



**GENÇ ERİŞKİN BİREYLERDE STRESE BAĞLI TÜKÜRÜK  
KORTİZOL VE AMİLAZ DÜZEYLERİNİN FARKLI BİYOKİMYASAL  
ANALİZ YÖNTEMLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**RABİA ŞEMSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
01/2019-07 proje sözleşme numarası ile desteklenmektedir**

**NİSAN 2019**

Rabia ŞEMSİ tarafından hazırlanan "GENÇ ERİŞKİN BİREYLERDE STRESE BAĞLI TÜKÜRÜK KORTİZOL VE AMİLAZ DÜZEYLERİNİN FARKLI BİYOKİMYASAL ANALİZ YÖNTEMLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL

Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

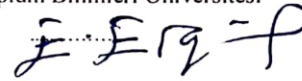
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



İkinci Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Erdal ERGÜNOL

Diş Hekimliği Fakültesi Ağız ve Çene Cerrahisi Kıbrıs Sağlık ve Toplum Bilimleri Üniversitesi

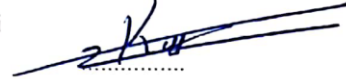
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan: Prof. Dr. Levent KAYRIN

Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Girne Üniversitesi

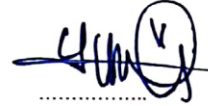
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Prof. Dr. Yeşim ÖZKAN

Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye: Prof. Dr. Funda KOSOVA

Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, Celal Bayar Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 30/04/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....  
Prof. Dr. Mustafa ASLAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
  - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

RABİA ŞEMSİ

30.04.2019

# GENÇ ERİŞKİN BİREYLERDE STRESE BAĞLI TÜKÜRÜK KORTİZOL VE AMİLİZ DÜZEYLERİNİN FARKLI BİYOKİMYASAL ANALİZ YÖNTEMLERİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

RABİA ŞEMSİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2019

## ÖZET

İnsanda başlıca glukokortikoid hormon olan kortizol, stres ve anksiyeteye bağlı olarak CRH ve ACTH artışı sonrasında uyarılır ve diurnal ritim gösterir. Organizmanın strese yanıtının dışında, enerji metabolizması, lipid ve protein metabolizması, anti inflamatuvar etkisi, tiroit fonksiyonları, lökositlerin fonksiyonu ve hareketi gibi birçok yaşamsal faaliyetlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Kortizol düzeyinin değişmesi pek çok patolojik durumla ilişkilidir. Tükürük de bulunan en önemli enzimlerden biri  $\alpha$ -amilaz (sAA)'dır. Kortizol dışında strese bakılan diğer bir faktör sAA'dır. Amilaz yiyeceklerdeki karbonhidratların parçalanmasında görev alır. Ayrıca tükürükte bulunan elektrolitler ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  ve  $\text{PO}_4^{-3}$ ) ile periodontal hastalıklar gibi birçok hastalığın teşhisi konulabilmektedir. Tükürük gibi biyolojik sıvılardaki kortizol ve sAA düzeylerinin ölçümü, geleneksel olarak ELİZA ve immunoassay yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Kullanılan bu yöntemlerin pratik olması ve veriminin yüksek olması avantajlarındandır. Ancak immunoassay yöntemlerinde kortizol ölçümünde sentetik glukokortikoidlerin interferansı bulunmaktadır. Bu sınırlamadan dolayı yeni bir yöntem olarak bir biyosensör tasarlanmıştır. Biyosensörler daha hızlı, düşük maliyet ve yüksek algılamaya sahiptir. Bu çalışmada genç erişkin bireylerde stresin oluşturduğu metabolik değişikliğin tükürük kortizol ve amilaz düzeylerinin üç farklı analitik yöntem ile ölçülerek elde edilen değerlerin ve bu ölçüm yöntemlerinin tükürük numunesi kullanılarak stres biyokimyasının değerlendirilmesinde birbirine olan üstünlüklerinin karşılaştırılması amaçlandı. Kıbrıs Sağlık ve Toplum Bilimleri Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi öğrencileri genç erişkin birey grubunu oluşturdu ( $n=23$ ). Tükürük örnekleri sabah 08.00-09.00 saatleri arası, öğle (sınav öncesi) 12.00 ve sınav sonrası 14.00-15.00 saatleri arasında toplanarak ilk 48 saat içinde çalışıldı, dondurma/çözdürme yapılmadı. Tüm örneklerden kortizol düzeyleri Diametra-Immunodiagnostic Systems marka Kortizol Saliva ELIZA kiti, kemilüminesans prensibi ile çalışan otoanalizör (Beckmann Coulter DxI 800) ve biyosensör yöntemleriyle çalışıldı. Hazırlanan biyosensör özelliği Poly Hema-MAC modifiye altın elektrot üzerindeki kortizol spesifik antikor glutaraldehit ile çapraz bağlanmayı içermektedir. Optimizasyon çalışmaları sırasında optimum antikor, nanopolimer ve glutaraldehit derişimleri belirlendi. Karakterizasyon çalışmalarında tekrarlanabilirlik, doğrusal ölçüm aralığı çalışmaları yapıldı. Kortizol için biyosensör ölçümleri 0,28 V'da elde edilen anodik pik ile diferansiyel puls voltametriyle alınırken, amilaz için biyosensör okuması yapılamamıştır. Bu çalışmada tükürük kortizol ve amilaz düzeylerinin farklı yöntemler ile ölçümü sonrasında, yöntemler arasındaki ilişki incelenmiştir. Biyosensör yönteminin düşük maliyet, hızlı sonuç, özgüllük özellikleri dikkate alındığında sıklıkla kullanılan ELİZA ve otoanalizör yöntemlerine göre, yüksek algılama, bilgi geçerliliği yönleri ile alternatif analitik yöntem olarak sunabileceğimizi düşünmekteyiz.

|                   |   |                                                         |
|-------------------|---|---------------------------------------------------------|
| Bilim Kodu        | : | 1010                                                    |
| Anahtar Kelimeler | : | Tükürük, Kortizol, $\alpha$ -amilaz, Stres, Biyosensör, |
| Sayfa Adedi       | : | 135                                                     |
| Danışman          | : | Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL                           |
| İkinci Danışman   | : | Dr. Öğretim Üyesi Erdal ERGÜNOL                         |

# THE EVALUATION OF YOUNG ADULTS SALIVA CORTISOL AND AMYLASE LEVELS RELATED WITH STRESS RESPONSE COMPARED BY DIFFERENT ANALYTICAL METHODS

(M. Sc. Thesis)

RABİA ŞEMSİ

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

April 2019

## ABSTRACT

Cortisol, the main glucocorticoid hormone in humans, is stimulated by stress and anxiety after CRH and ACTH increase and shows diurnal rhythm. Apart from the response of the organism to stress, it plays a role in the regulation of many vital activities such as energy metabolism, lipid and protein metabolism, antiinflammatory effect, thyroid functions, function and movement of leukocytes. The change in cortisol level is associated with many pathological conditions. One of the most important enzymes found in saliva is sAA ( $\alpha$ -amylase). Another factor that is observed in stress other than cortisol is sAA. Amylase is involved in the breakdown of carbohydrates in foods. In addition, salivary electrolytes ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$   $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ) wital many diseases such as periodontal diseases can be diagnosed. The measurement of cortisol and sAA levels in biological fluids such as saliva is traditionally performed by ELISA and immunoassays. The advantages of this method is that it is practical and highly in efficienct. However, there is interference from synthetic glucorticoids in the measurement of cortisol in immunoassay methods. Due to this limitation, a biosensor is designed as a new method. Biosensors have a faster, lower cost and higher detection. In this study, it was aimed to compare the values of the salivary cortisol and amylase levels of the metabolic changes caused by stress in young adults individuals by using three different analytical methods and the advantages of these measurement methods in the evaluation of stress biochemistry by using saliva samples. The students of the Faculty of Dentistry of the Cyprus Health and Social Sciences University were formed the group of young adults individuals (n=23). Saliva samples were collected between 08.00 and 09.00 am, noon at 12.00 and after the exam between 14.00-15.00, during the first 48 hours, no freezing/thawing was done. Cortisol levels of all samples were studied by Diametra-Immunodiagnostic Systems brand Cortizol Saliva ELISA kit, chemiluminescence principle working with autoanalyzer (Beckmann Coulter Dxi 800) and biosensor methods. In the prepared biosensor, the cortisol specific antibody on the Poly Hema-MAC modified gold electrode is cross-linked with glutaraldehyde. Optimum antibody, nanopolymer and glutaraldehyde concentrations were determined during optimization studies. In the characterization studies, repeatability and linear measurement range studies were performed. While biosensor measurements for cortisol were taken with anodic peak at 0.28 V and differential pulse voltammetry, this method was not found to be appropriate because samples could bot be read for amylase. In this study, the relationship between salivary cortisol and amylase levels and different methods was investigated. Considering the low cost, fast results and specificity characteristics of the biosensor method, we suggest that detection/information effectiveness as compared to conventional determination method ELISA, we can be offered this technique as an alternative method.

|                 |   |                                                        |
|-----------------|---|--------------------------------------------------------|
| Science Code    | : | 1010                                                   |
| Key Words       | : | Saliva, Cortisol, $\alpha$ -amylase, Stress, Biosensor |
| Number of Pages | : | 135                                                    |
| Advisor         | : | Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL                          |
| Co-Advisor      | : | Assist. Prof. Dr. Erdal ERGÜNOL                        |

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen, her konuda rahatlıkla ulaşım danıştığım, tezimin belirlenmesinde ve yürütülmesinde büyük yardımlarını gördüğüm, bilgi birikimi, bakış açısı ve eğitime verdiği destek ile kendime örnek aldığım, sevgi, saygı ve insanlık gibi değerlerin varlığını her daim hissettiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL'e,

Tez çalışmamda kullandığım numuneleri toplamam da yardımcı olan ve bu süreçte her türlü konuda yardımını esirgemeyen, bilimsel desteği ve sağladığı olanaklar için sevgili ikinci danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Erdal ERGÜNOL'a,

Tez süresince, laboratuvar çalışmaları başta olmak üzere birçok konuda yardımlarını esirgemeyen ve son ana kadar yanımda bulunarak bana destek olan değerli arkadaşlarım Ar. Gör. Umut KÖKBAŞ'a ve Dr. Burak ARSLAN'a,

Hayatım boyunca bana her konuda destek olan, varlıkları sayesinde kendimi çok şanslı hissettiğim, karşılıksız sevgileri, sonsuz hoşgörü ve sabırlarıyla her zaman yanımda olan, annem Saadet ŞEMSİ, babam Ziya ŞEMSİ ve babaannem Melahat ŞEMSİ'ye

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

RABİA ŞEMSİ

## İÇİNDEKİLER

|                                                                    | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------|-------|
| ÖZET.....                                                          | IV    |
| ABSTRACT.....                                                      | V     |
| TEŞEKKÜR.....                                                      | VI    |
| İÇİNDEKİLER.....                                                   | VII   |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....                                            | XI    |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....                                          | XIV   |
| SİMGELER ve KISALTMALAR.....                                       | XVI   |
| 1. GİRİŞ.....                                                      | 1     |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                             | 4     |
| 2.1. Tükürük .....                                                 | 4     |
| 2.2. Tükürük Akışı .....                                           | 5     |
| 2.2.1. Tükürük bezlerinin anatomisi .....                          | 5     |
| 2.3. Tükürük Salgılanması... ..                                    | 9     |
| 2.4. Tükürükte Bulunan Biyobelirteçler... ..                       | 9     |
| 2.5. Tükürükte Bulunan İyonlar .....                               | 13    |
| 2.5.1. Tükürükte bulunan iyonların sekresyonu (salgılanması) ..... | 14    |
| 2.5.2. Akış hızı... ..                                             | 16    |
| 2.5.3. Tükürük tamponlama kapasitesi... ..                         | 18    |
| 2.6. Tükürük Vizkozitesi.....                                      | 19    |
| 2.6.1. Müsinler .....                                              | 20    |
| 2.6.2. Prolin bakımından zengin proteinler (PRP'ler).....          | 20    |
| 2.7. Tükürük Antimikrobiyal Proteinleri .....                      | 21    |
| 2.7.1. Tükürük immunoglobulinleri... ..                            | 21    |
| 2.7.2. Salgı immün yanıtlarının uyarılması... ..                   | 21    |
| 2.7.3. Tükürük immunoglobulinlerin özellikleri... ..               | 21    |
| 2.7.4. İmmunoglobulin olmayan proteinler .....                     | 22    |
| 2.7.5. Tükürük antimikrobiyal faktörler ve ağız sağlığı... ..      | 25    |
| 2.8. Tükürük Albumini.....                                         | 25    |
| 2.9. Üre.....                                                      | 26    |
| 2.10. Tükürük $\alpha$ - Amilazı.....                              | 27    |
| 2.10.1. $\alpha$ -Amilazı etkileyen faktörler .....                | 28    |

|                                                                     | <b>Sayfa</b> |
|---------------------------------------------------------------------|--------------|
| 2.10.2. Stres.....                                                  | 29           |
| 2.11. $\alpha$ -Amilaz Ölçümü için Kullanılan Yöntemler.....        | 32           |
| 2.11.1. Nişasta-iyodin yöntemi.....                                 | 32           |
| 2.11.2. CNPG3 yöntemi.....                                          | 32           |
| 2.11.3. DNS yöntemi.....                                            | 32           |
| 2.12. Tükürükte Hormonlar.....                                      | 33           |
| 2.12.1. Hormonların tükürük içerisine taşınması.....                | 33           |
| 2.12.2. Steroid hormonlar.....                                      | 33           |
| 2.13. Adrenal Bez Anatomisi ve Biyokimyası.....                     | 34           |
| 2.13.1. Adrenal korteks hormonların kimyasal yapısı.....            | 36           |
| 2.14. Glukokortikoidler.....                                        | 38           |
| 2.14.1. Glukokortikoidlerin biyokimyasal mekanizması.....           | 38           |
| 2.15. Kortizol Sentezi ve Düzenlenmesi.....                         | 39           |
| 2.15.1. Kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH).....                 | 43           |
| 2.15.2. Adrenokortikotropin hormon (ACTH).....                      | 43           |
| 2.15.3. Nöroendokrin kontrol.....                                   | 44           |
| 2.16. Kortizolün Plazmada Taşınması.....                            | 46           |
| 2.16.1. Kortikosteroid bağlayıcı globulin.....                      | 46           |
| 2.16.2. Albumin.....                                                | 47           |
| 2.17. Kortizolün Metabolizması.....                                 | 47           |
| 2.17.1. $11\beta$ -HSD.....                                         | 47           |
| 2.17.2. A-halka redüktazları.....                                   | 48           |
| 2.17.3. Polar steroidler.....                                       | 49           |
| 2.18. Kortizolün Biyolojik Etkileri ve Etki Mekanizması.....        | 50           |
| 2.18.1. Kortizolün fizyolojik etkileri.....                         | 50           |
| 2.19. Kortizol ile ilişkili hastalıklar.....                        | 51           |
| 2.19.1. Adrenokortikol yetmezlik hastalıkları.....                  | 51           |
| 2.19.2. Cushing sendromu.....                                       | 53           |
| 2.20. Kortizolün Ölçümü.....                                        | 53           |
| 2.20.1. Kortizol ölçümünde kullanılan yöntemler ve prensipleri..... | 53           |
| 2.20.2. Kortizol referans aralıkları.....                           | 54           |

|                                                                        | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 2.21. Metotların Tanımlanması .....                                    | 55           |
| 2.21.1. Enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELİZA) ölçüm yöntemi..... | 55           |
| 2.21.2. Otoanalizör (Beckman Coulter Dxl 800).....                     | 56           |
| 2.21.3. Biyosensör.....                                                | 57           |
| 2.22. Metot Validasyonu.....                                           | 61           |
| 2.22.1. Doğruluk (Accuracy).....                                       | 61           |
| 2.22.2. Kesinlik (Precision).....                                      | 62           |
| 2.22.3. Duyarlılık... ..                                               | 63           |
| 2.22.4. Analitik özgüllük.....                                         | 63           |
| 2.22.5. Analitik aralık.....                                           | 63           |
| 2.22.6. Tayin sınırı... ..                                             | 63           |
| 2.22.7. Geri Kazanım .....                                             | 63           |
| 2.22.8. Girişim (İnterferans).....                                     | 64           |
| 2.22.9. Taşıma (Carryover) .....                                       | 64           |
| 2.22.10. Matriks etkisi.....                                           | 64           |
| 2.22.11. Yöntem karşılaştırma .....                                    | 64           |
| <b>3. MATERYAL ve METOT.....</b>                                       | <b>65</b>    |
| 3.1. Tükürük Örneklerinin Toplanması.....                              | 65           |
| 3.2. Kullanılan Cihaz, Malzemeler ve Kitler... ..                      | 66           |
| 3.2.1. Cihazlar .....                                                  | 66           |
| 3.2.2. Kimyasallar... ..                                               | 67           |
| 3.2.3. Kullanılan çözeltiler... ..                                     | 67           |
| 3.2.4. Kitler... ..                                                    | 67           |
| 3.3. Analiz yöntemleri.....                                            | 68           |
| 3.3.1. ELİZA .....                                                     | 68           |
| 3.3.2. Otoanalizör (Beckman Coulter Dxl 800).....                      | 68           |
| 3.3.3. Biyosensör.....                                                 | 69           |
| 3.4. Metot Karşılaştırma Çalışması .....                               | 70           |
| 3.5. İstatistiksel Analiz .....                                        | 71           |
| <b>4. BULGULAR.....</b>                                                | <b>73</b>    |
| 4.1. Kortizol Eliza Yöntemi için Kalibrasyon Eğrisi.....               | 73           |

|                                                                            | <b>Sayfa</b> |
|----------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 4.2. Amilaz Eliza Yöntemi için Kalibrasyon Eğrisi.....                     | 84           |
| 4.3. Eliza, Otoanalizör ve Biyosensör Yöntemlerinin Karşılaştırılması..... | 86           |
| 4.3.1. Eliza ve otoanalizör yöntemlerinin karşılaştırılması.....           | 86           |
| 4.3.2. Eliza ve biyosensör yöntemlerinin karşılaştırılması.....            | 89           |
| 4.3.3. Otoanalizör ve biyosensör yöntemlerinin karşılaştırılması...        | 92           |
| 5. TARTIŞMA.....                                                           | 105          |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....                                                  | 109          |
| KAYNAKLAR.....                                                             | 111          |
| EKLER.....                                                                 | 127          |
| EK 1: Etik Kurul Onayı.....                                                | 128          |
| EK 2: Araştırma Anket Formu.....                                           | 131          |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                              | 132          |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil                                                                                                             | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. Submandibuler, sublingual ve parotis tükürük bezlerinin anatomik olarak gösterimi.....                 | 5     |
| Şekil 2.2. Submandibuler ve sublingual tükürük bezlerinin anatomisi.....                                          | 6     |
| Şekil 2.3. Parotis tükürük bezinin anatomisi.....                                                                 | 7     |
| Şekil 2.4. Tükürük bezlerinin hücresel yapısı .....                                                               | 8     |
| Şekil 2.5. Tükürük sekresyonunun şematik gösterimi .....                                                          | 15    |
| Şekil 2.6. Tükürük akış hızının pH üzerine etkisi .....                                                           | 17    |
| Şekil 2.7. Stephan eğrisi.....                                                                                    | 26    |
| Şekil 2.8. Tükürük $\alpha$ -amilazın yapısı .....                                                                | 27    |
| Şekil 2.9. Stres hormonlarının salgı mekanizmaları .....                                                          | 30    |
| Şekil 2.10. Adrenokortikal hormonların böbreküstü bezi korteksinin farklı bölgelerinden salınımı.....             | 36    |
| Şekil 2.11. Siklopentanoperhidrofenantren halka yapısı.....                                                       | 36    |
| Şekil 2.12. Steroid hormonlarında ortak yapıları ve numaralandırılması... ..                                      | 37    |
| Şekil 2.13. Kolesterolün yapısı .....                                                                             | 37    |
| Şekil 2.14. Kortizolün moleküler yapısı .....                                                                     | 39    |
| Şekil 2.15. Kortizol sentez basamakları... ..                                                                     | 40    |
| Şekil 2.16. Adrenal korteksin mitokondri ve endoplazmik retikulum enzimleri tarafından kortizol biyosentezi... .. | 41    |
| Şekil 2.17. Adrenal korteksin spesifik bölgelerinde steroid sentezi.....                                          | 42    |
| Şekil 2.18. Proopimelanakortin ana molekülü ve yıkım ürünleri... ..                                               | 43    |
| Şekil 2.19. HPA stres yanıtı... ..                                                                                | 44    |
| Şekil 2.20. Feedback bildirim mekanizması... ..                                                                   | 45    |
| Şekil 2.21. Kortizol metabolizmasının metabolitleri... ..                                                         | 49    |
| Şekil 2.22. 21-hidroksilaz eksikliğindeki kortizol üretim defekti.....                                            | 52    |
| Şekil 2.23. Yarışmalı ELİZA kit çalışma prensibi .....                                                            | 55    |

| Şekil                                                                                                                                | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.24. Sandviç ELİZA kit çalışma prensibi.....                                                                                  | 56    |
| Şekil 2.25. Biyosensörün şematik gösterimi... ..                                                                                     | 57    |
| Şekil 3.1. Tükürük toplama kabı (SARSDERT marka)... ..                                                                               | 65    |
| Şekil 3.2. Immunoassay cihazlarda kullanılan kemilüminesans yöntem... ..                                                             | 69    |
| Şekil 4.1. Kortizol için kalibrasyon grafiği... ..                                                                                   | 73    |
| Şekil 4.2. Kullanılan yöntemlere göre tükürük ortalama kortizol değerlerine ait grafikler .....                                      | 81    |
| Şekil 4.3. Yöntemler arasındaki farklı korelasyon durumları... ..                                                                    | 83    |
| Şekil 4.4. Amilaz için kalibrasyon grafiği.....                                                                                      | 84    |
| Şekil 4.5. Kortizol sonuçlarının ELİZA ve otoanalizör yöntemleri arasındaki Bland-Altman grafiği... ..                               | 87    |
| Şekil 4.6. ELİZA ve otoanalizör verilerinin dağılım grafiği... ..                                                                    | 87    |
| Şekil 4.7. ELİZA ve otoanalizöre ait regresyon grafiği... ..                                                                         | 89    |
| Şekil 4.8. Kortizol sonuçlarının ELİZA ve biyosensör yöntemleri arasındaki Bland-Altman grafiği... ..                                | 90    |
| Şekil 4.9. ELİZA ve biyosensör verilerinin dağılım grafiği... ..                                                                     | 90    |
| Şekil 4.10. ELİZA ve Biyosensöre ait regresyon grafiği... ..                                                                         | 92    |
| Şekil 4.11. Kortizol sonuçlarının otoanalizör ve biyosensör yöntemleri arasındaki Bland-Altman grafiği... ..                         | 93    |
| Şekil 4.12. Otoanalizör ve biyosensör verilerinin dağılım grafiği... ..                                                              | 93    |
| Şekil 4.13. Otoanalizör ve biyosensöre ait regresyon grafiği... ..                                                                   | 95    |
| Şekil 4.14. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama sodyum ( $\text{Na}^+$ ) (mg/dL) değerlerinin box-plot grafiği.....      | 99    |
| Şekil 4.15. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama sodyum ( $\text{Na}^+$ ) (mg/dL) değerlerinin yoğunluk grafiği.....      | 99    |
| Şekil 4.16. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ) (mg/dL) değerlerinin box-plot grafiği..... | 100   |
| Şekil 4.17. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ) (mg/dL) değerlerinin yoğunluk grafiği..... | 100   |

| Şekil                                                                                                                                 | Sayfa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 4.18. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama fosfat ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) (mg/dL) değerlerinin box-plot grafiği.....  | 101   |
| Şekil 4.19. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama fosfat ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) (mg/dL) değerlerinin yoğunluk grafiği.....  | 101   |
| Şekil 4.20. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama magnezyum ( $\text{Mg}^{+2}$ ) (mg/dL) değerlerinin box-plot grafiği..... | 102   |
| Şekil 4.21. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama magnezyum ( $\text{Mg}^{+2}$ ) (mg/dL) değerlerinin yoğunluk grafiği..... | 102   |
| Şekil 4.22. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama potasyum ( $\text{K}^{+}$ ) (mmol/L) değerlerinin box-plot grafiği.....   | 103   |
| Şekil 4.23. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama potasyum ( $\text{K}^{+}$ ) (mmol/L) değerlerinin yoğunluk grafiği.....   | 103   |
| Şekil 4.24 Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama klorür ( $\text{Cl}^{-}$ ) (mmol/L) değerlerinin box-plot grafiği.....     | 104   |
| Şekil 4.25. Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama klorür ( $\text{Cl}^{-}$ ) (mmol/L) değerlerinin yoğunluk grafiği.....    | 104   |

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge                                                                                                                                              | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 2.1. Tükürük biyobelirteçleri ve kullanım alanları...                                                                                        | 10    |
| Çizelge 2.2. Periodontal hastalıkların teşhisinde kullanılan biyobelirteçler .....                                                                   | 11    |
| Çizelge 2.3. Sempatik ve parasempatik uyarılmaların tükürük salgılanmasındaki etkileri... ..                                                         | 31    |
| Çizelge 4.1. Kortizol için kalibrasyon çalışması... ..                                                                                               | 73    |
| Çizelge 4.2. Genç erişkin bireylerde sabah, stres öncesi ve stres sonrası farklı yöntemler ile çalışma sonucunda elde edilen kortizol düzeyleri..... | 74    |
| Çizelge 4.3. Sabah, stres öncesi ve stres sonrası tükürük kortizol düzeylerine ilişkin istatistiksel veriler... ..                                   | 75    |
| Çizelge 4.4. Varyansların homojenliği.....                                                                                                           | 75    |
| Çizelge 4.5. One-Way ANOVA değerleri... ..                                                                                                           | 76    |
| Çizelge 4.6. Tukey Post-Hoc Test- ELİZA için grupların birbiri ile karşılaştırılması                                                                 | 77    |
| Çizelge 4.7. TukeyPost-Hoc Test-Otoanalizör için grupların birbiri ile karşılaştırılması.....                                                        | 78    |
| Çizelge 4.8. Tukey Post-Hoc Test - Biyosensör için grupların birbiri ile karşılaştırılması .....                                                     | 79    |
| Çizelge 4.9. Korelasyon verileri.....                                                                                                                | 82    |
| Çizelge 4.10. Amilaz için kalibrasyon eğrisi verileri.....                                                                                           | 84    |
| Çizelge 4.11. Tükürükte üç farklı zamanda ELİZA yöntemi ile ölçülen amilaz düzeyleri.....                                                            | 85    |
| Çizelge 4.12. Genç erişkin bireylerden elde edilen kortizol verilerine ilişkin istatistikler .....                                                   | 86    |
| Çizelge 4.13. Deming regresyon analizine ilişkin veriler... ..                                                                                       | 88    |
| Çizelge 4.14. Genç erişkin bireylerden elde edilen kortizol verilerine ilişkin istatistikler .....                                                   | 89    |
| Çizelge 4.15. Deming regresyon analizine ilişkin veriler.....                                                                                        | 91    |
| Çizelge 4.16. Genç erişkin bireylerden elde edilen kortizol verilerine ilişkin istatistiksel.....                                                    | 92    |
| Çizelge 4.17. Deming regresyon analizine ilişkin veriler... ..                                                                                       | 94    |

| <b>Çizelge</b>                                                                        | <b>Sayfa</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 4.18. Genç erişkin bireylerde sabah saatlerinde tükürük elektrolit düzeyleri  | 96           |
| Çizelge 4.19. Genç erişkin bireylerde stres öncesi tükürük elektrolit düzeyleri.....  | 97           |
| Çizelge 4.20. Genç erişkin bireylerde stres sonrası tükürük elektrolit düzeyleri..... | 98           |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| Simgeler         | Açıklama                                      |
|------------------|-----------------------------------------------|
| $\alpha$         | Alpha<br>(Alfa)                               |
| $\beta$          | Beta                                          |
| C                | Carbon<br>(Karbon)                            |
| Ca               | Calcium<br>(Kalsiyum)                         |
| Cl               | Chloride<br>(Klor)                            |
| $\text{HCO}_3^-$ | Bicarbonate<br>(Bikarbonat)                   |
| K                | Potasyum<br>(Potassium)                       |
| Mg               | Magnesium<br>(Magnezyum)                      |
| Na               | Sodium<br>(Sodyum)                            |
| NaOH             | Sodium Hydroxide<br>(Sodyum hidroksit)        |
| NaCl             | Sodium Chloride<br>(Sodyum klorür)            |
| POMC             | Proopiomelanocortin<br>(Proopiyomelanokortin) |
| %R               | % Recovery<br>(Yüzde Geri Kazanım)            |

**Kısaltmalar****Açıklama**

|              |                                                                                         |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>ABS</b>   | Absorbance<br>(Absorbans)                                                               |
| <b>ACTH</b>  | Adenocorticotrophic hormone<br>(Adenokortikotropik hormon)                              |
| <b>BALT</b>  | Bronchus-Associated Lymphoid Tissue<br>(Bronş ile ilişkili lenfoid doku)                |
| <b>BSA</b>   | Bovine Serum Albumini<br>(Sığır Serum Albumini)                                         |
| <b>C</b>     | Concentration<br>(Derişim)                                                              |
| <b>CDK</b>   | Cyclin-dependent kinase<br>(Siklin bağımlı kinaz)                                       |
| <b>CLSI</b>  | Clinical Laboratory Standard Institute<br>(Klinik Laboratuvar Standart Enstitüsü)       |
| <b>cm</b>    | Centimetre<br>(Santimetre)                                                              |
| <b>CV</b>    | Coefficient of Variation<br>(Varyasyon katsayısı)                                       |
| <b>CRH</b>   | Corticotropin-releasing hormone<br>(Kortikotropin salgılatıcı hormon)                   |
| <b>CBG</b>   | Cortisol-binding globulin<br>(Kortizol bağlayıcı globülin)                              |
| <b>cAMP</b>  | Cyclic Adenosine Mono Phosphate<br>(Siklik adenosin mono fosfat)                        |
| <b>CYP17</b> | Cytochrome P450 17 alpha hydroxylase<br>(17- $\alpha$ Hidroksilaz)                      |
| <b>CYP21</b> | Cytochrome P450 21 alpha hydroxylase<br>(21- $\alpha$ Hidroksilaz)                      |
| <b>CNPG3</b> | 2-Chloro-4-Nitrophenyl- $\alpha$ -Maltotrioxide<br>(2-kloro-4-nitrofenil maltotrioizid) |
| <b>Dk</b>    | Dakika                                                                                  |

**Kısaltmalar****Açıklama**

|                                |                                                                             |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>DHEA</b>                    | Dehidroepiandosteron                                                        |
| <b>DHF</b>                     | Dihidrookortizol                                                            |
| <b>DNS</b>                     | Dinitrosalisilik asit                                                       |
| <b>ELISA</b>                   | Enzyme-linked immuno sorbent assay                                          |
| <b>g</b>                       | Gram                                                                        |
| <b>GALT</b>                    | Gut-Associated Lymphoid Tissue,<br>(Bağırsak ile ilişkili lenfoid doku)     |
| <b>GC</b>                      | Glucocorticoid<br>(Glukokortikoid)                                          |
| <b>GR</b>                      | Glucocorticoid receptor<br>(Glukokortikoid reseptörü)                       |
| <b>GSK-3<math>\beta</math></b> | Glycogen synthase kinase 3- beta<br>(Glikojen sentaz kinaz 3-beta)          |
| <b>HRP</b>                     | Horseradish Peroksidaz                                                      |
| <b>HDL</b>                     | High Density Lipoprotein<br>(Yüksek yoğunluklu lipoprotein)                 |
| <b>HPA</b>                     | Hipotalamus-pituiter adrenal aks                                            |
| <b>Ig</b>                      | Immüoglobulin                                                               |
| <b>KAH</b>                     | Konjenital Adrenal Hiperplazi                                               |
| <b>kDa</b>                     | Kilodalton                                                                  |
| <b>LOD</b>                     | Limit of Detection<br>(Tespit sınırı)                                       |
| <b>LOQ</b>                     | Limit of Quantitation<br>(Tayin sınırı)                                     |
| <b>L</b>                       | Litre                                                                       |
| <b>MALT</b>                    | Mucosa Associated Lymphoid Tissue<br>(Mukoza ile ilişkili lenfoid doku)     |
| <b>MAPK</b>                    | Mitogen Activated Protein Kinase<br>(Mitojen ile aktive olan protein kinaz) |
| <b>MR</b>                      | Mineralokortikoid Reseptörü                                                 |
| <b>mg</b>                      | Miligram                                                                    |

**Kısaltmalar****Açıklama****MEq**

Miliekivalan

**MG**Mucus Glycoproteins,  
(Muköz Glikoproteinler)**mL**

Mililitre

**mmol**

Milimol

**N**

Denek sayısı (Adet)

**nm**

Nanometre

**ng/mL**

Nanogram/mililitre

**OSS**

Otonom Sinir Sistemi

**pH**Power of Hydrogen  
(Hidrojen gücü)**PRP**Proline-rich proteins  
(Prolin bakımından zengin proteinler)**RH**

Rastgele hata

**SAM**

Sempatik Adeno Medulla

**SEM**Standard error of mean  
(Ortalama standart hata)**SSS**

Santral sinir sistemi

**StAR**Steroidogenic acute regulatory protein  
(Steroidojenik akut regülatör protein)**μL**

Mikrolitre

**μg/dL**

Mikrogram/desilitre

**THF**

Tetrahidrookortizol

**THS**

Tetrahidrideoksikortizol

## 1. GİRİŞ

Tükürüğün organizmadaki fizyolojik ve patolojik değişimlerin bir göstergesi olarak kullanılması tarih öncesine dayanmasına rağmen; tanısal amaçlar için kullanılması fikri ilk kez XX. yüzyılın ikinci yarısında ortaya çıkmış olup, son 10 yılda gelişen teknoloji ile birlikte bu fikir daha çok kullanılır hale gelmiştir [1, 2].

Tükürük kolaylıkla toplanması, elde edilme yönteminin ucuz olması, minimal enfeksiyon riski taşıması bakımından çeşitli hastalıkların tanısında ve tedavisinin değerlendirilmesinde kullanılan sıvı olup stresin oluşturduğu metabolik değişikliğin incelenmesinde de önemli bir biyolojik materyal olarak kullanılmaktadır [3, 4].

Ayrıca ilaçlar, hormon ve antikorlar tükürükten güvenilir bir şekilde analiz edilebilir. Bundan dolayı, tükürük, tekrar gerektiren diğer vücut sıvılarında özellikle kan alımının kolay olmadığı durumlarda yararlı olduğu düşünülmektedir. Tükürük, ilaç ve hormon derişimleri; birçok durumda serumdaki ilgili toplam derişimleri ile iyi korelasyon göstermektedir [5, 6, 7, 8, 9].

Tükürükte steroid hormonlarının analizi yaygın olarak kullanılmakta olup toplanması kolay olduğu için diğer numune toplanma şekillerine göre stressiz bir şekilde yapılmaktadır [10].

Tükürük antikor seviyeleri bulaşıcı hastalıkların belirlenmesinde kullanılabilir [11]. Hepatit A, B ve C, kızamık, gibi enfeksiyonların belirlenmesinde tükürük analizleri de kullanılmaktadır [12, 13]. Ayrıca tükürük uygun bir konak ve mikrobiyal DNA kaynağıdır [14].

Tükürük, aynı zamanda ilaçların farmakokinetik çalışmalarında ve çeşitli klinik durumlarda terapötik ilaç izlemesinde de kullanılmaktadır. Tükürükte bulunan ilaç seviyeleri plazmada serbest ve proteine bağlı olmayan kısmı yansıtmaktadır [12].

Lipidlerin çözünürlüğü, tükürükte ilaçların atılımında belirleyici bir faktördür [15]. Tükürük akış hızı, pH, örnekleme koşulları, kirlenme ve diğer birçok patofizyolojik faktörler tükürükteki ilaç derişimlerini etkileyebilmektedir.

Tükürüğün sodyum ( $\text{Na}^+$ ) ve potasyum ( $\text{K}^+$ ) derişimleri kortikosteroidlerden, özellikle aldosterondan belirgin bir şekilde etkilenir. Uyarılmış tükürüğün  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  oranı, Cushing sendromunun ve Addison hastalığının tanısında kullanılabilir.

Stres, bireyler üzerinde etki yapan ve davranışlarının değişmesine neden olmakla birlikte fazla strese maruz kalındığında zarar verici etkileri olan bir durumdur [16]. Stres algısı oluşan durumlarda etkilenen bireyin vücudunda bazı özel biyokimyasal değişmeler meydana gelmektedir. Bu algının oluştuğu durumlarda tükürük kortizol hormonunun ve  $\alpha$ -amilaz enzim aktivitesinin arttığı ve salgılanmasının değiştiği bilinmektedir [17, 18, 19, 20, 21].

Kortizol, kanda, tükürükte saptanabilen, böbrek üstü bezlerinden salgılanan vücudun strese karşı gösterdiği tepkiyle ilişkili bir hormondur. Kortizolün karbonhidrat metabolizması, yağ dokusunda yağ asitlerinin mobilizasyonunda, protein katabolizması ve sentezinde, antiinflamatuvar etkisi gibi birçok önemli fonksiyonu vardır. Kortizol birçok hastalığın tanısında da önemli bir parametredir [22].

Hipotalamik-hipofiz-adrenal eksen (HPA) vücut stres sistemi olarak bilinmektedir. Hücrenin yaşamını sürdürebilmesi ve iç ortamın dengesini koruması için tasarlanmıştır. Aynı zamanda kortizol varlığında stres ile ilgili diğer hormonların seviyelerini düzenlemektedir [23, 24, 25, 26].

Otonom sinir sisteminin aktivasyonu sonucunda tükürük bezlerinden salınan  $\alpha$ -amilaz nişastayı parçalayan bir enzimdir [27].

Fiziksel, sosyal ve psikolojik stres etmenleri (stresörler) tükürük kortizol hormonunun ve  $\alpha$ -amilaz enziminin stres ile olan ilişkisinin gösterilmesinde kullanılmaktadır [18,19,22].

Diş Hekimliği uygulamalarında hastalık ve sağlık durumunun değerlendirmesinde tükürük örneklerinden yapılan analizler değer taşımaktadır. Tükürük analizinin serum sonuçları ile birlikte değerlendirilebilmesi ise klinik çalışmalar da ve yeni biyobelirteç tanımlama çalışmalarında öne çıkmaktadır.

