözülebilen maddelere dönüştürülürler (11). Yıkım ürünleri ya safra ile bağırsağa, yada böbrekten idrara atılırlar (7).

Androjen Metabolizma Bozuklukları

Androjen yetersizliği semptom ve bulgularına sebep olan, testislerin yeterli androjen üretememesi hipogonadizme sebep olur (11).

Hipogonadizm ayrıca yetersiz spermatogeneze sebep olabilir. Spermatogenezin aksaması ve kısırılık, normal testosteron üretimine rağmen olabilir, fakat spermatogenezin normal olabilmesi için testosteron üretimi şarttır .

Bu durum ergenlikten önce meydana gelirse ikincil seks karakterleri oluşmaz. Ergenlikten sonra olursa, oluşan bu ikincil karakterlerde gerilemeler olabilir.

Birincil hipogonadizmde; testislerde meydana gelen eksiklikler testiküler yetmezliğe yol açar. Bunlarda serum gonadotropinleri yüksektir. Başlıca sebepleri (37) :

- ❑ Klinefelter sendromu
- ❑ Miyotonik müsküler distrofi
- ❑ Yalın sertoli hücre sendromu
- ❑ Kartagener sendromu
- ❑ Anorşi
- ❑ Poliendokrin otoimmün yetersizlik
- ❑ Edinsel hipogonadizm (Travma, radyasyon, viral ve bakteriyel orşit, granülomatöz hastalıklar, ilaçlar...)

Sekonder hipogonadizmde, gonadotropin salınımında bozukluk vardır. Eksiklik hipofiz ve hipotalamustadır. Gonadotropin eksikliği tek başına olabileceği gibi diğer hipofiz hormonlarının yetersizliğiyle de olabilir (37). Başlıca sebepleri:

- ❑ Yetersiz beslenme ve açlık
- ❑ Prolaktin fazlalığı
- ❑ Cushing sendromu
- ❑ Hemokromatozis
- ❑ Androjen ve östrojenlerin fazlalığı (Negatif geri beslenme ile gonadotropinleri baskılar)
- ❑ Kalmann sendromu
- ❑ Karaciğer hastalıklarında görülen yüksek östrojen

Üçüncül olarak bahsedebileceğimiz bir grupta ise reseptör düzeyinde direnç vardır. Bu durumda 5- α -redüktaz enziminde de kusur vardır. Testosteron seviyeleri yüksektir (7). Bazılarında DHT ve testosteron reseptörü tamamen yoktur. Bazılarında ise reseptör kusuru vardır. Diğer bazılarında ise hormonal reseptörde kusur olmamasına karşın, genetik olarak

erkek olan bireylerde, çeşitli seviyelerde kadın özellikleri gösterir. Bu tamamen kadın dış görünüşünden, cinsiyet organındaki değişikliklere kadar olabilir. Bu duruma, testiküler feminizasyon da denir. Burada östrojen metabolizmasında bozukluk yoktur (11). Diğer bazı hipogonadizm bulguları :

Puberteden önce olmuşsa :

- ❑ Uzun boyluluk. Kulaç boyunun boydan 5 cm. uzun olması
- ❑ Kas kitlesinin az olması

Puberteden sonra olmuşsa:

- ❑ Prostat boyutlarının küçülmesi
- ❑ Gözler etrafında kırışıklıklar
- ❑ Potens ve libidonun azalması

Kadınlarda androjen eksikliği önemli klinik bulgulara yol açmaz (9).

Erkeklerde hipergonadizme çoğu zaman tümörler eşlik eder. İnterstisyel (leyding) hücreli tümör bunlardan biridir. Genelle kıyaslandığında az karşılaşılır. Testosteron miktarı 100 kat artabilir. Boy ve kaslı yapı hızla gelişir. Fakat aynı zamanda epifiz plakları da erken kapandığından ulaşılan son boy ve yapı normalden az olur (7).

Kadınlarda az veya orta androjen fazlalığı, normal adet siklusunu bozabilir. Yüz ve vucudtaki kıllanma miktarını artırabilir. Fazla miktardaki androjen ise virilizasyona sebep olur (9).

Testosteron Ölçüm Yöntemleri

Testosteronun çeşitli biyosentetik öncü ve metabolitlerinin ölçümünde:

- ❑ Spesifik immünoasseyler
- ❑ Çeşitli ekstraksiyon yöntemleri
- ❑ Kromatografik yöntemler

kullanılır. Yaygın olarak immünoassey yöntemler tercih edilmektedir. İmmünoasseylerden de RIA ve kemilüminesan ölçüm tekniği sıklıkla kullanılmaktadır (10).

İMMUNOASSEY YÖNTEMLER

Genel Özellikler

İmmunokimyasal ve immünoanalitik yöntemler de denir. Tipik bir immünoanalizde, reaktif olarak aranan kimyasal maddenin (antijen) özel antikoru kullanılır. Spesifik antijenlere,

yüksek ilgi ve çok iyi spesifiteyle bağlanan antikorlar; aranan maddeleri tanımlayan ve miktarlarını belirleyen çeşitli immunoanaliz yöntemlerinin çıkmasına imkan sağlamıştır (10).

Antikorlar

Antikorlar (immonoglobulinler); doğal yada sentetik, organizmaya yabancı proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler, yağlar gibi maddelerden oluşan antijenlere karşı oluşurlar. IgA, IgM, IgG, IgE, IgD olmak üzere başlıca beş çeşide ayrılırlar. Ayrıca bu ayrılan kısımlar kendi içindedeki alt gruplara ayrılırlar. IgG en fazla miktarda bulunandır. Aynı zamanda immunoanaliz yöntemlerinde kullanılan antikordur. Antikorlar genellikle glikoprotein yapıdadır (10).

IgG, her birinde ağır ve hafif zincirlerin olduğu iki zincirden meydana gelmiştir. Amino ucundaki değişken bölge çeşitli antijenlere karşı özgüllüğünü belirler. Buradaki her amino asit sırasını farklı bir plazma hücresi klonu belirler. Antijene karşı normal bağışıklık yanıtında, ilgili lenfositlerin uyarılması sonucu, plazma hücrelerine dönüşümü ve özgül antikorun salgılanması görülür. Her plazma hücresi klonu bir özelliğe göre antikor yapar. Fakat karmaşık yapıdaki antijenler, farklı klonlardan farklı bağışıklık yanıtı meydana getirebilirler. Bu şekilde oluşan antikorlara poliklonal antikorlar denir. Antijenin antikorla bağlandığı bölgeye, antijenik belirleyici yada epitop denir (10).

Antijenler

İmmunojen de denir. Yabancı bir organizmaya girdiğinde immün yanıt oluşturabilen maddelere denir (10).

Hümmoral (antikorla oluşan) bağışıklıkta; antijen B hücresi antijen reseptörüyle birleştiğinde, B hücresi bir plazma hücre klonuna dönüşerek IgG, IgA, IgM, IgD, IgE izotiplerinden birbirinin eşi olan antikor molekülleri salgılamaya başlar. Plazma hücrelerinden birkaçı ileride aynı antijenle karşılaştığında antikor salgılama kapasitesini arttırabilen uzun ömürlü lenfositlere dönüşürler (38).

Hümmoral bağışıklıkta; timüs lenfoid hücreleri antijenleri tanıyabilir. Klonal T hücre büyümesi ve farklılaşması hümmoral bağışıklığa neden olur. Bu tip bağışıklıkta T hücreleri ya direkt sitotoksik etki yada salgıladıkları lenfokinler aracılığıyla yaparlar (8).

Haptenler, tek başlarına antikor bağlayabilen fakat bağışıklık yanıtı oluşturamadıkları halde, uygun bir taşıyıcıyla birleştiklerinde bağışıklık yanıtı oluşturan maddelerdir. Doğal immunojenler, haptenlerden daha karmaşıktır. Birden fazla epitopu vardır. Bu immunojenler çeşitli antikorlarla reaksiyon vererek büyük immün kompleksler yapabilirler. Proteinlere ilaveten; lipitler, nükleik asitler ve diğer bazı maddeler antijen olarak davranabilirler (10).

Bağışıklık cevabı oluşturmada bazı genel özellikler vardır:

- ❑ Molekülde yapısal stabil bölgeler olması
- ❑ Yapının gelişigüzel olması
- ❑ En az 4000 ile 5000 dalton arası molekül ağırlığı olması
- ❑ Bünyede metabolize olması
- ❑ Girdiği bünyeye yabancı olması
- ❑ Çoğu durumda şekil ve elektriksel yükün bağışıklık yanıt oluşturmada önemi olmaması

Antijen ve antikor arasındaki etkileşimin şiddetini belirtmede iki terim vardır:

1-Afinite: Bir tek ilgili antijen epitopunun antikor bağlama yerinin enerji değişimini tanımlayan bir termodinamik niceliktir .

2-Avidite: Genel antikorun bağlanma kuvvetidir.

Poliklonal oluşan antikorlar, karışık bir grup antijenin vücuda tatbikinden sonra meydana gelir. Halbuki monoklonal oluşan antikorlar; tek tip antijen neticesinde, tek tip plazma hücre klonunun meydana getirdiği antikorlardır. Monoklonal olarak oluşturulan antikorlar, immunoanaliz yöntemlerinde kullanılan antikorlardır.

Monoklonal antikorların; multivalan antijenlerin sadece bir epitopuyla reaksiyona girmesi, bu makro antijenleri çöktüremeyeceği anlamına da gelir. Bundan dolayı monoklonal antikorlar klasik çöktürme metodlarının kullanıldığı laboratuarlarda uygulama alanı bulamamıştır (10).

Klinik kimyada, monoklonik antikorları kullanan, izotopik ve izotopik olmayan solidfaz immünoanaliz yöntemleri vardır. Monoklonal antikor kullanmanın kullanışlı bir faydası, tek bir inkübasyon basamağında iki farklı antikor belirleyicinin kullanılabilmesidir. Belirli bir epitopa karşı bir solidfaz antikor ve başka bir epitopa karşı diğer bir enzim yada nükleer işaretli bir antikor tek basamakta antijenle etkileşebilir (10).

Antijen-Antikor Bağlanması ve Etkileşim Teorisi

Antijen-Antikor birleşmesinde çeşitli kuvvetler rol alırlar. Bunlardan önemli olanları (10) :

- ❑ **Van der waals-Londra dipol-dipol etkileşimi:**Elektrostatik temelli etkileşimdir. Polarize olabilen ve yüksüz moleküllerde görülebilir. Etrafında elektron bulutu olan moleküllerin dış kuvvetlerin etkisiyle bozulmasıyla geçici yapıda dipol oluşur.
- ❑ **Hidrofobik etkileşim:**Bu gerçek bir bağ değildir.Sisteminin düşük enerji seviyesinde kalma eğilimi sonucu oluşur.
- ❑ **Kolombik bağlar:**Başlıca COOH ve NH₄ arasında oluşan antijen ve antikorlardaki negatif ve pozitif yüklerin birbirini çekmesi prensibine dayanan bir bağdır.

İmmunoanaliz Nitel Yöntemler

- ❑ **Pasif jel diffüzyon:** Birçok nitel ve nicel immunoanaliz yöntemde agar ve agaroz gibi yarı katı ortamlar kullanılır. Bunun başlıca yararı, diffüzyon ortamını kararlı kılmak ve meydana gelen etkileşimi değerlendirme imkanı sağlamasıdır. İki tane temel pasif diffüzyon yaklaşımı vardır (10) :

1-Tekli immundifüzyonda; antikor ilave edilen agarda antijen diffüzyonudur.

2-Çiftli immundifüzyonda;konsantrasyon gradiyentini antijen ve antikor belirler.

- ❑ **İmmunelektroforez:** Bir çözeltide bulunan çeşitli antijenleri ayırma ve tanımlama işleminde kullanılabilir. Plastik bir tabaka üzerine agaroz jel konularak yapılır. Ayrılacak madde jele tatbik edilmek suretiyle, jel yüzeyince bir elektrik alana maruz bırakılır. Proteinler molekül büyüklüklerine göre ayrılır.Üç çeşidi vardır (10):

1-Krosimmunelektroforez

2-Kauntrimmelektroforez

3-İmmunfiksasyon

- ❑ **Western blotting, southern blotting:** DNA'daki mutasyonları saptayabilmek için geliştirilmiştir. Önce DNA hücreden ayrılır. Daha sonra parçalara ayrılır.Oluşan parçalar elektroforeze tabi tutularak

tanımlama yapılır. "Western blotting"de ise elektroforezi takiben bu proteinlere karşı oluşmuş antikorlarla proteinlerin saptanmasıdır (39).

İmmunoanaliz Nicel Yöntemler

- ❑ **Radyal immundifüzyon ve elektroimmunassey:**Genellikle antijene karşı oluşturulmuş pasif diffüzyon metodudur (10).
- ❑ **Turbidimetrik ve nefelometrik analiz:**İmmun bileşik oluşma hızını ölçer (10).

İşaretli İmmunoanaliz

Nicel yöntemlerdendir. Temelde immün bileşik oluşma hızını ölçer. Toplam tepkime zincirleme şeklinde olsa da; son ürün immün kompleks oluşturma yönündedir. Başlangıçtaki antijen ve antikor birleşmesi çok önemlidir ve işaretli antijen ve antikorların kullanılmasıyla sensitif ve spesifik immunokemikal yöntemleri meydana getirmiştir (10).

İlk başlarda radyoaktif işaretleyiciler kullanılmasına rağmen; testi yapanların güvenliği, radyoaktif reaktifler ve atıkların meydana getirdiği sorunlar; diğer bazı radyoaktif olmayan işaretleme yöntemleri arama yoluna götürmüştür (40,41). Bazı radyoaktif olmayan işaretleyiciler Tablo-5'de gösterilmiştir.

Tablo-5: Radyoaktif Olmayan İşaretleyiciler (40, 41)

Yöntem	Radyoaktif Olmayan İşaretleyiciler
Kemiluminesans	Akridinyum ester, izoluminol
Kofaktör	ATP, FAD
Enzim	Alkali fosfataz, bakteriyel lusiferaz, beta galaktozidaz, glikoz oksidaz, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz, lizozim, üreaz
	malat dehidrogenaz....
Fluorofor	Öropium şelat, fluroşein, fikoeritin, terbiyum şelat
Serbest radikal	Nitroksit
Engelleyici	Metotreksat
Metal	Altın, gümüş, selenyum
Partikül	Bakteryofaj, alyuvar, lateks, lipozom
Substrat	Galaktozil-ambeliferon

İmmunoasseylerde yüksek sensitivite ve spesifiteyi sağlamak için zaman içinde metodolojik çeşitli prensipler uygulanmıştır. Bunlar kompetitif ve kompetitif olmayan reaksiyonlarla, immunoassey performansı için farklı tasarımları içerir.

Kompetatif ve Kompetatif Olmayan Reaksiyonlar

Kompetitif immunoasseyde; ölçülmek istenen antijenle, işaretli antijen sınırlı sayıda antikorla birleşmek üzere aynı anda ortama konularak antikora karşı yarışmaları sağlanır. Bağlanamayan antijenler uzaklaştırılır. Geride kalan işaretli antijen-antikor kompleksleri sinyal oluşması aktive edilerek uygun dedektörle ölçülür (42).

Kompetitif olmayan immunoasseyde; solit fazdaki antikora önce örnekteki antijen bağlanır. Bağlanmış ve serbest antijenlerin ayrımı yapıldıktan sonra, işaretlenmiş ikinci bir antikor ilave edilir ve sinyal oluşması uyarılır (42).

Heterojen ve Homojen İmmunoasseyler

Heterojen immunoasseyler; serbest işaretleyici antijenin, çeşitli ayırma yöntemleri kullanılarak antikorla bağlı işaretleyici antijenden ayrılması yöntemine dayanır. Ayırma yöntemleri olarak presipitasyon, sıvı faz veya katı faz adsorbsiyon kullanılır.

Homojen immunoasseylerde; ayırma işlemi olmaması önemli bir avantajdır (10).

İşaretli İmmunoassey Yöntemler

Enzim İmmunoassey(EIA)

Enzimlerin katalitik özelliklerinden faydalanarak nicel madde konsantrasyonu tespit şeklidir. Öncelikle, enzim işaretli antikor veya antijen ilgili ligandıyla reaksiyona girmesi için ortama konur. Sonra enzim substratı eklenir ve substratdaki azalma veya üründeki artmalar kayıt edilerek ölçüm yapılır (10). Alkali fosfataz, peroksidaz, glikoz-6-dehidrogenaz, β -galaktozidaz sıklıkla kullanılır (43). Enzim işaretli antikor ve antijenler bifonksiyonel reaktifler kullanılarak kovalent eşleme yöntemiyle yapılır (44). Rekombinant konjugatlar ilgili genlerden hazırlanmaktadır (45) .

EIA'ya örnek olarak aşağıdaki yöntemler verilebilir (46):

- ❑ Enzim-Bağlı immunsorbent ölçüm (ELISA)
- ❑ Enzim-Multipliye immunölçüm tekniği (EMIT)
- ❑ Klonlaşmış enzim donör immünassay (CEDIA)

ELISA: Klinik analizde yaygın olarak kullanılan heterojen bir tekniktir. Reaksiyon bileşkelerinden biri katı faz yüzeyine bağlanır. Bu katı faz, mikrotitrasyon kuyucuğu olabilir. Bağlanma özgül olmayan adsorbsiyon, kimyasal veya immünokimyasal bağlanma olabilir ve serbest işaretli reaktifi bağlı olandan ayırma işlemini kolaylaştırır. Ölçülecek antijen içeren kalibratör veya bir örnek, katı faz antikoruyla bağlanması için bir süre inkübe edilir. Yıkama yapıldıktan sonra, bağlı antikordan farklı enzim işaretli antikor eklenir ve katı faz Ab:Ag:Ab-enzim sandviç bileşkesi oluşur. Bağlı olmayan antikor yıkama ile uzaklaştırılır ve enzim substratı eklenir. Enzim işaretleyici, eklenen substratı ürüne dönüştürür. Ürün miktarı örnekteki antijen miktarı ile orantılıdır (46).

EMIT: Homojen bir EIA'dır (46). Ayırma işlemi gerektirmediğinden kolay bir ölçümdür ve birçok ilaç, hormon ve metabolit ölçümlerinde kullanılır (47). Aranan analite karşı oluşan antikor, substratla birlikte hasta örneğine eklenir. Enzim konjugatı ikinci bir reaktif olarak eklenir. Enzim-analit bileşkesi, ortamda kalan antikor fazlası ile birleşip antijen-antikor bileşkesi oluşturur. Analit antikoronun enzim analit konjugatı ile bağlanması, enzim aktivitesini azaltır. Enzim aktivitesindeki bu azalma, aranan analit miktarıyla doğru orantılıdır.

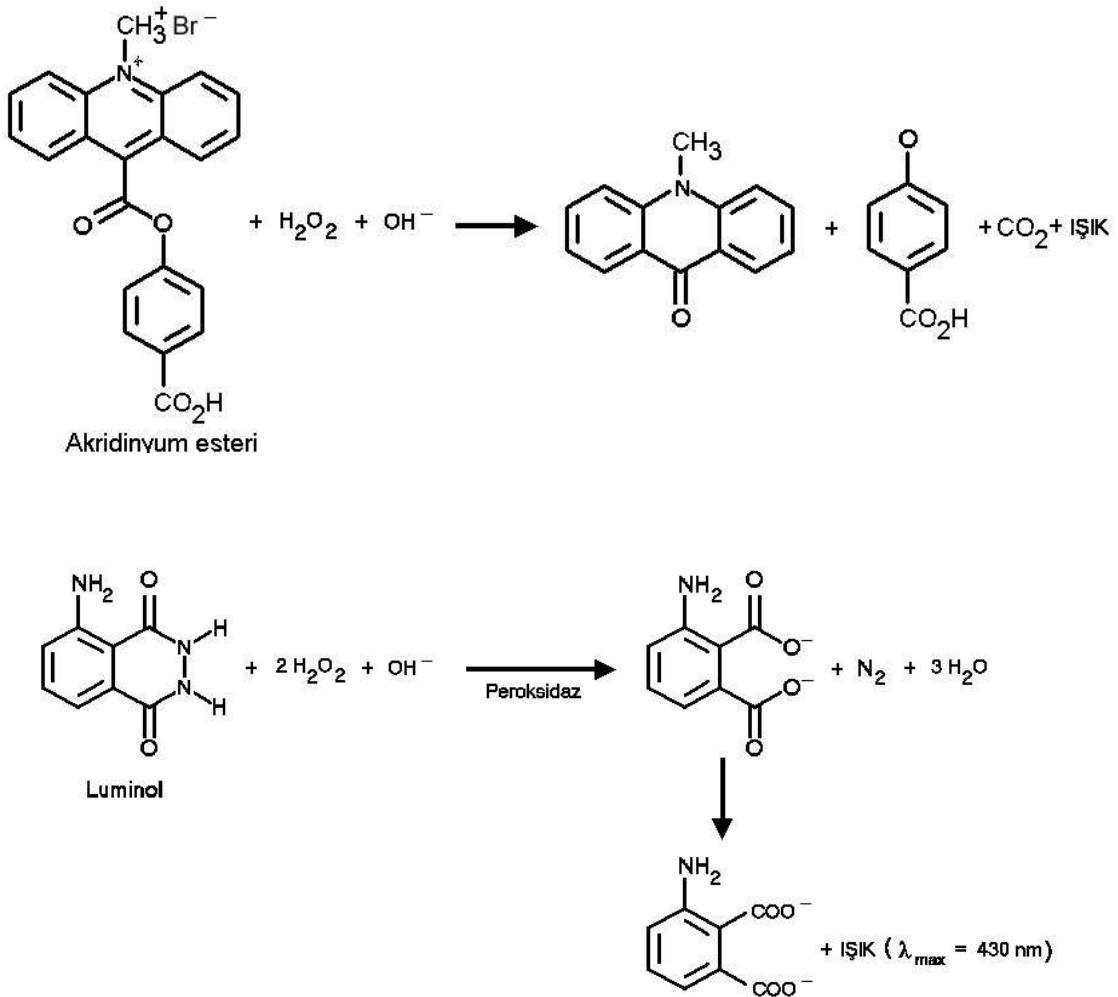
CEDIA: Homojen tip EIA'dır. Genetik mühendisliği teknikleri kullanılarak geliştirilen ilk EIA'dır (48, 49). β -galaktozidazın aktif olmayan parçaları, E.coli'nin lac operonunun Z geninin manipulasyonu ile hazırlanır (46).