Tükürük kortizol ölçümü, adrenokortikal sistemin invaziv olmayan bir şekilde izlenmesini sağlarken,  $\alpha$ -amilaz enzimi de stresin invaziv olmayan ölçümünde bir indikatör olarak

kullanılmaktadır. Bu nedenle son yıllarda stres araştırmasında kortizol hormonu ve  $\alpha$ -amilaz enzimi kilit bir araç haline gelmiştir. Geleneksel olarak rutin laboratuvarlarında immunoassayler, antikor bazlı yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler bazı girişimlerden etkilenmekte ve bazı sınırlamaları bulunmaktadır. Tüm bunlar yeni bir yöntemin geliştirilmesine ışık tutmaktadır. Bu yöntem, kortizol hormonunu ve  $\alpha$ -amilaz enzimini ölçmek için yeni bir biyosensör geliştirmektir. Biyosensör, kortizol ve  $\alpha$ -amilaz ölçümünde interferansı azaltır, daha ucuz ve daha hızlı sonuçlar vermektedir.

Mevcut tez çalışmasında tükürük biyokimyasal içeriğinin belirlenmesinde stresin oluşturduğu biyokimyasal değişikliklerin genç erişkin bireylerde ve farklı stres ortamlarında değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Tükürük örneklerinden yapılacak standart biyokimyasal analizlerin biyosensör tekniğine uyarlanması ve sonuçların karşılaştırılması sağlanacaktır.

Ayrıca genç erişkin bireylerde stres öncesi ve stres sonrası tükürük de metabolik biyobelirteçlerin düzeyi farklı biyokimyasal yöntemler ile belirlenerek gruplar arasındaki farklılıklar tespit edilecektir. Tükürük biyokimyasal içeriği tanımlanabilecek ve biyobelirteçlerin düzeyleri karşılaştırılarak değerlendirilecektir.

Yöntem karşılaştırma çalışmalarında geliştirilen yeni yöntemde olabilecek hataların saptanması ve elde ettiğimiz sonuçlara göre yöntemin performansının yeterli olup olmadığına karar verilmesi için karakterizasyon çalışması yapılacaktır. Kortizol, amilaz ve elektrolitlerin düzeylerinin belirlenmesi birçok hastalığın tanısında da kullanıldığı için geliştirilen yöntemin özgüllüğünün ve duyarlılığının yüksek olması gerekmektedir. Kullanılacak biyosensör tekniğinin ucuz ve kolay bir uygulama olması önemlidir. Biyolojik ve sentetik süreçleri izlenebilme ve anlaşılabilme olanağı sağlayan biyosensörler, tıbbi ölçüm ve analizlerinde günümüzde önemli bir role sahip olmaktadır. Ayrıca tükürük materyalinin invaziv olmayan örnek toplama sistemi olması, daha kolay elde edilebilir olması yapılan analizlerin sayısını arttırmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tükürük

Sindirimde rolü olan ve yapısında birden fazla fonksiyonel immün maddeyi içeren tükürük oral kavite (ağız boşluğu) ve organizma için önemli bir akışkandır. Tükürük, üç ana (büyük) ve çok sayıda küçük tükürük bezlerinden salgılanarak üretilen bir sıvı olup ağız boşluğunun homeostazını etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Toplanan bütün tükürük, dişeti oluğu sıvısının yanı sıra oral, nazal ve mukozal transüdatı içeren akışkanlardan daha karmaşık bir karışıma sahiptir [28].

Tükürük kompozisyonu ve salgılanması tükürüğün salgılandığı glandın (bezin) yanı sıra hidrasyon, çiğneme, ağız hijyeni, bireyin yaşı, cinsiyeti ve uyarıcı faktör tipine bağlıdır [22, 29, 30]. İnsan tükürüğü iki ana bileşenden oluşmaktadır. Tükürüğün %94-99'u sudan oluşur, ancak önemli bir kısmı proteinlerden (özellikle glikoproteinler) ve lipidlerden oluşur. Tükürük ayrıca karbonhidratlar, tuzlar bakımından zengindir ve protein niteliğinde olmayan azot (NPN) (üre, ürik asit, amino asitler ve kreatinin) içerir. Ek olarak tükürükte oral bakteriler ve metabolitleri, deskuame epitel ve kan hücreleri, yiyecek artıkları ve çeşitli kimyasal ürünler de bulunmaktadır [7]. Tükürük, renksiz, şeffaf ve fizyolojik pH değeri 6,2-7,4 arasındadır [22]. Yetişkinler, %80'i gıda alımına bağlı olarak günde yaklaşık 0,5-1,5 litre tükürük salgırlar. Tükürüğün salgılanması otonom sinir sistemi tarafından kontrol edilir [17].

Tükürük, vücudun mevcut fizyolojik durumunu yansıtabildiği için “organizmanın sağlığının aynası” olarak adlandırılmaktadır. Zengin içeriğinden dolayı hastalıkların tanısında ya da tedavi sürecinde vücudun verdiği yanıtın takibinde kullanılabilecek bir araçtır [27]. Ayrıca tükürüğün salgı yapısında meydana gelen niceliksel ve niteliksel değişimler çeşitli ağız ve sistemik hastalıklardan da kaynaklanabilmektedir, örneğin; Alzheimer hastalığı, diyabet, kistik fibroz ve onkolojik hastalıklar (özellikle baş ve boyun tümörleri).

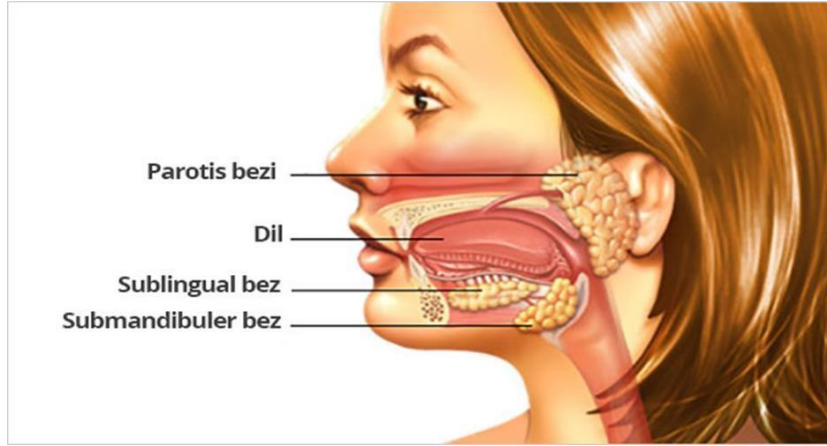
Tükürüğün ana rolü, çeşitli zararlı mekanik, biyolojik ve kimyasal uyarılara karşı dişler ve oral mukoza için koruyucu bir ortam oluşturmaktır. Ayrıca, tükürük besin sindiriminin ilk aşamasında yer alır ve lezzet algısına katılmaktadır.

## 2.2. Tükürük Akışı

### 2.2.1. Tükürük bezlerinin anatomisi

Tükürük bezi, baş ve boyun bölgemize yerleşmiş, ürettiği sindirime yardımcı salgıyı (tükürük) özel kanallarla bağlı olduğu ağız, boğaz, farinks, burun, sinüs gibi bölgelere boşaltan organdır. Yüzümüzde sağ ve sol tarafta üçer tane olmak üzere altı büyük tükürük bezi yanı sıra mukoza içerisinde bulunan yüzlerce küçük (mikroskobik) tükürük bezi bulunmaktadır [31, 32, 33, 34, 35].

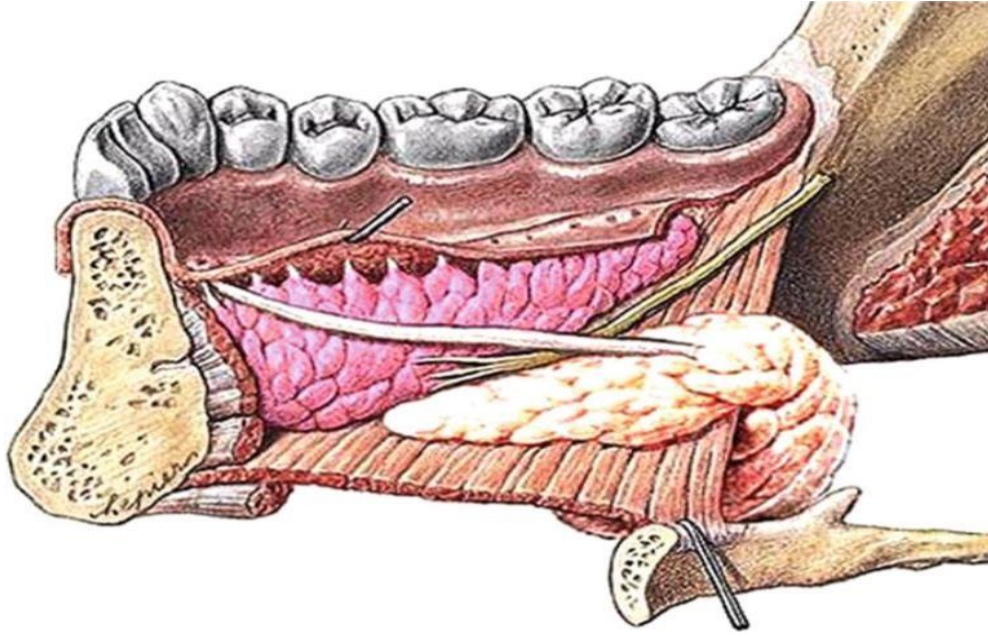
Submandibuler, sublingual ve parotis olmak üzere üç çift tükürük bezi vardır [31, 36].



**Şekil 2.1.** Submandibuler, sublingual ve parotis tükürük bezlerinin anatomik olarak gösterimi

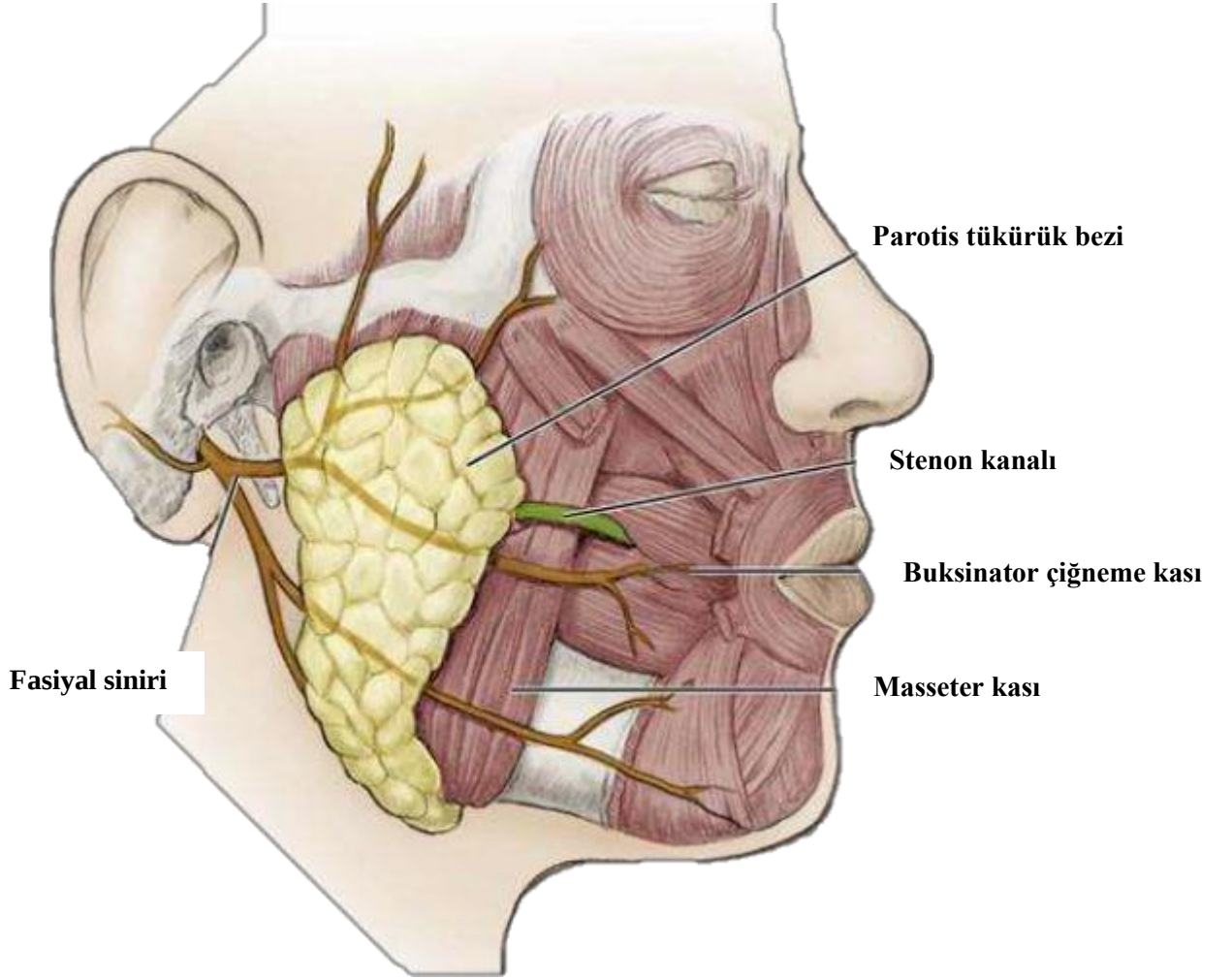
**Submandibuler (çene altı) tükürük bezi:** En çok salgı (%70) yapan tükürük bezidir. Mikst bir bezdir. Kesitlerde seröz salgı yapan hücrelerin etrafındaki müköz hücreler Gianuzzi (seröz) yarımayları görünümü oluşturmaktadır. Salgısını Wharton kanalı ile boşaltmaktadır.

**Sublingual (dil altı) tükürük bezi:** Salgının %5'ini yapan en küçük majör mikst bir bezdir. Fakat müköz salgısı daha fazladır. 7-12 adet Rivinus kanalcıkları ile mukozaya ayrı ayrı açılır. En distalde Wharton kanalına açılan bir Bartholin kanalı da bulunmaktadır.



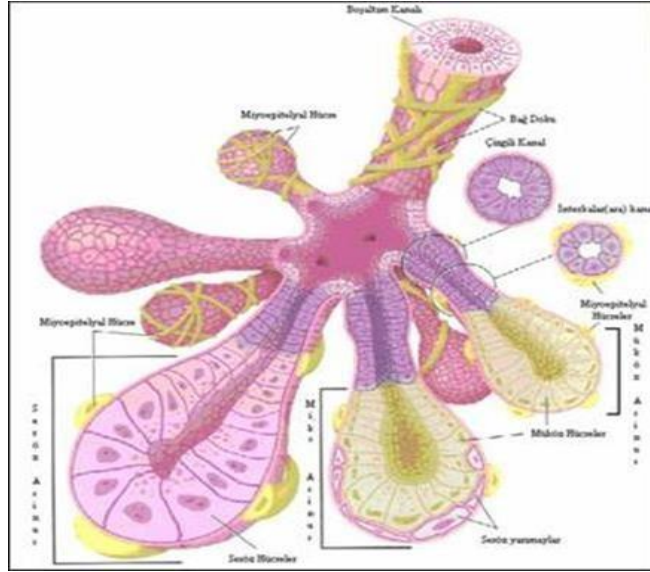
**Şekil 2.2.** Submandibuler ve sublingual tükürük bezlerinin anatomisi

**Parotis (kulak önü) tükürük bezi:** Tüm salgının %25'ini yapan büyük oranda yağ dokusu içeren en büyük tükürük bezidir. Yüz mimik hareketlerimizi yapmamızı sağlayan fasiyal sinir parotis tükürük bezinin içinden geçmektedir. Salgısını Stenon kanalı ile boşaltır.



**Şekil 2.3.** Parotis tükürük bezinin anatomisi

Minör (küçük) tükürük bezlerinin sayıları ortalama 600-1000 arasında olup bulundukları bölgelere göre adlandırılmaktadır (bukkal, palatin, lingual bez gibi). Diş eti ve sert damağın ön kısmı hariç ağız içinin her tarafında mukoza altında küçük salgı toplulukları halinde bulunur ve kısa kanallarla ağız boşluğuna direkt olarak açılmaktadır. Küçük tükürük bezleri palatin (saf müköz) ve lingual (saf seröz) dışında mikst bezlerdir [37].



**Şekil 2.4.** Tükürük bezlerinin hücresel yapısı

Tükürük bezinin çalışması asiner hücreler adı verilen salgı bezlerinin salgı uç kısımlarından ve duktus interkalaris adlı kübik hücreli epitele sahip bir kanaldan oluşur. Sıvı ilk önce dar lümen ve kübik hücreli epitelden oluşan kanallardan geçer. Ardından, salgılar, mitokondri ile silindirik hücrelerin sıralandığı çizgili kanallara girer. Son olarak tükürük, hücre tipinin tabakalı skuamöz epitel ile kübik olduğu boşaltım kanallarından geçer [38].

### 2.3. Tükürük Salgılanması

Tükürüğün salgılanması birçok faktöre bağlı olup otonom sinir sisteminin kontrolü altındadır. Salgılanma olayı üç yolla meydana gelmektedir. Bu yollar [31];

- **Sefalik faz**

Salgılanma yiyeceklerin düşünülmesi ve kokularının duyulması ile başlamaktadır. Beyin korteksinden çıkan impulslar, salgı merkezini uyararak tükürüğün salgılanmasına neden olmaktadır.

- **Bukkal faz**

Ağızdaki tat alma duyularının uyarılması ile başlamaktadır. Yiyeceklerin ağıza alındıktan sonra mukoza ile yaptıkları fiziksel ve kimyasal uyarılar, afferent yollar ile salgı merkezine ulaşmaktadır.

- **Gastrointestinal faz**

Mide ve üst sindirim sisteminde meydana gelen refleksler ile uyarılmaktadır. İrritan maddelerin yutulması ile refleksler kuvvetlenmeye başlamaktadır. Bu maddelerin etkisini tükürük, sulandırarak ya da nötralize ederek önlemektedir.

### 2.4. Tükürükte Bulunan Biyobelirteçler

Tükürük, oral mukoza ve dental sağlığın korunmasında önemi bir rol oynamasının yanısıra vücuttaki fizyolojik ve patolojik değişikliklerin belirlenmesinde ve periodontal hastalıklarda kullanılan biyobelirteçleri içeren bir akışkandır [39].

Sistemik hastalıklarla beraber periodontal hastalıkların tespitinde kullanılan biyobelirteçler mikrobiyal dental film bileşimini değiştirmekte ve inflamatuvar yanıtın değişmesine neden olan farklı mekanizmalarla periodontal hastalığı tetiklemektedir [42].

Son yıllarda insanlarda depresyon gibi stres koşullarını değerlendirmek için tükürük biyobelirteçlerinin kullanımı önem kazanmaktadır. Stres, HPA eksen ve sempatik sinir sistemi tarafından uyarılmaktadır. Ayrıca periodontal tanı için çalışılan biyobelirteçler hormonlar, fenotipik belirteçler, konak orijinli proteinlerdir [43, 44].

Tükürük biyobelirteçleri ile periodontal hastalıkların teşhisinde kullanılan biyobelirteçler Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2’de verilmektedir [2, 39, 40, 41].

**Çizelge 2.1.** Tükürük biyobelirteçleri ve kullanım alanları

|                          |                                                                                                                                                       |
|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hücrel materyal          | <ul style="list-style-type: none"> <li>Baş-boyun kanserlerinin tanısı</li> </ul>                                                                      |
| DNA                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Genotip</li> <li>Bakteriyel enfeksiyonlar</li> <li>Adli tıp</li> <li>Baş-boyun kanserlerinin tanısı</li> </ul> |
| Metabolitler             | <ul style="list-style-type: none"> <li>Periodontal hastalıkların tanısı</li> </ul>                                                                    |
| İlaçlar ve metabolitleri | <ul style="list-style-type: none"> <li>İlaç bağımlılıklarının ortaya çıkarılması</li> <li>Vücuttaki ilaçların tespiti</li> </ul>                      |
| Proteinler               | <ul style="list-style-type: none"> <li>Periodontitis tanısı</li> <li>Baş-boyun kanserlerinin tanısı</li> <li>Çürük kavitelelerinin tanısı</li> </ul>  |
| Virüs-bakteri            | <ul style="list-style-type: none"> <li>Epstein-Barr virüsü reaktivasyonu</li> </ul>                                                                   |
| RNA                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Baş-boyun kanserlerinin tanısı</li> <li>Virüs ve bakterilerin tanısı</li> </ul>                                |
| Müsin-glikoproteinler    | <ul style="list-style-type: none"> <li>Çürük kavitelelerinin tanısı</li> <li>Baş-boyun kanserlerinin tanısı</li> </ul>                                |

**Çizelge 2.2.** Periodontal hastalıkların teşhisinde kullanılan biyobelirteçler

|                   |                                                                                                                             |                                                              |                                                                                   |                                                            |                                                         |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Enzimler          | <ul style="list-style-type: none"><li>• Elastaz</li><li>• Amilaz</li><li>• Dipeptidilpeptidaz</li><li>• Lizozim</li></ul>   | Kitinaz<br>Katepsin-G<br>MMP-8<br>Arjinaz                    | Alanin aminopeptidaz<br>Kollejenaz-2<br>Miyeloperoksidaz<br>$\beta$ -glukuronidaz | ALT<br>AST<br>Alkalen fosfataz                             |                                                         |
| Proteinler        | <ul style="list-style-type: none"><li>• Laktoferrin</li><li>• Fibronektin</li><li>• Albumin</li><li>• Sistatinler</li></ul> | Neopterin<br>Keratin<br>EGF<br>Defensin-1                    | C-reaktif protein<br>Kompleman C3<br>IL-6<br>$\alpha_2$ - makroglobulin           | $\alpha_1$ -antitripsin<br>TNF- $\alpha$<br>TIMP-1<br>IL-8 | IL-1 $\beta$<br>Osteokalsin<br>Osteoprotegerin<br>RANKL |
| İmmunoglobulinler | <ul style="list-style-type: none"><li>• IgA</li><li>• IgG</li><li>• IgM</li></ul>                                           |                                                              |                                                                                   |                                                            |                                                         |
| Diğer             | <ul style="list-style-type: none"><li>• Kondroitin sülfat</li><li>• Nitrit</li><li>• Ürat</li><li>• Askorbat</li></ul>      | Hiyalüronik asit<br>Kortizol<br>Platelet aktive edici faktör |                                                                                   |                                                            |                                                         |

İnsanda, özellikle depresyon gibi stres koşullarını değerlendirmek için tükürük stres belirteçleri kullanılmaktadır [45]. Bunlar;

- **Kromogranin A**

Granin ailesini oluşturan protein ve polipeptitler, endokrin ve nöroendokrin dokularda ve sinir sisteminde sekretuar granüller içinde bulunmaktadır. Submandibuler bezlerin seröz ve duktal hücrelerinin yanı sıra nöroendokrin hücreler içinde bulunan ve bu hücreler tarafından salınan 439 aminoasitten oluşan glikozilasyon veya fosforilasyona bağlı olarak molekül ağırlığı 48-60 kDa arasında değişen bir proteindir [46]. Tükürük CgA düzeyleri genellikle sabah saatlerinde yükselmektedir ve gün içerisinde stabil kalmaktadır. Ağız kuruluğu, kavga gibi strese maruz kalınan durumlarda tükürükte CgA düzeylerinin arttığı, stres giderici durumlarda ise CgA düzeyinin düştüğü gözlenmiştir [47, 48].

- **Beta Endorfin**

$\beta$ -endorfin genel olarak memeliler ve diğer omurgalılarda 31 aminoasitten oluşan yaklaşık 4000 dalton molekül ağırlığında, bir polipeptiddir. Meperidin ve morfin gibi benzer özellikler gösteren vücudun doğal ağrı kesicileridir. Endojen opioidler tarafından stres durumu engellenmektedir [49, 50].

- **İmmunoglobulin A**

Tükürük salgılanmasında mikroorganizmaların mukoza hücrelerine bağlanmasını önlemektedir. Uzun süre strese maruz kalmak IgA fonksiyonunu engelleyerek immun yanıtın azalmasına neden olmaktadır [51, 52].

- **Nöropeptitler**

Santral sinir sisteminde bulunurlar. Vazodilatasyon ve nörojenik inflamasyonda önemli role sahiptirler. Santral sinir sistemini uyararak HPA eksenini etkilemektedirler. Proinflamatuvar sitokinin üretiminin artmasında ve IFN- $\gamma$  üretiminin sınırlandırılmasında önemli rol oynarlar [53].

- **Katekolaminler**

Santral sinir sisteminden immün sisteme bilgi aktaran ve strese karşı yanıtta önemli olan moleküllerdir. Stres tükürükte bulunan katekolaminlerin salgılanmasının artmasına ve otonom sinir sistemine iletilen yanıtların oluşmasına neden olmaktadır [55].

- **Dehidroepiandrosteron**

Depresyon gibi stres durumlarında dehidroepiandrosteronun (DHEA) kullanılabilir bir biyobelirteçidir. Uzun süreli strese maruz kalındığında DHEA düzeyinde azalma meydana gelmektedir. Akut stres durumunda ise DHEA düzeyinde artış meydana gelerek bu süreçte koruyucu rol oynamaktadır ve kortizol ile arasında ters bir ilişki söz konusudur [56].

## 2.5. Tükürükte Bulunan İyonlar

Tükürük içerisinde elektrolitler bulunmaktadır. Bu elektrolitler, kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ), sodyum ( $\text{Na}^+$ ), bikarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ), klorür ( $\text{Cl}^-$ ), florür ( $\text{F}^-$ ), fosfat ( $\text{PO}_4^{-3}$ ), magnezyum ( $\text{Mg}^{+2}$ ), iyot ( $\text{I}^-$ ) ve tiyosiyanat ( $\text{SCN}^-$ )'tır [57, 58].

Sodyum ve potasyum tükürüğün hücre membranından geçişini sağlayan osmotik etkiye sahip iyonlardır. Sodyum ve potasyumun derişimleri üzerine tükürüğün akış hızının etkisi vardır. Sodyum bikarbonatın karşıtı iken, potasyum fosfatın karşıtıdır.

Klorür iyonu elektrik nötralizasyonunu korumaktadır. Tükürük amilazını aktive eder. Tükürük derişimi 17-29 mM'dır. Aynı zamanda sodyum ( $\text{Na}^+$ ), potasyum ( $\text{K}^+$ ) ve klorür ( $\text{Cl}^-$ ) tükürüğün iyonik gücünü korumaktadır.

Bikarbonat, tükürükte bulunan başlıca tampondur. Akış hızı ne kadar fazla olursa yani fazla uyarılırsa bikarbonat derişimini de plazma derişimine o kadar yaklaşmaktadır. Hidrojen iyonu alarak bikarbonat, karbonik asidi oluşturur. En önemli tamponlama sistemi de karbonik asit/ bikarbonattır.

Florür iyonu, bütün tükürükte çok düşük derişimlerde bulunur (aralık = 0,001-0,005 mM). Florür, HAP kafes yapısındaki ( $\text{OH}^-$ ) yerini alarak stabilitesini artırır ve asit çözünmesini önler. Remineralizasyonda en önemli iyondur. Aynı zamanda biyofilm üzerinde asit oluşumunu azaltır. Yediğimiz bazı yiyecekler, içme suları ve diş macunlarında aldığımız florür miktarı tükürükteki florür derişimini etkilemektedir.

Kalsiyum, majör tükürük bezleri tarafından salgılanmakatadır. Tükürük kalsiyum bağlayan proteinlerle kompleks oluştururlar. En önemli görevi hidroksiapatit için iyonik ürün oluşturmaktadır. Tükürük derişimi 1-2 mM'dır.

Fosfat, özellikle uyarılmamış tükürükte tampon görevi görür. Tükürük düzeyi 2-23 mM'dır. Hidroksiapatitin iyonik ürününün sürdürülmesinde özellikle önemlidir.

Ayrıca her bir tükürük bezindeki kalsiyum ve fosfat derişimi farklıdır. Tükürük de bulunan kalsiyum ve fosfat derişimleri akış hızını ve pH etkilemektedir.

Magnezyum, diş minesinin yapısı için önemli bir iyondur. Çürük oluşumunun erken dönemlerinde diş minesinden magnezyum ( $Mg^{+2}$ ) uzaklaşması ile mine çözünmeye başlar.

Ayrıca egzersizin tükürük elektrolitleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Egzersizin magnezyum ( $Mg^{+2}$ ) salgılanmasını artırması sempatik sinirlerin aktivasyonu sonucu meydana geldiği ileri sürülmüştür. Kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) ve sodyum ( $Na^{+}$ ) sekresyonu ise değişmemektedir. Bu da tükürük elektrolitlerinin farklı sekresyon mekanizmaları olduğunu göstermektedir [59] .

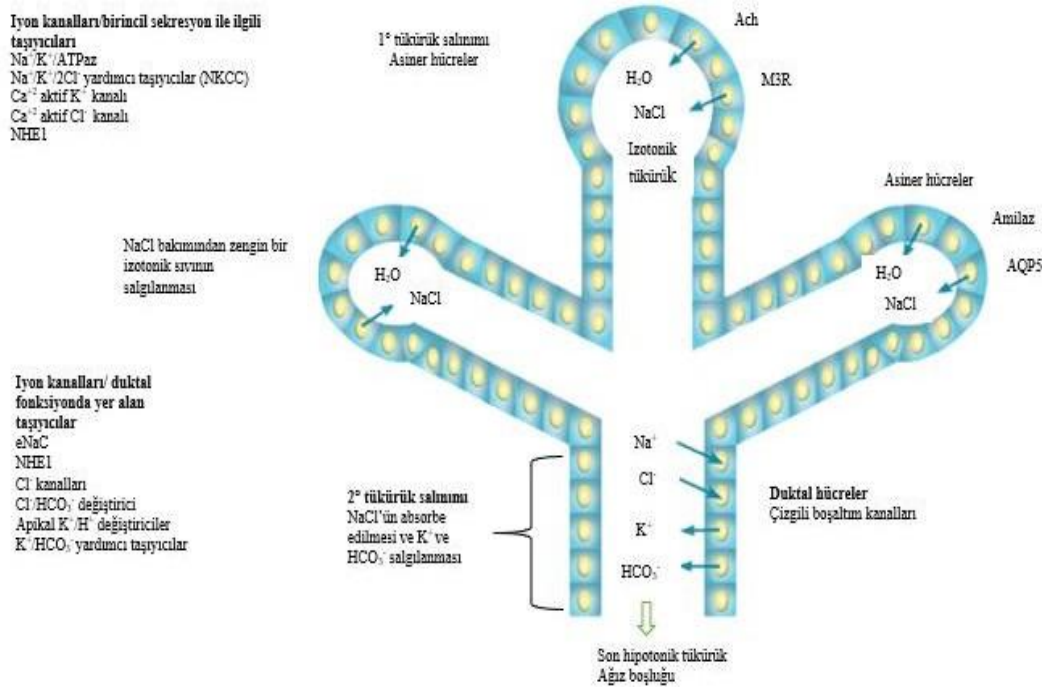
Tiyosiyanat iyonu antibakteriyel özelliğe sahiptir.

### 2.5.1. Tükürük içine iyonların sekresyonu (salgılanması)

Tükürük sekresyonunun mekanizması iki aşamada sınıflandırılır. Bunlar;

- I. Birincil (primer) ve
- II. İkincil (sekonder) sekresyondur.

Birincil (primer) tükürük sekresyonu, aynı zamanda salgı son parçaları olarak da bilinen asiner hücrelerde meydana gelirken, duktal hücreler, ikincil (sekonder) tükürük sekresyonu olarak adlandırılan nihai sıvıyı üretmek için primer sekresyon ve elektrolit kompozisyonunu değiştirmeye yardımcı olur. Sodyum potasyum pompası ( $Na^{+} / K^{+} / ATPaz$ ),  $Na^{+} / K^{+} / 2Cl^{-}$  kotransporter (NKCC1), bazolateral membranda eksprese edilen  $Ca^{+2}$  aktive edilmiş  $K^{+}$  kanalları ve salgı hücrelerinin apikal membranında lokalize edilmiş  $Ca^{+2}$  aktive edilmiş  $Cl^{-}$  kanalları gibi iyon taşıyıcıları salgılama mekanizmasında önemli bir rol oynar (Şekil 2.5) [60].



**Şekil 2.5.** Tükürük sekresyonunun şematik gösterimi (Kashi Raj Bhattarai, Raghupatil Junjappa, Mallikarjun Handigund, Hyung-Ryong Kim-JungChae (2018). The imprint of salivary secretion in autoimmune disorders and related pathological conditions. *Autoimmunity Reviews*. Volume 17, Issue 4, Pages 376-390).

Tükürüğün asiner hücrelerden çıkarak kanallardaki modifikasyonu; porlardan geçiş, aktif-pasif transportlar venpinositoz gibi mekanizmalarla gerçekleşir. Tükürük bezi dokusunda interkalar kanallar primer tükürüğü iletir, oradan çizgili kanallar tükürüğü alır ve en son boşaltım kanallarından ağız içine salgılanma gerçekleşir. Asiner hücrelerde üretilen primer tükürük NaCl bakımından zengin izotonik sıvı içerir. Primer tükürük modifiye edilerek değiştirilir ve NaCl'ü absorbe eder.  $\text{K}^+$  ve  $\text{HCO}_3^-$  salgılayarak hipotonik tükürüğü (ikincil sekresyon) serbest bıraktığı duktal hücrelere taşır [61].

### 2.5.2. Akış hızı

Tükürük bezlerinin parankimini ve salgı yapısını etkileyen faktörlerden biri de akış hızıdır. Tükürük akış hızı uyarılmış ve uyarılmamış olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

Uyarılmamış bütün tükürük, çiğneme gibi dışsal uyarıcıların yokluğunda ağızına giren salgıların karışımıdır. Uyarılmamış (stimüle edilmemiş) tükürüğün %65'i submandibular bezden, %20'si parotisden ve %2-7 sublingual bezden ve küçük salgı bezlerinden de %10'dan az kısmı salgılanır. Günün büyük bir bölümünde bu salgı ağızımızda bulunur ve burada bulunan dokuların korunmasını sağlar. Uyarılmamış akış hızı bazal akış hızını yansıtmaktadır. Sağlıklı bireylerde uyarılmamış tükürük akış hızı uyanık durumda 0,25-0,35 mL/dk aralığındadır. Ancak koşullara ve zamana göre büyük varyasyon göstermektedir. Normal aralık oldukça geniştir (0,1- 0,5 mL/dk). Aralığın geniş olmasından dolayı hiposalivasyon teşhisini koymak zorlaşmaktadır [28, 58, 62, 63].

Uyarılmamış akış hızlarında cinsiyetler arasında önemli bir fark vardır. Uyarılmamış tükürük akış hızını etkileyen faktörler; hidrasyon derecesi, vücut pozisyonu, ışığa maruz kalma, önceki stimülasyon, sirkadiyen ritimler, sirkannal ritimler ve ilaçlardır. Daha az önemli faktörler ise yaş, vücut ağırlığı, psişik etkiler ve fonksiyonel stimülasyondur [62, 63].

Tükürük akış hızını etkileyen en önemli faktör hidrasyondur. Vücudun yaklaşık olarak 3,5 litre sıvı kaybetmesi yani su içeriği %8 azaldığında, tükürük salgısı durur.

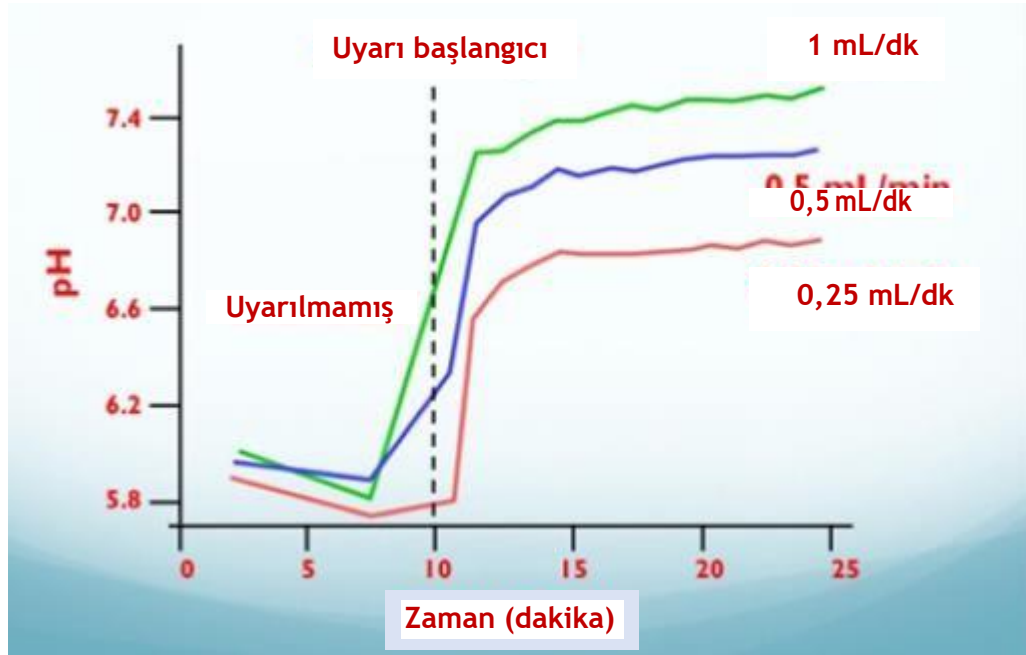
Tükürük akış hızları; ayakta, otururken ve yatarken değişiklik göstermektedir. Bu nedenle tükürük örneği alındığı sırada bireyin oturuyor olması standardize edilmiştir.

Tükürük akış hızı sirkadiyen ritim göstermektedir ve bu nedenden dolayı tükürük örneği alınırken her zaman aynı saatte alınmalıdır. Uyarılmamış tükürük akış hızı uykuda iyice düşerken, sabah saat 04:00 civarında bu hız sıfıra yaklaşmaktadır. Gündüz ise 17:00-18:00 saatleri arasında en yüksektir. Ağız sağlığı açısından bu sirkadiyen ritim oldukça önemlidir çünkü; gece tükürük salgısı azaldığı için, tükürüğün koruyucu hızı minimuma iner. Böylece gece 00:00-08:00 saatleri arası çürük oluşumu için en uygun zaman dilimidir [63].

Uyarılmış tükürük, çiğneme, uyarıcı ya da kusma merkezinin aktivasyonu gibi diğer daha az yaygın uyarıcılara cevap olarak salgılanır. Uyarılmış (stimüle edilmiş) tükürüğün %50'si parotisden ve diğer bezlerden oluşmaktadır. Erkekler kadınlardan daha yüksek tükürük akış hızına sahiptir. Uyarılmış tükürük bezlerindeki ortalama akış hızı 1,5 mL/dk olmalıdır [28, 58, 62].