Floroimmünölçüm (FIA)

İşaretleyici olarak floresans molekül kullanılır. Geçmişte ilaçlar, ilaç metabolitleri, bilirubin gibi proteine bağlı maddelerden kaynaklanan arka-plan foresana bu tekniğin kullanımını sınırlamıştır. İşaretleyici olarak nadir bulunan lantanit kullanılmasıyla bu sorun atlatılmıştır. Floresein antijen konjugatından oluşan floresansın polarizasyonu, çözeltideki uyarılmış durum sırasındaki rotasyon hızı ile belirlenir. Antikor bağlama polarizasyon derecesini düzenler. Polarizasyondaki bu değişme ve buna bağlı olarak antijen konsantrasyonu ölçülebilir (10).

Kemilüminesans İmmünölçüm

Kimyasal reaksiyon sırasında oluşan ışık yayılımıdır. Eksitasyon kaynağı, monokromatör ve filtre gerektirmez. Sadece tek dedektöre sahiptir. İşaretleyici olarak kemilüminesans kullanılır. İzoluminol veya akridinyum esterleri kemilüminesans işaretleyicilere örnektir. Bu işaretleyiciler Şekil-3'de gösterilmiştir. Mikroperoksidaz gibi katalizör varlığında hidrojen peroksit tarafından izoluminolün oksidasyonu, 425 nm'de göreceli olarak daha uzun ömürlü ışık yayılımı yapar. Triton X-104 gibi deterjan varlığında alkalen hidrojen peroksit ile akridinyum esterlerinin oksidasyonu, 429 nm'de ani ışık yayılmasına neden olur (Şekil 3). Akridinyum esterleri, antikor ve haptenleri işaretlemek için kullanılabilen yüksek spesifik aktiviteye sahip işaretleyicilerdir (46).



Şekil-3:Kemilüminesans İşaretleyiciler

Elektrokemilüminesana İmmünölçüm

İşaretleyici olarak rutenyum gibi elektrokemilüminesans maddeler kullanılır. Rutenyum tris elektrot yüzeyindeki tripropilamin ile elektrokemilüminesans reaksiyona girer. Bu işaretleyici ile, katı faz olarak magnetik bilyalar kullanılarak ölçüm hücresi içerisinde değişik ölçümler geliştirilmiştir. Işık yayılımı bitişik fotomultiplier ile ölçülür (50).

Radyoimmünölçüm (RIA)

1960'dan önce kan ve diğer vücut sıvılarında bulunan, çok küçük konsantrasyondaki maddeleri ölçmek çok zordu (51). 1959 yılında, Yalow ve Berson özgül antisera kullanılan yeni bir insülin tayin yöntemi belirlediler (52). Bu çalışma immünokimyasal analiz fikrinin oluşmasına sebep oldu. Bu çalışmada radyoaktif işaretleyiciler kullanıldı. Hemen hemen aynı tarihte İngiltere'de Ekins tiroksin için antisera kullanılmayan bir yöntem buldu (53). Bu analiz yöntemine talebin artmasıyla; kullanılan radyoaktif maddelerin güvenilirliği tartışmalar yol açtı. Bu durum izotopik olmayan işaretleyicilerin araştırılmasına yol açtı. Yeni radyoaktif işaretleyici kullanmayan yöntemler bulundu. Fakat duyarlılık bakımından radyoimmünölçüm birçoğundan üstün olduğu görüldü (54). 1970'lere gelindiğinde, değişik vücut sıvılarında birçok maddenin bu yöntemle hesaplanabileceğini buldular (55). Bu yöntemle seviyeleri tespit edilebilen bazı maddeler Tablo-6'da gösterilmiştir.

Tablo-6: RIA İle Tespit Edilebilen Bazı Analitler (51)

Hormonlar ve İlişkili Faktörler			
İnsülin	PTH	Kalsitonin	Somatostatin
C-Peptit	ACTH	Serotonin	Enkefalin
Glukagon	TSH	Androjen	Kortikosteroid
Gastrin	FSH	Östradiol	Progesteron
Sekretin	LH	Aldosteron	Prolaktin
Anjiotensin	hCG	Endorfin	Tiroksin

İlaçlar, Vitaminler	Enzimler
Kardiak glikozidler	C-1 Esteraz
İlaç kötü kullanımı	Fruktoz 1,6 Difosfataz
Antibiyotikler	Karbonik Anhidraz
SSS depreyanları	Aldoz Redüktaz
Folik Asit	Plazminojen, Plazmin
Vitamin B-12	Karboksipeptidaz B
Vitamin A	Tripsin, Kimotripsin

Serum Proteinleri	Virüs ve Allerjenler
TBG	HBsAg
IgG, IgM	Mürin Lösemi Virüsü
Fibrinojen	Monkey Virüs
Miyogloblin	IgE
Properdin	RAST
Ferritin	

Tümör Belirteçleri	
AFP	Tiroglogulin
β -2 Mikroglobulin	CA-242
CA-50	NSE

CEA	CA-125
PAP	TAG-72
PSA	CA-19-9

RIA'yı kıymetli yapan özelliği, onun 10^{12} mol/l kadar düşük konsantrasyondaki maddeleri tespit edebilme yeteneğidir. Bununla birlikte; hücre zarına bağlı, hücre içi yapılar ve kromozomlar da rutin olarak incelenebilmektedir (56-58). Böyle birçok dalda büyük gelişmelere yol açan tekniği keşfinden dolayı Dr. Yalow 1977 yılında nobel ödülü aldı (59). Endokrinoloji, onkoloji, genetik, biyokimya, mikrobiyoloji ve laboratuvar tıbbındaki son yıllardaki hızlı gelişmede bu tür immünoassayların rolü büyüktür.

RIA heterojen bir immünölçümdür. Analitik olarak, işaretli antijen veya antikor konsantrasyonunu saptamak için antijen antikor reaksiyonunda, radyoaktif işaretli ve işaretli antijen veya antikor arasındaki yarışma kullanılmaktadır. Bu ölçüm, antijen-antikor reaksiyonunun özgüllüğünü ve radyoaktif materyalin ölçümünden kaynaklanan duyarlılığın avantajlarını kullanır. RIA spesifik antikorların üretilebildiği herhangi bir antijen konsantrasyonunu saptamak için kullanılır. Bir antijen konsantrasyonunu ölçmek için, radyoaktif izotopla işaretlenmede, antijenin saf olması gerekir. Diğer immünoradyometrik ölçümlerde böyle bir şart yoktur. Antikorlar kararlı proteinlerdir ve protein yapıları bozulmadan işaretlemek kolaydır. RIA da I^{125} , I^{131} , H^3 , Co^{57} gibi işaretleyiciler kullanılır (52). Temel prensipleri aynı olan fakat ayırma işlemi olmayan RIA yöntemleri geliştirilmiştir. Bu daha çok ilaç araştırmalarında kullanılır (60). İlk zamanlar çok popüler olan RIA; aşağıdaki nedenlerden dolayı kullanımı sınırlanmıştır:

- İşaretleyici olarak radyoaktif madde kullanma
- Radyoaktif atıklar
- Otomatize cihazların olmaması

RIA dışında radyoassay yöntemler (59):

- İmmunoradiometrik assey (IRMA)
- Radioreseptör assey (RRA)
- Radioenzimatik assey (REA)
- Sintilasyon proksimite assey (SPA)

RIA yönteminin temel iki bileşeni vardır (59) :

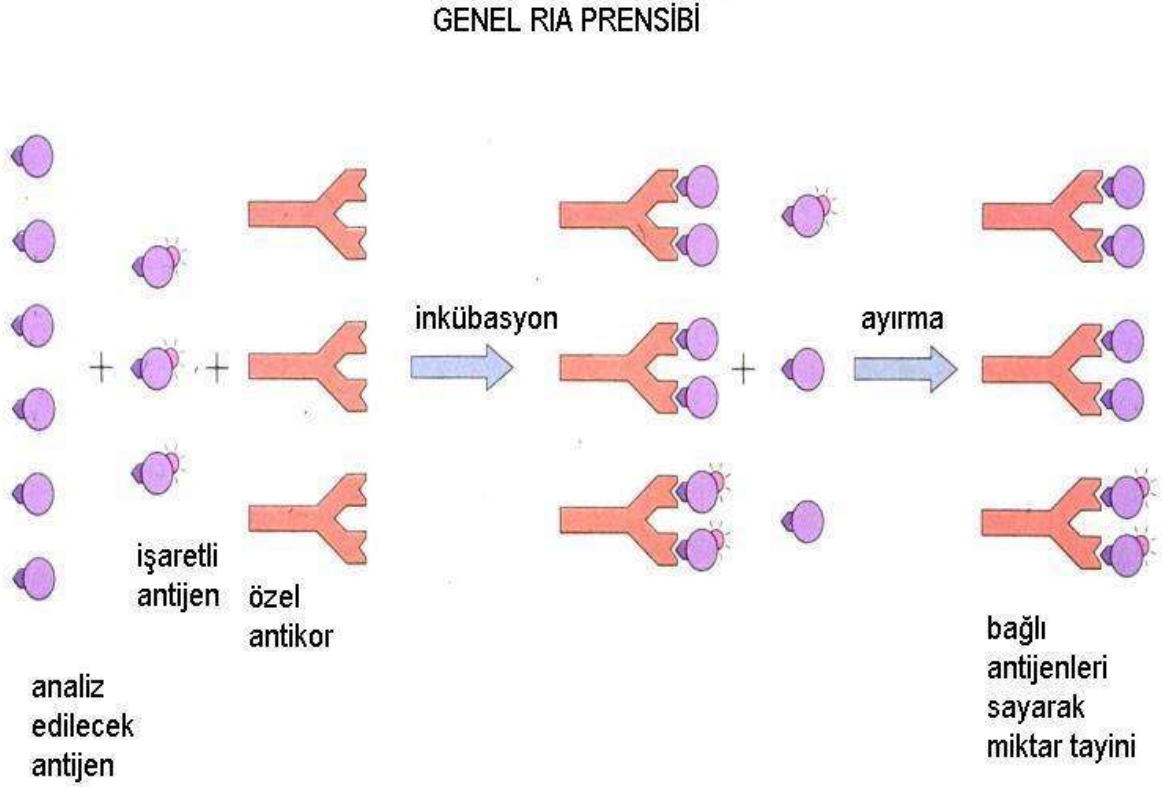
1-Antijen:

- İşaretsiz antijen:** Hasta serumunda ölçülmesi istenen antijen
- İşaretli antijen:** İşaretsiz antijen ile aynı immünolojik davranışı gösteren ve bir yada birkaç radyonüklid içeren antijendir.