Uyarılmış tükürük akışını etkileyen faktörler; uyarıcı, kusma, sigara içme, bez büyüklüğü, tıkaç refleksi, koku alma, tek taraflı uyarma ve besin alımıdır [62].

Tükürük pH'sı akış hızına bağlı değişiklik gösterir (Genç bireylerin tükürük pH'sı az da olsa alkalidir). Genelde tükürük akış hızının artması pH değerini yükseltir.



**Şekil 2.6.** Tükürük akış hızının pH üzerine etkisi

(<https://www.slideshare.net/GermainIntwali/saliva-biochemistry>).

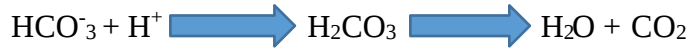
### 2.5.3. Tükürük tamponlama kapasitesi

Tükürük tamponlama kapasitesi, tükürük ve plaktaki pH seviyesinin korunmasında önemlidir. Tamponlar asidojenik bakterilerin ürettiği asitleri nötralize ederek diş minesi demineralizasyonunu engeller. Uyarılmamış ve uyarılmış bütün tükürüğün tampon kapasitesi, üç ana tampon sistemini içerir [63,64].

Tükürük proteinlerinin içerdiği (-) yüklü kalıntılar tampon görevi görür. Tükürük peptidi sialin, fermente karbonhidrat sonrası film tabakası pH değerini yükseltir.

Tükürükteki en önemli tamponlama sistemi, karbonik asit/bikarbonat sistemidir [25].

Karbonik asit/bikarbonat dengesi aşağıdaki gibidir:



$$\text{pH} = \text{pK} + \log [\text{HCO}_3^-] / [\text{H}_2\text{CO}_3]$$

$\text{pK} = 6,1$   $[\text{H}_2\text{CO}_3] = 1,2 \text{ mmol/L}$ 'dir. Tükürük akışından bağımsızdırlar.  $[\text{HCO}_3^-] =$  Tükürük akışına bağımlıdır. Eğer  $[\text{HCO}_3^-] = [\text{H}_2\text{CO}_3]$  ise  $\text{pH}=6,1$  olur. Diğer taraftan  $[\text{HCO}_3^-] = 10$  kat artıp  $12 \text{ mmol/L}$  olursa  $\text{pH} = 7,1$  olarak hesaplanır.

Artan karbonik asit derişimi tükürükten daha fazla karbon dioksit sızmasına neden olur. Tükürük bikarbonat, özellikle uyarılma sırasında tükürüğün pH ve tampon kapasitesini arttırır. Bikarbonat derişimi, sekresyon hızına kuvvetle bağlıdır. Bikarbonat, tampon kapasitesinin temel belirleyicisi olduğundan, pH, sekresyon hızı ve tükürük tamponlama kapasitesi arasında bir ilişki vardır [64].

İkinci tamponlama sistemi, düşük akış hızında tampon kapasitesine bir ölçüde katkıda bulunan fosfat sistemidir. İnorganik fosfatın tamponlama etkisinin mekanizması, ikincil fosfat iyonu olan  $\text{HPO}_4^{2-}$ 'in, bir hidrojen iyonunu bağlayabilmesi ve bir  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  iyonunu oluşturabilmesidir.



Üçüncü tamponlama sistemi, protein sistemidir. Düşük pH aralığında, tükürüğün tamponlama kapasitesi, H-bağlanma bölgelerini içeren makromoleküllerden (proteinler) kaynaklanmaktadır [65].

Tükürük tampon kapasitesini ölçmek için yağ altında titrasyon, havaya açıkken titrasyon ve CO<sub>2</sub> ile titrasyon dahil çeşitli yöntemler kullanılmıştır [64]. Farklı çalışmalarda tampon kapasitesi için elde edilen değerler karşılaştırılmaz. Bununla birlikte, uyarılmamış tükürük için 3,5'in altında ve uyarılmış tükürük için 4,0'ın altındaki nihai pH'lerin düşük olduğu kabul edilir [65]. Pratik açıdan, Diş Hekimliği uygulamalarında tamponlama kapasitesini değerlendirmek için Dentobuff yöntemi geliştirilmiştir. Gösterge kağıdındaki renk değişikliğine bağlı olarak, tamponlama kapasitesi bir renk şeması ile karşılaştırılarak değerlendirilir.

## 2.6. Tükürük Vizkozitesi

Tükürüğün kayganlaştırıcı etkisi ağız sağlığı için önemlidir. Yutma ve yemek yerken dilin ve dudakların hareketlerini kolaylaştırmaktadır [66]. Tükürüğün bir kayganlaştırıcı olarak etkinliği, viskozitesine ve kayma hızı ile nasıl değiştiğine bağlıdır [66].

Tükürük, kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklerinin bir sonucu olarak spesifik reolojik (viskozite ve viskoelastisite) özelliklere sahiptir, bu özellikler ağız boşluğu içinde homeostazı sağlamak için gereklidir.

İnsan tükürüğünün reolojik özelliklerinin, tükürük glikoproteinleri, özellikle de sublingual, submandibular ve palatinal tükürük bezleri tarafından salgılanan yüksek moleküler ağırlıklı müsinlerden (MG1) kaynaklanabileceği varsayılmaktadır. Submandibular ve sublingual tükürükleri arasındaki viskoelastisitedeki farklılıklar, bu sekresyonlardaki müsin derişimlerindeki farklılıklardan değil, müsin türlerinden kaynaklanmaktadır [67].

Tükürük viskozitesinin pH ve kalsiyumdan büyük ölçüde etkilendiği bulunmuştur [68]. Artan tükürük viskozitesi, diş çürüğündeki bir artışla da ilişkilendirilebilir, ancak akış hızını ve viskoziteyi birbirinden bağımsız olarak incelemek zordur [69].

### 2.6.1. Müsinler

İnsan tükürük müsinleri ağız boşluğunda, ağız yüzeylerini kayganlaştırması, sert ve yumuşak dokular ile dış çevre arasında koruyucu bir bariyer oluşturması, çiğneme, konuşma ve yutmaya yardımcı olmaları nedeniyle ağız boşluğu üzerinde birçok role sahiptir [70]. Yüksek molekül ağırlıklı (MG1) ve düşük molekül ağırlıklı müköz (MG2) glikoproteinler olmak üzere 2 tip müsin bulunmaktadır [71].

Müsinler birçok globüler serum proteininin sahip olduğu katlanmış yapıdan yoksundur. Karbonhidrat yan zincirlerine sahip bir polipeptid omurgasından oluşan, rastgele organize edilmiş açık bir yapıya sahip asimetric molekül olma eğilimindedir. Bu moleküller hidrofilitir ve çok fazla su içermektedir [72]. MG1 (baskın olarak müsin MUC5b ve MUC4) ve MG2 (bir MUC7 geninin ürünü), insan tükürüğündeki baskın müsinler olup, oral dokular için kayganlaştırıcı ve antimikrobiyal koruma sağlamaktadır [73]. MG1, submandibular, sublingual, labiyal ve palatinal tükürük bezlerinin mukus asini içinde bulunur [74]. Dış yüzeylerine bağlanarak asitlere karşı bariyer oluşturmaktadır. MG2 ise mikroorganizmalara bağlanarak etki etmektedir.

### 2.6.2. Prolin bakımından zengin proteinler (PRP'ler)

İnsan tükürük PRP'leri toplam tükürük proteininin önemli bir kısmını oluşturur ve önemli biyolojik aktivitelere sahiptir [75]. PRP'ler kalsiyum fosfat kristal büyümesinin inhibitörleridir. PRP'ler tarafından hemen hemen tüm kristal büyümesi inhibisyonu, molekülün negatif yüklü amino-terminal ucundaki ilk 30 kalıntıdan kaynaklanmaktadır. Ayrıca hidroksiapatit üzerine adsorbe edilen PRP'lerin birçok yaygın bakteri yapışmasının güçlü destekleyicileri olduğu gösterilmiştir [76, 77, 78, 79].

PRP'lerin moleküler yapıları oldukça asimetrictir. PRP molekülünün, dış yüzeylerine amino terminal segmenti yoluyla bağlandığı düşünülmektedir. Bu molekül karboksi terminal bölgesini, ağız boşluğuna yönlendirilen, oral bakteriler ile etkileşime girmeden serbest bırakmaktadır. Prolin bakımından zengin glikoproteinler ve müsinler dahil olmak üzere birçok tükürük glikoproteini, tükürükte kayganlaştırıcı rollere sahiptir ve bu moleküllerin karbonhidrat kısımları da kayganlaştırma özelliklerini etkilemektedir [80]. Tükürükteki prolin bakımından zengin proteinler, onlarla kompleksler oluşturarak diğer biyolojik

bileşiklerle etkileşimlerini ve bağırsaktan emilimini önleyerek tanenlere karşı savunma görevi görebilir [81].

## **2.7. Tükürük Antimikrobiyal Proteinleri**

### **2.7.1. Tükürük immunoglobulinler**

Tükürük salgılayan immünoglobulinler, tükürük içerisinde proteine bağlı bulunan ve uyarana karşı harekete geçmiş antijen ile kompleks oluşturmaktadır. İmmünoglobulinler, adezinler gibi hücre yüzeyi molekülleri de dahil olmak üzere spesifik bakteriyel moleküllere veya enzimlere karşı yönlendirilebilir. Bu tür moleküllere bağlanarak, spesifik bakterilerin oral yüzeylere yapışmasını engelleyebilir ve böylece etkilenen türlerin kolonizasyonunu önler [72, 82]. Normal olarak tükürükte ortaya çıkan IgA'nın en az %95'i, serumdan türetilmesinden ziyade lokal bezle ilişkili immünositler tarafından üretilir [72, 82].

### **2.7.2. Salgı immün yanıtlarının uyarılması**

Mukoza ile ilişkili lenfoid dokunun (MALT) ana işlevi, uyarılmış B hücrelerinin üretilmesi ve yayılmasıdır. Bu endüktif bölgelerden, hafıza hücreleri olarak vücudun her yanındaki ekzokrin dokulara göç ederler [83]. Bu B hücreleri daha sonra salgı bezlerinde, örneğin tükürük bezlerinde terminal farklılaşması için bazı “ikinci sinyaller” gerektirir.

Lenfoepitelyal yapılar, Peyer'in yamaları ve diğer bağırsakla ilişkili lenfoid dokuları (GALT), bronşla ilişkili lenfoid dokuları (BALT) ve muhtemelen tonsilleri içerir [84, 85]. Lokal B hücre farklılaşmasını indükleyen ikinci sinyaller tam olarak bilinmemektedir. Ancak lokal B hücresi çoğalması ve farklılaşması için topikal antijenin önemi gösterilmiştir.

### **2.7.3. Tükürük immunoglobulinlerin özellikleri**

sIgA'nın çoğu bir IgA dimerinden, bir veya iki J zincirinden ve bir SC molekülünden meydana gelir. sIgA antikorlarının, esasen çözünür ve parçacık halinde antijenlere basit bağlanma yoluyla ilk mukozal savunma hattında etki ettiği kabul edilir. Mikrobiyal istilasına karşı ilk savunma hattı olarak, sIgA, tüm mukoza yüzeylerinde baskın immünoglobulindir [86]. Yeni doğmuş bebeklerin tükürüğünde yüksek sIgA seviyeleri bulunur ve bu durum,

yaşamın ilk 10 günü içinde olduğu gibi yetişkin bir oral mukozal bağışıklık sisteminin varlığını gösterir. sIgA, çeşitli enzimleri inhibe etme ve aynı zamanda erken aşamalarda da oral sert yüzeylerde bakteriyel kolonizasyonu geciktirme yeteneğine sahiptir [82].

Tükürük IgA seviyeleri, sağlıklı ve ayrıca hastalıklı bireylerde, geniş çapta çalışılmıştır. Diyabetik hastalarla yapılan bir çalışmada IDDM hastalarında anlamlı olarak daha yüksek IgA derişimleri bulunmuştur [87]. Gebelikte tükürük IgA seviyeleri yüksektir [88]. HIV bulaşmış hastalarda, IgA seviyeleri sağlıklı kontrollerden daha yüksektir [89].

Salgı IgM (sIgM), sIgA kadar proteolitik bozulmaya karşı dirençli değildir. sIgM seviyelerinin bebeklik döneminde ve seçici IgA eksikliğinde arttığı görülmektedir. Muhtemelen, sIgM'nin, ilk mukozal savunma hattında sIgA gibi işlev görmesinden kaynaklanmaktadır [83].

Tükürük IgG, ağız boşluğuna çeşitli epitellerden sızıntı yaparak ulaşır ve esas olarak diş eti oluşu sıvısı yoluyla bütün tükürüğe eklenir. Çoğunlukla serumdan türetilir, buna rağmen, diş eti iltihaplı olduğunda, IgG'nin küçük bir kısmı lokal plazma hücrelerinde ortaya çıkabilir. Ayrıca IgG diş eti oluşundaki bakterilerin yutulmasında görev almaktadır [90].

IgD, IgG gibi pasif difüzyonla tam tükürüğe ulaşır. Normal yetişkinlerde parotis sıvısında IgD düzenli olarak tespit edilemez, ancak serumda mevcut olduğundan tükürük de görülür. Bununla birlikte, doğumdan sonraki ilk 6 ay boyunca tükürük IgD seviyeleri genellikle yüksektir. Tükürük IgD'sinin fonksiyonel önemi bilinmemektedir [91].

Tükürük IgE büyük olasılıkla pasif difüzyonla dış sekresyonlara ulaşır, ancak atopik ve alerjik bireylerde intraepitelyal mast hücrelerinin katkısı da olabilir [92]. Bütün tükürükte bulunan IgE izlerinin biyolojik önemi bilinmemektedir.

#### **2.7.4. İmmunoglobulin olmayan proteinler**

##### Lizozim

Lizozim spesifik olmayan tükürük immün savunmasının ana enzimini temsil eder ve esas olarak submandibular ve sublingual bezler tarafından salgılanır [93, 94]. Tükürük lizozimi,

maruz kalan bakteri hücre duvarlarında spesifik bağları hidrolize ederek hücre lizisine ve ölüme neden olur. Bununla birlikte, birçok organizmada, lizozim saldırısına karşı direnç sağlayan hücre kapsülleri veya diğer hücre duvarı koruyucu materyalleri bulunur [95]. Lizozim, immünoglobulinlerin bağlandığı bakteriler için, bazı açılardan serumdaki kompleman sistemini taklit eden bakteriler için litik bir faktör olarak önerilmiştir. Lizozim bazı bakteri türlerinin hücre süspansiyonlarını toplar [33]. Ayrıca lizozimin mukozanın korunmasına katkıda bulunduğu ve ağız boşluğundaki Candida popülasyonlarını modüle ettiği bilinmektedir [96].

#### Peroksidaz sistemleri

Peroksidazlar, tükürük peroksidazı ve miyeloperoksidaz, bakteri üremesinin ve metabolizmasının engellenmesine ve hidrojen peroksit birikiminin önlenmesine neden olan bir reaksiyonu katalize ederler, böylece proteinleri oksijen ve reaktif oksijen türlerinin etkisinden korurlar [97, 98]. Daha kesin olarak, tükürük peroksidazı, birçok mikroorganizmanın büyümesini ve metabolizmasını engelleyen oksidasyon ürünleri üretmek için tiyosiyanat iyonunun oksidasyonunu katalize eder [98]. Birincil oksidan, hidrojen peroksit, bakteriler tarafından üretilir ve toksik ajanların üretimini lokalize eder ve bakteriyel hedefe yakın olarak gerçekleşir [72].

#### Laktoferrin

Laktoferrin, plazma ve mukozal sekresyonlarda bulunur [82]. Tükürük laktoferrin antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Laktoferrin demiri bağlar, mikrobiyal kullanım için kullanılamaz hale getirir [95]. Laktoferrin, bağlanma durumunda, Streptococcus mutans suşları dahil olmak üzere bazı mikroorganizmalar üzerinde doğrudan bakteri yok edici etkiye sahiptir.

#### Histatinler

Histatinler, tükürükte bulunan bir grup küçük histidin bakımından zengin protein içerir. Histatinlerin en önemli işlevi Candida albicans'a karşı mantar önleyici etkileri olabilir [99, 100]. Oral kandidiyazis ayrıca tükürük histatini de modüle edebilir [101, 102]. Histatinlerin, tükürük disfonksiyonu olan hastalarda suni tükürüğün bileşenleri olarak

kullanılabileceği öne sürülmektedir [99]. Histatinlerin insan tükürüklerinde tanen bağlayıcı proteinler olduğu gösterilmektedir [103, 104]. Histatinler ayrıca emaye yüzeylere ve hidroksiapatite karmaşık bir şekilde bağlanır [105].

### Staterin

Staterin gibi tükürük proteinleri, aşırı doymuş çözeltilerde kalsiyum fosfatın kristal büyümesini inhibe eder ve hidroksiapatit üzerinde adsorbe olan birkaç oral bakteri ile etkileşime girer. Aynı zamanda, kalsiyum fosfatlara göre daha fazla doymuş hale gelen tükürük, plak mineralizasyonu ve taş oluşumu için itici güçtür [106].

### Sistatin

Sistatin süper ailesi, yapısında sistein bulunan fosfoproteinlerdir. Vücut sıvılarının çoğunda ve dokularda bulunmaktadır. Tükürük sistatinleri 121 amino asitten oluşmaktadır. En önemli fonksiyonu, sistein proteazları inhibe etmek ve mine yüzeyinde mineralizasyona yardımcı olmaktır. Antiviral özelliğe sahiptir [106].

### Aglütininler

Tükürük aglütininleri, bakterilere bağlanmak için etkileşime giren glikoproteinlerdir, bu da bakterilerin tükürük tarafından daha kolay temizlenip yutulması ve büyük bir topak halinde toplanmasına neden olur [107]. Tükürük proteinlerine bakteriyel bağlanma kısmen diş yüzeylerinin kolonileşmesinde bireysel farklılıklara neden olabilir. Aglütininler, streptokokların ağız boşluğundan toplanmasını ve temizlenmesini indükler ve aynı zamanda ilk plak oluşumunun önemli modülatörleridir [78]. Öte yandan, tükürük aglütininlerinin, çeşitli bakteri türlerinin diş yüzeylerine yapışmasına aracılık edebileceği görülmektedir [108, 109]. Aglütinasyon kapasitesine sahip bir dizi tükürük proteini tanımlanmıştır. Bunlar; parotis tükürük glikoproteinleri, müsin,  $\alpha_2$ -mikroglobulin, fibronektin ve lizozim [95].

### Haptokorrin

Besinlerde bulunan proteinlerden asit ve enzimatik işlemlerle salındıktan sonra midede B<sub>12</sub> vitaminini bağlayan tükürük bezleri tarafından salgılanan bir glikoproteindir.

### Kallikrein

Kininojenin ( $\alpha_2$ -globulin), bradikinin ya da kallidine dönüşmesine aracılık eden bir proteolitik enzimdir. Tükürükte, kanda, lenfte ve çeşitli dış salgılarda bulunmaktadır.

#### **2.7.5. Tükürük antimikrobiyal faktörler ve ağız sağlığı**

Organik tükürük bileşenlerinin nispi derişimlerinin tükürük akış hızına bağlı olduğu bilinmektedir [68]. Bazı araştırmalar tükürük proteinlerinde zamansal farklılıklar olduğunu bildirmektedir [110, 111, 112].

#### **2.8. Tükürük Albumini**

Albumin, en fazla bulunan serum proteinidir ve tüm plazma proteinlerinin %50'sinden fazlasını oluşturur. Moleküler kütlesi 69 kDa ve normal serum referans sınırları 40-52 mg / L'dir. Albumin, yalnızca karaciğerde 100-200 mg / kg / gün oranında sentezlenir. Albumin sentezini düzenleyen faktörler beslenme, hormonal denge ve ozmotik basıncıdır. Albuminin yarı ömrü yaklaşık 15-20 gündür. Günde albuminin yaklaşık %4'ü bozulmaktadır, ancak serum albumini azaltan veya intravasküler osmotik basıncı düşüren koşullar altında sentezi %100 oranında artırılabilir [113]. Nefrotik sendrom, karakteristik proteinüri ve daha sonra ödemle sonuçlanan hipoalbuminemi ile birlikte sistemik bozuklukların en iyi bilinen örneğidir [114].

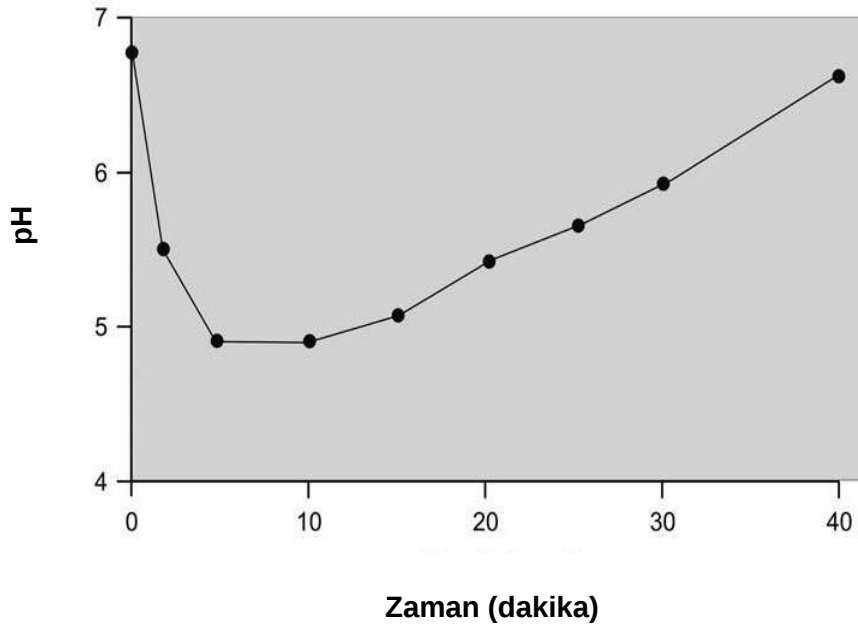
Tükürük albumin, ağız boşluğundaki farklı materyaller tarafından seçici olarak adsorbe edilir; bu, spesifik bakterilerin bağlanmasını sağlayabilir ve böylece diş plağının kompozisyonunu değiştirir [115]. Immünoşüpresyon, radyoterapi ve diyabet, yüksek tükürük albumin derişimlerinin tespit edildiği durumların örnekleridir [89, 116, 117, 118]. Tükürük albumininin ağızdaki mukozal fonksiyonun bütünlüğünü değerlendirmek için kullanılabileceği varsayılabilir [119].

## 2.9. Üre

Tükürükteki üre konsantrasyonu, plazmadan biraz daha düşüktür. Üre, oral bakteriler tarafından amonyak ve  $\text{CO}_2$ 'e metabolize olur, bu da ortamın pH'ında bir artışa neden olmaktadır [120, 121, 122].

Normal tükürük üre düzeylerinin plak pH'ı ve Stephan eğrisinin derinliği ve süresi üzerindeki etkisi belirsizdir. Plak karyojenitesinin, sadece bazı hastalıkların bir sonucu olarak yükseldiği zaman değil, normal aralıktayken bile tükürük üre derişimleriyle ters ilişkili olabileceği öne sürülmüştür [120,122].

Tükürükte üre bulunmadığı zaman Stephan eğrisinin minimum pH'ının (Şekil 2.7) yaklaşık 0,5 birim daha derin olacağını göstermektedir. Üremili hastalarda daha az çürük, daha fazla taş geliştirir ve istirahat halinde pH'ı 9'a kadar yükseltebilmektedir [123].



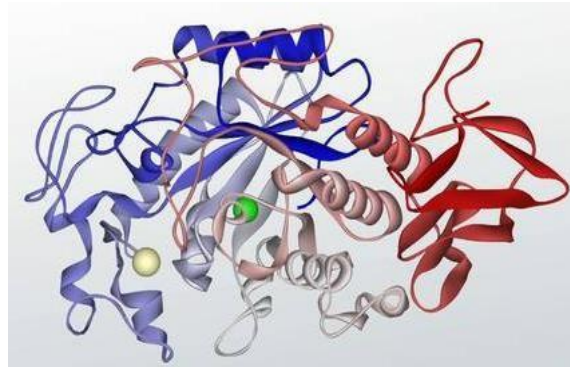
**Şekil 2.7.** Stephan eğrisi- (Redrawn from G N Jenkins, The physiology and biochemistry of the mouth (4th Edition) Blackwell, London, 1978)

Bazı metabolik durumlarda, özellikle böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda, ürenin biriktiği ve tükürükte kolayca izlenebileceği öne sürülmektedir.

## 2.10. Tükürük $\alpha$ -Amilazı

Amilaz ( $\alpha$ -amilaz), en önemli tükürük sindirim enzimlerinden biridir. Bir kısmının glikozile edildiği ve diğer kısmının karbonhidrat içermediği iki izoenzim ailesinden oluşur [124]. Tükürük amilazı, amiloz ve amilopekin gibi nişastanın  $\alpha$  bağlarını hidrolize eden bir kalsiyum metaloenzimdir [72]. Maltoz son ana üründür. Amilazın, toplam tükürük bezi tarafından üretilen proteininin %40 ila %50'sini oluşturduğu enzimin çoğunun parotis bezinde sentezlendiği öne sürülmektedir [94]. İnsan parotis tükürüğü ve submandibular tükürük, 100 mg protein başına sırasıyla yaklaşık 45 mg ve 30 mg amilaz içerir [124]. Bununla birlikte, amilazın parotis tükürüğündeki toplam protein içeriğinin yaklaşık 1 / 3'ünü oluşturduğu ve bütün tükürükteki içeriğin daha düşük olacağı da iddia edilmektedir [125]. Amilaz derişimi tükürük akış hızı ile artar ve genellikle seröz hücre fonksiyonunun güvenilir bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir [126].

Sindirim enzimi olarak bilinen fonksiyonuna ek olarak, amilazın antimikrobiyal fonksiyonuna da sahip olduğu bilinmektedir. Amilaz aktivitesi gözyaşı, nazal ve bronşiyal sekresyonlarda, süt, serum, idrarda ve ürogenital sistemin sekresyonlarında da bulunur [112]. Amilaz ayrıca bazı oral bakterilerle spesifik olarak etkileşime girer ve bu türlerin dişlere yapışmasının modüle edilmesinde rol oynayabilmektedir [127]. Tükürük amilazının *Legionella pneumophila* ve *Neisseria gonorrhoeae*'nin büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur [95]. Açlığın, tüm tükürük amilaz düzeylerini, aktivitesini ve radyasyona bağlı hiposalivasyondaki amilaz konsantrasyonlarını azalttığı bulunmuştur [124, 126].



**Şekil 2.8.** Tükürük  $\alpha$ -amilazın yapısı

### 2.10.1. $\alpha$ -amilazı etkileyen faktörler

Tükürük  $\alpha$ -amilaz aktivitesini birden fazla faktör etkilemektedir [128]. Bunlar;

- **Cinsiyet**

Yapılan çalışmalarda fiziksel ve psikososyal strese karşı  $\alpha$ -amilaz aktivitesinde cinsiyet rolü incelenmiş ve kadınlar ile erkekler arasında bir fark bulunamamıştır [129, 130].

- **Yaş**

Bebeklerde bazal amilaz aktivitesi bulunmadığı için strese tepkileri yoktur; ilk üç yıl içerisinde erişkin derecesine gelmek için sürekli olarak aktivite artmaktadır. Yaşlılık döneminde ise sabit kalmaktadır [131, 132].

- **Sigara**

Yapılan çalışmalarda tütünün amilaz aktivitesini inhibe ettiği bulunmuştur [133, 134].

- **Tıbbi ilaçlar**

Antagonistlerin tükürük  $\alpha$ -amilazı üzerinde güçlü bir etkisi vardır.

- **Kafein**

Amilaz aktivitesini uyarmaktadır.

- **Yiyecek**

Bazal amilazın aktivitesinin karbonhidratlı yiyecekler tükettiğimizde daha yüksek olduğu bilinmektedir.

- **Egzersiz**

Fiziksel aktivite  $\alpha$ -amilaz düzeyini arttırmaktadır [135].

- **Somatik ve psikiyatrik hastalıklar**

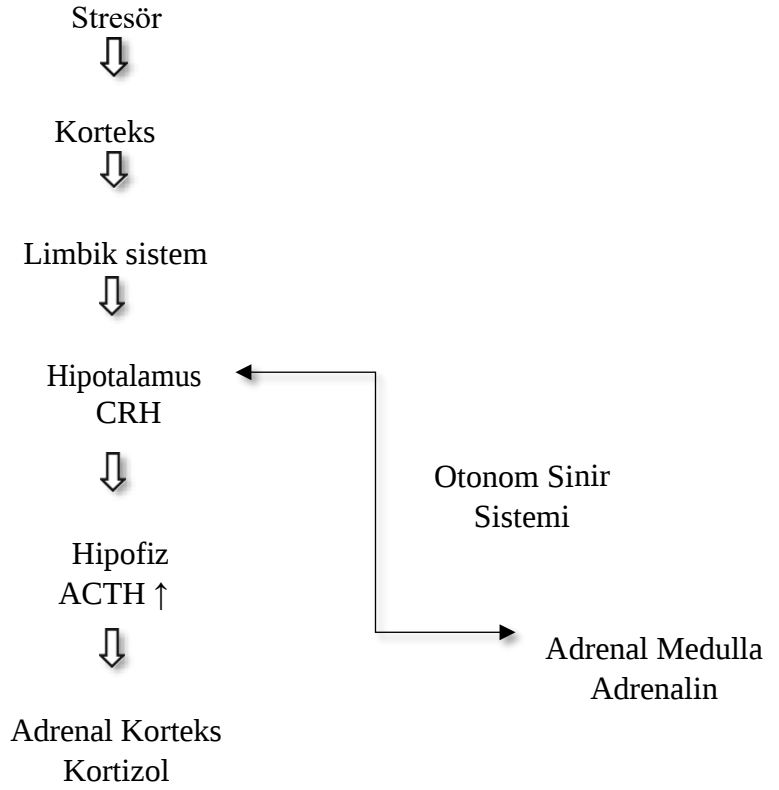
Artmış ya da azalan  $\alpha$ -amilaz derişimlerine bağılı olarak bazı somatik hastalıklar görölmektedir.

### 2.10.2. Stres

Stres, canlıların yaşamda karşılaştığı yeni koşullarda ruhsal, bedensel sınırlarının zorlandığı durumdur. Bir başka deyişle, canlının tehdit ve zorlukla karşılaştığı durumlarda, homeostatik dengesini korumak için geliştirdiğı biyokimyasal mekanizmalardır [18]. Canlılarda strese yol açan etmenlere stresör denir. Stresörler, vücudu savaş ya da kaç reaksiyonuna hazırlayan otonom sinir sisteminin aktivasyonuna ve hipotalamik-hipofiz adrenal (HPA) eksenin aktivasyonuna neden olabilir. Aktive otonom sinir sistemi, adrenal medulladan epinefrin ve norepinefrini serbest bırakır. Norepinefrinin, parotis ve submandibular tükürük bezlerinin asiner hücrelerinden tükürük  $\alpha$ -amilazının (sAA) salgılanmasını arttırdığı gözlenmiştir. Tükürükteki  $\alpha$ -amilaz seviyesinin, otonom sinir sistemi aktivitesini yansıttığı ve bunun ölçölmesinin, kolay, invaziv olmayan bir yöntem olduğı öne sürölmektedir [136].

HPA ekseninin aktivitesi kortizol düzeyleri ile iyi yansıtılmaktadır. Plazmada, albumin, kortikosteroid bağlayıcı globulin ve diğler plazma proteinlerine bağlanan hem serbest kortizol hem de kortizol içeren yalnızca toplam kortizolün ölçölmesi standarttır. Plazma proteinlerindeki değışiklikler, toplam kortizol seviyelerini önemli ölçüde etkiler, bu nedenle serbest kortizol ölçen HPA eksenini değerdendirmek için tercih edilmektedir. Serbest kortizölü tükürükte ve idrarda ölçmek mümkündür. Bundan dolayı kortizöl, HPA eksen aktivitesinin iyi bir belirtecidir [136, 137].

Stresörler homeostatik dengeyi bozan fiziksel, sosyal veya psikolojik etmenlerdir. Stresörlere travma, şiddetli egzersiz, yiyecek kısıtlaması, hayal kırıklığı gibi her türlü duygu değışimi, yaralanma ya da hastalıklar gibi çeşitli örnekler verilebilir [20].



**Şekil 2.9.** Stres hormonlarının salgı mekanizmaları

Stresörlere ait bilgi korteks, limbik sistem ve beyin sapından gelen yollar ve spinohipotalamik yollar-lateral hipotalamus-paraventriküler nükleus (PVN) aracılığıyla hipotalamusa iletilmektedir. Bu bilgiye karşı yanıtta hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) sistemi, hipotalamus tarafından uyarılarak epifiz bezi üzerinde etki gösteren arjinin-vazopressin (AVP) ve kortikotropin salgılatıcı hormonun (CRH) salgısına yol açmaktadır. AVP ve CRH ‘un etkisiyle hipofizin ön lobundan adrenokortikotropin hormon (ACTH) salgılanır. ACTH ise adrenal korteksten kortikosteroid üretimini artırmaktadır [21].

#### Otonom sinir sistemi

Otonom sinir sistemi (OSS), iç organ düz kaslarını kontrol eden ve istem dışı çalışan bir sistemdir. Otonom sinir sistemi sadece iç organ düz kaslarındaki aktiviteleri düzenlemez, bazı hormonların salgılanmasında uyarılarak hormonal bir etkide sağlamaktadır [138]. Otonom sinir sistemi duyuşal afferent lifler ve adrenal medula tarafından kromogranin A ve katekolaminlerin sekresyonuna yol açan adrenerjik reseptörler tarafından uyarılmaktadır.

Ayrıca bazı nöropeptitlerin (substans P gibi) salınımına neden olan duyusal afferent lifler santral sinir sistemini (SSS) ‘nin uyarılmasıyla HPA eksenini etkileyebilmektedir.

Otonom sinir sistemi üzerinden etki eden sempatik ve parasempatik uyarılmaların tükürük  $\alpha$ -amilaz (sAA) gibi enzimlerin salgılanmasıyla da strese adrenerjik mekanizmaları aracılığıyla tükürük bezleri üzerinde güçlü bir rol oynamaktadır [139].

**Çizelge 2.3.** Sempatik ve parasempatik uyarılmaların tükürük salgılanmasındaki etkileri

| <b>Sempatik Uyarı</b>  | <b>Parasempatik Uyarı</b> |
|------------------------|---------------------------|
| Vazokonstriksiyon      | Vazodilatasyon            |
| Salgı yapımında azalma | Salgı yapımı artar        |
| Mukoid salgı oluşur    | Visköz salgı oluşur       |
| pH azalır              | pH artar                  |
| Akış hızı azalır       | Akış hızı artar           |

Strese karşı organizmanın cevabı iki şekilde olmaktadır. Bunlardan bir tanesi sempatik adreno-medullar (SAM) sistemidir. Bu sistem katekolaminlerin salgılanması sonucunda  $\alpha$ -amilaz aktivitesini artırabilmektedir. Strese karşı organizmanın verdiği diğer cevap ise hipotalamik-hipofiz-adrenal aks (HPA)’dır. HPA’nın aktivitesi sonucunda kortizol salgılanması ile organizma strese karşı savaşılmaktadır [140, 141, 142, 143].

## **2.11. $\alpha$ -Amilaz Ölçümü için Kullanılan Yöntemler**

### **2.11.1. Nişasta-iyodin yöntemi**

Alfa-amilaz enziminin yapısında bulunan ve ardarda dizilen glukoz molekülleri sarmal bir yapı oluşturmaktadır. İyot molekülleri bu sarmalların içerisine girerek glukozlar arasındaki bağı kırar ve nişastanın iyodin ile mavi-mor renk açığa çıkarmasına neden olur [144].

### **2.11.2. CNPG3 yöntemi**

Alfa-amilaz, 2-kloro-p-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotriozidini (CNPG3) hidrolize ederek 2-kloro nitrofenolü serbest bırakır ve 2-kloro-p-nitrofenil-  $\alpha$ -D-maltotriozid (CNPG2), maltotrioz (G3) ve glukozu oluşturması esasına dayanmaktadır [145, 146].

### **2.11.3. DNS yöntemi**

3,5-dinitrosalisilik asit ve numunede bulunan indirgenen şekerler arasında bir redoks tepkimesini içeren kolorimetrik bir tekniktir.

Bu şekerlerin indirgeme gücü, hafif oksitleyici ajanlarla karboksil grubuna oksitlenebilen karbonil gruplarından gelirken, DNS (sarı) indirgeyici şekerlerle reaksiyona girdiğinde, spektrofotometri ile ölçülebilen 3 amino-5-nitrosalisilik asit (kırmızı-kahverengi) meydana getirmesine dayanmaktadır [147, 148, 149].

## **2.12. Tükürükte Hormonlar**

### **2.12.1. Hormonların tükürük içerisine taşınması**

Genel olarak tükürükte bir molekülün varlığı dört mekanizma ile gerçekleşebilir [150]:

1. Tükürük bezlerinin hücrelerinin sıkı bağlantılarından geçerek
2. Tükürük bezlerinin asiner hücrelerinin lipit bakımından zengin hücre zarlarından geçerek
3. Aktif salgılama
4. Kontaminasyon (Kirlenme)

Ek olarak tükürük bezindeki analiti pH, metabolizma ve tükürükteki hormon derişimini etkileyebilir. Bu nedenle, bir hormonun tükürük seviyesinin, sadece molekül lipofilik ise, plazma seviyesini yansıtmaması daha olasıdır.

### **2.12.2. Steroid hormonlar**

Tükürük toplanmasının invaziv olmamasından dolayı hormonların, özellikle de nötral steroidlerin ölçülmesine olan ilgi, son yıllarda önemli ölçüde artmıştır [10].

Steroid hormonları plazmada serbest hormonlar veya proteinlere bağlı hormonlar şeklinde dolaşıma katılırlar ve bu bağlanma “spesifik olmayan” veya “spesifik” olabilir. Spesifik olmayan bağlanma genelde albumin, cinsiyet hormonu bağlayan globulin ve kortikosteroid bağlanma proteini (CBG) gibi proteinlerle gerçekleşmektedir. Tükürükte bulunan tüm steroid hormonlarının derişimleri plazmadaki serbest fraksiyonu yansıtmaktadır [9, 10, 150, 151].

### Kortizol

1978 yılından itibaren tükürük kortizol düzeylerinin belirlenmesi çalışmaları yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu tükürük kortizol düzeylerinin plazma serbest düzeylerinden %20 daha düşük olabileceğini göstermektedir [151, 152]. Tükürük kortizol ve plazma serbest kortizol derişimleri arasında iyi bir korelasyon olduğu bulunmuştur ( $r=0,80-0,90$ ).

Tükürük analizleri, kortizolün stres durumundaki değişimini belirlemek için ve tükürük ACTH testine yanıtı takip etmek için de kullanılmaktadır.

### Büyüme hormonu

Büyüme hormonu 191 amino asit içerir ve hipofiz bezinin ön kısmından somatotrof hücreler tarafından salgılanır. Ağız boşluğundaki fonksiyonu bilinmemektedir. İnsan tükürüğünde sadece küçük miktarda GH bulunmaktadır. GH, büyük bir molekül olduğu için diğer küçük streoid hormonları gibi serumdan tükürüğe serbest halde yayılması mümkün değildir.

## **2.13. Adrenal Bez Anatomisi ve Biyokimyası**

Adrenal (böbrek üstü) bezler karın arka duvarına komşu, böbreklerin hemen üzerinde ve ana damarlara çok yakın olarak yerleşmiş olan, 5-10 gr ağırlığında, 4x3x3 cm boyutlarında iç salgı bezidir [110, 111]. Yaşam için zorunlu bir bezdir. Yaklaşık olarak torakal 11.-12. vertebra hizasında yer alırlar. Yapısal olarak birbirinden farklı hücre katmanlarından oluşur ve her bir tabakadan farklı hormonlar salgınır [112].

Her bir böbreküstü bezi, böbreklerin üst uçları (polus superior) üzerinde supermedial konumda yer alır. Fascia renalis ile sarılı olarak capsula adiposa (perirenal yağ kapsülü) içinde gömülüdür. Sol böbrek üstü bezi semilunar şekildedir (üç yüzlü, iki kenarlı) ve genel olarak böbreğin hilusunun üst tarafında kalan iç kenarı boyunca vertikal şekilde uzanır. Diafragmanın sol krusu üzerinde oturan böbreküstü bezi önde mide, pankreas ve dalak ile komşudur. Sağ böbrek üstü bezi piramit şekildedir. Diafragma üzerinde oturan sol böbreküstü bezi önde v.cava inferior ve karaciğer ile komşudur [153, 154].

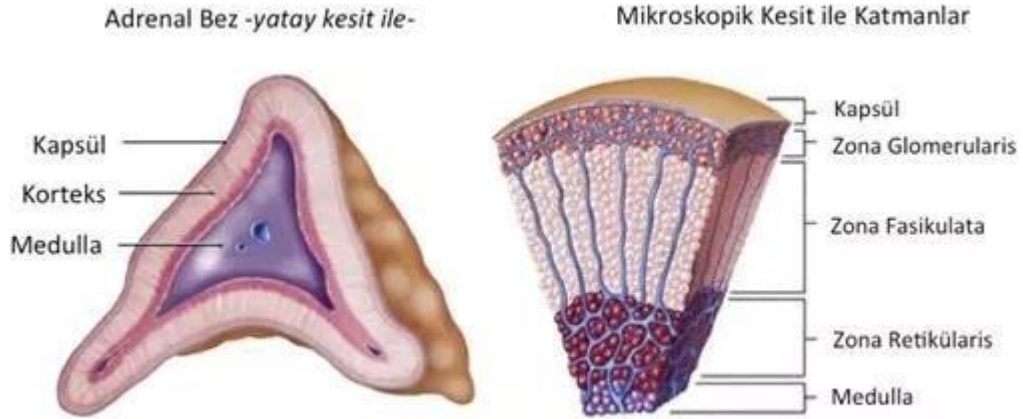
Böbreküstü bezi, a.phrenica inferior (a.suprarenalis superior), aorta abdominalis (a.suprarenalis media) ve a.renalis (a.suprarenalis inferior)'lerden gelen dallar tarafından beslenir. Venöz kanı tek büyük ven ile (v.suprarenalis ağda v.cava inferior'a solda v.renalis'e) dökülür.

Embriyolojik, anatomik ve fizyolojik olarak farklı 2 ayrı tabakadan oluşmaktadır [113].

1) Adrenal medulla; Sinir dokusu yumağı (en büyük sempatik preganglioner) şeklindedir. Yapısında kromaffin hücreler, venöz sinüzoidler ve sempatik sinir hücreleri bulunur. Kromaffin hücreler, modifiye olmuş postganglioner sempatik nöronlardan oluşur. Katekolaminleri (adrenalin/epinefrin ve noradrenalin/norepinefrin) salgılar. Kavga, uçuş ve korkma gibi ruhsal durumlarda aktif olarak yanıt verirler (tansiyon ve nabız yükselir, bazal metabolizma artar) [110, 153].

2) Adrenal korteks; Mezoderm kaynaklı olup hipofiz kontrolünde çalışır. Birçok hormonun salgılanmasında görevlidir. Korteks dıştan içe doğru farklı tiplerde steroid sentezleyen üç katmandan oluşur. Bunlar;

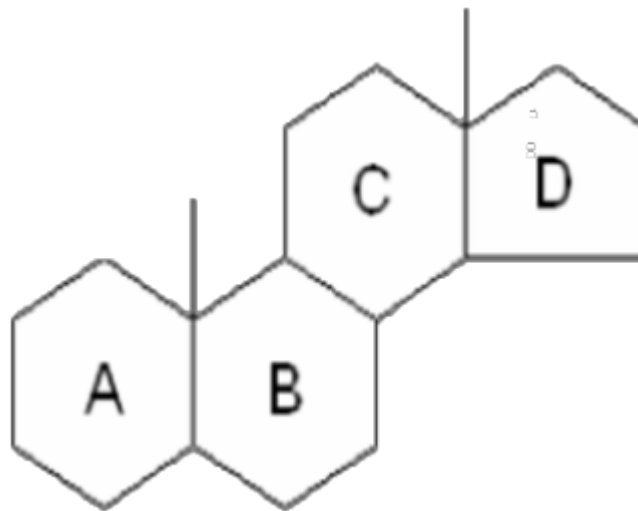
- Zona glomerulaza (%15)- mineralokortikoidleri (aldosteron) salgılar. Dokuların elektrolit ve su dengesi üzerine etkili olan aldosteron salgılar.
- Zona fasikulata (%75)- glukokortikoidleri (kortizol) salgılar. Karbonhidrat dengesini korumak üzere glukokortikoidleri salgılar. Bunlar arasında hidro-kortizon (kortizol) en önemlisidir.
- Zona retikularis (%10)-gonadokortikoidleri (androjenler-seks hormonları) salgılar. Cinsiyet hormonlarından progesteron, östrojenik ve androjenik hormonlarının salgılandığı tabakadır [111, 114, 115].



**Şekil 2.10.** Adrenokortikal hormonların böbreküstü bezi korteksinin farklı bölgelerinden salınımı (<http://imueos.wordpress.com/2010/04/27/adrenal-steroid-hormones/>).

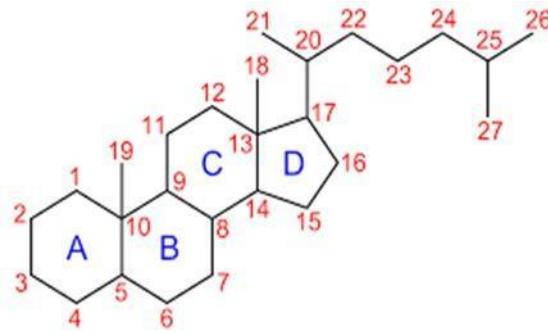
### 2.13.1. Adrenal korteks hormonların kimyasal yapısı

Adrenal korteks hormonlarının yapısında üç tane altı karbonlu siklohekzan halkasının oluşturduğu fenantren halkası ile bir tane beş karbonlu siklopentan halkasının yer aldığı siklopentanoperhidrofenantren halkası sistemi bulunmaktadır. Fenantren halkası A, B ve C'den oluşur, siklopentan halkası olan D bu oluşan yapıya bağlanır. Perhidro ön eki ise bileşiğin hidrojen atomlarıyla olan doygunluğunu ifade etmektedir [154].



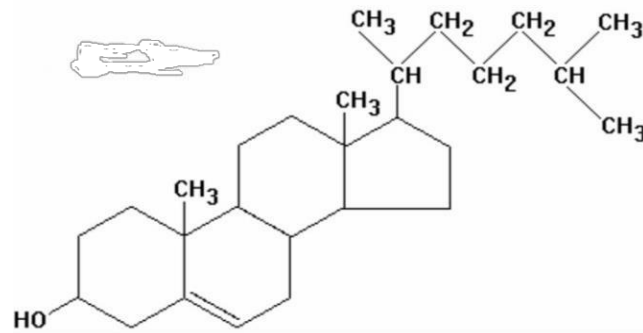
**Şekil 2.11.** Siklopentanoperhidrofenantren halka yapısı

17 C atomu içeren halka sisteminde karbon atomlarının numaralandırılması A halkasından başlamaktadır. Bu yapıya sahip steroid hormonların (kolesterol, safra asitleri, cinsiyet hormonları, vitamin D gibi doğal steroidler ve adrenal steroidler) üçüncü karbon atomunda bir keton veya hidroksil grubu bulunmaktadır. Ayrıca onuncu ve on üçüncü karbon atomlarında metil grupları bağlıdır. Bazı hormonlarda ise 17.ci karbon atomuna iki karbondan oluşan bir yan zincir ve/veya hidroksil ile keton grupları bağlanmaktadır. Yapısında asimetric karbon atomu içeren steroid hormonlar stereoizomerizm göstermektedir [155].



**Şekil 2.12.** Steroid hormonlarında ortak yapıları ve numaralandırılması

Kolesterol, vücutta plazmada ve dokularda serbest olarak veya yağ asitleriyle esterleşmiş şekilde bulunmaktadır. Yapısında 5. ve 6. karbon atomları arasında bir çift bağ ve 17. karbondan alifatik yan zincir bulunmaktadır.



**Şekil 2.13.** Kolesterolün yapısı

## 2.14. Glukokortikoidler

Glukokortikoidler (GC), günlük ritimde ve organizma stres altındayken homeostazi sağlamak için doğal olarak adrenal bezlerden salgılanan 21 karbonlu steroid hormonlardır. Hem vücutta salgılanmakta hem de sentetik olarak üretilmektedir. Glukokortikoidlerin üretimi ile ilgili olarak HPA ekseninde, glukortikoid bağlayan mineralokortikoidler, mineralokortikoid reseptörleri ve glukokortikoid reseptörleri bulunmaktadır. Beyinde glukokortikoid reseptörleri bulunurken, mineralokortikoidler hipokampusta bulunmaktadır. Glukokortikoidler, etkilerini Glukokortikoid Reseptör'lerine (GR) bağlanarak gösterirler [155, 156, 157].

Glukokortikoid reseptörler, hormonların düzeylerinde meydana gelen yükselmelerde negatif geri bildirimi düzenlerler. Mineralokortikoidler ise sodyum ve potasyum düzeylerini regüle ederler. Mineralokortikoid reseptörleri hücre içinden gelen glukokortikoidlerle sürekli ilişki içindeyken, glukokortikoid reseptörleri, stres ya da sirkadiyen ritim ile ilişkili olarak glukokortikoid düzenlenmesine katılır.

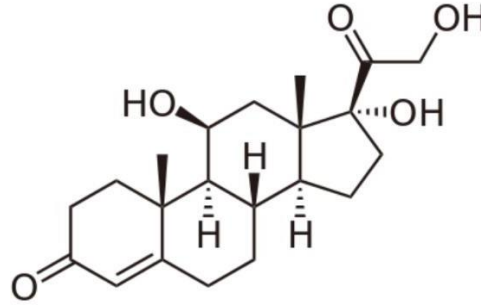
Kolesterolden kortikosteron sentezi adrenal bezin üç bölgesinde de gerçekleşmektedir. İnsanda en çok sentezlenen etkinliği en fazla olan hormon kortizoldür, kortikosteron daha az sentezlenip salınmaktadır. Kortizolün büyük bir kısmı zona fasikülata olmak üzere az miktarda da zona retikularisde sentezlenmektedir. Adrenal korteksin bu iki bölgesi; 17 alfa-hidroksilaz enzimi (CYP17) içermesine rağmen kortikosteronu aldosterona dönüştüren enzimler bu bölgelerde bulunmaz. Enzim lokalizasyonuna bağlı olarak adrenal steroidler üretiminde bölgesel farklılıklar göstermektedir [148].

### 2.14.1. Glukokortikoidlerin biyokimyasal etkileri

Glukokortikoidler yaşam için oldukça önemlidir. Etkileri kendine ait reseptörlere bağlanarak ortaya çıkmaktadır. MAPK (mitojenle aktive olan protein kinaz), CDK ve GSK-3 $\beta$  (glikojen sentez kinaz-3 beta) gibi kinazlar tarafından fosforillenerek, dimerize glukortikoid reseptörleri nükleusa geçerek hedef genlerde transkripsiyonel aktivite değişikliklerine neden olmaktadır. Genellikle bu etkilerini glukoneojenezde, damarlarda katekolaminlere artmış yanıt, bağışık sisteminin baskılanmasında ve sinir sisteminin düzenlenmesinde göstermektedir.

### 2.15. Kortizol Sentezi ve Düzenlenmesi

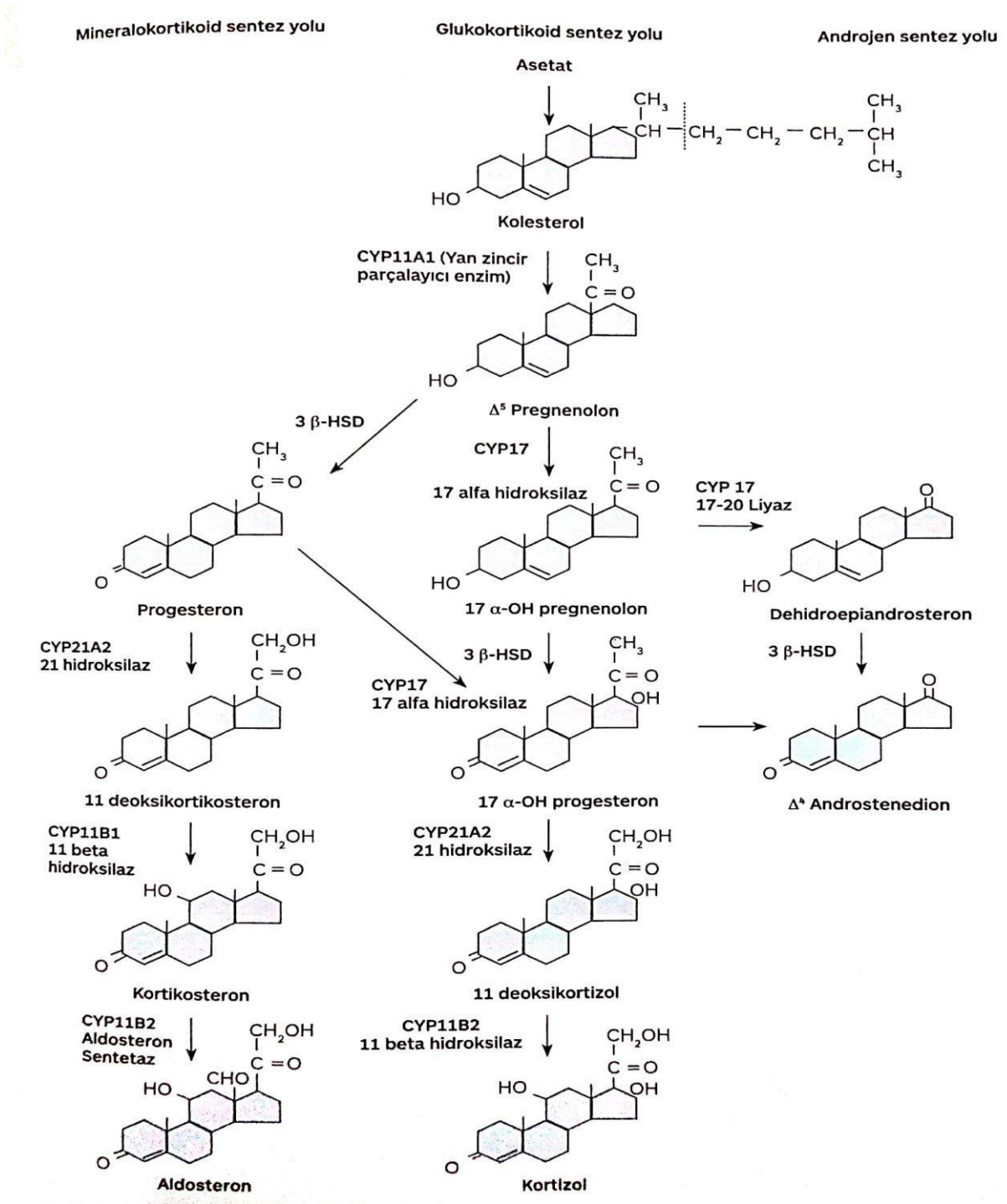
Kolesterol, diğer steroid hormonlarda, safra tuzları ve D vitamini biyosentezinde olduğu gibi kortizol sentezinde de öncül moleküldür.



**Şekil 2.14.** Kortizolün moleküler yapısı (<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cortisol2.svg>).

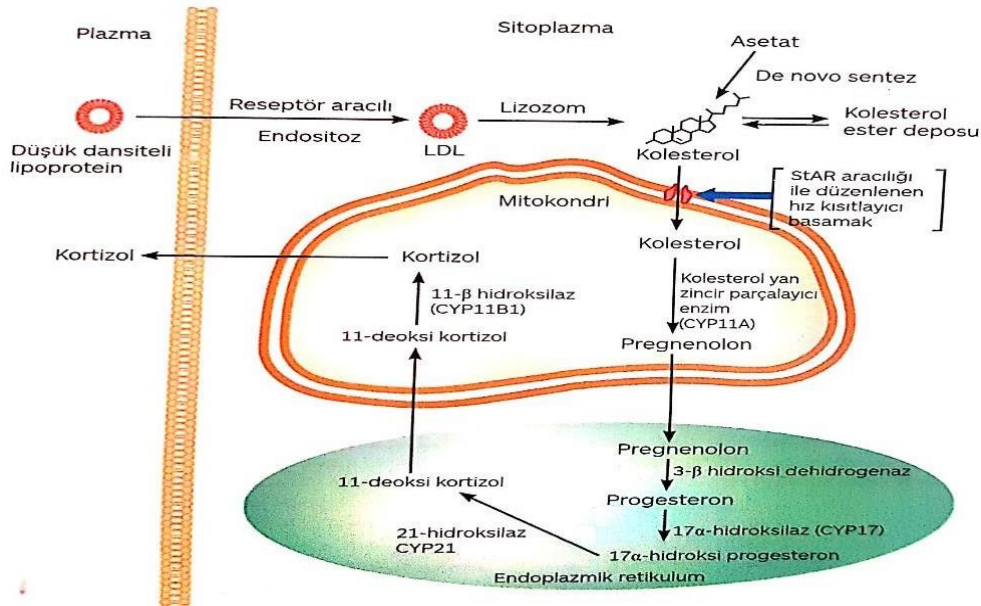
Steroid hormon sentezi mitokondride başlar. Esterleşmemiş kolesterol sitoplazmadan mitokondriyal zarın matriksine taşınır. Taşınma steroidojenik akut regülatör proteini (StAR) olarak bilinen fosfoprotein sayesinde gerçekleşir. Bu protein steroidojenik uyarıya yanıtı düzenler. Kolesterolün sitozolden mitokondriye taşınımı, steroid hormon sentezi için hız kısıtlayıcı bir basamaktır. Zona fasikülata ve zona retikularis bölgelerindeki ACTH ve Zona glomerulosada artan  $Ca^{+2}$  gibi trofik uyarılar sayesinde StAR proteininin dakikalar içerisinde sentezinin artmasına neden olur. Bu proteine ek olarak diğer proteinler de mitokondri zarı boyunca kolesterol transferine dahil olur.

Steroidojenezde yer alan enzimlerin birçoğu NADPH, elektron transfer sistemleri ve moleküler oksijen gerektiren sitokrom P450 (CYP) proteinleridir. CYP enzimleri mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur ve farklı elektron transfer sistemlerinden oluşmaktadır. CYP450 enzimleri özel işaretler ile birbirinden ayrılır, örneğin; kolesterol dezmolaz (CYP11A: yan zincir koparan enzim) mitokondriyal bir enzim olarak bilinir ve kolesterolün pregnenolan dönüşümünü katalize etmektedir. CYP21 ise 21.nci karbondaki hidroksilasyonu katalize ettiğinden dolayı hidroksilaz olarak adlandırılmaktadır. Steroidojenez yolu Şekil 2.15 'te gösterilmektedir.



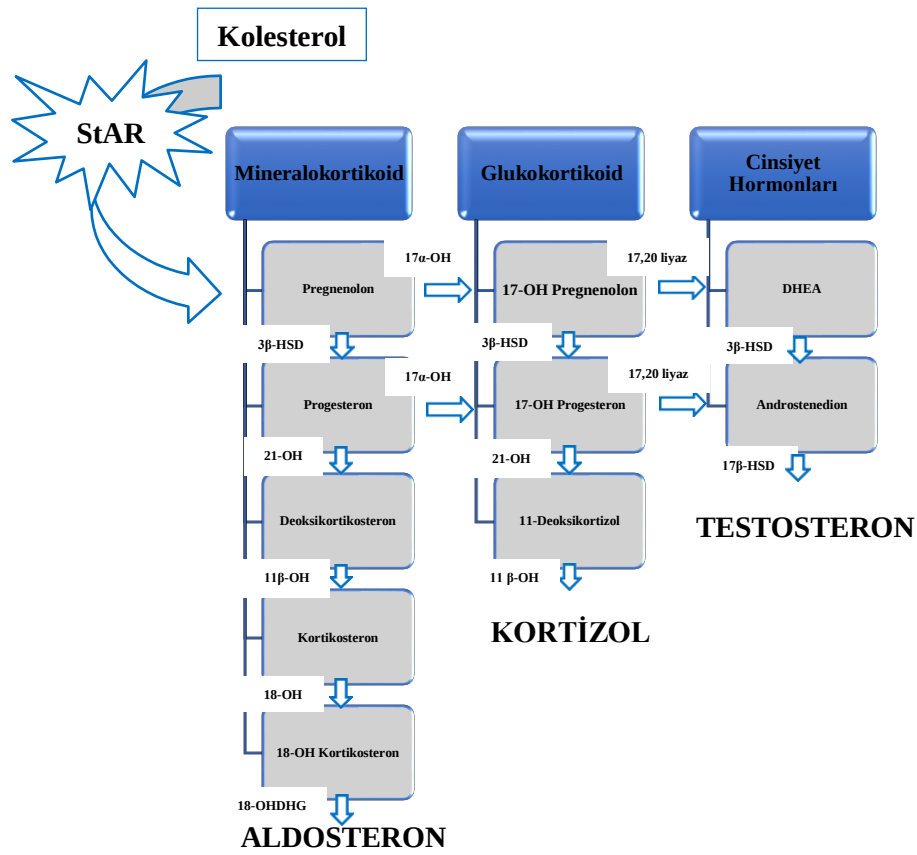
**Şekil 2.15.** Kortizol sentez basamakları (Candan G.Hormonların Genel Yapı ve Özellikleri. Bölüm:9.Temel Biyokimya.Ed:Emek K, Onat T, Sözmen EY. Ankara, Palme Yayıncılık 2002,481-491)

Adrenal korteksin her bir bölgesindeki aktif kortikosteroidlerin oluşumu kolesterol molekülünün bir dizi dönüşümünü içermektedir. Steroidojenez enzimleri mitokondri ve endoplazmik retikulumda dağılmış halde bulunmaktadır.



**Şekil 2.16.** Adrenal korteksin mitokondri ve endoplazmik retikulum enzimleri tarafından kortizol biyosentezi (Candan G.Hormonların Genel Yapı ve Özellikleri. Bölüm:9.Temel Biyokimya.Ed:Emerk K, Onat T, Sözmen EY. Ankara, Palme Yayıncılık 2002,481-491)

İlk aşamada, kolesterolün pregnenolona dönüşümü; ACTH ve anjiyotensin II ile düzenlenmiştir. Zona glomerulozada pregnenolonu 11-deoksikortikosteron üzerinden bir seri enzimatik reaksiyon ile aldosterona dönüşür. Zona fasikülata'da, pregnenolan ağırlıklı olarak kortizol oluşumuna yönlendirilir ve 17- $\alpha$  hidroksilasyonunu sağlar. Zona retikulariste ise pregnenolon; 17 alfa hidroksilasyonu gerektiren daha çok androjenlerin; dehidroepiandrosteron (DHEA) ve onun sülfatlı formu (DHEAS) sentezinde kullanır.



**Şekil 2.17.** Adrenal korteksin spesfik bölgelerinde steroid sentezi

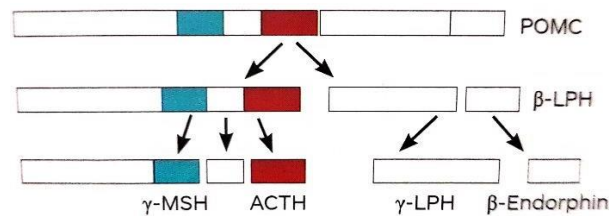
Kortizol salgılanmasının temel düzenleyicisi kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) ve dolaşımdaki serbest kortizol tarafından aktivitesi düzenlenen adrenokortikotropik hormon (ACTH) düzeyleridir. Adenohipofiz üzerine kortizol ve CRH'un etkisi adrenal bezin ACTH uyarıcısını ve dolaşımdaki kortizol düzeylerini belirler. Dengesiz durum koşullarında bu döngü geri bildirim sistemi, beynin yüksek bölümlerindeki sinirsel sinyallerin yerine geçer [158].

### 2.15.1. Kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH)

CRH, 41 aminoasit içeren peptit yapıda bir hormondur. Hipotalamustan salındıktan sonra CRH, hipotalamus-hipofiz adrenal aks ile ön hipofiz bezine ulaşır, CRH'dan daha az düzeyde ACTH salgılatmaktadır. ACTH ve ilgili peptidlerin (beta lipotropin ve beta endorfin) sentez ve salgılanmasını uyarır [159].

### 2.15.2. Adrenokortikotropin hormon (ACTH)

ACTH 39 aminoaside sahip bir ön hipofiz hormonudur. Büyük bir molekül olan proopiomelanokortinin (POMC) yıkılması ile oluşur. ACTH, genel olarak su dengesi ve immün sistemin düzenlenmesinde rol alır ve bu etkilerini böbreküstü bezi korteksinde kortizol yapımını uyararak gerçekleştirir [159]. ACTH salınımının düzenlenmesi hipotalamustan salgılanan CRH ile gerçekleşmektedir. Kortizol, negatif feedback mekanizması ile CRH salgılanmasını baskılar. Kortizol düzeyleri yükseldiğinde hipotalamusta baskılanan CRH yapımı ile ACTH sentezi azalır. Kortizol düzeyleri düştüğünde ise CRH yapımı artar ve buna bağlı olarak ACTH sentezi de artmaktadır.



**Şekil 2.18.** Proopiomelanokortin ana molekülü ve yıkım ürünleri (Candan G. Hormonların Genel Yapı ve Özellikleri. Bölüm:9. Temel Biyokimya Ed: Emerk K, Onat T, Sözmen EY. Ankara, Palme Yayıncılık 2002, 481-491)

### 2.15.3. Nöroendokrin kontrol

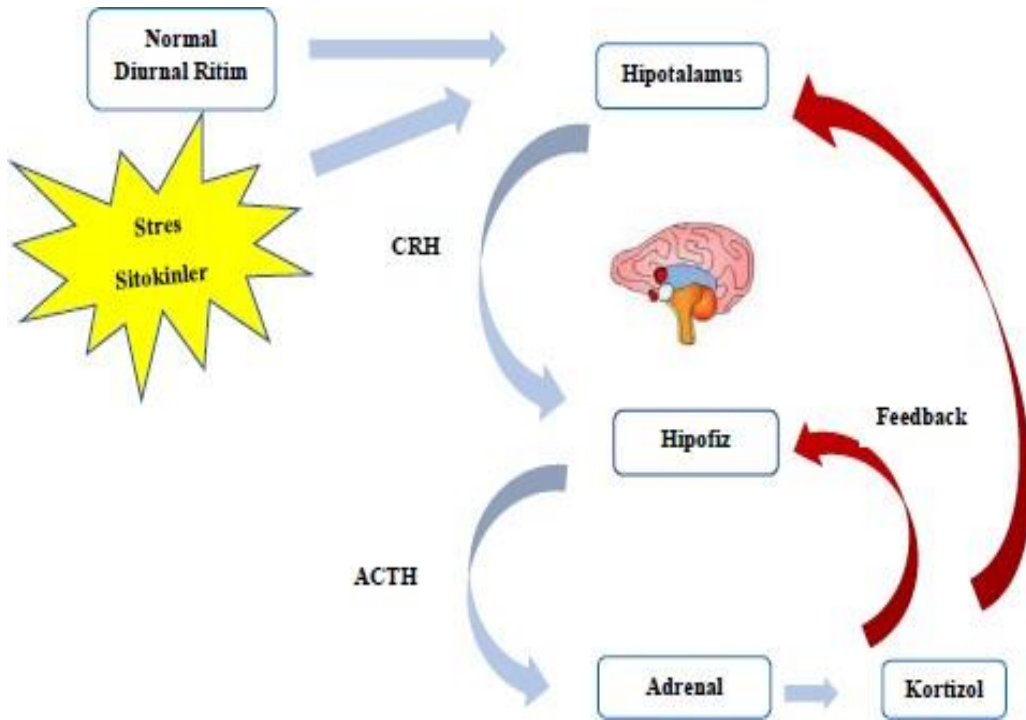
Kortizol sentezi nöroendokrin olarak kontrol edilir ve bu kontrolde üç mekanizma bulunur. Bunlar, sirkadiyen ritim, hipotalamik-hipofiz adrenal ekseninin (HPA) stres yanıtı ve ACTH salınımının kortizol ile geri bildirim inhibisyonudur [158].

#### Sirkadiyen ritim

Kortizol salınımı, CRH ve ACTH artışı sonrasında uyarılır ve diurnal ritim gösterir. Sabah saatleri en yüksek düzeyde olup, gece yarısı ise en düşük düzeydedir [160].

#### Hipotalamus-hipofiz adrenal ekseninin (HPA) stres yanıtı

Herhangi bir stres durumunda ACTH ve kortizol düzeyleri en yüksek seviyede olur. Hipotalamik-hipofiz adrenal aksı değerlendirmek için sabah kortizol düzeylerine bakmak yeterlidir.

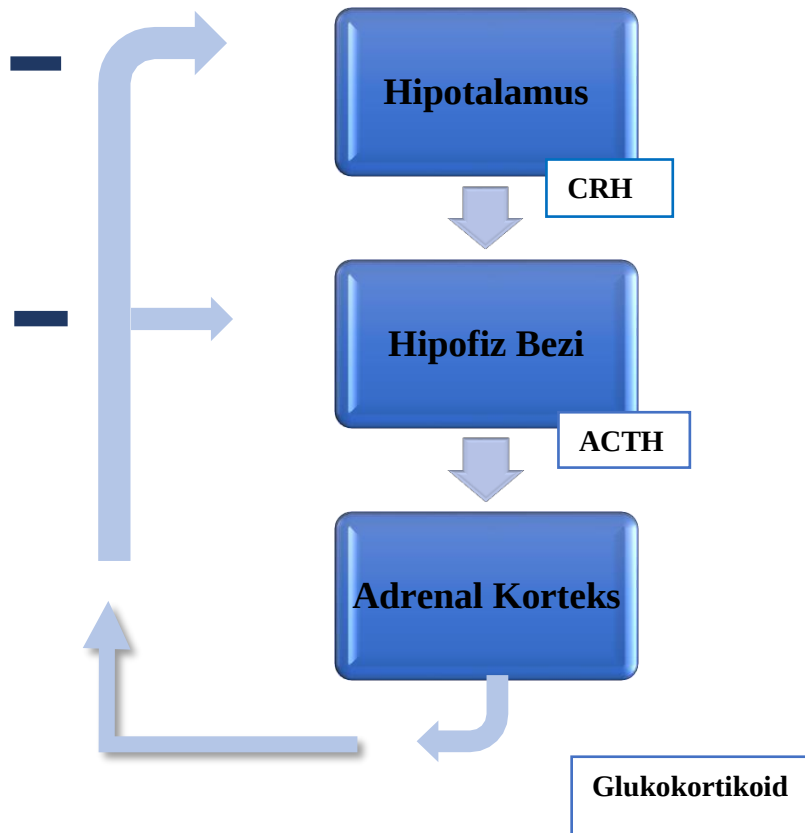


Şekil 2.19. HPA stres yanıtı

### Feedback inhibisyonu

Adrenal korteks hormonlarından kortizolün salgılanması; hipotalamustan salgılanan CRH ile ön hipofizden salgılanan ACTH etkisi altındadır. Kortizol salgılanması artırıcı etkenler hipotalamusu uyarak CRH ve ACTH salgılanmasına neden olmaktadır. ACTH'un salgılanması sonucunda adrenal korteks uyarılır ve kortizol salgılanır.

Kan-beyin bariyerini serbest halde geçen kortizol dolaşıma katılır ve negatif feedback ile kendi salınımını durdurur. Hipotalamik-hipofiz adrenal aksın ne kadar inhibe edileceği kortizolün miktarına bağlı değildir, bunu artış hızı belirlemektedir. Strese maruz kalındıktan sonraki geri bildirim kortizolün derişimine bağlıdır. Burada kortizol salınımı ve sentezi baskılanırken kortizol sentezinde rol oynayan reseptörlerde de down-regülasyon meydana gelmektedir [158].



**Şekil 2.20.** Feedback bildirim mekanizması

## 2.16. Kortizolün plazmada taşınması

Kan dolaşımında ana steroidlerin büyük çoğunluğu albumin ya da spesifik bağlayıcı proteinlere bağlanmaktadır. Çok küçük bir yüzde plazma da serbest olarak bulunur ve süllfatlı ya da glukronid formda dolaşır.

Kortizolün plazma yarı ömrünü spesifik bağlayıcı proteini olan CBG'e bağlanma miktarına ve inaktive edilme hızına bağlıdır. Bağlı olduklarında inaktif durumda oldukları için metabolik klirensi gecikmektedir. Bu durumda sistemik dolaşımdaki kortizol havuzu sağlanmış olmaktadır [155, 158].

### 2.16.1. Kortikosteroid bağlayıcı globulin

Serpin A6 olarak da adlandırılan insan kortikosteroid bağlayıcı globulini (CBG, transkortin), serpin super (serin proteaz) ailesine aittir. Kortikosteroid bağlayıcı globulin, 405 amino asitten oluşan 52 kDa ağırlığında salgılanan bir  $\alpha_1$ -glikoproteindir. Kortikosteroid bağlayıcı globulin, karaciğerde hepatositler tarafından sentezlenir ve salgılanır ve glukokortikoid duyarlı hücrelerde bulunur. Kortikosteroid bağlayıcı globulinin derişimi, östrojenler tarafından düzenlenir.

Kortikosteroid bağlayıcı globulin, kandaki progestin ve glukokortikoidler için ana taşıma proteinidir. Böylece CBG, biyoyararlanımlarını ve metabolik klirenslerini düzenler ve onların hücrelere emilimini, kimyasalların enzimler tarafından bozulmasını önler.

Kortikosteroid bağlayıcı globulin, kortizol ve progesterone için yüksek afiniteye sahip tek bir steroid bağlanma bölgesi içerir. Dolaşımdaki kortizolün %80-90'u CBG'e bağlanır. Albumin bağlı kortizolün bazal koşullar altında %14 ve serbest kortizolün %6'sını oluşturduğu bilinmektedir. CBG'e bağlı kortizolün biyolojik olarak aktif olmadığı düşünülür, bağlanmamış kortizolün ise aktif kortizol formunu oluşturduğu kabul edilmektedir. Plazma kortizolün aktif fraksiyonu CBG derişimine bağlı olacaktır [155, 158].

Kortikosteroid bağlayıcı globulini kodlayan gendeki kusurlar, hipo/hipertansiyon ve kas yorgunluğuna yol açan azalmış CBG üretimi ile karakterize nadir bir hastalık olan kortikosteroid bağlayıcı globulin eksikliğinin nedenidir.

Kortikosteroid bağlayıcı globulinin plazma derişimi, günlük değişimin çok az veya hiç olmadığı ve yetişkin bireylerde yaş, cinsiyet veya adet döngüsüne göre belirgin bir fark gözlenmez. Bununla birlikte, göbek kordon kanında, CBG normal yetişkin seviyesinin yarısında bulunur. Gebelik sırasında artar, siroz durumunda azalır.

### 2.16.2. Albumin

Plazmada bulunan endojen steroidlerin önemli bir determinantıdır. Kortikotropin bağlayıcı globulinden daha düşük affinite ile kortizole bağlanmaktadır. Albumin derişimindeki değişiklikler, kortizolün plazmadaki dağılımında az değişikliğe neden olmaktadır [158].

### 2.17. Kortizolün Metabolizması

Kortizolün temel metabolitleri 6 $\beta$ -Hidroksikortizol, 20-Dihidro kortizol, 5 $\alpha$ - ve 5 $\beta$ - Tetrahidrokortizol ve 5 $\beta$ -Tetrahidrokortizondur. Doğrudan kortizol metabolize eden enzimler arasında A-halkası redüktazları (5 $\alpha$ - ve 5 $\beta$ - Tetrahidrokortizol), 6 $\beta$ -hidroksilaz, 20-redüktaz ve 11 $\beta$ -HSD'dır. Adrenal kortekslerinde 17-hidroksilaz bulunmayan başlıca glukokortikoid, benzer metabolizmaya maruz kalan kortikosterondur [161].