2-Antikor:

- IgG yapısında ve aranan antijene karşı oluşmuş antikor.
RIA uygulamaları için, radyonüklidde aranan özellikler (59) :
- Bol foton verimi
- Yüksek sayım istatistiği
- Uygun uzunlukta fiziksel yarı ömür
- Antijen ile kolay bağlanabilme
- Radyasyon riskinin düşük olması

Genel olarak RIA yöntemi Şekil-4'de şematize edilmiştir. İçinde aradığımız maddenin antikorunu bulunan tüpe radyoaktif işaretli maddeyi koyup, üzerine serum ilave edersek; iki antijen antikor için yarışmaya girerler. Serumda madde miktarı ne kadar fazla ise, o kadar radyoaktif işaretli madde daha az antikora bağlanacaktır. Aralarında ters orantı vardır. Geri kalan bağlı radyoaktif maddeler uygun gama sayıcılarda sayılarak aranan madde hazırlanan grafiklerden faydalanarak tespit edilir (59).



Şekil-4: Genel Olarak RIA Prensibi (61)

YÖNTEMLER

ÖRNEKLER VE

Çalışmaya alınan hastalar, SSK Vakıf Gureba Hastanesi polikliniklerine başvuran hastalardan seçildi. Hastaların geldiği poliklinik ve tıbbi teşhisleri dikkate alınmadı. Rastlantısal olarak testosteron ve serbest testosteron analizi istenmiş 92 hasta toplandı. Serumlar 30 günlük toplama süresince derin dondurucuda bekletildi. Toplama sürecinin sonunda çözülerek, bir seferde ilgili tüm parametreler çalışıldı.

Dışlama kriterleri

- Total testosteron analizinde, serumda 381 mg/dl ve üzerindeki hemoglobin miktarı analiz yöntemini etkilediğinden (62), gözle görülen hemoliz miktarı çok az dahi olsa çalışmaya dahil edilmedi.
- İlgili parametre anaizlerinde, 1000 mg/dl üzerindeki serum trigliserit konsantrasyonu analiz yöntemlerini etkilemesine rağmen; 500 mg/dl nin üzerinde serum trigliseridi olanlar çalışmaya alınmadı.

Çalışma metotları

Çalışma kapsamına dahil olan parametreler ve çalışma metotları şöyledi:

- **Total Testesteron:** Kuru, jelli vakumlu tüpe alınan hasta kanları, 2750xg rcf'de on dakika santrifüj edilerek serum temin edildi. Elde edilen serumlar, SSK Vakıf Gureba Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında İmmulite 2000 (DPC: Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA) hormon analizör cihazında çalışıldı. Yöntem olarak, immünoassey yöntemlerden olan kemilüminesans kullanıldı. DPC firmasına ait, L2KTT2 katalog numaralı Total Testosteron kiti kullanıldı.
- **Seks Hormon Bağlayıcı Globulin:** Kuru, jelli vakumlu tüpe alınan hasta kanları, 2750xg rcf'de on dakika santrifüj edilerek serum temin edildi. Elde edilen serumlar SSK Vakıf Gureba Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında İmmulite 2000 (DPC: Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA) hormon analizör cihazında çalışıldı. Yöntem olarak, immünoassey yöntemlerden olan kemilüminesans kullanıldı. DPC firmasına ait, L2KSH2 katalog numaralı SHBG kiti kullanıldı.
- **Serbest Androjen İndeks:** $[Total\ Testosteron / SHBG] \times k$. Çeşitli kaynaklarda "k" on, yüz yada bin alınırken, biz hesaplamalarımızda bu sabit değeri yüz olarak aldık.
- **Serbest Testosteron:** Kuru, jelli vakumlu tüpe alınan hasta kanları, 2750xg rcf'de on dakika santrifüj edilerek serum temin edildi. Elde edilen serumlar SSK Okmeydanı Hastanesi Nükleer Tıp Radyoimmünassey Laboratuvarında gama sayıcı ile

sayıldı.Yöntem olarak immünoassey yöntemlerden olan radyoassey kullanıldı.DPC firmasına ait olan Coat-A-Count Free Testosterone kit kullanıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesinde, Windows 2000 SPSS 11.0 istatistik programı kullanılarak, Pearson korelasyon analizi uygulandı.

BULGULAR

30/06/2004 ile 15/07/2004 tarihleri arasında klinik teşhisleri ve geldikleri polikliniklere bakılmaksızın, SSK Vakıf Gureba Hastanesine başvuran 92 kişi çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen kişilerin cinsiyete göre dağılımı Tablo-7'deki gibidir. Çalışmaya katılanların yaş ortalamaları, Tablo-8'de gösterilmiştir.

Tablo-7:Hastaların cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Sayı	%
Erkek	32	35,5
Kadın	60	64,5

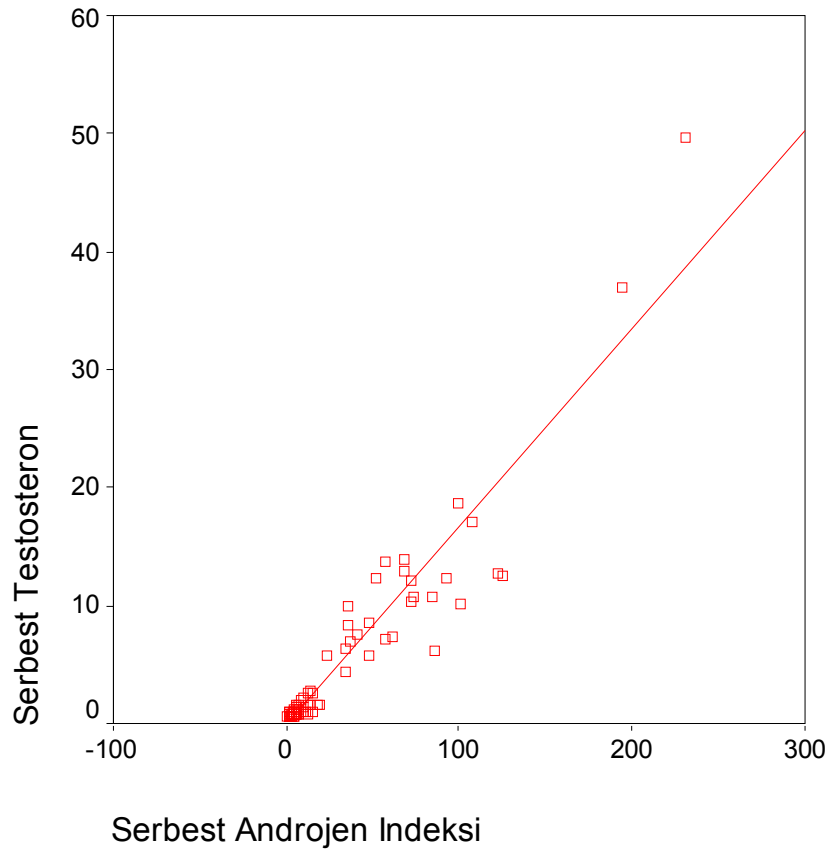
Tablo-8: Hastaların yaş dağılımı

Cinsiyet	Yaş Ortalaması
Erkek	34,8
Kadın	29,1

Serbest androjen indeksi hesaplanırken, total testosteron ve SHBG nin birimlerinin nmol/L olması gerekiyordu. Halbuki bizim yöntemimizde kullandığımız total testosteron kitinin verdiği birim ng/dL idi. nmol/L ye çevirmek için 0.03467 çevirme faktörünü kullanıldı. SHBG'nin birimi nmol/L idi.

Windows 2000 SPSS 11.0 kullanarak, serbest testosteron ve serbest androjen indeksi arasındaki ilişkiyi incelemek için, Pearson korelasyon analizi yapıldı. En fazla anlamlı uyum lineer ve küboid eğriler de ortaya çıktı. Lineer ve küboid ilişkilerin grafiklerini çizerek, r ve p değerlerini bularak, aralarındaki ilişki belirlendi.

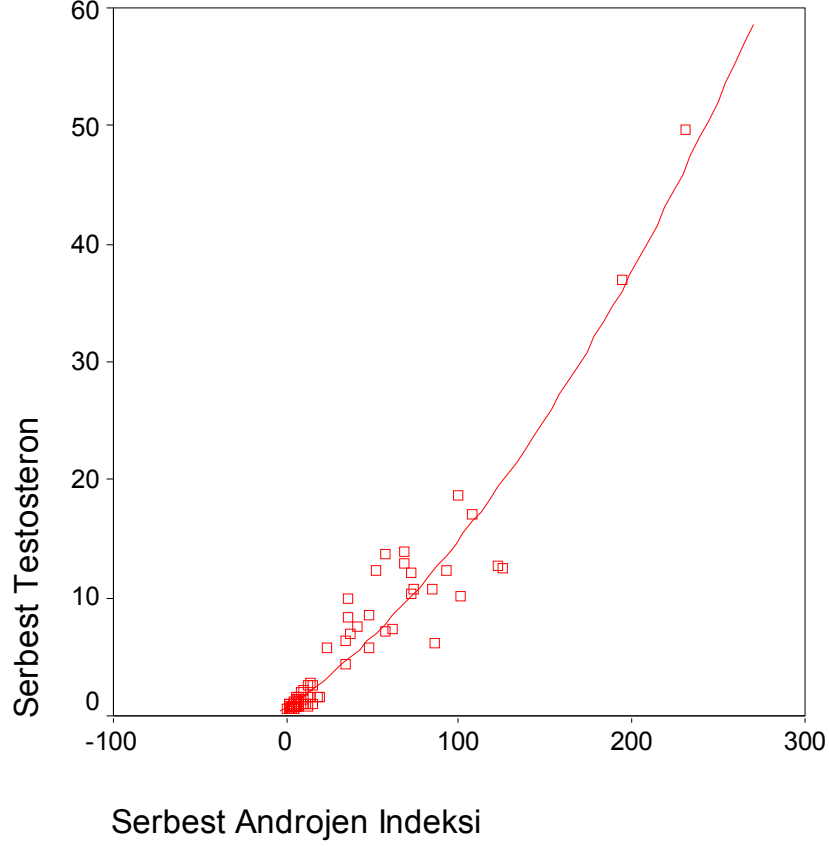
Serbest testosteron ile serbest androjen indeksi arasındaki lineer ilişki grafiği Şekil-5'de gösterilmiştir.



Şekil-5 : Serbest testosteron ve serbest androjen indeksi arasındaki lineer ilişki ($p<0.001$; $r=0.946$).

Şekil-5'deki bilgilerden, serbest testosteron ile serbest androjen indeksi arasında anlamlı bir ilişki vardır.

Serbest testosteron ile serbest androjen indeks arasındaki küboid ilişki grafiği Şekil-6'de gösterilmiştir.