#### 2.17.1. 11 $\beta$ -HSD

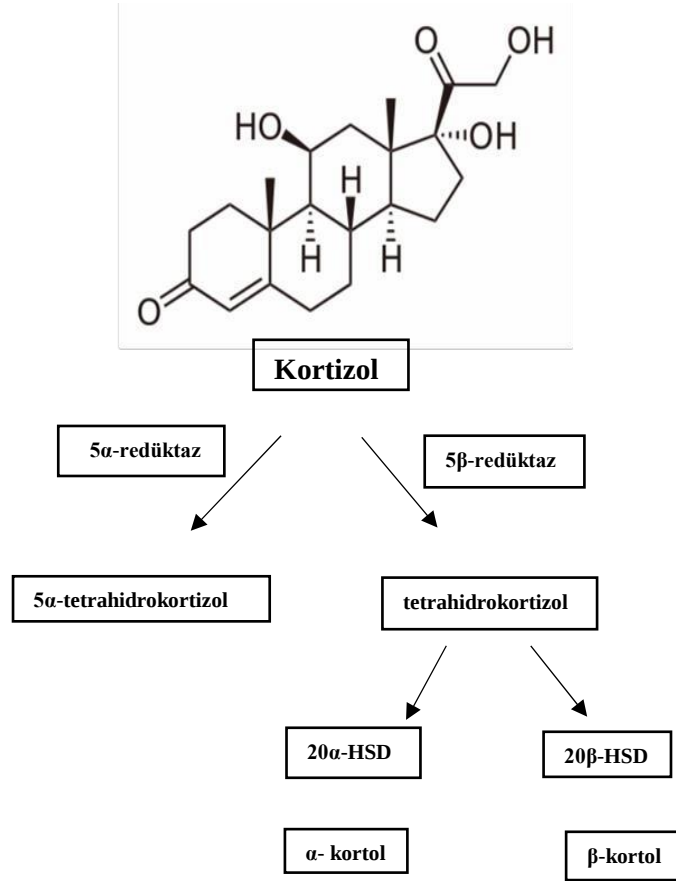
Bu enzimler, kortizolün dönüşümünü aktif olmayan metabolit kortizona dönüşümünü kataliz eder. 11 $\beta$ -HSD 2, kortizolü hızlı bir şekilde kortizona dönüştüren yüksek afiniteli NAD'ye bağlı bir dehidrojenazdır [162, 163]. Plasenta dahil fetal yaşam sırasında birçok dokuda eksprese edilmesine rağmen, yetişkinlerde, aldosteronun distal nefron, ter bezleri, tükürük bezleri ve kolonik mukoza dahil olmak üzere sodyum atılımı üzerinde klasik etkilerini indüklediği esas olarak dokularda ifade edilir [164, 165, 166, 167].

### 2.17.2. A-Halka redüktazları

5 $\alpha$ - ve 5 $\beta$ - redüktazlar, A-halkasında 5 $\alpha$ - ve 5 $\beta$ - dihidrokortizol oluşturmak için 4,5 çift bağı indirgenmesini katalize eder. Bu dihidro metabolitler daha sonra 3 $\alpha$ -hidroksisteroid dehidrojenaz ile karaciğerde hızlı bir metabolizmaya maruz kalır. Son reaksiyon hız sınırlayıcı değildir ve kortizol metabolitlerinin çoğunluğu 5 $\alpha$ - ve 5 $\beta$ - tetrahidrokortizol olarak atılır. 5 $\alpha$ - tetrahidrokortizol ayrıca allotetrahidrokortizol olarak da bilinir. Bu reaksiyonlar geri döndürülemez. 5 $\beta$ -redüktaz, esas olarak karaciğerde eksprese edilir, burada safra asidi metabolizmasında da büyük rol oynar. 5 $\alpha$ -redüktaz aktivitesi, farklı genlerden iki izozim ile katalize edilir. 5 $\alpha$ -redüktaz tip 1 karaciğerde, genital bölge dışı ciltte, beyinde ve daha az miktarda yağ dokusu stromal hücrelerinde ifade edilir. Metabolize kortizolün yanı sıra, aynı zamanda testostereone daha güçlü androjen reseptörü antagonisti 5 $\alpha$ -dihidrotestostereone dönüştürür. 5 $\alpha$ -redüktaz tip 2, insan karaciğerinde, üreme davranışı, prostat ve ciltte yer alan gelişmekte olan merkezi sinir sisteminin spesifik alanları olarak ifade edilir. Son dokularda lokal androjen reseptörü aktivasyonunu ve erkek fenotipinin ve sekonder cinsel özelliklerin gelişimine geliştirmek esastır. Kortizol metabolizmasına katkısı kesin değildir [168, 169, 170, 171].

### 2.17.3. Polar steroidler

Sitokrom p450 mikrozomal enzimi  $6\beta$ -hidroksilaz ve 20-redüktaz esas olarak karaciğerde eksprese edilir. Birincisi, glukokortikoidler tarafından düzenlenir. Bu yollar, kortizol metabolitlerinin sadece küçük bir kısmını oluşturur, ancak sentetik glukokortikoidlerin metabolizmasında daha önemlidir.  $20\alpha$ - $20\beta$  HSD'ler ayrıca tetrahidrokortikoidlerin kortol ve kortolonlara indirgenmesini katalize eder. Son olarak p450scc ve 21-oksidad, terminal oksidasyon adımlarını 11 hidroksietiokolanolon ve kortolik/kortolonik asitlere katalize eder [172].



Şekil 2.21. Kortizolün metabolizması

## 2.18. Kortizolün Biyolojik Etkileri ve Etki Mekanizması

Kortizol ve sentetik glukokortikoidler tip II kortikosteroid reseptörüne bağlanır ve sonuç olarak GC-GR homodimeri glukokortikoidlerin karakteristik genomik etkilerine yol açan kromatin içindeki glukokortikoid yanıt elemanlarını aktifleştirmektedir. Sentetik glukokortikoidlerin biyolojik etkisinin olmaması bu şekilde açıklanmaktadır.

Antimitojenik etki olduğu için GCs'ler, GC-CR kompleksi tarafında c-juna bağlanması sonucunda gecikmiş yanıt genlerinin mitojen uyarılmış AP-1 transaktivasyonuna neden olur bunun için de GC-duyarlı bir genin uyarılması gerekli değildir.

Glukokortikoidlerin etkileri reseptörlerine bağlanması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Kortizol ve sentetik GC'lerin yüksek düzeyleri kısa sürede görülen nongenomik etkileri olan ve GR içermeyen ya da gen ifadesinde bir değişiklik olmayan bir durum olarak bilinir [173, 174].

### 2.18.1. Kortizolün fizyolojik etkileri

Kortizolün dolaşımdaki düzeyleri sirkadiyen bir ritim göstermektedir. Kortizol düzeyleri sabah ilk saatlerde ve stres sonrası belli düzeylerde artış göstermektedir. Bu artışlar temel fonksiyonların korunması açısından önemlidir. Kortizol ve diğer glukokortikoidler çeşitli yollarla enerji kaynağı olan glukozun korunmasını teşvik etmektedir.

Kortizol karaciğerde glukoneojenik enzimlerin aktivitesini artırmaktadır. Glukozun hepatik oluşumunu artırarak hepatik glikojene dönüşümünü uyarmaktadır. İnsülin glukoneojenezisi stimüle eden kortizolü azaltmaktadır.

Kortizol, glikolizisi engelleyerek yağ asitlerinin kullanımını kolaylaştırır, iskelet kası, yağ dokusu, kemik matriksi gibi dokulardaki glukoz kullanımını engellemektedir. Hormona duyarlı lipaz sentezini uyararak yağ dokusundan yağ asitlerinin serbest bırakılmasını kolaylaştırmaktadır.

Kortizol, periferik dokularda glukoz kullanımını engelleyerek bu dokular üzerinde hafif anti-anabolizan etki göstermektedir.

Kortizol, düzenleyici sinyale maksimum yanıtı vermek için sistemin birçok bileşenlerini yöneterek kardiyovasküler sistem üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.

Kortizol, renin-anjiyotensin sisteminin önemli bir düzenleyicisidir.

Kortizol, yeni kemik oluşumunu azaltmaktadır. Ayrıca osteoklastların sayısının ve aktivitesinin artmasına neden olmaktadır.

Kortizol, TSH sentez ve salınımı engellemektedir.

Kas dokusu üzerinde etkileri vardır ve protein yıkımı sonucunda elde edilen glikojenik aminoasitler karaciğerde glukoneogeneze kullanılır.

Kortizol, retiküler aktivasyon sistemini yeniden aktive ederek endojen uyuşturucuların ve duyuşal sinyallerinin etkilerine karşı limbik sistemi, talamus ve hipotalamus bölgelerini korumaktadır. Bu yüzden kortizol, stres üzerindeki davranışsal ve nöroendokrin tepkilerin görülmesinde önemli bir sahiptir [173, 174, 175, 176].

## **2.19. Kortizol ile İlişki Hastalıklar**

### **2.19.1. Adrenokortikal yetmezlik hastalıklar**

Adrenal bez korteksinde meydana gelen hasar sonrasında gelişen primer yetmezlik ve hipotalamik-hipofiz adrenal aksındaki bozukluğa bağlı kortikotropin veya ACTH salgılanması sonucu gelişen sekonder yetersizlik olarak sınıflandırılabilir [159].

#### Primer adrenal yetmezlik

Adrenal bez korteksinde %70-90 civarında kayıp söz konusu ise yetmezlik bulguları ortaya çıkmaktadır. Kortizol salgısı azaldığı zaman ACTH üzerindeki inhibisyon ortadan kalkmaktadır ve plazma ACTH düzeyi yükselmektedir. Bu durum adrenokortikal rezervinin bir göstergesidir [158].

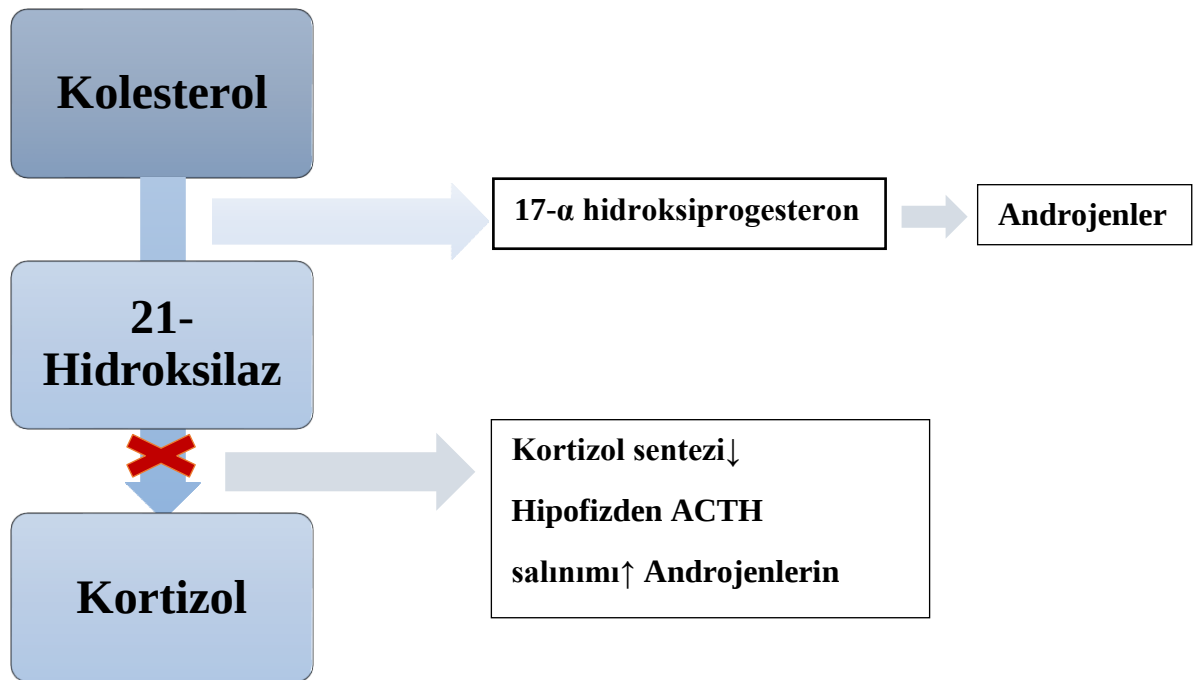
### Sekonder adrenal yetmezlik

Adrenal krizin en sık iyatrogenik sebebi uzun süre steroid kullanımına bağlı adrenal atrofi gelişen hastalarda steroidin aniden kesilmesidir. Sekonder adrenal yetmezlikte kortizol seviyeleri düşüktür [158].

### Konjenital adrenal hiperplazi

Adrenal bezlerin yeterli miktarda kortizol ve/veya aldosteron üretemedikleri ve aşırı androjen ürettikleri bir hastalıktır. Bu durum kortizol sentezi basamaklarındaki enzimlerden birinin defekti sonucunda ortaya çıkan bir durumdur [160].

En sık konjenital adrenal hiperplazi 21-hidroksilaz enzim eksikliğinden kaynaklanmaktadır.



**Şekil 2.22.** 21-hidroksilaz eksikliğindeki kortizol üretim defekti

### 2.19.2. Cushing sendromu

Organizmada glukokortikoid fazlalığı ile ilgili hiperadrenokortisizme “Cushing Sendromu” denir. Olayların %85’inde ise hastalık hipofizden aşırı ACTH salınımı ile alakalıdır. ACTH’un salınmaya devam etmesi durumunda kronik kortizol artışı görülmektedir. Sirkadiyen ritm bozulmuş durumdadır. Kadınlarda daha sık görülmektedir [158].

### 2.20. Kortizolün Ölçümü

Kortizol aynı zamanda Compound F, hidrokortizon olarak da adlandırılmaktadır. Kortizol, düşük moleküler ağırlıklı (MA-362,47 g/mol) bir lipofilik steroiddir. Kapalı formülü  $C_{21}H_{30}O_5$  ‘tir.

#### 2.20.1. Kortizol ölçümünde kullanılan yöntemler ve prensipleri

Kortizolün belirlenmesinde çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bunlar;

##### Fluorometri

Kimyasal derivatizasyona dayanan bir analiz türüdür. Kortizol, ekstrakte edildikten sonra etanolik sülfürik asit ile florojenik bir kromojene çevirilmesi prensibine dayanır.

##### Yarışmalı proteine bağlanması

Bu analiz türü bir radyoimmunoassaydir. Ekstraksiyon sonrası numunenin kortizol bağlayıcı protein için iyot 125 ile işaretlenmesine dayanır.

##### Radyoimmunoassay

Ekstraksiyon sonrası numunenin kortizol bağlayıcı protein için iyot 125 yerine kortizole spesifik antikor ile bağlanmasına dayanır.

### HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi)

Kortizol, numunedeki diğer bileşiklerden kromatografik olarak ayrılır, UV ya da floresans dedektörle miktar belirlenmesine dayanır.

### GC (Gaz Kromatografi)

Kortizol ilk önce türevlendirilir ve kromatografik olarak ayrılır, alev iyonizasyon ile dedekte edilmektedir.

### GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi)

GC prensibi ile aynıdır. Aradaki tek fark dedeksiyon (kantitasyon) işlemi kütle spektrometresi MS ile yapılmaktadır.

### LC-MS

GC-MS ile aynı prensipte çalışmasının haricinde HPCL'ye benzer bir metottur.

#### **2.20.2. Kortizol referans aralıkları**

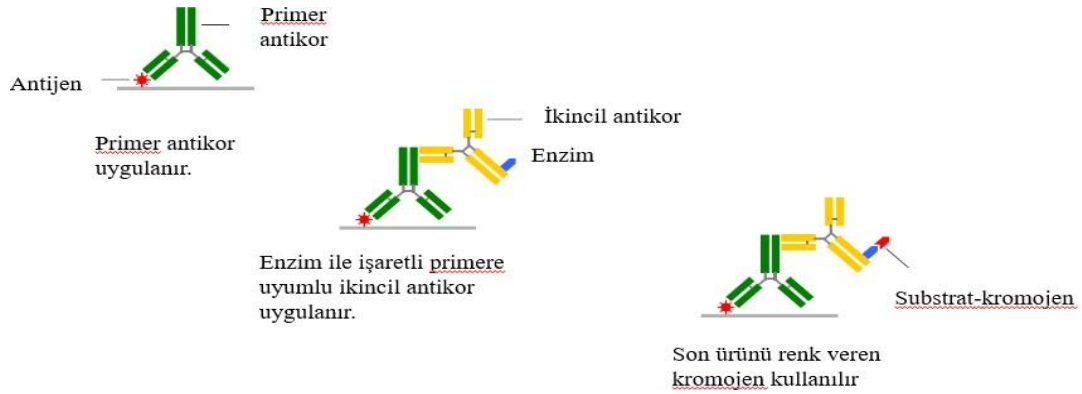
Kortizol düzeyini ölçmek istediğimiz yöntemlere bağlı olarak referans aralığı değişmektedir. ACTH düzeyi ile kortizol düzeyi paralellik göstermektedir. Ayrıca sabah saatlerinde kortizol düzeyi maksimum iken, akşam saatlerinde bu düzey azalmaktadır. Kortizol düzeyinin artmasının nedenleri arasında stres, gebelik, glukortikoid ile tedavi, hipoglisemi gösterilebilir. Referans aralığı yaşa bağlı olarak değişmemektedir [177].

## 2.21. Metotların Tanımlanması

### 2.21.1. Enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELİZA) ölçüm yöntemi

#### Tükürük kortizol ELİZA ölçüm yöntemi

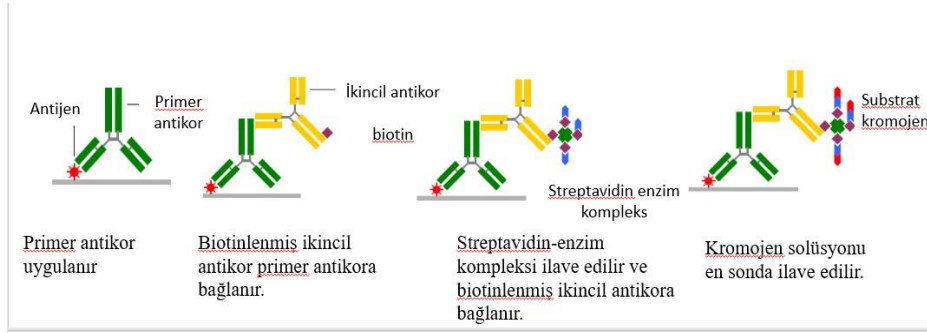
Kortizol ELİZA kitinin çalışma prensibi yarışmalı bağlanma kinetiğine dayanmaktadır. Numune içindeki kortizol (antijen), mikrolaka üzerinde kaplanmış sınırlı sayıda antikor anti-kortizol'e (katı faz) bağlanmak için horseradish peroksidazı (HRP) ile konjuge edilmiş antijenik kortizol ile yarışır. İnkübasyondan sonra, bağlı / serbest ayırma, basit bir katı fazlı yıkama ile gerçekleştirilir. Daha sonra, bağlı fraksiyondaki HRP enzimi Substrat ( $H_2O_2$ ) ve TMB Substrat ile reaksiyona girer ve Stop Solüsyonu ( $H_2SO_4$ ) eklendiğinde sarıya dönüşen bir mavi renk meydana getirir. Renk yoğunluğu, numunedeki kortizol derişimiyle ters orantılıdır. Numunedeki kortizol derişimi ( $\mu g/dL$ ) bir kalibrasyon eğrisi ile hesaplanır.



**Şekil 2.23.** Yarışmalı ELİZA kit çalışma prensibi

### Tükürük amilaz ELİZA ölçüm yöntemi

Amilaz ELİZA kitinin çalışma prensibi, sandviç enzim immunoassay'dir. Bu kit içinde bulunan mikrolaka sAA'a özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler daha sonra, sAA'a özgü bir biyotin-konjuge antikor ile uygun mikrolaka kuyucuklarına eklenir. Daha sonra, Horseradish Peroxidase (HRP) konjuge edilmiş Avidin, her bir kuyucuğa eklenir ve inkübe edilir. TMB substrat çözeltisi eklendikten sonra, sadece sAA, biyotin-konjuge antikor ve enzim-konjuge Avidin içeren kuyucuklarda renkte bir değişiklik görülür. Enzim-substrat reaksiyonu ilave sülfürik asit çözeltisi ile sonlandırılır ve renk değişikliği,  $450 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$  dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Örneklerdeki sAA derişimleri (ng/mL), çizilen standarda karşı absorbans eğrisinden bulunur.



**Şekil 2.24.** Sandviç ELİZA kit çalışma prensibi

#### **2.21.2. Otoanalizör (Beckman Coulter Dxl 800)**

Otoanalizörler laboratuvarlarda yapılan her türlü analiz ve test işlemini otomatik olarak hızlı ve güvenilir bir şekilde yapan robotik sistemlerdir. Aynı anda büyük miktarlardaki numune test ve analiz edebilme yeteneğine sahiptir. Otoanalizörler kanda ve diğer sıvılar içinde bulunan kimyasal maddelerin ve çok farklı özelliklerin tespit edilmesi için yapılan testleri ve incelemeleri otomatik olarak gerçekleştirir. Otoanalizörler çok hızlı çalışır, çok kaliteli test ve analiz sonuçları üretir, test maliyet düşürür, verimliliği artırır.

Bu yöntemde; serum, idrar gibi biyolojik sıvılar içinde ölçülmek istenen maddelerin antikorları (antibody) ile bunların antijenleri arasında meydana gelen reaksiyonlar kullanılarak ölçülür. Hormon otoanalizörlerinde ölçüm için immunoassay yöntemi ile entegre edilmiş kemilüminesans ölçüm teknolojisi kullanılarak yapılır. Bu yöntemin tercih

edilmesini sebebi otoanalizör cihazları ile uygulamaya çok uygun olması, çok hassas ve tekrarlanabilir sonuçlar vermesidir.

Kemilüminesans yöntemi; ölçülebilecek miktarlarda ışık üreten kimyasal reaksiyonları kullanan bir yöntemdir. Reaksiyon neticesi yayılan ışığın miktarı ölçülmek istenilen antijenin (hormon) miktarı ile doğru orantılıdır. Bu yöntem ile çok çeşitli hormonların, virüslerin, alerjiye neden olan maddelerin çok hassas bir şekilde ölçülmeleri mümkün olmaktadır.

### 2.21.3. Biyosensör

Biyosensör, biyolojik tepkimelerde hedef analitleri denetlemek için kullanılan küçük algılayıcı cihazlardır. Biyoaktif tabaka yani biyolojik bileşendir. Biyolojik bileşen analiz edilecek madde ile spesifik etkileşime giren bileşendir. Bunlar oldukça spesifik olmalıdır, saklama koşullarında stabil kalmalıdır ve immobilize olmalıdır [178].

Biyosensörün bileşenleri birçok sensör gibi reseptör ve dönüştürücü olmak üzere iki ana yapıdan oluşmaktadır. Eğer reseptörümüz biyomoleküler yapıda ise buna biyoreseptör denir. Biyoreseptörler analiti fark edebilen moleküllerdir.

Dönüştürücüler ise biyoreseptörün analiti fark ettiği esnada ürettiği kimyasal veya fiziksel sinyali elektrik sinyallerine dönüştüren yapılardır.



**Şekil 2.25.** Biyosensörün şematik gösterimi

## İmmobilizasyon

Biyokomponentlerin katalitik aktivitelerini kaybetmeden defalarca ve sürekli kullanabilmesi amacı ile bazı taşıyıcılar lokalize edilmesidir. Reseptörlerin dönüştürücüler üzerinde immobilizasyonu fiziksel (polimer matrikse tutuklanma) veya kimyasal (çapraz bağlama) yöntemler ile gerçekleştirilir. İmmobilizasyon metodu immobilize edilecek biyokomponentin yapısına göre belirlenir [178].

**Kimyasal metotlar:** Biyokomponent ile suda çözünmeyen polimerlerin fonksiyonel grupları arasında iki ya da daha fazla biyokomponent molekülü arasında kovalent veya kısmi kovalent bağın oluşumuna dayanmaktadır.

**Fiziksel metotlar:** Biyokomponentlerin; elektrostatik etkileşimi, iyonik bağların oluşumu, protein-protein etkileşmesi gibi fiziksel kuvvetler ile immobilize edilmesi veya mikrokompartmentlar içinde tutuklanması ve özel membranlar içeren sistemlerde lokalize edilmesine dayanmaktadır.

## İdeal bir biyosensörün sahip olması gereken özellikler

### *Duyarlılık*

Spesifik kimyasal taneciklerin derişimindeki değışime bağı olarak biyosensörün sinyalinin yükselişindeki kararlı hal değışimi olarak tanımlanmaktadır. İdeal bir biyosensör duyarlılığının, kullanım süresi boyunca sabit kalması ve ileticinin sinyalinin elektronik aletler tarafından kolay algılanabilmesi için yeteri kadar yüksek olması gerekmektedir.

### *Kalibrasyon*

İdeal bir biyosensör, hedef reaktifin bilinen değışik derişimlerini içeren standart çözeltiler ile kolaylıkla kalibre edilebilmektedir. Teorikte bir biyosensörün tekrarlanan ölçümleri için bir kez kalibrasyon grafiğı çizerek duyarlılığın tespit edilmesi yeterli olmaktadır.

### *Doğrusallık*

İdeal bir biyosensörün, sıfırdan maksimum substrat derişimine kadar olan aralıkta sabit bir duyarlılığı olmalıdır. Pratikte doğrusal dar bir substrat derişimi ile sınırlıdır.

### *Tayin sınırı*

Bir biyosensör, çok düşük substrat derişimlerine cevap vermelidir. Pratikte kullanılan elektrokimyasal ileticilerin diğer iyonlardan ve yüzey reaksiyonlarından etkilenmesinden dolayı düşük olması gereken tayin sınırı yükselmektedir. Biyosensörün kullanılabilir olması için, belirlenen reaktif derişim aralığında tayin edilebilir olması gerekmektedir.

### *Taban sinyali*

Biyosensörlerde genellikle bir taban sinyali bulunmaktadır. Taban sinyali, biyosensörlerde düşük tayin sınırının doğru olarak tespit edilmesini güçleştirmektedir. Akım sızıntısı, elektronik cihazdaki küçük bir potansiyel değişimi, biyosensörün telindeki metal-metal etkileşimi, elektrokimyasal faktörler taban sinyalinden sorumlu olabilmektedir.

### *Histerisis*

Ölçümler sırasında lokal kimyasal çevrenin değişmesi veya enerji adsorplaması, sonraki ölçümleri etkileyebilmektedir. Yüksek reaktif derişiminde yapılan ölçümler, sensörün elektroliz çözeltisinin pH'ının değişmesine neden olabilmektedir. Enzim aktivitesi pH'dan etkilendiğinden özellikle enzim bazlı biyosensörlerde bu problem olmaktadır. İdeal bir biyosensör önceki ölçümlerden etkilenmemeli ve sıfır histerisise sahip olmalıdır.

### *Sapma*

Bir biyosensör kullanımı boyunca sabit bir duyarlılığa sahip olmalıdır. Duyarlılık elektrot yüzeyinde oksit oluşumu, protein veya bazı kimyasal maddelerin elektrot yüzeyine adsorpsiyonu gibi faktörlerden dolayı azalabilmektedir.

### *Seçicilik*

İdeal bir biyosensörün sadece hedef reaktifin derişim değışimlerine cevap vermesi, diğerkimyasal taneciklerden etkilenmemesi gerekmektedir. Girişim veren taneciklerin derişiminden kaynaklanan sinyaller ile hatalı reaktif ölçümleri elde edilebilmektedir. Girişimin olduğı durumlarda numune başkakiyasal ileticilerle ölçülmeli ve biyosensör sinyali düzeltilmelidir.

### *Sıcaklık*

Difüzyon katsayıları, sıvının kimyasal çözünürlüğü gibi fiziksel özellikler ve biyosensörün yapımında kullanılan materyaller sıcaklık ile değışmektedir. Enzim katalizli reaksiyonların hızları sıcaklığa çok duyarlıdır. Bazı kimyasal reaksiyonların sonucunda oluşan ısı, biyosensörün sıcaklığını değıştirmektedir. Ölçümlerin termostatlı su banyosu kullanılarak izotermal ortamlarda gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Biyokomponentlerin kararlılıkları oldukça düşüktür.

### *Kullanım süresi*

Bir biyosensörün ömrü, yapılan ölçümlerin sayısı ve ölçülen reaktifin derişimine bağılı olarak değışmektedir. Yüksek derişimler, duyarlılıkta daha çabuk düşüşe neden olmaktadır. Saklama koşulları son derece önemlidir. Belirli sıcaklıklarda saklanması gerekmektedir.

### *Biyouyumluluk*

Tıbbi uygulamalarda kullanılacak biyosensörler için son derece önemlidir. Hastalık tedavisinde ve insan vücuduna biyosensör implantasyonları önem kazanmaktadır. Kan akımına doğrudan daldırılan biyosensörlerin kanın pıhtılaşmasına neden olmaması gerekir. Biyosensörün doku uygulaması sonrası oluşabilecek enfeksiyon ve yara biyouyumlu olmadığını gösterir. Biyouyumlu materyallerin sterilizasyonu ileticinin duyarlılığını etkilemeden ve biyokomponentlerin biyolojik aktivitesini bozmadan yapılabilmesi gerekmektedir.

## 2.22. Metot Validasyonu

Bir metodu değerlendirirken dikkat edilmesi gereken belli noktalar vardır. Bu noktalar sağlandığı zaman başarılı bir metot karşılaştırılması yapılabilmektedir.

Bir metodu değerlendirirken öncelikle kullanım amacının belirlenmesi, istenilen verilerin toplanması, doğru çalışmaların planlanıp, uygulanması ve son olarak da istatistiksel parametrelerden yararlanılmaktadır. Ancak istatistiksel parametrelerin kullanılması tek başına yeterli değildir, laboratuvar maliyetleri de göz önüne alınmalıdır.

Bir işlemin, sürecin ya da metodun istenilen şekilde çalışıp çalışmadığını ve kullanım amacını karşıladığını göstermesi için metot parametrelerinin belirlenip incelendiği geçerlilik çalışmasına validasyon (geçerli kılma) denir [179].

Verifikasyon (doğrulama) ise, farklı yerlerde yapılan çalışmalar ile analitik performans parametreleri belirlenmiş olan yöntemin laboratuvarda teyit edilmesidir.

### 2.22.1. Doğruluk (Accuracy)

Doğruluk, deneysel bir sonucun gerçek veya kabul edilen değere yakınlığı olarak tanımlanmaktadır. Doğruluğun ölçüsü, hatanın büyüklüğünü göstermektedir. Büyüklüğün gerçek değeri hiç bir zaman tam olarak bilinmediğinden, doğruluk tam olarak tayin edilemez.

Doğruluk bağıl bir terimdir. Mutlak hata ve bağıl hata ile açıklanmaktadır.

Mutlak hata, ölçülen değer ile gerçek değer arasındaki farktır. Mutlak hatanın negatif veya pozitif olmasına bağlı olarak bir işareti vardır. Eğer sonucumuz düşük ise işaret negatif, sonuç büyük ise işaret pozitifdir.

Bağıl hata ise, mutlak hatanın gerçek değere oranı olarak ifade edilmektedir. Sonuçların büyüklüğüne göre bağıl hata, yüzde, binde veya milyonda bir cinsinden ifade edilmektedir.

### Sapma (Bias)

Bir analitik yöntemdeki sistematik veya belirli hataların ölçüsüdür.

### **2.22.2. Kesinlik (Precision)**

Kesinlik, sonuçların tekrarlanabilirliği olarak tanımlanmaktadır ve iki veya daha fazla tekrar ile elde edilen sonuçların veya tamamen aynı yolla elde edilen ölçüm sonuçlarının sayısal değerlerinin aralarındaki uyumdur. Kesinlik aynı zamanda rastgele veya belirsiz hataların bir ölçüsüdür.

Kesinliği ifade etmek için yaygın olarak 3 terim kullanılmaktadır. Bunlar; standart sapma, varyans ve varyasyon katsayısıdır.

### Standart sapma

Standart sapma, bir demet bulgunun aritmetik ortalama çevresindeki dağılımının ölçüsüdür. Standart sapma büyüdükçe dağılımın yaygınlığı artar. Dağılımdaki dengeler aynı ise yaygınlık yoktur ve standart sapma sıfırdır. Standart sapma hesaplanırken dağılımdaki tüm değerler dikkate alınır.

### Varyans

Standart sapmanın karesine varyans denir. Varyansın birimi karesel olduğu için yaygınlık ölçütü olarak veriyi tanımlamada pek kullanılmaz [179].

### Varyasyon katsayısı

Değişim katsayısı dağılımdaki verilerin ortalamaya göre yüzde kaçlık değişim gösterdiğini belirler. Kesinliğin ölçüsüdür.

### 2.22.3. Duyarlılık

Bir analitik derişimindeki küçük farkları ayırdedebilme kabiliyetinin bir ölçüsüdür. Duyarlılığı iki faktör sınırlar. Bunlar; Kalibrasyon eğrisinin eğimi ve ölçüm aracının kesinliği/tekrarlanabilirliğidir.

### 2.22.4. Analitik özgüllük

Yöntemin doğruluğu ile ilişkili bir parametredir. İlgili analiti ölçme yeteneğidir.

### 2.22.5. Analitik aralık

Bir analitik yöntemin çalışma aralığı tayin edilebilen en düşük derişimden (LOQ), kalibrasyon eğrisinin doğrusallıktan sapma gösterdiği derişime kadar olan aralığı kapsamaktadır. Doğruluk ve kesinlik değerleri bu aralıkta birbirine yakın olmalıdır. Doğrusallıktan söz edebilmek için  $r^2 > 0,99$  olmalıdır.

### 2.22.6. Tayin sınırı

**Limit of Quantitation; LOQ (Ölçüm Limiti):** Kesin kantitatif bir ölçüm için en düşük sınırdır.

**Limit of Blank (LOB):** Analit içermeyen boş bir numune test edildiğinde bulunması beklenen muhtemel en yüksek analit derişimidir.

**Limit of Detection; LOD (Gözlenebilme sınırı):** Analitin analitik bir yöntemle tayin edilebilecek en düşük derişimidir.

### 2.22.7. Geri Kazanım

Yöntemin numuneye eklenen belirli miktardaki analiti doğru okuyabilme yeteneğidir. Analiz sonucunun teorik değere oranının yüzdesi geri kazanım değerini vermektedir.

#### **2.22.8. Girişim (İnterferans)**

Analit dışındaki başka bir maddenin etkisi ya da örnekten kaynaklı, ölçülen analit derişiminde anlamlı bir sapmanın oluşmasıdır.

#### **2.22.9. Taşıma (Carryover)**

Genelde otomatik sistemler için yapılmaktadır. İlk örnekten bir sonraki örneğe aktarma olup olmadığını, oluyorsa bu kabul edilebilir mi bunu göstermek için yapılmaktadır.

#### **2.22.10. Matriks etkisi**

Aynı zamanda salınan fosfolipidler ve farklı bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Değişken olabilir ve tahmin etmek oldukça zordur. Analitin iyonizasyonunu etkiler.

#### **2.22.11. Yöntem karşılaştırma**

Çalışmada kullanılan metotların doğruluğunu ölçmek için çalışmalar eş zamanlı olarak yapılır ve sonuçlar karşılaştırılır. Yöntem karşılaştırma çalışmalarında yöntemler arasındaki değerlendirmeyi Scatter Plot, Bland-Altman ve Deming regresyon grafikleri sağlamaktadır. Kullanılan üç yöntem ile elde edilen ölçüm sonuçları arasındaki farkın ortalamalarına karşı gösterdiği saçılım Bland-Altman uyum grafiği ile değerlendirilmektedir. Yöntemler arasındaki ilişkiyi belirlemek için Deming regresyon analizi yapılmaktadır [180, 181, 182, 183].

Bland-Altman grafiği gerçek değer ve hata arasındaki olası korelasyonun değerlendirmesine imkan sağlamaktadır. Ayrıca Bland-Altman grafiği rastgele hatanın değerlendirmesini de sağlamaktadır.

Yöntemler arasındaki uyumu incelemede kullanılan yöntem regresyon analizidir. Deming regresyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde test metodu ile referans metot ile elde edilen verilerin bağımsız olduğu kabul edilir [182, 183].

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Tükürük Örneklerinin Toplanması

Çalışmamızda örnekleri toplama ve saklama aşamasında özellikle kortizol için tasarlanmış polipropilen (PP) / düşük yoğunluklu polietilen (LD-PE) materyalden yapılmış SARSTEDT marka Salivette tüpler kullanıldı. Bu tüpler küçük hacimlerdeki örneklerden analitik performansı yüksek sonuçlar elde edilmesini sağlar (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.** Tükürük toplama kabı (SARSTEDT marka)

23 genç erişkin bireylerden tükürük örnekleri toplandı. Örnekleme zamanı ve günlük değişimlerin tükürük metabolitlerinin derişimleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için tükürük numuneleri 08:00-09:00 saatleri arası, stres öncesi (12:00) ve stres sonrası (habersiz sınav sonrası) 14:00-15:00 saatleri arasında toplandı. Tükürük numunelerini toplama öncesinde genç erişkin bireyler 1 saat içerisinde dişlerini fırçalamamak, sigara içmemek, su dışında herhangi bir şey yiyip içmemek konusunda bilgilendirildi. Örnek alınan bireylere ait bilgiler EK-2 Araştırma Anket Formu ile kaydedildi. Numuneler, 48 saat içerisinde çalışıldı, dondurma/çözdürme yapılmadı. Bireylerden, pamukları 1 dakika boyunca ağızlarında bekleterek tamamen tükürük ile ıslatmaları istendi. Sonrasında 30 dk bekleme ve 15 dk

3200 g’de santrifüj yapıldı. Her numunenin pH’ı analiz yapılmadan önce ölçülmüştür. Ortalama pH için aralık  $7,64 \pm 0,16$  ‘dır.

Yapılan çalışmada genç erişkin bireylerin (n=23) yaş ve VKİ ortalama ve standart sapmaları sırasıyla  $20,5 \pm 0,947$  ;  $21,5 \pm 3,51$  bulunmuştur.

Çalışmaya katılan genç erişkin bireylerden yeterli bilgilendirme sonrasında yazılı onam belgesi alındı. Çalışma için Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan 12.11.2018 tarih 831 sayılı karar numarası ile onay alınmıştır.

Yapılan çalışmada kullanılan ELİZA, otoanalizör ve biyosensör yöntemlerini kıyaslamak amacıyla Kıbrıs Sağlık ve Toplum Bilimleri Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi öğrencilerinden toplanan tükürük örneklerinin, ELİZA ve biyosensör ile analizleri aynı üniversitede eş zamanlı olarak tamamlandı. Otoanalizör de çalışılması planlanan parametreler için ayrılan örnekler de Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda çalışıldı.

### **3.2. Kullanılan Cihaz, Malzemeler ve Kitler**

Çalışmada kullanılan gereçler ve kimyasallar aşağıdaki gibidir.

#### **3.2.1. Cihazlar**

- Au Çalışma Elektrodu
- Palm SensBiyosensör (Hollanda)
- Platin Tel Yardımcı Elektrot (CHI115,A.B.D)
- Sonikatör
- Santrifüj
- Vortex
- pH metre
- Ayalanabilir otomatik pipetler
- Otomatik Eliza okuyucu ve yıkayıcısı
- Otoanalizör (Beckman Coulter Dxl 800 Immunoassay System)

### 3.2.2. Kimyasallar

- Distile/Bidistile su
- Gluteraldehit (Sigma)
- NaOH (Sigma)
- HCl (Sigma)
- Alümina (Sigma)
- Alümina solüsyonları
- %96 Etanol (Sigma)
- Sığır Serum Albumini (BSA)
- Jelatin
- Kortizol antikoru
- Amilaz antikoru

### 3.2.3. Kullanılan çözeltiler

**Fosfat tamponu:** 0.1 M Fosfat tamponu hazırlandı (Disodyumhidrojen fosfat ve monosodyumhidrojen fosfat) ve çözeltinin pH'ı 0.1 M NaOH ve HCl kullanılarak 7.0 'e ayarlandı. Farklı derişimlerdeki ve pH daki tampon çözeltileri hazırlamak için de aynı yol izlendi. Tampon çözelti +4 °C'de saklandı.

**Hidroklorik asit çözeltisi:** Derişik HCl saf su ile seyreltilerek 0.1 M derişimde çözelti hazırlandı.

**Sodyum hidroksit çözeltisi:** Katı haldeki sodyum hidroksit saf suda çözülerek 0.1 M derişimde çözelti hazırlandı.

### 3.2.4. Kitler

- Kortizol Tükürük ELİZA kiti (Diametra-Immunodiagnostic System; Lot:4817A)
- Amilaz Tükürük ELİZA kiti ( USCN SEB482Hu Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELIZA) Kit For Amylase Alpha 1, Salivary (AMY1) Lot:L181030297)

### 3.3. Analiz Yöntemleri

#### 3.3.1. ELİZA

##### Tükürük kortizolü ELİZA prosedürü

25 µl standart, kontrol ve numuneler kuyucuklara pipetlendi. 200 µl enzim konjugatı her kuyucuğa eklenerek, 37 °C’de oda 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında 3 kez 300 µl yıkama solüsyonu ile yıkanarak her kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonu eklendi. 15 dakika oda ısısında karanlığa inkübe edilip, her kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu eklendi. Stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450 nm’de mikropate okuyucuda okutuldu.

Standartlara göre çizilmiş kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak numunelerdeki kortizol derişimleri (µg/dL) hesaplandı.

##### Tükürük amilazı ELİZA prosedürü

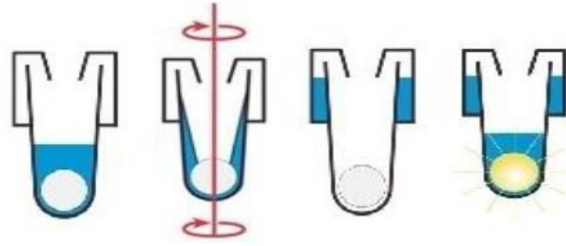
Her kuyucuğa 100 µL standart ve numuneler pipetlendi. 37°C’de 1 saat inkübe edildi. 100 µL Detection Reagent A eklenerek ve 37°C’ de 1 saat inkübe edildi. 3 kez 350 µL yıkama solüsyonu ile yıkanan her kuyucuğa 100 µL Reagent B eklenerek ve 37°C’de 30 dakika inkübe edildi. 5 kez 350 µL yıkama solüsyonu ile yıkandı. Her kuyucuğa 90 µL substrat solüsyonu eklenerek 10-20 dakika inkübe edildi. Stop solüsyonu eklendikten sonra 450 nm’de mikropate okuyucuda okutuldu. Standartlara göre çizilmiş kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak numunelerdeki sAA derişimleri (ng/mL) hesaplandı.

#### 3.3.2. Otoanalizör (Beckman Coulter Dxl 800)

##### Otoanalizör Prosedürü

Genç erişkin bireylerden alınan tükürük örneklerinden bakılan kortizol, amilaz ve elektrolitler kemilüminesans yöntemler ile Beckman Coulter DxL 800 otoanalizöründe ölçüldü.

Numune ve reaktif içinde özel olarak bir manyetik bilyenin bulunduğu test kabına konur. Bu kap cihaz tarafından ara sıra sallanarak 37°C’de bekletilir. İnkübasyondan sonra test kabı dikey ekseninde yüksek hızda döndürülür. Bu dönmenin sonucunda kap içinde bulunan sıvılar kabın dışına çıkarılır. Bir dizi yıkama işleminden sonra bilyeye tam olarak tutunmamış olan maddeler bilyeden ve test kabının içinden çıkarılır. Kemilüminesans madde test kabına eklenir. Bunun sonucunda ışımaya ortaya çıkar. Bu ışımaya yüksek hassasiteli bir foton sayıcı ile okunur. Bu ışımının miktarı ölçülmek istenilen madde ile orantılıdır.



**Şekil 3.2.** Immunoassay cihazlarda kullanılan kemilüminesans yöntem

### 3.3.3. Biyosensör

Yapılan çalışmada kortizol ve amilaz için hazırlanan biyosensör de daha önceden optimize edilmiş bir metot kullanılmaktadır [180, 186].

#### Kortizol ve Amilaz Tayinine Yönelik İmmobilize Edilmiş Biyosensör Hazırlanması

##### *Au elektrot yüzeyinin hazırlık prosedürü*

**Elektrot Temizleme:** Nanopolimer ile kaplanmadan önce, Au seramik elektrodun yüzeyi, mikrofiber bez üzerindeki alümina solüsyonları ile parlatılmış ve bir ayna yüzeyi elde edilmiştir. Parlatılan elektrot, distile damıtılmış su ile durulanmıştır. İstenmeyen emilebilir parçacıkların (absorblanmış partiküllerin) giderilmesi için, elektrot ilk önce saf etanolde ve daha sonra 10 dakika boyunca distile su içerisinde sonikatörde bekletildi. Kortizol için, bir sonraki adımda, elektrodun elektrokimyasal temizliği 0,1 M HNO<sub>3</sub> çözeltisi içerisinde -1,0 ile +1,0 V arasında değişen art arda 5 döngüsel voltammogram ile gerçekleştirilirken, amilaz için aynı çözelti içerisinde ve aynı volt aralığında art arda 10 döngüsel voltammogram ile gerçekleştirildi.

**Kortizol spesifik antikorunun Au elektrot yüzeyine immobilizasyonu:** Kortizol için temiz elektrotun yüzeyine oda sıcaklığında Poly Hema-MAC ile modifiye elektrot oluşturulurken, amilaz için ise BSA-Jelatin ile modifiye elektrot oluşturuldu. Bu süreçlerin sonunda, kortizol ve amilaz antikorunun immobilizasyonu, modifiye elektrot yüzeyinde anilin (20 mikrolitre kortizol/amilaz antikor ve 20 mikrolitre anilin) ile gerçekleştirildi. Son olarak, UV ışığı altında 1 saat boyunca çapraz bağlayıcı ajan (%2,5 glutaraldehit) ile immobilize olmuş antikor tutuklaması yapıldı. Elektrot, bi-distile su ile durulandı böylece bağlanmayan maddeler uzaklaştırıldı.

**Elektrokimyasal ölçüm prensibi:** Biyosensörün, termostatik reaksiyon hücresine yerleştirilen oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına dayanarak ölçümü, kortizol için 35°C’de hazırlanan mediyatör kompleksi olarak fosfat tamponu (50 mM, pH 7,0) ve potasyum ferrosiyanür  $[K_4Fe(CN)_6]$  içerirken amilaz için ise, 30° C’de, hazırlanan mediyatör kompleksi olarak fosfat tamponu (50 mM, pH 6,5) ve potasyum ferrosiyanür  $[K_4Fe(CN)_6]$  içermektedir. Antijen-antikor etkileşiminin yük aktarma kapasitesindeki (elektrokimyasal potansiyel farkı) fark biyosensör ile ölçülmüştür.

### 3.4. Metot Karşılaştırma Çalışması

Yapılan çalışmada kullanılan ELİZA, otoanalizör ve biyosensör yöntemlerini kıyaslamak amacıyla Kıbrıs Sağlık ve Toplum Bilimleri Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi öğrencilerinden toplanan tükürük örneklerinin, ELİZA ve biyosensörle analizleri üniversitede eş zamanlı olarak tamamlandı. Otoanalizör de çalışılması planlanan parametreler için ayrılan örnekler de Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı’nda çalışıldı.

### 3.5. İstatistiksel analiz

SPSS 18 istatistik programı, Jamovi ve Excel (XLSTAT) programları kullanılarak istatistiksel analiz gerçekleştirildi. Uygulanan tüm yöntemlerde numunelerin ortalamaları ve standart sapmaları alındı. Parametreler arası ilişkilerde Pearson korelasyon analizi kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi. Yöntem karşılaştırma çalışmasında elde edilen Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELİZA), kemilüminesans immunoassay (otoanalizör) ve biyosensör verilerinin regresyon analizleri gerçekleştirildi. Yöntemler arası mutlak uyum değerlendirmek amacıyla Bland-Altman grafikleri, yöntemler arası ilişkisel uyumu göstermek amacıyla da Deming regresyon analizleri gerçekleştirildi.



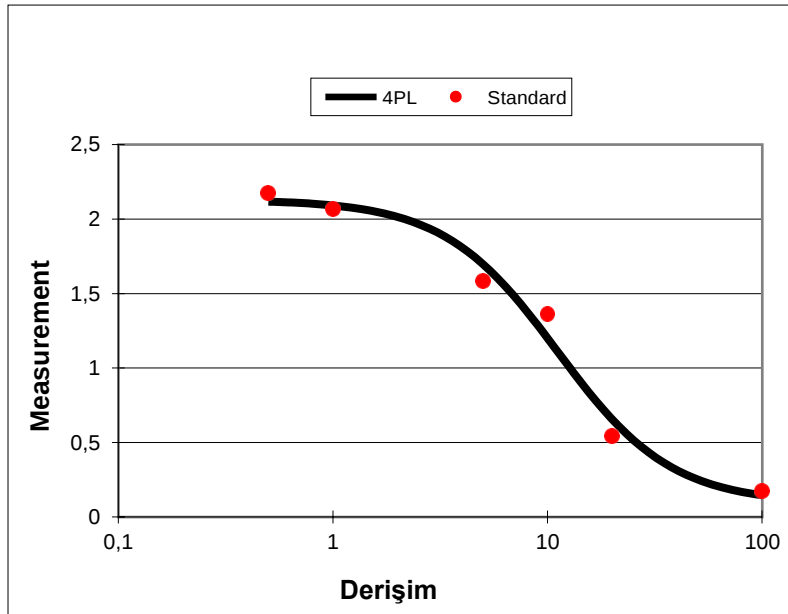
## 4. BULGULAR

### 4.1. Kortizol ELİZA Yöntemi için Kalibrasyon Eğrisi

Kortizol için doğrusallık belirleme çalışmasında C<sub>1</sub> ‘dan C<sub>6</sub> ‘ya kadar numaralandırılmış kalibratörlere karşılık gelen standart derişimleri (sırasıyla 0,5, 1, 5, 10, 20, 100 ng/mL) kullanıldı. Kortizol için doğrusallık belirleme çalışmasının sonuçları Çizelge 4.1.’de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.1.** Kortizol için kalibrasyon çalışması

| Kalibratör | Derişim | Ham Veri | Backfit | Geri kazanım % |
|------------|---------|----------|---------|----------------|
| Standart1  | 0,5     | 2,17     | > Curve | -              |
| Standart2  | 1       | 2,07     | 1,385   | 138,5          |
| Standart3  | 5       | 1,58     | 6,042   | 120,8          |
| Standart4  | 10      | 1,36     | 8,174   | 81,74          |
| Standart5  | 20      | 0,546    | 23,84   | 119,2          |
| Standart6  | 100     | 0,176    | 75,66   | 75,66          |



a 0,0915  
 b -1,639  
 c 11,13  
 d 2,13  
 MSE 0,009475  
 R<sup>2</sup> 0,9826  
 SS 0,05685  
 SYX 0,1686

**Şekil 4.1.** Kortizol için kalibrasyon grafiği

Genç erişkin bireylerde sabah, stres öncesi ve stres sonrası tükürük kortizolü için farklı yöntemler ile çalışma sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.2 'de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.2.** Genç erişkin bireylerde sabah, stres öncesi ve stres sonrası farklı yöntemler ile çalışma sonucunda elde edilen kortizol düzeyleri

|       | SABAH (08:00-09:00) |             |            | STRES ÖNCESİ (12:00) |             |            | STRES SONRASI (14:00-15:00) |             |            |
|-------|---------------------|-------------|------------|----------------------|-------------|------------|-----------------------------|-------------|------------|
|       | Kortizol µg/dL      |             |            |                      |             |            |                             |             |            |
| Birey | ELİZA               | Otoanalizör | Biyosensör | ELİZA                | Otoanalizör | Biyosensör | ELİZA                       | Otoanalizör | Biyosensör |
| 1     | 9,63                | 6,4         | 9,5        | 3,56                 | 3,3         | 3,62       | 8,47                        | 5,1         | 8,48       |
| 2     | 10,33               | 9,4         | 10,63      | 5,93                 | 4,8         | 5,89       | 6,04                        | 5,4         | 6,06       |
| 3     | 6,26                | 5,5         | 6,31       | 5,82                 | 5,2         | 5,9        | 10,45                       | 4,5         | 11,13      |
| 4     | 6,5                 | 5,5         | 6,41       | 9,1                  | 7           | 9,26       | 8,44                        | 8,7         | 9,04       |
| 5     | 10,94               | 13,1        | 11,24      | 7,13                 | 3,3         | 7,42       | 11,91                       | 6,6         | 13,19      |
| 6     | 8,71                | 9,3         | 8,91       | 9,93                 | 3,6         | 10,32      | 13,64                       | 6,6         | 13,64      |
| 7     | 12,28               | 11,4        | 14,14      | 2,52                 | 6,6         | 19,18      | 10,59                       | 10,1        | 12,09      |
| 8     | 16,92               | 13,1        | 19,72      | 16,13                | 3,7         | 18,61      | 13,59                       | -           | 15,16      |
| 9     | 8,33                | 8,4         | 8,5        | 2,56                 | 13,4        | -          | 8,94                        | 10,6        | 9,36       |
| 10    | 11,06               | 9,5         | 11,71      | 6,16                 | 2,8         | 6,47       | 11,53                       | 6,1         | 12,73      |
| 11    | 17,18               | 13,9        | 16,25      | 9,96                 | 2,6         | 9,71       | 37,02                       | 7,4         | 23,94      |
| 12    | 9,01                | 7,6         | 9,89       | 12,47                | 6,5         | 13,31      | 10,19                       | 5,1         | 10,98      |
| 13    | 7,75                | 6,9         | 8,24       | 9,25                 | 9,6         | 10,56      | 11,51                       | -           | 13,34      |
| 14    | 13,52               | 11,9        | 14,22      | 9,59                 | 3,7         | 10,25      | 15,5                        | -           | 17,12      |
| 15    | 11,64               | 9,3         | 10,91      | 13,08                | 3,9         | 15,28      | 19,5                        | -           | 18,36      |
| 16    | 8,4                 | 6,1         | 7,98       | 10,87                | 9,2         | 11,38      | 10,06                       | 5,4         | 11,43      |
| 17    | 9,02                | 10,4        | 10,28      | 8,39                 | 7,4         | 7,98       | 10,62                       | 5,2         | 11,88      |
| 18    | 8,68                | 10,1        | 9,33       | 8,15                 | 5,6         | 8,69       | 13,65                       | 11,1        | 12,63      |
| 19    | 13,77               | 13,6        | 12,52      | 10,99                | 5,5         | 10,74      | 12,37                       | 7,3         | 13,29      |
| 20    | 5,88                | 5,9         | 6,35       | 9,76                 | 6,8         | 10,52      | 11,97                       | -           | 10,82      |
| 21    | 12,43               | 10,9        | 12,97      | 9,56                 | 6,1         | 10,22      | 13,59                       | 9,1         | 12,87      |
| 22    | 12,51               | 8,5         | 11,83      | 11,37                | 5,1         | 11,67      | 10,98                       | 5,9         | 11,61      |
| 23    | 16,76               | 15,5        | 14,68      | 6,43                 | 6,7         | 8,64       | 10,84                       | 8,1         | 11,36      |
|       |                     |             |            |                      |             |            |                             |             |            |

Her üç yöntem ile karşılaştırılan tükürük kortizol düzeyleri sonuçlarının yöntemler arasındaki farklılıkların, sabah, stres öncesi ve stres sonrası kortizol düzeyleri arasındaki farklılaşmadan olup olmadığını tespit etmek için One-Way ANOVA analizi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Tükürük kortizol düzeylerine ilişkin ortalama standart sapma ve standart hata değerleri Çizelge 4. 3'de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Sabah, stres öncesi ve stres sonrası tükürük kortizol düzeylerine ilişkin istatistiksel veriler

| Ölçülen Yöntemler | Gruplar       | n  | Ortalama | Standart sapma | Standart hata |
|-------------------|---------------|----|----------|----------------|---------------|
| Eliza             | Sabah         | 23 | 10,76    | 3,30           | 0,688         |
|                   | stres öncesi  | 23 | 8,64     | 3,33           | 0,695         |
|                   | stres sonrası | 23 | 12,67    | 5,96           | 1,242         |
| Otoanalizör       | Sabah         | 23 | 9,66     | 2,93           | 0,611         |
|                   | stres öncesi  | 23 | 5,76     | 2,54           | 0,530         |
|                   | stres sonrası | 18 | 7,13     | 2,06           | 0,485         |
| Biyosensör        | Sabah         | 23 | 12,12    | 7,23           | 1,507         |
|                   | stres öncesi  | 22 | 9,47     | 3,65           | 0,779         |
|                   | stres sonrası | 23 | 12,63    | 3,61           | 0,753         |

**Çizelge 4.4.** Varyansların homojenliği

|                    | F            | df1      | df2       | P            |
|--------------------|--------------|----------|-----------|--------------|
| <b>Eliza</b>       | <b>0,320</b> | <b>2</b> | <b>66</b> | <b>0,727</b> |
| <b>Otoanalizör</b> | <b>1,098</b> | <b>2</b> | <b>61</b> | <b>0,340</b> |
| <b>Biyosensör</b>  | <b>1,160</b> | <b>2</b> | <b>65</b> | <b>0,320</b> |

Varyansların homojenliği tablosunda p (anlamlılık) değeri 0,05'ten büyük olduğu için varyansların homojen olduğu kabul edilir (Çizelge 4.4).

Kullanılan yöntemlerin kortizol düzeylerinin belirlenmesi üzerinde etkili olup olmadığını anlamak için One-Way ANOVA analizi yapılmıştır. Çizelge 4.5’de p değerleri incelenmiştir.

**Çizelge 4.5.** One-Way ANOVA değerleri

|                    | F            | df1      | df2       | P                |
|--------------------|--------------|----------|-----------|------------------|
| <b>Eliza</b>       | <b>4,87</b>  | <b>2</b> | <b>66</b> | <b>0,011</b>     |
| <b>Otoanalizör</b> | <b>13,58</b> | <b>2</b> | <b>61</b> | <b>&lt; ,001</b> |
| <b>Biyosensör</b>  | <b>2,43</b>  | <b>2</b> | <b>65</b> | <b>0,096</b>     |

**Not. \* p < ,05, \*\* p < ,01, \*\*\* p < ,001**

$p < 0,05$  olduğu için karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında incelenen özellik bakımından anlamlı bir fark olduğu görüldü. Bu farkın hangi gruplardan kaynaklandığını tespit etmek için çoklu karşılaştırma (Post-Hoc test) yapıldı.

Çalışmamızdaki gruplar arasında kullanılan yöntemler bakımından fark olduğu ve varyansların homojen dağıldığını tespit ettik.

Varyanslar homojen dağıldığı için Post Hoc testlerinden Tukey kullanılmıştır.

Tüm gruplar her üç yöntem için ayrı ayrı birbiri ile karşılaştırıldı ve aralarında anlamlı fark olup olmadığı test edildi. Çizelge 4.6, Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8’de grupların kullanılan yöntemler ile karşılaştırılması verilmektedir.

**Çizelge 4.6.** Tukey Post-Hoc-ELİZA için grupların birbiri ile karşılaştırılması

| Tukey Post-Hoc Test - Eliza |                      |       |              |                 |
|-----------------------------|----------------------|-------|--------------|-----------------|
|                             |                      | Sabah | Stres öncesi | Stres sonrası   |
| <b>Sabah</b>                | <b>Ortalama fark</b> | —     | <b>2,12</b>  | <b>-1,91</b>    |
|                             | <b>t-değeri</b>      | —     | <b>1,64</b>  | <b>-1,48</b>    |
|                             | <b>Df</b>            | —     | <b>66,0</b>  | <b>66,0</b>     |
|                             | <b>p-değeri</b>      | —     | <b>0,235</b> | <b>0,308</b>    |
| <b>Stres öncesi</b>         | <b>Ortalama fark</b> |       | —            | <b>-4,03 **</b> |
|                             | <b>t-değeri</b>      |       | —            | <b>-3,12</b>    |
|                             | <b>Df</b>            |       | —            | <b>66,0</b>     |
|                             | <b>p-değeri</b>      |       | —            | <b>0,007</b>    |
| <b>Stres sonrası</b>        | <b>Ortalama fark</b> |       |              | —               |
|                             | <b>t-değeri</b>      |       |              | —               |
|                             | <b>Df</b>            |       |              | —               |
|                             | <b>p-değeri</b>      |       |              | —               |

**Not. \* p < ,05, \*\* p < ,01, \*\*\* p < ,001**

Sabah tükürük kortizol düzeyleri ile stres öncesi kortizol düzeyleri karşılaştırıldığında bu grupların ortalamaları arasındaki fark 2,12 bulunmuş ve yapılan karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05 ‘ten ( $p=0,235$ ) büyük olduğu için iki grubun ortalamaları arasında anlamlı bir fark olmadığına karar verilebilir. Sabah ve stres öncesi kortizol düzeylerinin ortalamalarına Çizelge 4.3’e bakacak olursak sabah (10,76) stres öncesi de (8,64) olduğu görülür. Sabah alınan örneklerdeki kortizol düzeylerinin ortalamalarının stres öncesine göre istatistiksel olarak büyüktür. Ancak Post-Hoc Testinde ortalamalar arasında fark olmadığı için bu iki grubun ortalaması birbirine eşit gibi düşünülebilir ve farklı görünse de aslında aralarında fark yoktur.

Sabah tükürük kortizol düzeyleri ile stres sonrası kortizol düzeyleri karşılaştırıldığında bu grupların ortalamaları arasındaki fark -1,91 bulunmuş ve yapılan karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05’ten ( $p=0,308$ ) büyük olduğu için aralarında anlamlı bir fark olmadığına karar verilebilir. Sabah ve stres sonrası kortizol düzeylerinin ortalamalarına Çizelge 4.3’te bakacak olursak sabah (10,76) stres sonrası da (12,67) olduğu görülür. Burada da iki grubun ortalaması birbirine eşit gibi düşünülebilir ve aralarında fark yoktur.

Stres öncesi ve stres sonrası tükürük kortizol düzeyleri karşılaştırıldığında ortalamaları arasındaki fark -4,03 bulunmuş ve karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05'ten ( $p=0,007$ ) küçük olduğu için aralarında anlamlı bir fark vardır.

**Çizelge 4.7.** Tukey Post-Hoc Test-Otoanalizör için grupların birbiri ile karşılaştırılması

| Tukey Post-Hoc Test - otoanalizör                                                               |                      |       |                 |                |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------|-----------------|----------------|
|                                                                                                 |                      | Sabah | Stres öncesi    | Stres sonrası  |
| <b>Sabah</b>                                                                                    | <b>Ortalama fark</b> | —     | <b>3,90</b>     | <b>2,53 **</b> |
|                                                                                                 | <b>t-değeri</b>      | —     | <b>5,15</b>     | <b>3,13</b>    |
|                                                                                                 | <b>Df</b>            | —     | <b>61,0</b>     | <b>61,0</b>    |
|                                                                                                 | <b>p-değeri</b>      | —     | <b>&lt;,001</b> | <b>0,007</b>   |
| <b>Stres öncesi</b>                                                                             | <b>Ortalama fark</b> |       | —               | <b>-1,37</b>   |
|                                                                                                 | <b>t-değeri</b>      |       | —               | <b>-1,69</b>   |
|                                                                                                 | <b>Df</b>            |       | —               | <b>61,0</b>    |
|                                                                                                 | <b>p-değeri</b>      |       | —               | <b>0,217</b>   |
| <b>Stres sonrası</b>                                                                            | <b>Ortalama fark</b> |       |                 | —              |
|                                                                                                 | <b>t-değeri</b>      |       |                 | —              |
|                                                                                                 | <b>Df</b>            |       |                 | —              |
|                                                                                                 | <b>p-değeri</b>      |       |                 | —              |
| <b>Not. * <math>p &lt; ,05</math>, ** <math>p &lt; ,01</math>, *** <math>p &lt; ,001</math></b> |                      |       |                 |                |

Otoanalizör de sabah alınan tükürük kortizol düzeyleri ile stres öncesi kortizol düzeyleri karşılaştırıldığında bu grupların ortalamaları arasındaki fark 3,90 bulunmuş ve yapılan karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05'ten ( $p=0,001$ ) küçük olduğu için iki grubun ortalamaları arasında anlamlı bir fark vardır. Çizelge 4.3'e bakacak olursak sabah (9,66) stres öncesi (5,76) olduğu görülür Sabah alınan örneklerdeki kortizol düzeylerinin ortalamalarının stres öncesine göre istatistiksel olarak büyüktür.

Sabah tükürük kortizol düzeyleri ile stres sonrası kortizol düzeyleri karşılaştırıldığında bu grupların ortalamaları arasındaki fark 2,53 bulunmuş ve yapılan karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05'ten ( $p=0,007$ ) küçük olduğu için aralarında anlamlı bir fark vardır.

Stres öncesi ve stres sonrası tükürük kortizol düzeyleri karşılaştırıldığında ortalamaları arasındaki fark -1,37 bulunmuş ve yapılan karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05'den ( $p=0,217$ ) büyük olduğu için aralarında anlamlı bir fark yoktur.

**Çizelge 4.8.** Tukey Post-Hoc Test-Biyosensör için grupların birbiri ile karşılaştırılması

| Tukey Post-Hoc Test - biyosensör |                      | Sabah | Stres öncesi | Stres sonrası |
|----------------------------------|----------------------|-------|--------------|---------------|
| <b>Sabah</b>                     | <b>Ortalama fark</b> | —     | <b>2,65</b>  | <b>-0,514</b> |
|                                  | <b>t-değeri</b>      | —     | <b>1,73</b>  | <b>-0,339</b> |
|                                  | <b>Df</b>            | —     | <b>65,0</b>  | <b>65,0</b>   |
|                                  | <b>p-değeri</b>      | —     | <b>0,203</b> | <b>0,939</b>  |
| <b>Stres öncesi</b>              | <b>Ortalama fark</b> | —     | —            | <b>-3,160</b> |
|                                  | <b>t-değeri</b>      | —     | —            | <b>-2,063</b> |
|                                  | <b>Df</b>            | —     | —            | <b>65,0</b>   |
|                                  | <b>p-değeri</b>      | —     | —            | <b>0,106</b>  |
| <b>Stres sonrası</b>             | <b>Ortalama fark</b> | —     | —            | —             |
|                                  | <b>t-değeri</b>      | —     | —            | —             |
|                                  | <b>Df</b>            | —     | —            | —             |
|                                  | <b>p-değeri</b>      | —     | —            | —             |

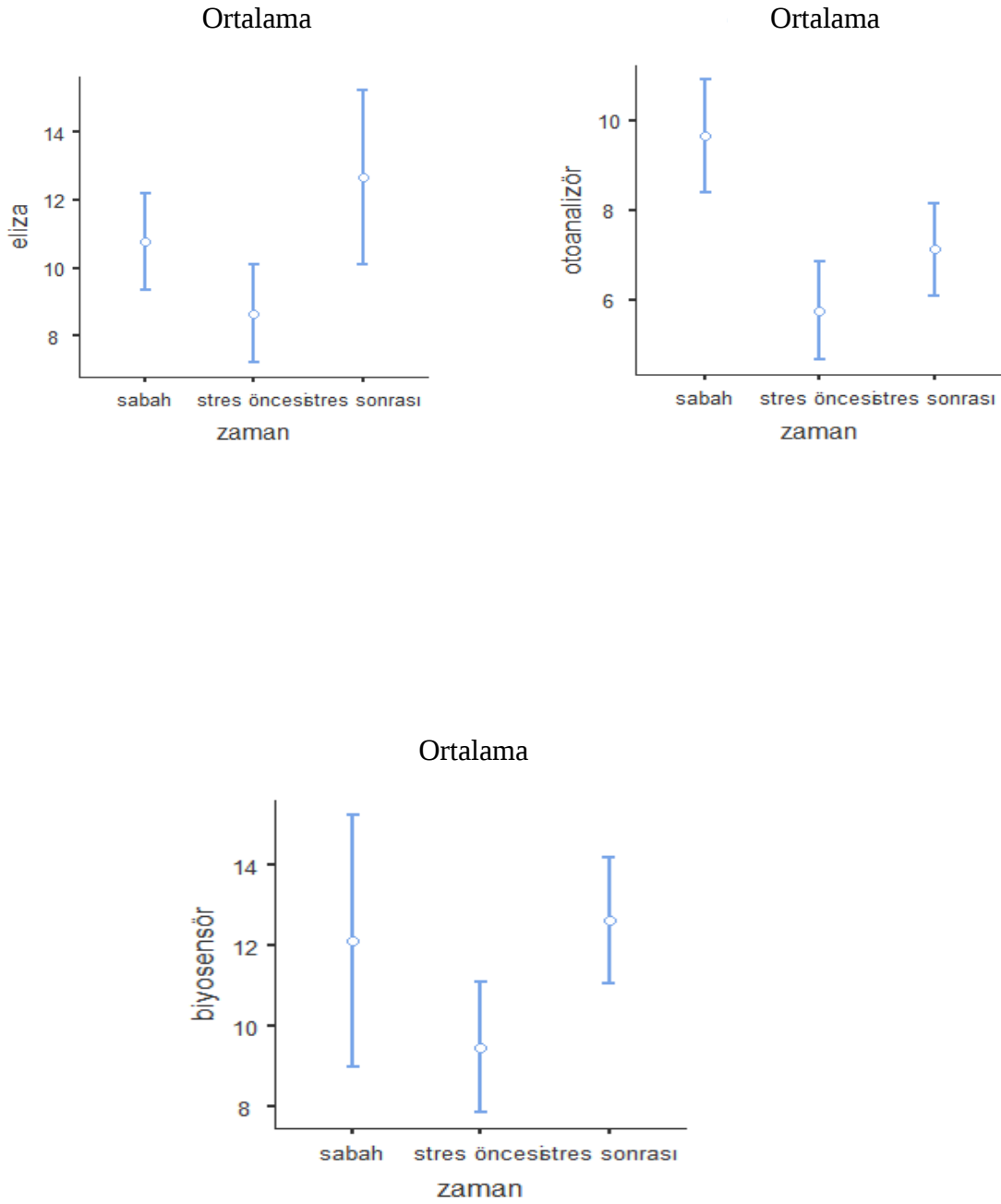
**Not. \*  $p < ,05$ , \*\*  $p < ,01$ , \*\*\*  $p < ,001$**

Biyosensör de sabah alınan tükürük kortizol düzeyleri ile stres öncesi kortizol düzeyleri karşılaştırıldığında bu grupların ortalamaları arasındaki fark 2,65 bulunmuş ve yapılan karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05'ten ( $p=0,203$ ) büyük olduğu için iki grubun ortalamaları arasında anlamlı bir fark olmadığı söylenebilir. Burada da iki grubun ortalaması birbirine eşit gibi düşünülebilir ve aralarında fark yoktur.

Sabah tükürük kortizol düzeyleri ile stres sonrası kortizol düzeyleri karşılaştırıldığında bu grupların ortalamaları arasındaki fark -0,514 bulunmuş ve yapılan karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05'ten ( $p=0,939$ ) büyük olduğu için aralarında anlamlı bir fark olmadığına karar verilebilir. Sabah ve stres sonrası kortizol düzeylerinin ortalamalarına Çizelge 4.3'te bakacak olursak sabah (12,72) ve stres sonrası (9,47) olduğu görülür. Burada da iki grubun ortalaması birbirine eşit gibi düşünülebilir ve aralarında fark yoktur.

Stres öncesi ve stres sonrası tükürük kortizol düzeyleri karşılaştırıldığında ortalamaları arasındaki fark -3,160 bulunmuş ve karşılaştırma sonucunda p değeri 0,05'ten ( $p=0,106$ ) büyük olduğu için aralarında anlamlı bir fark yoktur. Stres öncesi ve stres sonrası kortizol düzeylerinin ortalamalarına Çizelge 4.3'te bakacak olursak stres öncesi (9,47) ve stres sonrası (12,63) olduğu görülür. Stres öncesi alınan örneklerdeki kortizol düzeylerinin ortalamalarının stres sonrasına göre istatistiksel olarak küçüktür. Ancak Post-Hoc Testinde ortalamalar arasında fark olmadığı için bu iki grubun ortalaması birbirine eşit gibi düşünebilir ve farklı görünse de aslında arasında fark yoktur.

Kullanılan üç farklı yöntemde ve üç farklı zamanda alınan tükürük numunelerindeki ortalama kortizol düzeyleri Şekil 4.2’ de verilmektedir.



Şekil 4.2. Kullanılan yöntemlere göre tükürük ortalama kortizol değerlerine ait grafikler

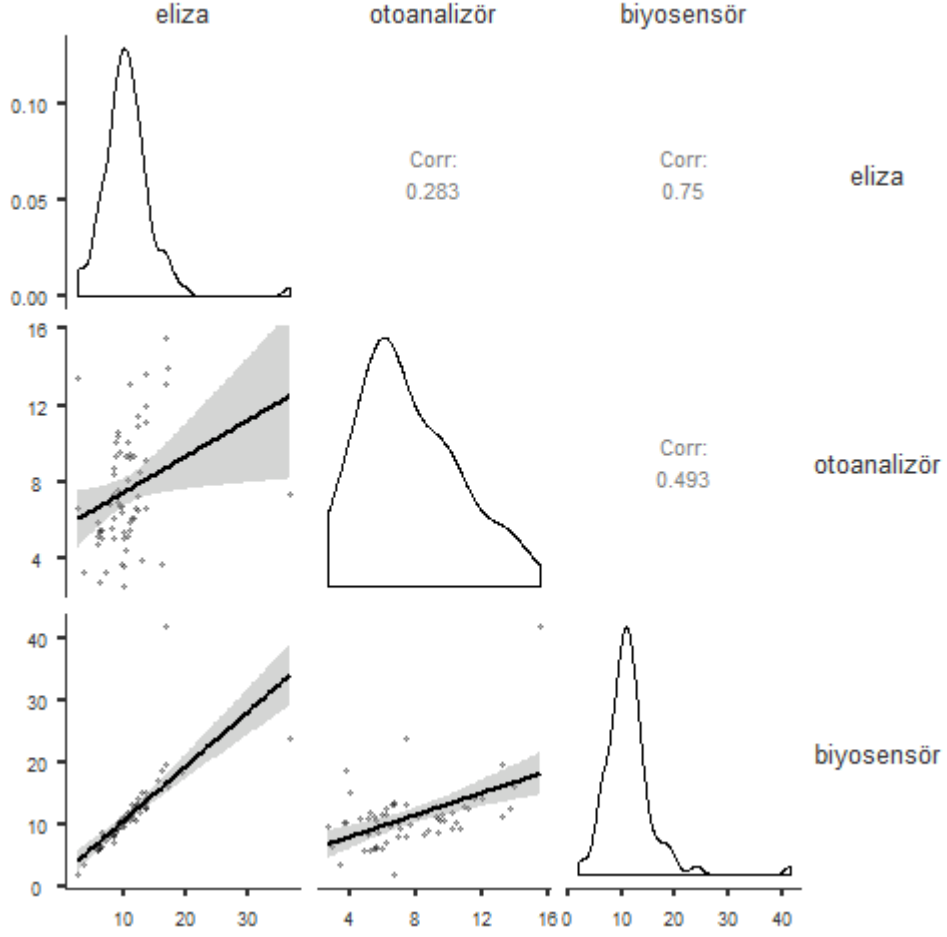
Tükürükteki kortizol düzeyini ölçmek için kullanılan yöntemler arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığını belirlemek için korelasyon analizi yapılmıştır. Veriler normal dağılıma uyduğu için Pearson korelasyon katsayısı ve bu katsayının yorumlanabilmesi için p değerleri Çizelge 4.9’ da verilmektedir.

**Çizelge 4.9.** Korelasyon verileri

|                                                          |                     | Eliza | Otoanalizör    | Biyosensör       |
|----------------------------------------------------------|---------------------|-------|----------------|------------------|
| <b>Eliza</b>                                             | <b>Pearson's r</b>  | —     | <b>0,283 *</b> | <b>0,750 ***</b> |
|                                                          | <b>p-değeri</b>     | —     | <b>0,024</b>   | <b>&lt;,001</b>  |
|                                                          | <b>95% CI Upper</b> | —     | <b>0,494</b>   | <b>0,838</b>     |
|                                                          | <b>95% CI Lower</b> | —     | <b>0,039</b>   | <b>0,623</b>     |
| <b>Otoanalizör</b>                                       | <b>Pearson's r</b>  |       | —              | <b>0,493 ***</b> |
|                                                          | <b>p-değeri</b>     |       | —              | <b>&lt;,001</b>  |
|                                                          | <b>95% CI Upper</b> |       | —              | <b>0,660</b>     |
|                                                          | <b>95% CI Lower</b> |       | —              | <b>0,279</b>     |
| <b>Biyosensör</b>                                        | <b>Pearson's r</b>  |       |                | —                |
|                                                          | <b>p-değeri</b>     |       |                | —                |
|                                                          | <b>95% CI Upper</b> |       |                | —                |
|                                                          | <b>95% CI Lower</b> |       |                | —                |
| <b>Not. * p &lt; ,05, ** p &lt; ,01, *** p &lt; ,001</b> |                     |       |                |                  |

Eliza ile otoanalizör yöntemleri arasında zayıf korelasyon söz konusu iken ( $r=0,283$ ,  $p<0,05$ ) biyosensör ile arasında yüksek korelasyon ( $r=0,750$ ,  $p<0,001$ ) görülmektedir. Otoanalizör ile biyosensör yöntemleri arasında orta şiddette ( $r=0,493$ ,  $p<0,001$ ) korelasyon görülmektedir.

Yöntemler arasındaki farklı korelasyon durumları Şekil 4.3 'de gösterilmektedir.