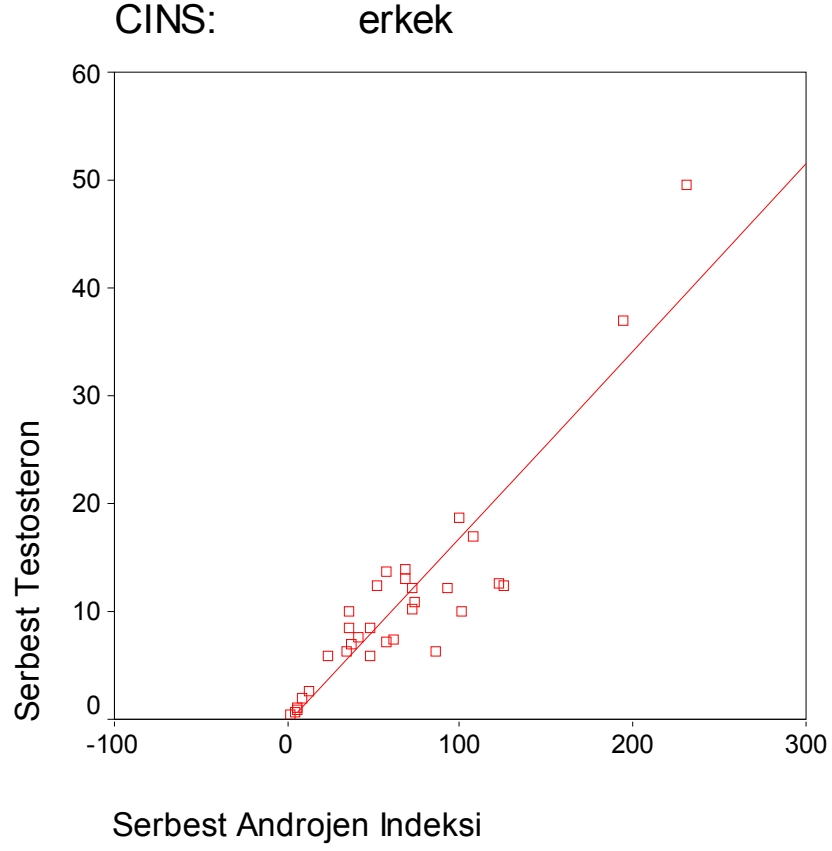
Şekil-6 :Serbest testosteron ve serbest androjen indeks arasındaki küboid ilişki ($p<0.001$; $r=0.959$).

Şekil-6'daki bilgilerden serbest testosteron ile serbest androjen indeks arasında anlamlı bir ilişki vardır.

r değerlerinden de anlaşılacağı gibi ilişki küboid analizde daha belirgindir. Yapılan her iki korelasyon analizinde de serbest testosteron ile serbest androjen indeks arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.

Erkek ve kadınları kendi içlerinde incelediğimizde;

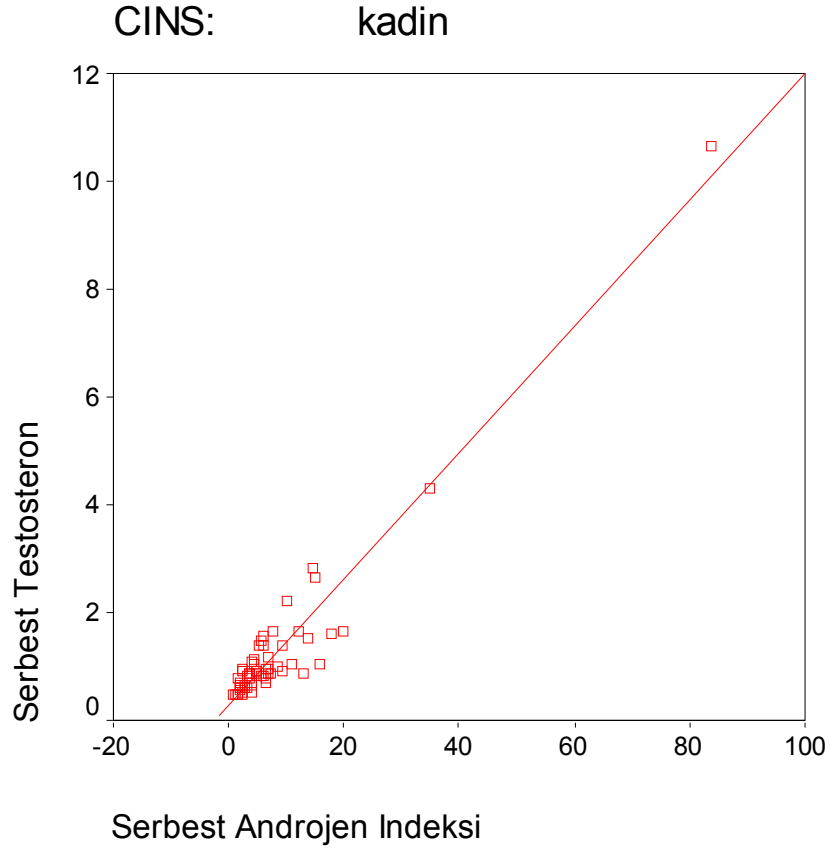
- Windows 2000 SPSS 11.0 kullanarak, erkeklerde serbest testosteron ve serbest androjen indeks arasındaki ilişki için, Pearson korelasyon analizi yapıldı. (Şekil-7) .



Şekil-7: Erkeklerde serbest testosteron ve serbest androjen indeks arasındaki Korelasyon ($p<0.01$; $r=0.915$).

Şekil-7'deki bilgilerden, çalışmaya alınan erkeklerde serbest testosteron ile serbest androjen indeks arasında anlamlı ilişki bulunmuştur

- Windows 2000 SPSS 11.0 kullanarak, kadınlarda serbest testosteron ve serbest androjen indeks arasındaki ilişki için, Pearson korelasyon analizi yapıldı. (Şekil-8).



Şekil-8: Kadınlarda serbest testosteron ve serbest androjen indeks arasındaki Korelasyon ($p<0.001$; $r=0.962$).

Şekil-8'deki bilgilerden, çalışmaya alınan kadınlar arasında serbest testosteron ile serbest androjen indeks arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.

r değerinden de anlaşılacağı gibi, cinsiyete göre ayırımında kadınlar arasındaki uyum erkeklerden fazladır.

Çalışmaya alınan kişilerin serbest androjen indeksi (SAİ) ve serbest testosteron değerleri Tablo-9'da gösterildiği gibidir.

Tablo-9:Çalışmaya Alınan Kişilerin Serbest Testosteron ve SAİ değerleri

İsim	Cinsiyet	Serbest Testosteron(pg/mL)	Serbest Androjen İndeks (SAİ)
S.E.	K	0,571	2,095
S.K.	K	0,641	1,976
N.C.	E	9,9	35,426
E.A.	E	0,5	1,815
F.Ş.	K	0,695	1,763
N.Z.	K	0,786	1,523
Y.Ş.	K	1,664	7,692
A.P.	K	1,052	10,762
H.Y.	K	0,817	5,494
L.T.	K	2,229	10,019
A.Ş.	K	0,831	3,025
Z.T.	K	0,644	2,803
F.K.	K	0,5	1,705
H.K.	K	0,523	2,376
S.K.	E	1,979	8,145
M.D.	K	0,599	2,683
M.A.	K	0,903	2,237
S.A.	K	0,959	2,217
A.G.	K	0,5	2,185
B.B.	K	0,626	2,14
D.O.	K	1,564	6,126
N.A.	K	1,077	3,816
Y.Ç.	K	0,833	3,605
F.G.	K	0,862	3,753
A.Y.	K	0,607	3,098
E.G.	K	4,31	34,841
O.S.	E	7,432	61,761
T.K.	K	0,852	3,776
M.P.	K	0,793	3,434
H.M.	E	8,379	35,979
T.K.	K	0,854	12,808
F.A.	K	1,526	13,847
B.Ö.	K	2,821	14,467
Z.Ö.	K	2,67	15,043
S.Ç.	E	12,392	52,309
L.Ç.	K	1,041	15,702
Z.Y.	K	0,5	1,202
S.Ç.	K	1,625	17,656
N.Ö.	K	0,541	3,856
A.K.	K	0,5	0,835
M.A.	E	6,2	86,24
N.S.	E	12,239	92,594

T.Ç.	E	18,764	98,914
S.M.	E	10,107	100,968
E.T.	E	16,989	107,533
S.A.	E	12,636	122,852
C.A.	E	12,491	124,64
S.Ö.	E	36,991	194,319
H.Y.C.	E	49,635	231,289
T.Ç.	E	2,586	12,331
M.E.	K	0,5	1,433
H.Ç.	K	0,898	9,209
R.B.	K	1,158	6,922
A.Ç.	K	10,655	83,8
H.A.	E	10,794	74,067
M.A.	E	13,876	67,884
Y.G.	E	10,253	71,806
M.K.	E	12,116	71,742
K.P.	E	12,937	68,738
D.O.	K	1,402	6,126
N.S.	K	0,965	6,559
N.S.	K	0,828	5,903
N.D.	K	0,71	6,38
C.K.	K	0,907	4,63
S.E.	K	1,385	9,296
H.K.	K	1,464	5,532
N.E.	E	0,705	4,565
M.B.	K	0,998	8,649
Z.E.	K	0,902	4,906
M.G.	K	0,884	6,654
D.Y.	K	0,651	4,098
Y.Ç.	K	0,716	4,03
K.K.	K	0,792	6,319
N.K.	K	1,413	5,367
Y.K.	K	1,039	4,276
A.R.Ö.	E	5,847	23,089
M.K.	K	0,849	4,921
M.G.	K	1,67	19,863
A.T.	K	1,635	11,973
Y.Y.	K	0,883	7,189
G.A.	K	0,959	6,964
A.Ö.	K	1,125	4,424
M.B.	E	7,179	57,84
Y.A.	E	13,781	56,694
H.B.	E	5,83	48,169
İ.V.	E	8,534	47,17
Y.T.	E	7,539	41,362
C.O.	E	6,355	34,772

Ö.O.	E	7,021	36,748
A.C.	K	0,628	1,957
İ.K.	E	1,164	5,604
M.A.	E	0,88	5,88

TARTIŞMA

Modern tıp içinde modern kimya geliştikçe, bilim insanları arasında bazı verilerden yola çıkılarak diğer bazı aranan değerlere ulaşmak arzusu gittikçe daha fazla yer etmeye başladı. Buna örnek olarak, 24 saatlik idrar toplamanın zorluğundan hareketle Cockcroft ve Gault 1976 yılında serum kreatinin, yaş ve vücut ağırlığı değerlerinden hareket ederek kreatin klirensi hesaplayabilmeyi öngörmüştür (63). Benzer şekilde seks hormon bağlayıcı globülin ve total testosteron değerlerinden hareketle serbest testosteron hesaplanabileceği öngörülmüş ve formülize edilmiştir. Bu amaca yönelik literatürde çeşitli makaleler vardır. Vermeulen'in konuyla ilgili birçok makalesi bulunduğundan çoğu zaman serbest androjen indekse Vermeulen hesaplama yöntemi denmektedir.

Vermeulen ve arkadaşları 1999 yılında bir makalelerinde (64), çeşitli serbest testosteron hesaplama yöntemlerini kıyaslamıştır. Bu çalışmada denge diyaliz (equilibrium dialysis) yönteminden elde edilen gerçek serbest testosteron ile total serum testosteronun %50 amonyum sülfat ile çöktürülmesiyle elde edilen biyoyararlanabilir testosteron, içinde serbest androjen indeksi ve radyoimmünoassey ile hesaplanmış serbest testosteron değerleri ile kıyaslanmıştır. Radyoimmünoassey ve serbest androjen indeksten elde edilen değerler biyoyararlanabilir testosteron ile uygunluk göstermezken, denge diyaliz metoduyla hesaplanan gerçek serbest testosteron değeri ile bu iki yöntemle hesaplanan değerler arasında uygunluk olduğunu göstermiştir.

Crist-Crain ve arkadaşları 2004 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, yaşlı erkeklerde çeşitli yöntemlerle testosteron hesaplayıp, bunların klinik uyumunu kontrol etmişlerdir. (65) Bu çalışmada özellikle yaşlanan erkeklerde hangi ölçüm yönteminin, prognozu en iyi yansıtabileceği araştırılmıştır. Ölçümler radyoimmünoassey ile serbest androjen indeksi ile kıyaslanmıştır. Total testosteronun amonyum sülfat ile çöktürülmesinden elde edilen biyoyararlanabilir testosteron ile serbest androjen indekse uyum olmamasına rağmen, radyoimmünoassey yöntemi ile ölçülen serbest testosteron ile serbest androjen indeksi arasında oldukça iyi bir uyum olduğu görülmüştür. Sonuçlar klinik bulgular ile birleştirilerek, serbest androjen indeksin androjen yetersizliği değerlendirmede, serum biyoyararlanabilir testosterondan daha iyi ve yeterli bir parametre olduğu görülmüştür.

Miller ve arkadaşları 2004 yılında yapmış oldukları bir çalışmada androjen eksikliği olan 147 hastada farklı yöntemlerle ölçülen serbest testosteron hesapları yapmışlardır (66). Kadınlarda görülen androjen eksikliğinin klinik önemiyle daha fazla karşılaştıklarından, doğru ve kesin serbest testosteron sonuçlarının önemi

için böyle bir çalışma yapmışlardır. Bu amaçları için denge diyaliz metoduyla hesapladıkları serbest testosteron düzeylerini, radyoimmünoassey, kitle hareket kanunu (law of mass action) ve serbest androjen indeksiyle kıyaslamışlardır. Kitle hareket kanunu, denge diyaliz metoduyla çok iyi bir uyum göstermiştir. Radyoimmünoassey ile yapılan ölçüm ise denge diyaliz metodu ile uyum göstermediği rapor edilmiştir. Serbest androjen indeksi de denge diyaliz metodu ile iyi bir uyum göstermiştir. Fakat birimsiz bir değer olması, çeşitli fiziksel durumla ilgili referans değerlerin olmayışı yetersizlik olarak belirtilmiştir. Bundan dolayı denge diyaliz ve kitle hareket kanunu, kadınlarda androjen eksikliği takibinde kullanılması gereken yöntemler olarak tavsiye edilmiştir.

Kalstrom ve arkadaşları 1987 yılında polikistik over sendromu teşhisi almış 30 hastada serum serbest testosteron ile serbest androjen indeksi karşılaştırmışlardır (67). Yapılan bu çalışmada testosteron/SHBG oranının tanısıl değeri tek başına serbest testosterondan yüksek bulunmuştur. Ayrıca tek başına serbest testosteron tanısıl açıdan ve yükselmiş testosteronun kaynağı açısından ek bir bilgi sağlamadığı bildirilmiştir.

Kim ve arkadaşları 1999 yılında yaptıkları bir çalışmada; serbest androjen indeksi, seks hormon bağlayıcı globülin, prostat spesifik antijenin erken ergenlik belirteci olabileceği ile ilgili bir makale yayınlamışlardır (68). Yapılan çalışmada prostat spesifik antijenin testosteron etkisiyle salındığını ve normal erkek çocuklarda PSA'nın bulunmayacağı belirtilmektedir. Bundan dolayı ölçülebilir PSA düzeyi ergenliğin başlangıcı olarak görülebilir. Çalışma sonucunda PSA'nın erken bir ergenlik belirteci olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte SHBG ve serbest androjen indeksinde iyi bir erken ergenlik belirteci olduğu bildirilmiştir. Bu son ikisinin PSA'dan daha iyi bir gösterge olduğu açıklanmıştır.

Morris ve arkadaşları 2004 yılında 1072 kişiyi kapsayan bir kohort çalışması yapmışlardır (69). Bu çalışmada serbest testosteron bakmanın mümkün olmadığı durumlarda, serbest androjen indeksin serbest testosteron durumunu belirtebilme özelliği araştırılmıştır. Çalışmada total testosteron ve SHBG düzeyleri ELISA belirlenmiş, biyoyararlanabilir testosteron ise total testosteronun amonyum sülfat ile çöktürülmesi ile elde edilmiştir. Çalışmada serbest androjen indeksi, Nanjee-Wheeler ve Vermeulen yöntemleri ile hesaplanmıştır. Çalışmada total testosteron en iyi hipogonadizmi belirten marker ilan edilmiş ama sınırda olan durumlarda yeterli görülmeyerek serbest testosteron düzeylerinin ölçülmesi tavsiye edilmiştir.

1986 Yılında Morimoto ve arkadaşları, 28 normal erkek, 18 hamile kadın, 17 hipogonadizm teşhisi olan erkek, 17 kronik hepatit olan erkek, 24 siroz teşhisi alan erkek, 34 hipertiroidizm teşhisi alan erkek ve 7 hirsutizm teşhisi olan kadın arasında, serbest testosteron indeksi ile ölçülen serbest testosteronu kıyaslayan bir çalışma yaptı (70). Çalışmada bahsedilen hastalıkla ilgili serbest testosteron düzeyleri denge diyaliz yöntemiyle tespit edilmiştir. Yapılan çalışmanın sonunda, serbest testosteron indeksi serum serbest testosteron ile oldukça iyi uyumlu bulunmuştur. Ayrıca çalışma serbest testosteron indeksinin androjen durumunu belirlemede kullanılabileceğini de bildirmektedir.

Qiao ve arkadaşları 1990 yılında hirsutizm teşhisi almış 51 kadın üzerinde bir çalışma yaptılar (71). Yaptıkları çalışmada serbest androjen indeksin %92 oranda klinik durumla ilişkili olduğunu gördüler. Çalışma sonunda klinik uygulamalarda testosteronun yanı sıra serbest androjen indeksin de hesaplanmasının yararlı olacağını bildirmişlerdir.

1987 yılında Wilke ve arkadaşları serbest testosteron ölçüm yöntemlerini kıyaslamak için bir çalışma yaptılar (72). Bu çalışma sonunda, RIA ile serbest testosteron hesaplamak, serbest androjen indeksi hesaplamaktan teknik olarak daha kolay olmasına rağmen, klinik teşhise götürmede bir üstünlüğü olmadığı belirtilmiştir.

1985 yılında Nanjee ve arkadaşı, hirsutizm olan veya hirsutizm olmayıp oral kontraseptif kullanan bir grup kadında, serbest testosteronu hem direkt olarak plazmada ölçtü, hemde serbest androjen indeksini hesaplayarak bu iki bulguyu birbiriyle kıyasladı (73). Yapılan çalışma sonrasında, ölçülen serbest testosteron değeri ile hesaplanan serbest androjen indeksi arasında iyi bir korelasyon olduğu ilan edildi.

Clack ve arkadaşları, serbest androjen indeksin plazma androjen aktivitesini belirtmede yeterliliğini araştırdıkları bir makale yayınladılar (74). Çalışmaya 54 hirsutizmi kadın, 13 hipogonadizmi olan erkek, 2 hipertiroidizmi olan erkek dahil edildi. Yapılan çalışma sonucunda, serbest androjen indeksin plazma androjen aktivitesini yansıtmada oldukça iyi bir parametre olduğu görüldü.

Carter ve arkadaşları, sadece total testosteron ölçümünün hirsutizm araştırmalarında yeterli olmayacağını belirttiği bir çalışma yayınladı (75). Çalışmaya 41 hirsutizm Şikayeti olan hasta dahil edildi.çalışma sonunda testosteronun tek başına klinik durumu belirtmede yetersiz olduğu açıkladı.Ayrıca serbest testosteron indeksin klinik durumu açıklamada total testostereona göre daha güvenli olduğu açıklandı.

Brannian ve arkadaşları, erkeklerde serbest androjen indeksin kullanılışlı bir marker olabirirliği üstüne bir makale yayımladılar (76). Çalışmayı 40 erkek ve 30 kadın üzerinde gerçekleştirdiler. Bireysel olarak denekler üzerinde anlamlı farklar olmasına rağmen, serbest testosteron ile serbest androjen indeksi birbiriyle korale olarak bulundu.Ayrıca serbest androjen indeksi, serbest testosteron ölümünde alternatif olabilecek maliyet efektif bir yöntem olarak sunulmaktadır.

Eden ve arkadaşları, yüksek serbest androjen indeksin polikistik over hastalığının belirtisi olabileceğini belirttiler (77). Yaptıkları çalışmada, oplikistik overin klasik semptomları meydana gelmeden bile, hastalarda serbest androjen indeksin artmış olarak bulunduğu saptanmıştır.

Urđl ve arkadaşlarının kadınlarda androjenizasyonda serbest androjen indeksin faydalılığı konusunda çalışma yapmışlardır (78). Androjenizasyon belirlileri olan 63 hastada, bu belirtilerin Őiddeti ile serbest androjen indeksi karşılaştırılmıştır.çalışma ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.Bu alışma belirtilerin Őiddetiyle serbest androjen indeksi arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur.Aynı zamanda bu bireylerde serbest testosteron düzeyleri de yüksek bulunmuştur.

Steck řu sebeplerden dolayı özellikle kadınlarda serbest androjen indeksin, klinik uygulamalarda serbest testosteron yerine kullanılmamasını belirtmiştir (79):

- ❑ Serbest androjen indeksin önceleri düşünülen normal değer, çalışmada bulunduğundan oldukça fazla çıkmıştır.Bu da serbest androjen indeksinin kesinliği hakkında ciddi Őüphelere yol açmıştır.
- ❑ Yaptığı çalışmada, serbest androjen indeksi değerleri kontrol grubu değerleri ile geniş overlapping göstermişlerdir.
- ❑ Serbest androjen indeksi ve serbest testosteron arasındaki uygun korelasyondan dolayı sadece serbest testosteron lerek serbest androjen indeksi hakkında bilgi edilebilir. Serbest testosteron için ikinci bir parametre gereksizdir.
- ❑ Serbest androjen indeksi ve SHBG vücut ağırlığından etkilenmektedir. Halbuki serbest testosteron ve total testosteronda böyle bir durum yoktur.

Kapoor ve arkadaşları serbest androjen indeksin erişkin erkekler için geçerli olmayacağını belirtmişlerdir (80). Yaptıkları çalışmada, serbest androjen indeksin kadınlarda hirsutizm değerlendirilmesi için kullanıldığı, daha sonra erkeklerde birçok durum için kullanılmaya başladığını belirtmişlerdir. Fakat erkeklerde kullanımı için standartların yeterince oluşturulmadığını belirtmişlerdir. Serbest androjen indeksin, kitle hareket kanunu ile hesaplanan değerinde, total testosteronun konsantrasyonunun SHBG'in bağlama kapasitesinin çok üzerinde olması gerektiği kabul, erişkin erkekler için uygun olmadığını belirtmişlerdir.