Şekil 4.3. Yöntemler arasındaki farklı korelasyon durumları

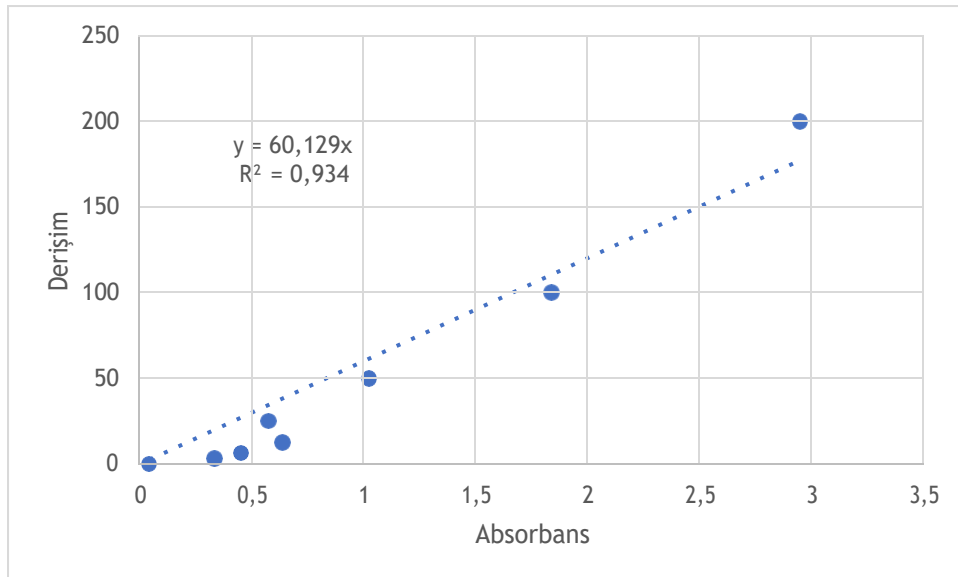
#### 4.2. Amilaz ELİZA Yöntemi için Kalibrasyon Eğrisi

Standart öncelikle 1 mL standart dilüenti ile sulandırılır ve 200 ng/mL 'lik stok çözelti hazırlanır. İçerisinde 0,5 mL standart dilüenti içeren 7 ayrı tüp hazırlanır ve seyreltme işlemi yapılır. 200 ng/mL, 100 ng/mL, 50 ng/mL, 25 ng/mL, 12,5 ng/mL, 6,25 ng/mL, 3,12 ng/mL standart ve son olarak da sadece standart dilüenti içeren kör tüpü hazırlanır (Çizelge 4.10).

**Çizelge 4.10.** Amilaz için kalibrasyon eğrisi verileri

| Standartlar | ng/mL | Absorbans |
|-------------|-------|-----------|
| STD1        | 200   | 2,946     |
| STD2        | 100   | 1,837     |
| STD3        | 50    | 1,021     |
| STD4        | 25    | 0,572     |
| STD5        | 12,5  | 0,634     |
| STD6        | 6,25  | 0,449     |
| STD7        | 3,12  | 0,329     |
| STD8        | 0     | 0,039     |

Yapılan çalışmada tükürükte amilaz düzeyleri üç farklı yöntem ile sabah, stres öncesi ve stres sonrası durumunda değerlendirilmektedir.



**Şekil 4.4.** Amilaz için kalibrasyon grafiği

Eliza yönteminde amilaz düzeylerinin verileri Çizelge 4.11’de verilmektedir.

**Çizelge 4.11.** Tükürükte üç farklı zamanda Eliza yöntemi ile ölçülen amilaz düzeyleri

|       | SABAH (08:00-09:00) | STRES ÖNCESİ (12:00) | STRES SONRASI (14:00-15:00) |
|-------|---------------------|----------------------|-----------------------------|
|       | Amilaz ng/mL        |                      |                             |
| Birey | ELİZA               | ELİZA                | ELİZA                       |
| 1     | 18,50               | 21,27                | 87,19                       |
| 2     | 20,81               | 33,51                | 130,48                      |
| 3     | 15,03               | 21,34                | 91,40                       |
| 4     | 17,57               | 16,65                | 134,03                      |
| 5     | 19,19               | 26,07                | 86,22                       |
| 6     | 14,57               | 17,12                | 68,31                       |
| 7     | 15,49               | 41,62                | 175,58                      |
| 8     | 17,11               | 22,20                | 70,29                       |
| 9     | 18,27               | 24,97                | 81,96                       |
| 10    | 22,20               | 43,18                | 177,98                      |
| 11    | 16,65               | 27,96                | 108,29                      |
| 12    | 15,95               | 21,30                | 80,87                       |
| 13    | 13,18               | 34,47                | 159,16                      |
| 14    | 19,42               | 47,64                | 171,79                      |
| 15    | 33,29               | 40,23                | 112,20                      |
| 16    | 14,10               | 30,98                | 137,09                      |
| 17    | 21,04               | 37,46                | 136,61                      |
| 18    | 15,72               | 36,53                | 130,06                      |
| 19    | 17,11               | 36,24                | 99,81                       |
| 20    | 15,95               | 18,77                | 54,60                       |
| 21    | 15,03               | 21,73                | 92,78                       |
| 22    | 14,34               | 36,82                | 138,96                      |
| 23    | 21,73               | 46,82                | 177,38                      |

Tükürük de amilaz düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan ELİZA yönteminde sabah, stres öncesi ve stres sonrası ortalama ve standart sapma değerleri sırasıyla  $17,9 \pm 4,22$ ,  $30,6 \pm 9,74$  ve  $117,5 \pm 38,10$  bulunmuştur. Sonuçlara bakıldığında stresin etkisiyle tükürük de amilaz düzeylerinin arttığı gözlemlenmiştir.

Tükürük amilaz düzeyleri otoanalizör ve biyosensör yönteminde belirlenememiştir. Bu yöntemlerin tükürük için uygun olmadığı düşünülmektedir.

### 4.3. ELİZA, OTOANALİZÖR ve BİYOSENSÖR Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Yapılan çalışmada Kıbrıs Sağlık ve Toplum Bilimleri Üniversitesi'nde okuyan öğrencilerden alınan 23 tükürük numunesi üç yöntemle analiz edildi ve elde edilen kortizol ölçüm sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi. Aralarındaki ilişkiyi incelemek amacıyla XLSTAT istatistik programında Deming regresyon analizi ve Bland-Altman yöntem karşılaştırılması yapıldı.

#### 4.3.1. ELİZA ve OTOANALİZÖR Yöntemlerinin Karşılaştırılması

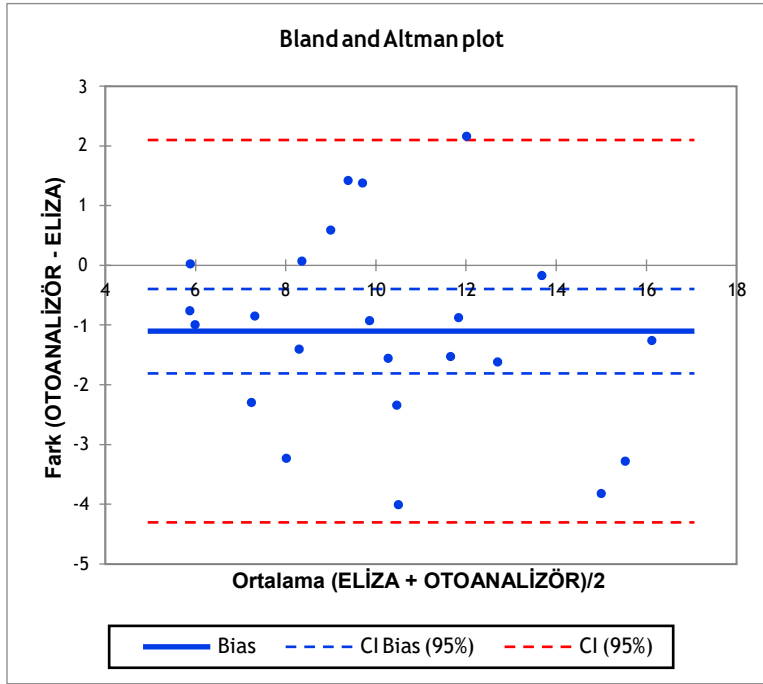
Çalışmada 23 genç erişkin bireyden, ELİZA ve OTOANALİZÖR yöntemleri ile elde edilen kortizol değerlerinin XLSTAT istatistik programında önce Bland-Altman yöntemi ile sonrasında Deming regresyon analizi tekniği ile incelenmiştir. 23 genç erişkin bireyden elde edilen verilere ilişkin istatistikler Çizelge 4.12'de verilmiştir.

**Çizelge 4.12.** Genç erişkin bireylerden elde edilen kortizol verilerine ilişkin istatistikler

| Ölçüm Yöntemi | N  | Minimum | Maksimum | Ortalama | Std.Sapma |
|---------------|----|---------|----------|----------|-----------|
| Eliza         | 23 | 5,878   | 17,180   | 10,761   | 3,301     |
| Otoanalizör   | 23 | 5,500   | 15,500   | 9,661    | 2,929     |

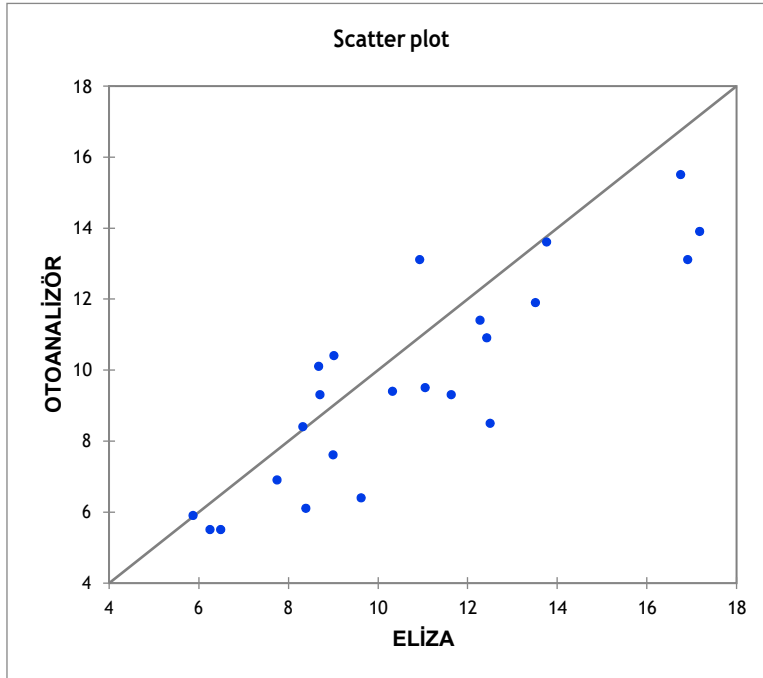
Çizelge 4.12'e bakıldığında her iki ölçüm yöntemi ile elde edilen verilerin ortalama ve standart sapma değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir.

XLSTAT programı yardımı ile Bland-Altman grafiği çizilmiş ve gözlem değerlerinin ortalamadan olan sapmalarına ilişkin grafik Şekil 4.5'de verilmiştir.



**Sapma** -1,1  
**Standart hata** 1,633  
**CI sapma (%95)** -1,806 ; -0,394

**Şekil 4.5.** Kortizol sonuçlarının ELİZA ve Otoanalizör yöntemleri arasındaki Bland-Altman grafiği



**Pearson korelasyon katsayısı**  
**Korelasyon** -0,235  
**CI (%95)** -0,590;0,196

**Şekil 4.6.** ELİZA ve otoanalizör verilerinin dağılım grafiği

İki yönteme göre elde edilen verilerin sonuçlarının farklarının ortalamalarının rastgele bir dağılım gösterdiği görülmektedir. Yapılan analiz sonucuna göre eliza ile otoanalizör yöntemi arasında bir uyum olduğu birbirinin alternatifi olduğu söylenebilir.

Verilerin regresyon analizine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.13 'de verilmiştir.

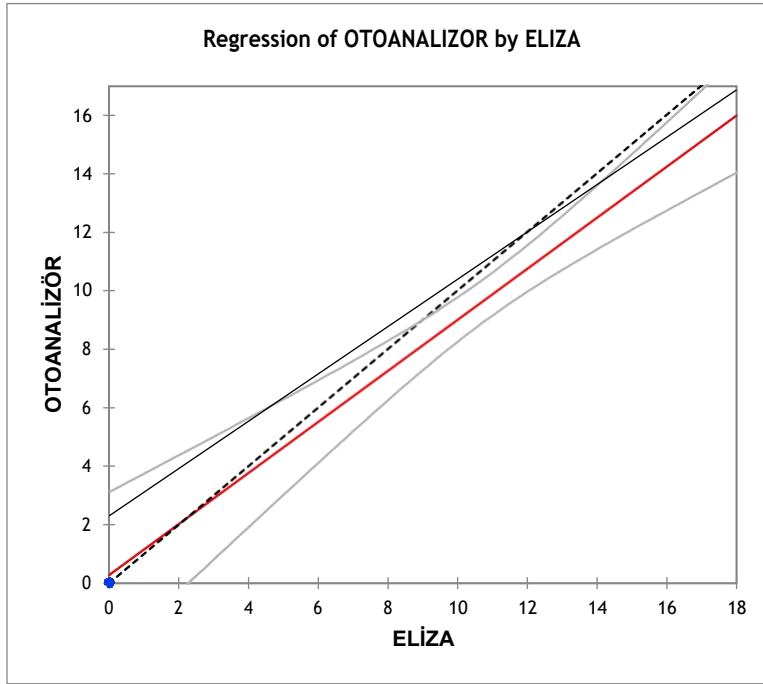
**Çizelge 4.13.** Deming regresyon analizine ilişkin veriler

|                          | <b>Değer</b> | <b>Alt sınır<br/>%95</b> | <b>Üst sınır<br/>%95</b> |
|--------------------------|--------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>Intercept (Eğim)</b>  | 0,281        | -1,765                   | 2,326                    |
| <b>Slope coefficient</b> | 0,872        | 0,673                    | 1,070                    |

Deming regresyon analizine ait veriler sonucunda elde edilen regresyon denklemi eşitlik 1' de verilmektedir.

$$y=0,281+0,872x \quad (1)$$

Eliza ve otoanalizör metotlarından herhangi birinin değişiminin %98,67'sinin diğer metot tarafından açıklanabilir olması her iki yöntem arasında uyum olduğunun bir göstergesidir. Aynı zamanda eliza ve otoanalizör metotları arasında %98,67 oranında doğrusallık söz konusudur ve birbirinin alternatif metodu olarak kullanılabilir.



**Korelasyon katsayısı:** 0,869

**R<sup>2</sup>** 0,9867

**Şekil 4.7.** Eliza ve otoanalizöre ait regresyon grafiği

#### 4.3.2. ELİZA ve BİYOSENSÖR Yöntemlerinin Karşılaştırılması

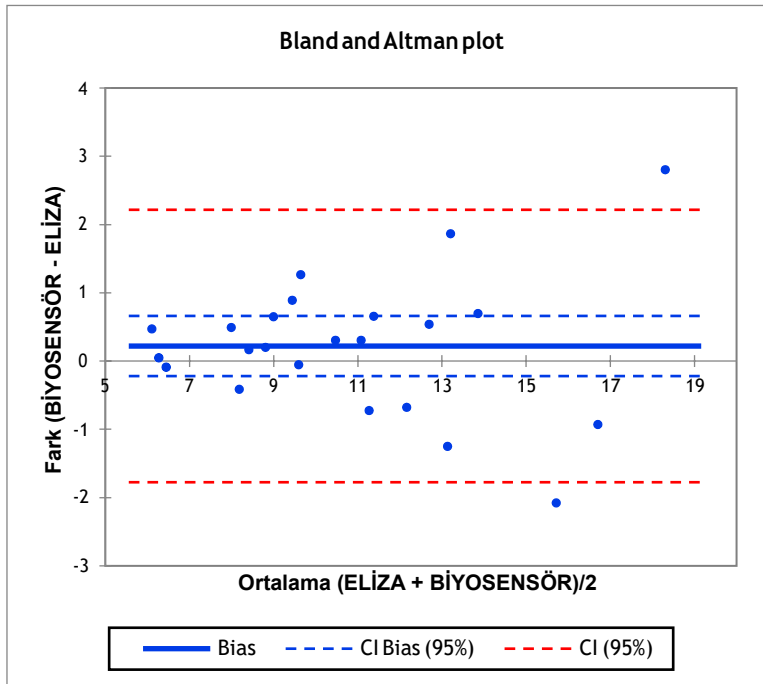
Çalışmada 23 genç erişkin bireyden, ELİZA ve BİYOSENSÖR yöntemleri ile elde edilen kortizol değerlerinin XLSTAT istatistik programında önce Bland-Altman yöntemi ile sonrasında Deming regresyon analizi tekniği ile incelenmiştir. 23 genç erişkin bireyden elde edilen verilere ilişkin istatistikler Çizelge 4.14’te verilmiştir.

**Çizelge 4.14.** Genç erişkin bireylerden elde edilen kortizol verilerine ilişkin istatistikler

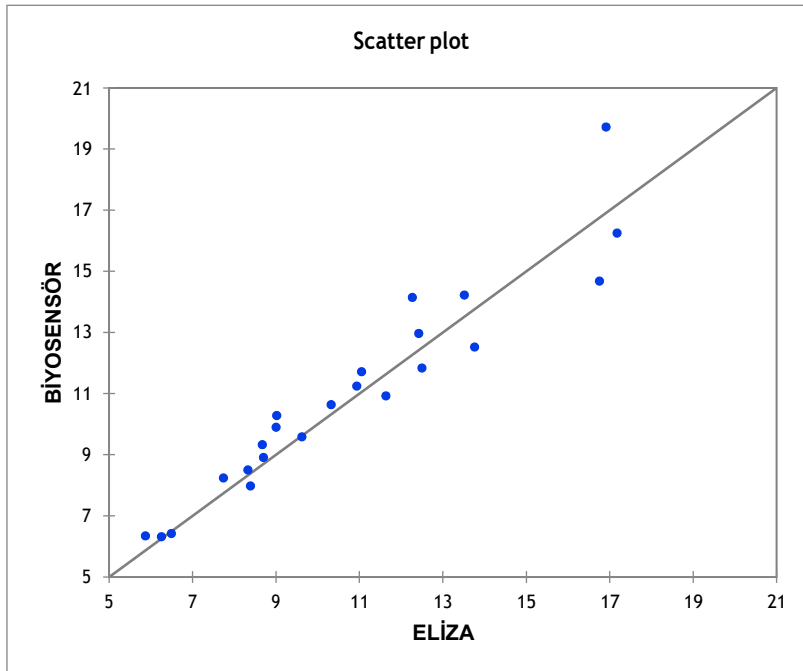
| Ölçüm Yöntemi | N  | Minimum | Maksimum | Ortalama | Std. Sapma |
|---------------|----|---------|----------|----------|------------|
| Eliza         | 23 | 5,878   | 17,180   | 10,761   | 3,301      |
| Biyosensör    | 23 | 6,308   | 19,719   | 10,982   | 3,327      |

Çizelge 4.14’e bakıldığında her iki ölçüm yöntemi ile elde edilen verilerin ortalama ve standart sapma değerlerinin birbirine çok yakın olduğu görülmektedir.

XLSTAT programı yardımı ile Bland-Altman grafiği çizilmiş ve gözlem değerlerinin ortalamadan olan sapmalarına ilişkin grafik Şekil 4.8’de verilmiştir.



**Şekil 4.8.** Kortizol sonuçlarının ELİZA ve biyosensör yöntemleri arasındaki Bland-Altman grafiği



**Şekil 4.9.** ELİZA ve biyosensör verilerinin dağılım grafiği

İki yönteme göre elde edilen verilerin sonuçlarının farklarının ortalamalarının rastgele bir dağılım gösterdiği görülmektedir. Yapılan analiz sonucuna göre eliza ile biyosensör yöntemi arasında bir uyum olduğu birbirinin alternatifi olduğu söylenebilir.

Verilerin regresyon analizine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.15’de verilmiştir.

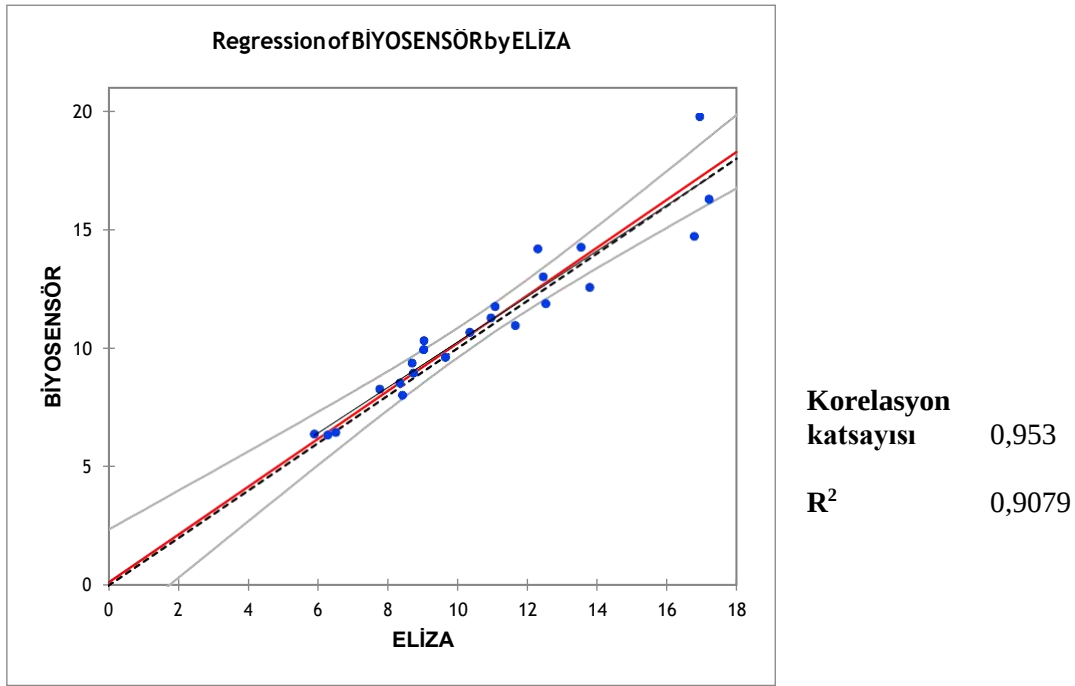
**Çizelge 4.15.** Deming regresyon analizine ilişkin veriler

|                          | <b>Değer</b> | <b>Alt Sınır<br/>% 95</b> | <b>Üst Sınır<br/>% 95</b> |
|--------------------------|--------------|---------------------------|---------------------------|
| <b>Intercept (Eğim)</b>  | 0,132        | -2,351                    | 2,614                     |
| <b>Slope coefficient</b> | 1,008        | 0,740                     | 1,277                     |

Deming regresyon analizine ait veriler sonucunda elde edilen regresyon denklemi eşitlik 2’de verilmektedir.

$$y = 0,132 + 1,008x \quad (2)$$

Eliza ve biyosensör metotlarından herhangi birinin değişiminin %90,79’unun diğer metot tarafından açıklanabilir olması her iki yöntem arasında uyum olduğunun bir göstergesidir. Aynı zamanda eliza ve otoanalizör metotları arasında %90,79 oranında doğrusallık söz konusudur ve birbirinin alternatif metodu olarak kullanılabilir.



**Şekil 4.10.** Eliza ve biyosensöre ait regresyon grafiği

#### 4.3.3. OTOANALİZÖR ve BİYOSENSÖR Yöntemlerinin Karşılaştırılması

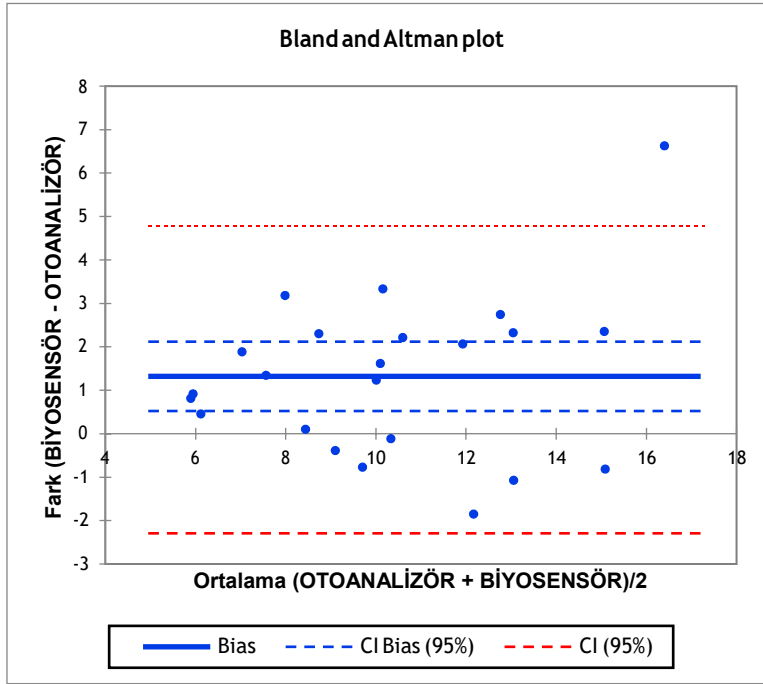
Çalışmada 23 genç erişkin bireyden, OTOANALİZÖR ve BİYOSENSÖR yöntemleri ile elde edilen kortizol değerlerinin XLSTAT istatistik programında önce Bland-Altman yöntemi ile sonrasında Deming regresyon analizi tekniği ile incelenmiştir. 23 genç erişkin bireyden elde edilen verilere ilişkin istatistikler Çizelge 4.16’da verilmiştir.

**Çizelge 4.16.** Genç erişkin bireylerden elde edilen kortizol verilerine ilişkin istatistikler

| Ölçüm Yöntemi | N  | Minimum | Maksimum | Ortalama | Std. sapma |
|---------------|----|---------|----------|----------|------------|
| Otoanalizör   | 23 | 5,500   | 15,500   | 9,661    | 2,929      |
| Biyosensör    | 23 | 6,308   | 19,719   | 10,982   | 3,327      |

Çizelge 4.16’ya bakıldığında her iki ölçüm yöntemi ile elde edilen verilerin ortalama ve standart sapma değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir.

XLSTAT programı yardımı ile Bland-Altman grafiği çizilmiş ve gözlem değerlerinin ortalamadan olan sapmalarına ilişkin grafik Şekil 4.11’de verilmiştir.

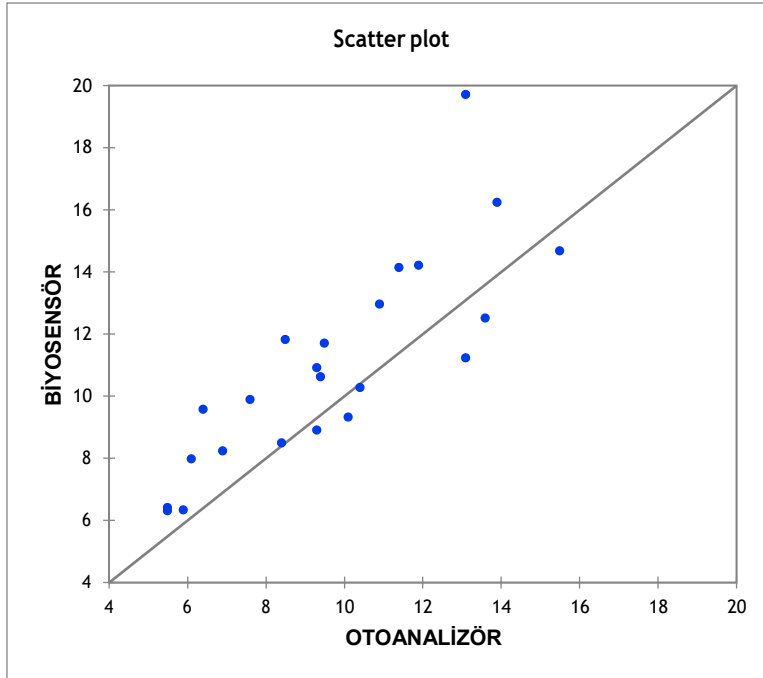


**Sapma** 1,321

**Standart hata** 1,845

**CI Sapma (% 95)** 0,524;2,119

**Şekil 4.11.** Kortizol sonuçlarının otoanalizör ve biyosensör yöntemleri arasındaki Bland- Altman grafiği



**Pearson korelasyon katsayısı**

**Korelasyon** 0,225

**CI (%95)** -0,206;0,583

**Şekil 4.12.** Otoanalizör ve biyosensör verilerinin dağılım grafiği

İki yönteme göre elde edilen verilerin sonuçlarının farklarının ortalamalarının rastgele bir dağılım gösterdiği görülmektedir. Yapılan analiz sonucuna göre otoanalizör ile biyosensör yöntemi arasında bir uyum olduğu birbirinin alternatifi olduğu söylenebilir.

Verilerin regresyon analizine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.17’de verilmiştir

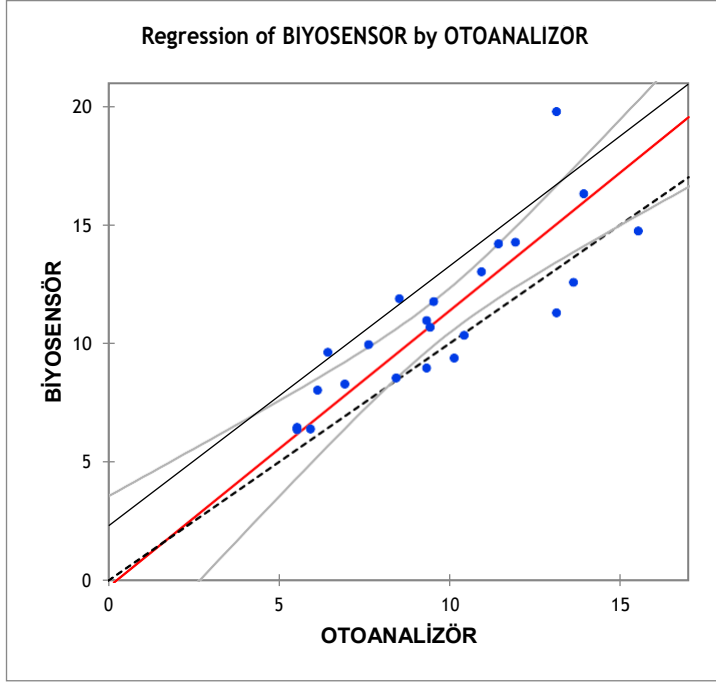
**Çizelge 4.17.** Deming regresyon analizine ilişkin veriler

|                          | <b>Değer</b> | <b>Alt sınır<br/>% 95</b> | <b>Üst sınır<br/>%95</b> |
|--------------------------|--------------|---------------------------|--------------------------|
| <b>Intercept (Eğim)</b>  | -0,271       | -4,602                    | 4,059                    |
| <b>Slope coefficient</b> | 1,165        | 0,657                     | 1,673                    |

Deming regresyon analizine ait veriler sonucunda elde edilen regresyon denklemi eşitlik 3’ te verilmektedir.

$$y = -0,271 + 1,165x \quad (3)$$

Otoanalizör ve biyosensör metotlarından herhangi birinin değişiminin %98,13’unun diğer metot tarafından açıklanabilir olması her iki yöntem arasında uyum olduğunun bir göstergesidir. Aynı zamanda otoanalizör ve biyosensör metotları arasında %98,13 oranında doğrusallık söz konusudur ve birbirinin alternatif metodu olarak kullanılabilir.



Korelasyon  
katsayısı: 0,834  
 $R^2$  0,9813

Şekil 4.13. Otoanalizör ve biyosensöre ait regresyon grafiği

Çalışmaya katılan genç erişkin bireylerin sabah, stres öncesi ve stres sonrası tükürükteki elektrolit düzeyleri Çizelge 4.18, Çizelge 4.19 ve Çizelge 4.20’de gösterilmiştir.

**Çizelge 4.18.** Genç erişkin bireylerde sabah (08:00-09:00) saatlerinde tükürük elektrolit düzeyleri

| Referans aralık                     | 8,8-10,6         | 2,5-4,5   | 1,8-2,6          | 136-146         | 3,5-5,1        | 101-109         |
|-------------------------------------|------------------|-----------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|
|                                     | mg/dL            | mg/dL     | mg/dL            | mg/dL           | mmol/L         | mmol/L          |
| Birey                               | Ca <sup>+2</sup> | Fosfat    | Mg <sup>+2</sup> | Na <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | Cl <sup>-</sup> |
| 1                                   | 1,06             | 11,47     | 0,17             | 7               | 20,06          | 17              |
| 2                                   | 0,98             | 9,58      | 0,14             | 9               | 15,93          | 16              |
| 3                                   | 0,9              | 14,75     | 0,28             | 8               | 18,22          | 17              |
| 4                                   | 1,56             | 12,32     | 0,2              | 8               | 15,76          | 15              |
| 5                                   | 1,42             | 13,92     | 0,16             | 12              | 16,95          | 19              |
| 6                                   | 1,07             | 11,87     | 0,19             | 7               | 16,48          | 18              |
| 7                                   | 2,15             | 11,72     | 0,5              | 10              | 17,15          | 28              |
| 8                                   | 1,43             | 11,22     | 0,24             | 15              | 17,23          | 28              |
| 9                                   | 1,5              | 22,72     | 0,27             | 5               | 20,27          | 27              |
| 10                                  | 1,79             | 7,52      | 0,21             | 28              | 12,25          | 32              |
| 11                                  | 1,74             | 12,3      | 0,24             | 5               | 16,45          | 19              |
| 12                                  | 2,03             | 20,86     | 0,49             | 7               | 22,68          | 35              |
| 13                                  | 1,68             | 14,54     | 0,29             | 9               | 20,05          | 23              |
| 14                                  | 1,47             | 12,33     | 0,16             | 18              | 20,65          | 25              |
| 15                                  | 1,8              | 10,35     | 0,26             | 8               | 14,55          | 19              |
| 16                                  | 1,31             | 11,76     | 0,13             | 8               | 16,22          | 19              |
| 17                                  | 1,91             | 13,9      | 0,35             | 9               | 17,8           | 19              |
| 18                                  | -                | -         | -                | 8               | 16,8           | 28              |
| 19                                  | 2,04             | 10,04     | 0,24             | 12              | 13,43          | 23              |
| 20                                  | 2,15             | 11,75     | 0,21             | 23              | 17,06          | 26              |
| 21                                  | 2,07             | 14,71     | 0,31             | 7               | 19,53          | 20              |
| 22                                  | 1,63             | 15,2      | 0,3              | 9               | 19,63          | 23              |
| 23                                  | 2,11             | 17,54     | 0,31             | 8               | 19,69          | 22              |
| <b>Ortalama-<br/>Standard sapma</b> | 1,63±0,39        | 13,3±3,52 | 0,26±0,1         | 10,4±5,64       | 17,6±2,48      | 22,5±5,32       |

**Çizelge 4.19.** Genç erişkin bireylerde stres öncesi (12:00) tükürük elektrolit düzeyleri

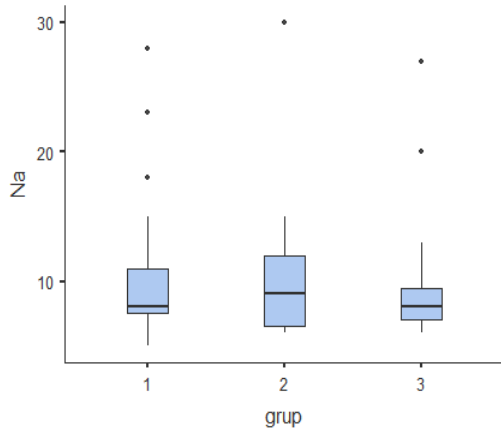
| Referans aralık                  | 8,8-10,6         | 2,5-4,5   | 1,8-2,6          | 136-146         | 3,5-5,1        | 101-109         |
|----------------------------------|------------------|-----------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|
|                                  | mg/dL            | mg/dL     | mg/dL            | mg/dL           | mmol/L         | mmol/L          |
| Birey                            | Ca <sup>+2</sup> | Fosfat    | Mg <sup>+2</sup> | Na <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | Cl <sup>-</sup> |
| 1                                | 1,95             | 10,93     | 0,18             | 10              | 23,43          | 20              |
| 2                                | 1,92             | 12,74     | 0,11             | 13              | 20,26          | 20              |
| 3                                | 1,83             | 13,35     | 0,24             | 13              | 19,82          | 22              |
| 4                                | 1,82             | 12,5      | 0,18             | 9               | 15,92          | 15              |
| 5                                | 1,54             | 13        | 0,19             | 12              | 17,7           | 20              |
| 6                                | 1,05             | 14,44     | 0,16             | 6               | 18,25          | 16              |
| 7                                | 2,21             | 11,34     | 0,36             | 8               | 17,91          | 26              |
| 8                                | 0,92             | 9,8       | 0,17             | 15              | 18,3           | 29              |
| 9                                | 1,89             | 15,55     | 0,22             | 6               | 19,32          | 24              |
| 10                               | 1,69             | 6,66      | 0,2              | 30              | 11,95          | 34              |
| 11                               | 1,72             | 12,96     | 0,23             | 6               | 18,83          | 20              |
| 12                               | 1,93             | 19,92     | 0,39             | 6               | 23,38          | 33              |
| 13                               | 2,18             | 13,37     | 0,29             | 7               | 20,43          | 22              |
| 14                               | 1,69             | 14,58     | 0,15             | 10              | 20,72          | 21              |
| 15                               | 2,6              | 13,76     | 0,29             | 9               | 19,09          | 22              |
| 16                               | 0,82             | 14,65     | 0,21             | 7               | 18,06          | 20              |
| 17                               | 2,8              | 14,97     | 0,27             | 12              | 22,87          | 21              |
| 18                               | 1,67             | 12,4      | 0,24             | 6               | 16,5           | 25              |
| 19                               | 2,18             | 9,34      | 0,17             | 12              | 13,42          | 22              |
| 20                               | 1,77             | 12,77     | 0,19             | 14              | 20,8           | 26              |
| 21                               | 1,31             | 11,59     | 0,19             | 7               | 17,03          | 20              |
| 22                               | 1,09             | 11,18     | 0,21             | 6               | 15,86          | 19              |
| 23                               | 2,33             | 16        | 0,3              | 8               | 21,16          | 22              |
| <b>Ortalama – Standart Sapma</b> | 1,78±0,51        | 12,9±2,63 | 0,22±0,07        | 10,1±5,24       | 18,8±2,89      | 22,6±4,63       |

**Çizelge 4.20.** Genç erişkin bireylerde stres sonrası (14:00-15:00) tükürük elektrolit düzeyleri

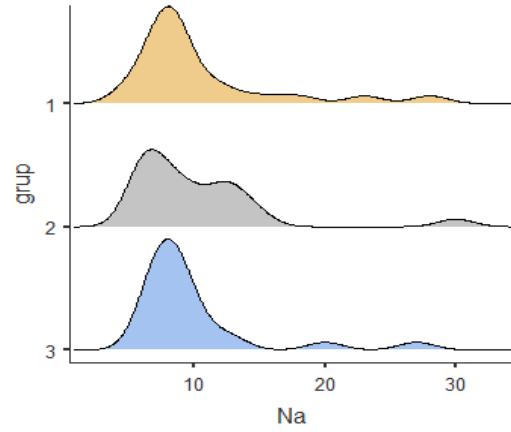
| Referans aralık                  | 8,8-10,6         | 2,5-4,5   | 1,8-2,6          | 136-146         | 3,5-5,1        | 101-109         |
|----------------------------------|------------------|-----------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|
|                                  | mg/dL            | mg/dL     | mg/dL            | mg/dL           | mmol/L         | mmol/L          |
| Birey                            | Ca <sup>+2</sup> | Fosfat    | Mg <sup>+2</sup> | Na <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | Cl <sup>-</sup> |
| 1                                | 0,95             | 10,11     | 0,11             | 9               | 22,12          | 18              |
| 2                                | 1,94             | 14,05     | 0,12             | 8               | 19,93          | 14              |
| 3                                | 1,95             | 19,7      | 0,31             | 9               | 21,12          | 18              |
| 4                                | 1,78             | 18,49     | 0,26             | 9               | 19,19          | 18              |
| 5                                | 1,32             | 17,11     | 0,18             | 8               | 18,55          | 18              |
| 6                                | 1,55             | 16,45     | 0,24             | 7               | 19,04          | 18              |
| 7                                | 2,52             | 11,61     | 0,36             | 10              | 17,31          | 27              |
| 8                                | 1,64             | 12,7      | 0,16             | 13              | 18,34          | 27              |
| 9                                | 2,37             | 24,83     | 0,27             | 7               | 23,42          | 27              |
| 10                               | 1,92             | 9,68      | 0,22             | 27              | 14,96          | 32              |
| 11                               | 1,47             | 14,92     | 0,19             | 6               | 19,22          | 19              |
| 12                               | 2,04             | 17,42     | 0,32             | 7               | 20,03          | 29              |
| 13                               | 1,5              | 13,65     | 0,21             | 7               | 21,44          | 21              |
| 14                               | 1,3              | 16,44     |                  | 8               | 19,32          | 20              |
| 15                               | 1,75             | 14,02     | 0,25             | 9               | 18,24          | 21              |
| 16                               | 0,88             | 16,02     | 0,18             | 7               | 18,13          | 21              |
| 17                               | 2,79             | 22,89     | 0,44             | 9               | 20,7           | 21              |
| 18                               | 1,37             | 14,15     | 0,18             | 8               | 18,39          | 25              |
| 19                               | 2                | 11,87     | 0,19             | 10              | 14,75          | 19              |
| 20                               | 1,87             | 10,52     | 0,19             | 20              | 17             | 26              |
| 21                               | 1,72             | 20,7      | 0,3              | 12              | 24,36          | 25              |
| 22                               | 1,48             | 15,04     | 0,25             | 7               | 16,58          | 21              |
| 23                               | 2,96             | 16,61     | 0,23             | 8               | 18,25          | 18              |
| <b>Ortalama - standart sapma</b> | 1,79±0,52        | 15,6±3,92 | 0,24±0,08        | 9,78±4,75       | 19,1±2,36      | 21,9±4,50       |

Sabah tükürük  $\text{Na}^+$  ortalamalarının stres öncesi tükürük  $\text{Na}^+$  ortalamalarından yüksek olduğu ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $t=0,226$  ;  $p=0,972$ ). Stres öncesi tükürük  $\text{Na}^+$  ortalamalarının stres sonrası tükürük  $\text{Na}^+$  ortalamalarından yüksek olduğu ancak aralarında anlamlı bir ilişki yoktur ( $t=0,198$  ;  $p=0,979$ ). Son olarak da sabah tükürük  $\text{Na}^+$  ortalamalarının stres sonrası tükürük  $\text{Na}^+$  ortalamalarından yüksek olduğu ancak aralarındaki istatistiki ilişkiye bakıldığında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $t=0,424$  ;  $p=0,906$ ).