Vermeulen erkekdeki hipogonadizmi değerlendirmede serbest androjen indeksin yetersiz olduğunu belirtmiştir (81). alışmasında serbest testosteronun değerini ölçmede en iyi yol olarak denge diyaliz ve amonyum sülfat ile oktrme yöntemlerini belirtmektedir.Bunlar zaman alıcı ve otomatize sistemler olmadığından uygulamanın güçlüğünü belirtmiştir.çalışmasında serbest androjen indeksin yetersiz olduğunu belirtmiştir.

Sonuç:

Androjenlerden en önemlisi testostereondur. Androjen metabolizma bozukluklarında serbest testosteronun önemi ne çıkmaktadır.Serbest testosteron ölüm yöntemleri yeterince standartize edilmediklerinden yada uygulaması zor ve güvenli olmadığından, serbest testosteronun klinik teşhiste ve takipte yerini tutabilecek bir marker olarak serbest androjen indeksi ortaya atılmıştır. Genel bilgilerde de belirtildiği gibi, serbest androjen indeksi testosteron metabolizmasının içine girdiği pek çok klinik durumda sınınmıştır. Karşıt makaleler bulunmakla birlikte, pek çok durumda serbest testosteron ile uyum gösterdiği belirtilmiştir.Bununla birlikte bazı klinik durumlarda takip avantajları sağladığı da görülmüştür. Biz de klinik teşhis, geldiği klinik, yaş gibi özelliklerini dikkate almadan yapmış olduğumuz bu çalışmada, RIA ile ölçtüğümüz serum serbest testosteron değerini, serbest androjen indeksle kıyasladık. Çalışma sonucunda yapmış olduğumuz istatistiksel değerlendirmede, serbest testosteron ile serbest androjen indeks arasında ileri derecede anlamlı bir uyum olduğunu gördük.Ayrıca erkeklerin ve kadınlara sonuçlarını kendi içlerinde istatistiksel olarak değerlendirdiğimizde, her iki cinste de serbest testosteron ile serbest androjen indeks arasında ileri derecede anlamlı bir uyum olduğunu gördük. Serbest testosteron lme imkanı olmayan klinik uygulamalarda; serbest androjen indeksin, serbest testosteron yerine kullanılabileceğini önerebiliriz.

ÖZET

Yaptığımız bu çalışmada, kemilüminesans yöntemden elde ettiğimiz değerlerden hesapladığımız serbest androjen indeksi ile, radyoimmünoasseyden elde ettiğimiz serbest testosteron düzeylerini kıyaslamayı amaçladık.

Birçok biyokimyasal parametrede, parametrenin serbest kısmı en fazla aktif olanıdır. Serbest testosteron da androjen hormonlardan biyolojik olarak en aktif olanıdır. Eksikliği erkekde hipogonadizm, fazlalığı kadınlarda hirsutizm gibi klinik durumlara yol açabilmektedir. Serbest testosteron diğer bazı klinik durumlarda da araştırılmıştır.

Serbest testosteronun, referans ve diğer bazı güvenilir yöntemlerinin uygulamasının zorluğundan ve birçok laboratuvarında ölçülememesinden dolayı, onun yerini tutabilecek bir parametre olarak serbest androjen indeksi önerilmiştir.

Serbest androjen indeksi, total testosteronun SHBG'ye oranı olup; serbest testosteron düzeyiyle paralellik gösterdiğine dair birçok çalışma mevcuttur. Bu amaçla serbest androjen indeksi, serbest testosteron ile kıyaslanmış, bazı karşıt görüşler olmakla birlikte genel olarak tutarlılığı kabul görmüştür.

Serbest androjen indeksi bağımsız olarak da; kemik mineral yoğunluğu, polikistik over hastalığı, epilepsi ve saldırgan kişilik gibi bazı klinik durumlarda kullanılabilmesi için çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda da anlamlı bilgiler verebilmesi onun kullanım alanını genişletmiştir.

Bu çalışmamızda, topladığımız 92 hasta serumundan hesapladığımız serbest androjen indeksi ile RIA ile ölçtüğümüz serbest testosteron değerini kıyasladık . Hasta grubumuzu SSK Vakıf Gureba Hastanesi polikliniklerine başvuran hastalardan seçtik. Hasta seçimlerinde klinik teşhis ve geldiği poliklinik dikkate alınmadı. Hasta serumları 30 gün içinde topladı. Toplama işlemini belirtilen uygun koşullarda gerçekleştirildi. Gerekli parametreleri bir seferde çalışıldı. Total testosteron, SHBG'ni SSK Vakıf Gureba Hastanesinde; serbest testosteron SSK Okmeydanı Hastanesinde çalışıldı. Toplanan serumlarda total testesteron, SHBG kemilüminesans yöntemle ve serbest testesteron RIA ile çalışıldı

Bulduğumuz değerleri Windows 2000 SPSS 11.0 programını kullanarak, Pearson korelasyon analizi ile istatistiksel olarak kıyasladık. İstatistiksel çalışmada serbest androjen indeks ile serbest testosteron arasında anlamlı bir ilişki olduğu görüldü ($p<0.001$). Ayrıca çalışmaya dahil edilen erkekler ve kadınlar da kendi içerisinde istatistiksel olarak değerlendirildi .Serbest testosteron ile serbest androjen indeksi, kadınlarda erkeklerden daha iyi bir korelasyon göstermesine rağmen, her iki cinsiyette de anlamlı bir ilişki bulundu ($p<0.001$).

Bu çalışmanın sonunda, serbest testosteron ölçümünün yapılamadığı laboratuvarlarda, serbest androjen indeksinin serbest testosteron ölçümü yerine kullanılabilceği sonucuna varıldı.

SUMMARY

In our study, we aimed to compare the free androgen index calculated from data obtained from chemiluminescence assay and free testosterone level measured by radioimmunoassay.

In many biochemical parameters, the most potent part of the parameter is the free ones. Free testosterone is the most potent androgen as well. Deficiency of free testosterone in males and excessive production of it in females may cause some clinical states. Free testosterone has been investigated in some other clinical states as well.

Free androgen index is suggested instead of free testosterone because of difficulty to apply reference and some other reliable methods in many laboratories.

Free androgen index is the ratio of the total testosterone to SHBG. Although some other opposite opinion, there are many literature knowledge about positive correlation between free androgen index and serum free testosterone level.

There are some other studies in which free androgen index compared to some clinical states like bone mineral density, polycystic ovary, epilepsy and aggressive personality. Use of the free androgen index has been spread since significant positive correlation in these studies.

We compared calculated free androgen index and free testosterone levels measured by radioimmunoassay in 92 persons. We selected the persons among the outpatient patients applied the SSK Vakıf Gureba Training Hospital. We did not regard the patient's clinical diagnose, prognose or where patients came. Patients serums was collected in 30 days.

In collection period, serums were got defined appropriate ways. All parameters were measured at same time. Measurement of the total testosterone and SHBG was done in SSK Vakıf Gureba Training Hospital and free testosterone in SSK Okmeydanı Training Hospital. Total testosterone and SHBG levels was measured by chemiluminescence assay and free testosterone level measured by radioimmunoassay.

We compared the our results statistical by using Windows 2000 SPSS 11.0 programe with Pearson's correlation analyse. In statistical analyse; we found significant relations between free androgen index and free testosterone ($p < 0.001$). Males and females within sex also had positive correlations. Although females had better significant relations, males and females had significant relations within subgroups ($p < 0.001$)

At the end of the this study, we suggest that free androgen index may use instead of free testosterone in laboratories which not measue the free testosterone itself.

KAYNAKLAR

1-Wilson JD, Foster DW, editors:Williams textbook of endocrinology.Philadelphia: Saunders, 1992:923-6

2-Bond A, Davis C :Sex hormone binding globulin in clinical perspective.Acta Obstet Gynecol Scand 1987;66:255-62

3-Cunningham SK, Loughlin T, Culliton M, McKenna TJ. :The relationship between sex steroids and sex-hormone-binding globulin in plasma in physiological and pathological conditions. Ann Clin Biochem 1985;22:489-97

4-Belgorosky A, Escobar MF, Rivarola MA:Validity of the calculation of non-sex hormone binding globulin bound estradiol from total testosterone, total estradiol and sex hormone binding globulin concentrations in human serum. J Steroid Biochem. 1987 Oct;28 (4) :429-32

5-Blight LF, Judd SJ, White GH:Relative diagnostic value of serum non-SHBG-bound testosterone, free androgen index and free testosterone in the assesment of mild to moderate hirsutism. Ann Clin Chem 1989;35:1609-14

6-Morley JE, Patrick P, Perry HM 3rd :Evaluation of assays available to measure free testosterone. Metabolism. 2002 May; 51(5):554-9

- 7-Artur C.Guyton, John E.Hall:** Textbook of Medical Physiology;W.B. Saunders International edition,1996
- 8-Bertram G. Katzung, Anthony J. Trevor:** Pharmacology; Appleton&Lange, International edition, 1995
- 9-Norbert W.Tietz:** Fundamentals of Clinical Chemistry;W.B.Saunders,International edition, 1987
- 10-Carl A.Burtis, Edward R.Aswood:**Tietz Testbook of Clinical Chemistry; W.B.Saunders, International edition,1994
- 11-Robert K.Murray, Daryl K.Granner, Peter A.Mayers, Victor W.Rodwell:** Harper's Biochemistry;Appleton&Lange, International edition, 1993
- 12-Steroid Hormones and Receptors:**www.med.unibs.it/marchesi/sterhorm.html
- 13- Ooi DS, Innanen VT, Wang D, Chong GL, Donnelly JG, Arseneault JJ, Pronovost C, Wells G. :**Establishing reference intervals for DPC's free testosterone radioimmunoassay.Clin Biochem 1998;31:15-21
- 14-Vermeulen, Verdonck, Kaufman:** Journal of Clinic Endocrinology:1999;84:3666
- 15-Leo Vankrieken:**Testosterone and the Free Androjen Index; www.dpcwep.com DPC,1997
- 16-Haning RV Jr, Carlson IH, Shapiro SS, Nolten WE :**Testosterone free index correlates best with dehydroepiandrosterone sulfat. Fertil Steril. 1981 Dec;36 (6):757-65
- 17-Ruutiainen K, Sannikka E, Santti R, Erkkola R, Adlercreutz H :**Salivary testosterone in hirsutism: correlations with serum testosterone and the degree of hair growth. J Clin Endocrinol Metab. 1987 May;64 (5):1015-20
- 18-Rucker D, Ezzat S, Diamandi A, Khosravi J, Hanley DA :**IGF-1 and testosterone levels as predictors of bone mineral density in healthy, community dwelling men. Clin Endocrinol (Oxf). 2004 Apr;60 (4):491-9
- 19-Maturana MA, Spritzer PM :**Association between hyperinsulinemia and endogenous androgen levels in peri and post menopausal women. Metabolism. 2002 Feb; 51 (2):238-43
- 20-Corssmit EP, Endert E, Sauerwein HP, Romijn JA :**Acute effects of interferon-alpha administration on testosterone concentration in healty men. Eur J Endocrinol. 2000 Sep; 143 (3): 371-4

21-Ibanez L, Potau N, Ong K, Dunger DB, De Zegher F :Increased bone mineral density and serum leptin in non-obese girls with precocious pubarche: relation to birtweight and hyperinsulinism. *Horm Res.* 2000;54 (4): 192-7

22-Willoughby DS, Taylor L :Effects of sequential bouts of resistance exercise on androgen receptor expresion. *Med Sci Sports Exerc.* 2004 Sep;36 (9):1499-506

23-Eden JA, Carter GD, Jones J, Alagband-Zadeh J, Pawson M :Factor influencing the free androjen index in a group of subfertile women with normal ovaries. *Ann Clin Biochem.* 1988 Jul; 25 (Pt4): 350-3

24-Gryngarten M, Bedecarras P, Ayuso S, Bergada C, Campo S, Escobar ME :Clinical assesment and serum hormonal profile in prepubertal hypertrichosis. *Horm Res.* 2000; 54 (1): 20-5

25-Gillberg P, Johansson AG, Ljunghall S :Decreased estradiol levels and free androgen index elevated sex hormone binding globulin levels in male idiopathic osteoporosis. *Calsif Tissue Int.* 1999 Mar;64 (3):209-13

26-Rexrode KM, Manson JE, Lee IM, Ridker PM, Sluss PM, Cook NR, Burning JE :Sex hormone levels and risk of cardiovascular events in postmenopausal women. *Circulation.* 2003 Oct 7 ; 108 (14):1688-93

27-Imani B, Eijkemans MJ, de Jong FH, Payne NN, Bouchard P, Giudice LC, Fauser BC :Free androjen index and leptin are the most prominent endocrine predictors of ovarian response during clomiphene citrate induction of ovulation in normogonadotropic oligoamenorrhic infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Feb; 85 (2) : 676-82

28-Pennanen C, Laakso MP, Kivipelto M, Ramberg J, Soininen H :Serum testosterone levels in males with Alzheimer's diseases. *J Neuroendocrinol.* 2004 Feb;16 (2): 95-8

29-Scopacasa F, Horowitz M, Wishart JM, Morris HA, Chatterton BE, Need AG :The relation between bone density , free androgen index and estradiol in men to 60 to 70 years old. *Bone* 2000 Jul; 27 (1): 145-9

30-Svarvas F, Regenyi J, Toth I, Faredin I :Increased androgen binding capacity and decreased free androgen index in male alcoholics with liver diseases. *Ovr Hetil.* 1989 Jul 23; 130 (30):1597-601

- 31-Majdan M, Kotarski J, Ksiazek A, Grzebalska A :**Relationship between some prognostic markers of HD patients and serum erythropoietin, IGF-1, leptin, parathormone and testosterone. *Int Urol Nephrol.* 1999; 31 (4): 563-9
- 32-Mudali S, Dobs AS, Ding J, Cauley JA, Szklo M, Hill Golden S :** Endogenous post-menopausal hormones and serum lipids :the atherosclerosis risk in communities study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Nov 16;(Epub ahead of print)
- 33-Aluja A, Torrubia R :**Hostility-aggressiveness, sensation seeking and sex hormones in men:re-exploring their relationship. *Neuropsychobiology.* 2004;50 (1):102-7
- 34-Duncan S, Blacklaw J, Beastall GH, Brodie BJ :**Antiepileptic drug therapy and sexual function in men with epilepsy. *Epilepsia.* 1999 Feb; 40 (2): 197-204
- 35-Calgary Laboratory Services:**www.calgarylabservices.com
- 36-London Laboratory Services Group:**www.lhsc.on.ca
- 37-Thomas E.Andreoli, J.Claude Bennett, Charles J.Carpenter, Fred Plum, Lloyd H.Smith,Jr:** Cecil Essentials of Medicine;W.B.Saunders,1995
- 38-Richard E. Behrman, Robert M.Kliegmen:** Nelson Essentials of Pediatrics; W.B.Saunders 1994:251
- 39-Pamela C.Champe, Richard A.Harvey:** Lippincott's Biochemistry. Türkçe Çevirisi;Nobel Tıp Kitabevi,1996
- 40-Kricka, L.J.:**Ligand-Binder Assays. New York, Marcel Dekker, Inc., 1985
- 41-Price C.P., Newman D.J., Eds.:**Principles and Practice of Immunoassay. New York, Stockton Press, 1991
- 42-Prof. Dr.Bahattin Adam:**Laboratuvar Aletleri;Nobel Yayın Dağıtım;2000;149-152
- 43-Gosling J.P.:**A decade of development in immunoassay methodology.*Clin. Chem.*, 36:1408-1427,1990
- 44-Avrameas S, Ternynck T, Gueston JL.:**Coupling of enzymes to antibodies and antigens.*Scand.J.Immunol.*,(Suppl. 7):7-23,1978
- 45-Lindbladh C , Persson M , Bulow L:**The design of a simple competitive ELISA using human proinsulin-alkaline phosphatase conjugates prepared by gene fusion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*,149:607-614,1987.
- 46-Carl A Burtis, Edward R Ashwood:**Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry (Klinik Kimyada Temel İlkeler, Orijinal 5. baskıdan çeviri; Çevri editörü:Prof.Dr.Diler Aslan 2005,Palme Yayınları):189

- 47-Rubenstein KE, Schneider RS, Ullman EF:**Homogenous enzyme immunoassay:new immunochemical technique.Biochem Biophys Res Commun 1972;47:846-851
- 48-Nakamura RM, Kasahara Y, Rechnitz GA:**Immunochemical Assay and Biosensor Technology for the 1990s. Washington,DC, American Association for Microbiology,1992
- 49-Price CP, Newman DJ:**Principles and Practice of Immunoassay,2nd edition, New York,Stockton Press,1997
- 50- Blackburn GF, Shah HP, Kenten JH, Leland J, Kamin RA, Link J, Peterman J, Powell MJ, Shah A, Talley DB :**Electrochemiluminescence detection for development of immunoassays and DNA probe assays for clinical diagnostics.Clin Chem 1991;37:1534-1539
- 51-Robert E Henkin:**Nuclear Medicine;Mosby,1991:472-484
- 52-Yalow RS, Berson SA:**Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods,Nature 184:1648-1652,1959
- 53-Ekins RP:**The estimation of thyroxine in human plasma by anelectrophoretic technique,Clin Chim Acta 5:453-458,1960
- 54-Weeks I, Woodhead JS :**Chemiluminescence immunoassay,J. Clin.Immunoassay 7 (1):82,44-47,1984
- 55-Berson SA, Yalow RS:** Immunoassay of endogenous plasma insulin in man, J. Clin Invest 39:1157-1160, 1960
- 56-Khatoun S., Grundki-Iqbal I., Iqbal K.:**Brain levels of microtubules-associated protein tau are elevated in Alzheimer's Disease: a radioimmunoassay-slot-blot assay for nanograms of the protein,J Neurochem 59 (2): 750-753,1992
- 57-Laquerriere A , Leroux P ,Gonzales B:**Somatostatin receptors in the human cerebellum during development,Brain Res 573 (2) :251-259,1992
- 58-Savige JA ,Davies DJ :**Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, Aust NZ J Med 20 (3):271-274,1990
- 59-Doç.Dr.Mustafa Demir:**Nükleer Tıp Fiziği;İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları,2000
- 60-Picardo M, Hughes KT :**Scintillation proximity assays. In Devlin JP : High Throughput Screening,pp 307-316,New York, Marcel Dekker,1997
- 61-Saffron Whitehead:**Assesing Endocrine Function:www.addison.ac.uk

62-Immulate 2000 Total Testosteron Kit Manuel:Diagnostic Products Corporation PIL2KTT-9,2002

63-Cockcroft DW, Gault MH :Prediction of creatinin clearance from serum creatinin. Nefrone.1976;16(1):31-41

64-Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM :A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. J Clin Endocrinology Metab 1999 Oct;84(10):3666-72

65-Crist-Crain M, Meier C, Huber P, Zimmerli L, Trummler M, Muller B : Comparasionof different methods for the measurement of serum testosterone in the aging male. Swiss Med Wkly .2004 April 3; 134 (13-14):193-7.

66-Miller KK, Rosner W, Lee H, Hier J, Sesmilo G, Schoenfeld D, Neubauer G, Klibanski A :Measurement of free testosterone in normal women and women with androgen deficiency: comparison of methods.,J Clin Endocrinology Metab.2004 Feb.89 (2):525-33

67-Carlstrom K, Gershagen S, Rannevik G :Free testosterone and testosterone/SHBG index in hirsute women: a comparison of diagnostic accuracy. Gynecol Obstet Invest .1987 ;24 (4):256-61

68-Kim MR, Gupta MK, Travers SH, Rogers DG, Van Lente F, Faiman C : Serum prostate antigen, sex hormone binding globulin and free androgen index as markers of pubertal developmentin boys. Clin Endocrinology (Oxford).1999 Feb ;50(2):203-10

69-Morris PD, Malkin CJ, Channer KS, Jones TH :A mathematical comparison of techniques to predict biologically available testosterone in a cohort of 1072 men. Eur J Endocrinol.2004 Aug;151(2):241-9

70-Morimoto I, Izumi M, Nagataki S, Iwasaki H, Hakariya S :Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi. 1986 Jul 20; 62 (7): 797-806

71-Qiao FY, Lauritzen C :Significance of sex hormone binding globulin and free androgen index in the estimation of androgenic cases. J Tongji Med Univ. 1990 ;10(2):124-8

72- Wilke TJ, Utley DJ :Total testosterone, free androjen index, calculated free testosterone and free testosterone by analog RIA compared in hirsute women and in otherwise –normal women with altered binding of sex-hormone-binding globulin.Clin Chem. 1987 Aug; 33(8):1372-5

73-Nanjee MN, Wheeler MJ :Plasma free testosteron –is an index sufficient? Ann Clin Biochem. 1985 Jul;22 (Pt4):387-90

- 74-Clark AF, Marcellus S, deLory B, Bird CE** :Plasma testosterone free index: a better indicator of plasma androgen activity? *Fertil Steril.* 1975 Oct ; 26 (10) 1001-5
- 75-Carter GD, Holland SM, Alagband-Zadeh J, Rayman G, Dorrington-Ward P, Wise PH** :*Ann. Clin Biochem.* 1983 Sep 20 (Pt5): 262-3
- 76-Brannian JD, Long P, Kreger DO** :Is the free androgen index a useful clinical marker in male patients? *S D J Med.* 1988 Dec;51 (12) :449-51
- 77-Eden JA, Place J, Carter GD, Jones J, Alagband-Zadeh J, Pawson M** : Elevated free androgen index as an indicator of polycystic ovaries in oligomenorrhoea without obesity hirsuties. *Ann Clin Biochem.* 1988 Jul; 25 (Pt4):346-9
- 78-Urdl W, Schweditsch MO, Kowatsch AW, Tscherne G, Purstner P, Haas J** :Value of laboratory parameters in androgenization in the female with special reference to the free androgen index. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 1986 Oct; 46 (10):743-7
- 79-Steck T, Wernze H** :Is determination of the free androgen index for hormone screening in polycystic ovaries of value? *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch.* 1993; 33 (3) : 173-9
- 80-Kapoor P, Luttrell BM, Williams D** :The free androgen index is not valid for adult males. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1993 Apr; 45 (4):325-6
- 81-Vermeulen A, Kaufman JM** :Diagnosis of hypogonadism in the aging male. *Aging male .* 2002 Sep; 5(3):170-6