Sabah tükürük  $\text{Na}^+$  değerleri ile stres öncesi tükürük  $\text{Na}^+$  arasında yüksek korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r=0,823$  ;  $p<0,001$ ). Sabah tükürük  $\text{Na}^+$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $\text{Na}^+$  değerleri arasında yüksek korelasyon olduğu olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r=0,870$  ;  $p<0,001$ ). Stres öncesi tükürük  $\text{Na}^+$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $\text{Na}^+$  değerleri arasında yüksek korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r=0,860$  ;  $p<0,001$ ). Aralarındaki anlamlı ilişkinin ortalamalarının arasındaki farkın az olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.



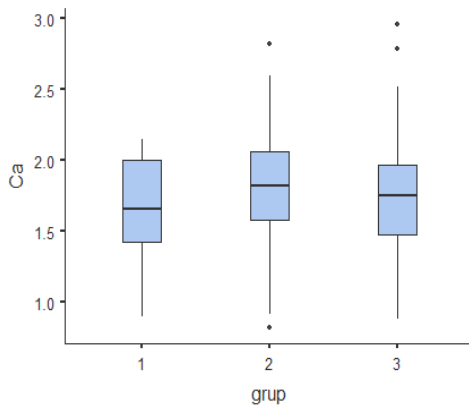
**Şekil 4.14.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama sodyum  $\text{Na}^+$  (mg/dL) değerlerinin box-plot grafiği



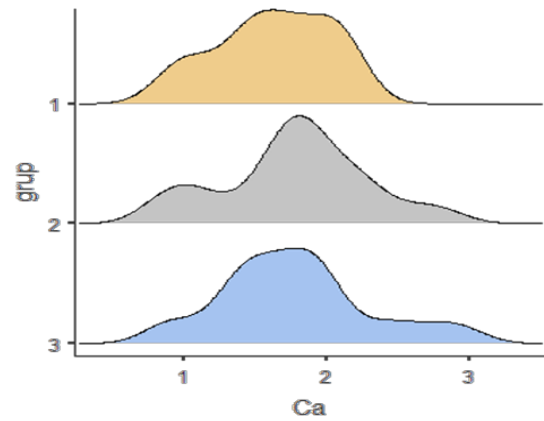
**Şekil 4.15.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama sodyum  $\text{Na}^+$  (mg/dL) değerlerinin yoğunluk grafiği

Sabah tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  ortalamalarının stres öncesi tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  ortalamalarından düşük olduğu ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki olmadığı gözlenmiştir ( $t = -1,05$  ;  $p = 0,547$ ). Stres öncesi tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  ortalamalarının stres sonrası tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  ortalamaları arasında az bir fark olduğu ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki olmadığı gözlenmiştir ( $t = -0,0555$  ;  $p = 0,998$ ). Son olarak da sabah tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  ortalamaları ile stres sonrası tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  ortalamaları arasındaki ilişkiye bakacak olursak sabah tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  ortalamalarının stres sonrası  $\text{Ca}^{+2}$  ortalamalarından düşük olduğu ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir ( $t = -1,1076$  ;  $p = 0,513$ ).

Sabah tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  değerleri ile stres öncesi tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  arasında zayıf korelasyon olduğu ancak aralarında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür ( $r = 0,383$  ;  $p = 0,079$ ). Sabah tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  arasında orta şiddette korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r = 0,510$  ;  $p = 0,015$ ). Bu anlamlı ilişkinin ortalamalarının arasındaki farkın az olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Stres öncesi tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $\text{Ca}^{+2}$  değerleri arasında yüksek korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r = 0,617$  ;  $p = 0,002$ ).



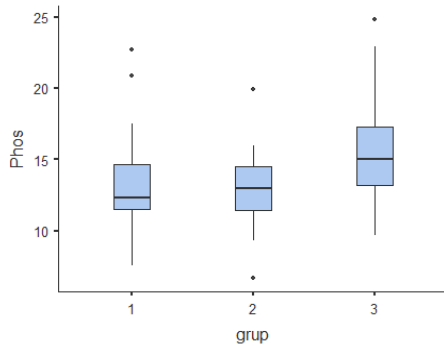
**Şekil 4.16.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ) (mg/dL) değerlerinin box-plot grafiği



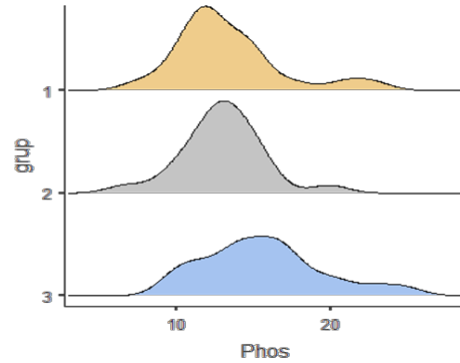
**Şekil 4.17.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama kalsiyum ( $\text{Ca}^{+2}$ ) (mg/dL) değerlerinin yoğunluk grafiği

Sabah tükürük fosfat ortalamalarının stres öncesi tükürük fosfat ortalamalarından yüksek olduğu ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $t=0,337$  ;  $p=0,939$ ). Stres öncesi tükürük fosfat ortalamalarının stres sonrası tükürük fosfat ortalamalarından düşük olduğu ve aralarında da anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $t=-2,65$  ;  $p=0,027$ ). Son olarak da sabah tükürük fosfat ortalamalarının stres sonrası tükürük fosfat ortalamalarından düşüktür ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $t=-2,29$  ;  $p=0,065$ ).

Sabah tükürük fosfat değerleri ile stres öncesi tükürük fosfat değerleri arasında yüksek korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r=0,708$  ;  $p<0,001$ ). Sabah tükürük fosfat değerleri ile stres sonrası tükürük fosfat değerleri arasında orta şiddette korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r=0,683$  ;  $p<0,001$ ). Stres öncesi tükürük fosfat değerleri ile stres sonrası tükürük fosfat değerleri arasında orta şiddette korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r=0,571$  ;  $p=0,004$ ).



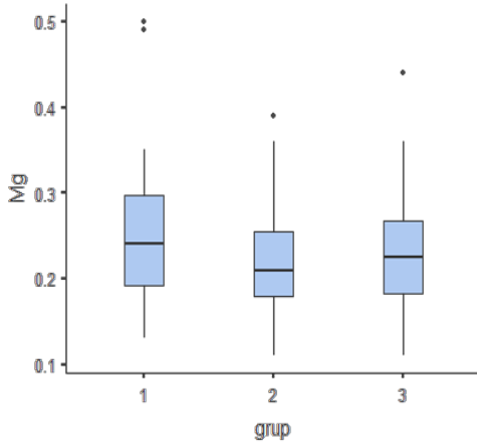
**Şekil 4.18.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama fosfat ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) (mg/dL) değerlerinin box-plot grafiği



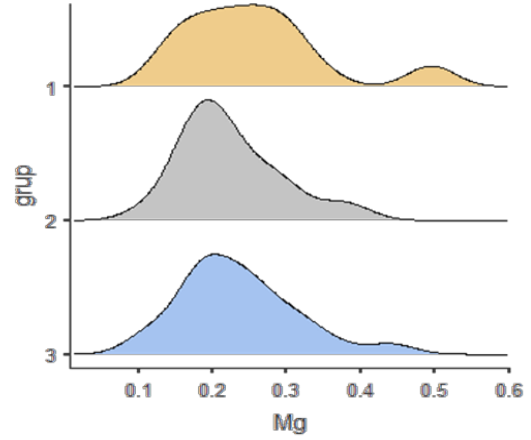
**Şekil 4.19.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama fosfat ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) (mg/dL) değerlerinin yoğunluk grafiği

Sabah tükürük  $Mg^{+2}$  ortalamaları stres öncesi tükürük  $Mg^{+2}$  ortalamalarından yüksektir ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $t=1,37$  ;  $p=0,364$ ). Stres öncesi tükürük  $Mg^{+2}$  ortalamaları stres sonrası tükürük  $Mg^{+2}$  ortalamalarından düşüktür ancak aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $t=-0,454$  ;  $p=0,893$ ). Sabah tükürük  $Mg^{+2}$  ortalamaları stres sonrası  $Mg^{+2}$  ortalamalarından yüksektir ancak aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $t= 0,903$  ;  $p=0,640$ ).

Sabah tükürük  $Mg^{+2}$  değerleri ile stres öncesi tükürük  $Mg^{+2}$  değerleri arasında yüksek korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r=0,856$  ;  $p<0,001$ ). Sabah tükürük  $Mg^{+2}$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $Mg^{+2}$  değerleri arasında yüksek korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r=0,745$  ;  $p<0,001$ ). Stres öncesi tükürük  $Mg^{+2}$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $Mg^{+2}$  değerleri arasında orta şiddette korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r=0,595$  ;  $p=0,004$ ).



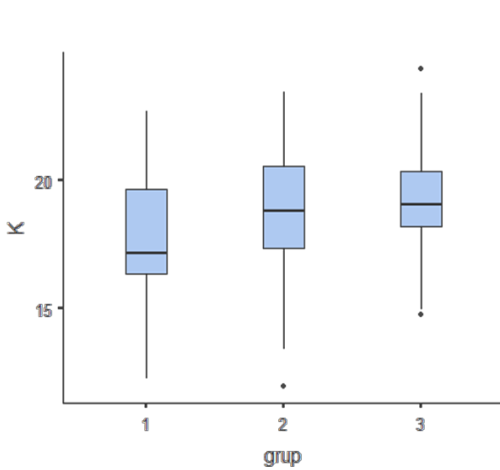
**Şekil 4.20.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama magnezyum ( $Mg^{+2}$ ) (mg/dL) değerlerinin box-plot grafiği



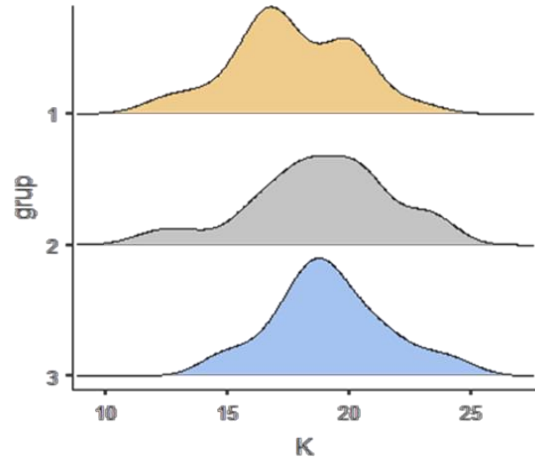
**Şekil 4.21.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama magnezyum ( $Mg^{+2}$ ) (mg/dL) değerlerinin yoğunluk grafiği

Sabah tükürük  $K^+$  ortalamaları stres öncesi tükürük  $K^+$  ortalamalarından düşüktür ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $t=-1,54$  ;  $p=0,279$ ). Stres öncesi tükürük  $K^+$  ortalamaları stres sonrası tükürük  $K^+$  ortalamalarından düşüktür ancak aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $t=-0,499$  ;  $p=0,872$ ). Sabah tükürük  $K^+$  ortalamaları stres sonrası  $K^+$  ortalamalarından düşüktür ancak aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $t=-2,039$  ;  $p=0,111$ ).

Sabah tükürük  $K^+$  değerleri ile stres öncesi tükürük  $K^+$  değerleri arasında orta şiddette korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r=0,675$  ;  $p<0,001$ ). Sabah tükürük  $K^+$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $K^+$  değerleri arasında orta şiddette korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r=0,628$  ;  $p=0,001$ ). Stres öncesi tükürük  $K^+$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $K^+$  değerleri arasında orta şiddette korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r=0,547$  ;  $p=0,007$ ).



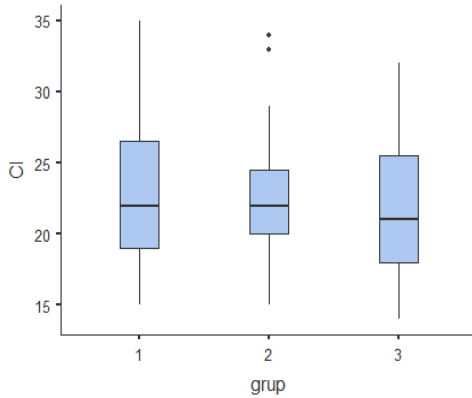
**Şekil 4.22.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama potasyum ( $K^+$ ) (mmol/L) değerlerinin box-plot grafiği



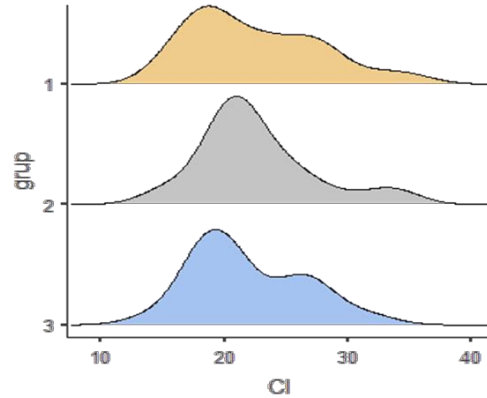
**Şekil 4.23.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama potasyum ( $K^+$ ) (mmol/L) değerlerinin yoğunluk grafiği

Sabah tükürük  $\text{Cl}^-$  ortalamaları stres öncesi tükürük  $\text{Cl}^-$  ortalamalarından düşüktür ancak aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $t=-0,030$  ;  $p=0,999$ ). Stres öncesi tükürük  $\text{Cl}^-$  ortalamaları stres sonrası tükürük  $\text{Cl}^-$  ortalamalarından yüksektir ancak aralarında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ( $t=0,488$  ;  $p=0,877$ ). Sabah tükürük  $\text{Cl}^-$  ortalamaları stres sonrası  $\text{Cl}^-$  ortalamalarından yüksek olduğu ancak aralarında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ( $t=0,458$  ;  $p=0,891$ ).

Sabah tükürük  $\text{Cl}^-$  değerleri ile stres öncesi tükürük  $\text{Cl}^-$  değerleri arasında yüksek korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r=0,885$  ;  $p<0,001$ ). Sabah tükürük  $\text{Cl}^-$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $\text{Cl}^-$  değerleri arasında yüksek korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır ( $r=0,867$  ;  $p<0,001$ ). Stres öncesi tükürük  $\text{Cl}^-$  değerleri ile stres sonrası tükürük  $\text{Cl}^-$  değerleri arasında yüksek korelasyon olduğu ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu görülmüştür ( $r=0,831$  ;  $p<0,001$ ).



**Şekil 4.24.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama klorür ( $\text{Cl}^-$ ) (mmol/L) değerlerinin box-plot grafiği



**Şekil 4.25.** Sabah, stres öncesi ve sonrası tükürük ortalama klorür ( $\text{Cl}^-$ ) (mmol/L) değerlerinin yoğunluk grafiği

## 5. TARTIŞMA

Adrenal kortekste biyokimyasal etkinlik gösteren 3 farklı hormon salgılanmaktadır. Bu salgılanan hormonlar ile ilişkili metabolik yollar, organizmadaki önemli steroid hormonların derişimlerinin ölçülmesiyle belirlenmeye başladı. Kimyasal yapılarının birbirine benzer olması ve kompleks yapıya sahip olmaları ölçümde bazı zorluklara neden olmaktadır. Biz biyokimyacıların görevi bu zorlukları gidermek için uygun analitik teknikler geliştirmektir. ELİZA testleri, izotopla işaretleme ve rutin laboratuvarlarda kullanılan kemilüminesans immunoassaylerin geliştirilmesiyle ilerleme sağlanmıştır. Ayrıca yüksek ayırma gücüne sahip bazı kromatografik yöntemlerle daha da üst seviyeye gelinmiştir. Bu metotların hepsi günümüzde önemli adrenal korteks hormonlarının, öncüllerinin ve sentetik glukokortikoidlerin analizi için uygundur ve geniş kullanım alanına sahiptir. Rutin laboratuvarlarda sıklıkla antikor temelli yöntemler ile ölçülmektedir. Bir klinik tanı da tedavi yönteminde özellikle analizin önemi ve güvenilirliği vurgulanmaktadır.

Amilaz, parotis sekresyonunda en sık görülen proteindir. Alfa-amilazlar, polisakkaritlerin yapısında bulunan  $\alpha$ -1,4 glikozidik bağların hidrolizini katalize eden hidrolaz sınıfının enzimleridir. sAA'lar bir kalsiyum metaloenzimidir. Bununla birlikte tam aktivite, sadece klorür, bromür, nitrat veya monohidrojen fosfat gibi çeşitli anyonların varlığında göstermektedir.  $\alpha$ -Amilazların tespitinde, elektroforez, iyon değişim kromatografisi, izoelektrik odaklama, bir monoklonal antikor tarafından immunopresipitasyona ve immunoinhibisyona dayalı yöntemler kullanılmaktadır. Ayrıca sAA'nın buğday tohumuna seçici inhibisyonuna dayalı yöntem de kullanılmaktadır. Pankreatik  $\alpha$ -Amilaz tayininin rutin uygulamaya girmesi için monoklonal antikorlar tarafından inhibe edilen seçici izoenzimlere dayanan yöntemler yeterli hassasiyet, güvenilirlik, pratiklik ve analitik hız göstermektedir.

Stresli bir durum ile karşılaştığında, hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) ekseninin aktivasyonu, ağırlıklı olarak glukokortikoid hormonlardan biri olan kortizolün salınımına yol açar. Hipokampus, amigdala ve prefrontal korteks gibi çok sayıda glukokortikoid reseptörü bulunan birkaç yapı, HPA ekseninin önemli düzenleyicileridir.

Literatürde tükürüğün yapısında bulunan bileşenleri mental ve fiziksel etkenler, akış hızı, elektrolitlerin derişimleri etkilemekte ve seçilen ölçüm metotlarına göre sonuçlar farklılık göstermektedir.

Tükürük kortizol ve  $\alpha$ -amilaz ile ölçülen stresin biyokimyasal etkisi araştırılmıştır. Tükürük kortizolü ve amilaz derişimlerindeki değışimlerin yanı sıra diurnal ritim, stresin (aşırı yüklenmenin) etkisi olarak değerdendirilebileceğı biyolojik mekanizmaların sağlanmasında genel etkileri olabilir.

HPA eksenini /SAM sistemi işlev bozukluğuna neden olabilecek stres kaynaklı tükürük kortizol ve/ veya amilaz düzeyleri genellikle sağlıklı bir yaşam tarzı ile ilişkilidir.

Hilgert ve ark., 50 yaş üstü bir grup ile yapmış olduğı çalışmada stresin etkisinin kortizol seviyeleriyle kronik periodontitisin şiddet ve boyutu ile ilişkili olduğunu değerdendirmişlerdir. Sonuçlardan, periodontitis şiddeti ile kortizol seviyeleri arasında pozitif bir ilişki olduğu gözlenmiştir [185].

Rai ve ark, tarafından da periodontal hastalık ve amilaz, kortizol CgA gibi tükürük stres belirteçleri araştırılmış ve stres ile periodontal hastalıklar ilişkilendirilmiştir [186].

Chartterton ve ark., stres anında tükürükte  $\alpha$ -amilaz düzeyinde artma saptamışlar ve stres durumundaki değışimlerin başarılı bir şekilde saptanabileceğini belirtmişlerdir [187].

Ferguson ve ark., tükürük akış hızının, elektrolitlerin ve pH'ının gün içindeki değışikliklerini araştırmışlardır.  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  derişimlerinin akış hızına bağılı olarak değıştiğini bulmuşlardır [188, 189]. Mevcut çalışmamızda pH aralığı her tükürük alımı sonrası  $7,6 \pm 0,16$ 'dır.

Thaysen ve ark., çalışmalarında tükürük akış hızının artmasının  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{+2}$  seviyelerini arttırdığını göstermişlerdir [190].

Laudat ve ark., çalışmalarında diurnal varyasyonu tükürük de plazmadaki ile uyumlu olarak bulmuşlardır ve gece tükürük kortizolü analizlerinin takibinden yararlanarak Cushing sendromunun araştırılmasının yapılabileceğini göstermişlerdir [191].

Walker ve ark., çalışmalarında ACTH stimölasyonundan sonra tükürük kortizol düzeyinde artış gözlenmiştir [192]. Williams ve ark., ACTH stimölasyonu ile pik kortizol derişimi olarak tükürük de artış elde etmişlerdir [193].

Mevcut çalışmada, genç erişkin bireylerden alınan tükürük örneklerinde kortizol ve  $\alpha$ -amilaz düzeylerinin ölçüm yöntemleri ve stresin biyokimyasal etkilerinde bu yöntemlerin kullanılabilirliği incelenmiştir. Ayrıca, tükürük  $\alpha$ -amilaz ve kortizol ölçüm yöntemleri kendi içerisinde birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Kortizol ve  $\alpha$ -amilaz düzeylerini ölçmek için ELİZA, kemilüminesans immunoassay (otoanalizör) ve biyosensör yöntemlerinin birbirine olan üstünlükleri ve stresin biyokimyasal etkilerinde kullanılabilirliği ayrı ayrı tartışılmıştır.

Bununla birlikte, farklı zamanlarda toplanan tükürük numunelerindeki elektrolit düzeyleri otoanalizörde çalışılmıştır. Mental ve fiziksel etkenler tükürükteki elektrolit derişimini etkilemektedir. Stresin etkisiyle salgılanma hızının artması tükürükteki  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{+2}$  düzeylerini artırdığı gözlenmiştir. Tükürüğün akış hızının artması  $\text{Na}^+$  ile birlikte  $\text{Ca}^{+2}$  derişimlerin de artışa neden olduğu bulunmuştur.

Çalışmamızda tükürükte bulunan elektrolitlerin sabah, stres öncesi ve stres sonrasında düzeyleri değerlendirildiğinde aralarında anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır. Bunun da sebebinin elektrolitlerin ortalamalarının birbirine yakın olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda bir tek stres öncesi-stres sonrası fosfat düzeyleri arasından anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ( $t = -2,65$ ;  $p = 0,027$ ). Stres sonrasında fosfat düzeylerinin ortalamalarının stres öncesi fosfat ortalamalarından yüksek olduğu bulunmuştur.

Yaptığımız çalışmada kortizol miktar tayini için geliştirilen metot da doğrusallık, kesinlik, geri kazanım sınırlarını belirledik ve bu metodun kullanılabilirliğini test etmek için duyarlılık, özgüllük ve geleneksel olarak kullanılan diğer metotlarla karşılaştırma çalışmasını gerçekleştirdik.

Yöntem karşılaştırma çalışmaları tükürük kortizol düzeylerinde üç yöntemle analiz edildi. Sonuçlar regresyon analizi ile değerlendirildi. Tükürük kortizol düzeyi için ELİZA ve kemilüminesans immunoassay ile yapılan karşılaştırma çalışmasında elde ettiğimiz slope (eğim): 0,872, intercept: 0,281 olarak tespit edildi.

Tükürük kortizol düzeyi için ELİZA ve biyosensör karşılaştırmasında elde ettiğimiz slope (eğim): 1,008 intercept: 0,132 olarak tespit edildi. Tükürük kortizol düzeyi için

biyosensör ve kemilüminesans immunoassay ile gerçekleştirdiğimiz karşılaştırma çalışmasında elde ettiğimiz slope (eğim): 1,165, intercept: - 0,271 olarak tespit edildi. Elde edilen veriler, geliştirilen geliştirdiğimiz biyosensör yönteminin kortizol için uygun bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda kortizol için geliştirilen biyosensör yönteminin ELİZA ile karşılaştırıldığında düşük maliyet, hızlı sonuç, özgüllük ve yüksek tespit/bilgi etkinliği nedeniyle, alternatif bir yöntem olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmada tükürük amilaz düzeyleri genç erişkin bireyler de 5,49-74,16 U/L aralığında bulunmuştur. En son belirlenen referans aralıklarına bakıldığında amilaz enzimin düzeyi için ideal aralığın 31-107 U/L olduğu görülmektedir [194].

Tükürük  $\alpha$ -amilaz düzeyleri otoanalizör ve biyosensörde belirlenememiştir. Geliştirilen biyosensör yöntemi amilaz düzeyini belirlemek için uygun değildir. Amilaz için kullanılan ELİZA kitinin doğru ölçüm aralığının dar olduğu ve tükürük örneği ile çalışmada tekrarlanabilirlik olmadığı görülmüştür. Bunun da nedeninin kitin her ne kadar tüm vücut sıvılarına uyumlu olsada tükürük numuneleri için metot validasyonunun olmamasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda tükürük kortizol düzeyleri genç erişkinler için 1,9-24  $\mu\text{g/dL}$  aralığında bulunmuştur. Son yapılan çalışmalar sonucunda kortizol düzeyleri 3-21  $\mu\text{g/dL}$  – 5-23  $\mu\text{g/dL}$  aralığında belirlenmiştir [195].

Metot karşılaştırma çalışmasında Dia-Metra firmasına ait kortizol ELİZA kitini kullandık ve kitin çalışma prospektüsünde yazılan değerler baz alınmıştır. Geliştirilen biyosensör yöntemi ile ELİZA yöntemi ile genç erişkin bireylerdeki tükürük kortizol düzeylerinin derişimlerinin karşılaştırmasını yaptık. Çalışma sonucunda iki yöntem arasında 0,953 korelasyon katsayısına ulaştık. Aynı zamanda biyosensör ile otoanalizör yönteminin karşılaştırılması yapıldı ve bunun sonucunda 0,834 korelasyon katsayısı elde edildi.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada tükürük de kortizol ve  $\alpha$ -amilaz miktarlarının tespitinde biyosensör kullanıldı. Yeni ölçüm metodu ile referans olarak kullanılan diğer ölçüm metotlarının uyum düzeyi ve karşılaştırılması istatistiksel analiz yöntemleri kullanılarak incelendi. Ayrıca stres anında tükürük kortizol ve amilaz düzeylerinde farklılık olup olmadığı incelendi.

Kortizol vücutta önemli biyokimyasal mekanizmaların düzenlenmesinde rol oynayan glukokortikoid hormondur. Geleneksel olarak kullanılan immunoassay yöntemlerle belirlenen kortizol miktarı, birçok hastalığın tanısında kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler ile yapılan kortizol ölçümünde, sentetik glukokortikoid türevlerinden kaynaklanan interferans bulunmaktadır. Bu durum yöntemin duyarlılığını azaltmaktadır.

$\alpha$ -amilaz derişim düzey ölçümlerinin otoanalizör ve biyosensör de sonuç vermediği gözlemlendi. Kullanılan yöntemlerin tükürük de amilaz düzeyinin ölçülmesi için uygun olmamasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Ayrıca kullanılan ELİZA kitinin tekrarlanabilirliğinin olmaması metodun valide olmamasından kaynaklı olduğu düşünülmüştür.

Stres durumunda her üç yöntemin de kullanılabileceği genç erişkin bireyler de yapılan çalışmalar sonucunda kortizol derişimlerinde meydana gelen farklılıklar bulunduğu belirlenmiştir. Sabah saatlerinde alınan tükürükte kortizol düzeyinin yüksek, stres öncesinde azaldığı ve strese maruz bırakıldıktan sonra tükürük kortizol düzeylerinin yükseldiği görülmüştür.

Ayrıca sabah, stres öncesi ve stres sonrası tükürük elektrolit düzeyleri arasında anlamlı bir fark olup olmadığı araştırıldı. Her üç durumda da tükürük elektrolit düzeyleri anlamlı farklılık göstermemektedir. Sadece stres öncesi ve stres sonrası tükürük fosfat düzeylerinde anlamlı bir fark bulunmuştur. Stres sonrası fosfat düzeyleri stres öncesi fosfat düzeylerinden fazladır.

Yapılan metot karşılaştırmasında Pearson korelasyon katsayısı ve Deming regresyon analizi ile değerlendirilmesinin yanı sıra Bland-Altman tarafından geliştirilen yöntem ile de istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Bland-Altman yönteminin en önemli özelliği, kullanılan

yöntemlerin ölçüm farklılıklarını nesnel olarak ortaya koymaktadır ve ölçümden kaynaklanan farklılıkların kabul edilebilirliğinin yorumunu bizlere bırakmaktadır.

Glukokortikoid hormonların küçük olması, vücut sıvılarında düşük düzeylerde bulunmasından ve bağlayıcı proteinler ile birlikte bulunmasından dolayı klinik durumlara göre değişmektedir ki bu da rutin kullanımlarında hassasiyeti ve analitik belirsizliği değiştirmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda steroid analizlerinde analitik interferansın azaltılması ve doğruluğunun artırılması amacıyla LC-MS/MS tabanlı yöntemler tercih edilmektedir.

Gerçekleştirilen çalışmada tükürük kortizol miktarlarını belirlemek için yeni bir biyosensör tasarlanmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda biyosensör yönteminin uygulanabilir olduğu ortaya konulmuştur. Biyosensör yönteminin tükürük kortizol seviyelerini, kemilüminesans immunoassay ve ELİZA yöntemlerine göre düşük maliyet, hızlı sonuç verme, yüksek algılama, bilgi geçerliliği yönleri ile alternatif analitik yöntem olarak sunabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Streckfus CF., Bigler LR. (2002). Saliva as a diagnostic fluid. *Oral Dis* 8 (2), 69-76.
2. Pink R., Simek J., Vondrankova J., Fber E., Michi P., Padera J., et al. (2009). Saliva as a diagnostic medium. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 153(2), 103-10.
3. Li Y., Denny P., Ho CM., Montemagno C., Shi W., Qi F. , et al. (2005). The Oral Fluid MEMS/NEMS Chip (OFMNC): diagnostic and translational applications. *Adv Dent Res*,18(1), 3-5.
4. Lee YH., Wong DT. (2009). Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *Am Journal Dent*, 22(4), 241-8.
5. Cook NJ., Ng A., Read GF., Harris B., Riad-Fahmy D. (1987). Salivary cortisol for monitoring adrenal activity during marathon runs. *Hormone Res*, 25,18-23.
6. Westenberg HGM., van der Kleijn E., Oei TT de Zeeuw A. (1978). Kinetics of carbamazepine and carbamazepine-epoxide, determined by use of plasma and saliva. *Clin Pharmacol Ther*, 23, 320-7.
7. Kirschbaum C, Hellhammer DH. (1989). Salivary cortisol in psychobiological research: an overview. *Neuropsychobiology*, 22,150-69.
8. Read GF. (1989). Hormones in saliva. In: Human saliva: clinical chemistry and microbiology. *CRC Press*, Boca Raton, Florida, USA, Vol II. Editor Tenovuo JO. Pp. 165-69.
9. Hofman LF. (2001). Human saliva as a diagnostic specimen. *Journal Nutr*, 131, 1621-5.
10. Lac G. (2001). Saliva assays in clinical and research biology. *Pathol Biol*, 49,660-7.
11. Pasquier C., Bello PY., Gourney P., Puel J., Izopet J. (1997). A new generation of serum anti-HIV antibody immunocapture assay for saliva testing. *Clin Diagn Virol*, 8, 195-7.
12. Mandel ID. (1990). The diagnostic use of saliva. *Journal Oral Pathol Med*, 19, 119-25.
13. Madar R, Straka S, Baska T. (2002). Detection of antibodies in saliva-an effective auxiliary method in surveillance of infectious diseases. *Bratisl Lek Listy*, 103, 38-41.
14. Tabak LA. (2001). A revolution in biomedical assessment: the development of salivary diagnostics. *Journal Dent Educ*, 65, 1335-9.
15. Liu H., Delgado MR. (1999). Therapeutic drug concentration monitoring using saliva samples. Focus on anticonvulsants. *Clin Pharmacokinet*, 36, 453-70.
16. Papacosta E., Nassis GP. (2011). Saliva as a tool for monitoring steroid, peptide and immune markers in sport and exercise science. *Journal Sci Med Sport*, 14(5), 424-34.

17. Proctor, G.B., and Carpenter, G.H. (2007). Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. *Auton. Neurosci.* 133,3–18. doi: 10.1016/j.autneu.2006.10.006.
18. Selye, H. (1952). The story of the adaptation syndrome. *Acta Inc. Medical Publisher*, Montreal. Volume 2, Issue 5, Pages 583–592.
19. Selye, H. (1955). Stress and disease. *Science*, 122, 625-631.
20. Selye H (1998). Stress of Life: From Molecules to Man. *Annals of the NEW York Academy of Sciences*. Volume 851, Issue 1 Pages xi-xv, 1-543.
21. Yurdakuş, E. (2001). *Lecture Notes on Neurophysiology*. Nobel Tıp Kitapları. Pages 15-103.
22. Schipper, R.G., Silletti, E., and Vinyerhoeds, M. H. (2007). Saliva as research material: biochemical, physicochemical and practical aspects. *Arch. Oral Biol.*, 52, 1114–1135. doi:10.1016/j. archor albio.2007.06.009.
23. Monteiro da SILVA am, Oakley DA, Newman HN, Nohl FS, Lloyd HM (1996). Psychosocial factors and adult onset rapidly progressive periodontitis. *Journal Clin., Periodontal*, 23(8), 789-94.
24. Freeman R, Goss S. (1993). Stress measures as predictors of periodontal disease a preliminary communication. *Community Dent Oral Epidemiol*, 21(3), 176-7.
25. Hsiao CC. (2006). Positive correlation between anxiety severity and plasma levels of dehydroepiandrone sulfate in medication-free patients experiencing a major episode of depression. *Psychiatry Clin Neurosci*, 60 (6), 746-50.
26. John Jacob Ballenger, James B. Snow, Jr. (2000). *Otorinolarinoloji Head and Neck Surgery*. Robert H. Miller, Erich M. Sturgis and Curtis L. Sutton. Chapter 14 Nose and paranasal sinüs neoplasms. Nobel tıp kitabevi. Sayfa 203.
27. Farnaud, S.J., Kosti, O., Getting, S.J., and Renshaw, D. (2010). Saliva: physiology and diagnostic potential in health and disease. *Scientific World Journal* 10, 434–456. doi:10.1100/tsw.2010.38.
28. Humphrey, S.P., and Williamson, R.T. (2001). A review of saliva: normal composition, flow, and function. *Journal Prosthet.Dent.* 85,162–169. doi:10.1067/mpr.2001.113778.
29. De Almeida P del, V., Grégio, A.M, Machado, M.A., de Lima, A. A., and Azevedo, L. R. (2008). Saliva composition and functions: a comprehensive review. *Journal Contemp. Dent. Pract.* 9, 72-80.
30. Chicharro, J.L., Lucía, A., Pérez, M., Vaquero, A.F., and Ureña, R. (1998). Saliva composition and exercise. *Sports Med.* 26, 17-27. doi:10.2165/00007256- 199826010-00002.
31. Proctor GB, Carpenter GH. (2014). Salivary secretion: mechanism and neural regulation. *Monogr.Oral Sci.* 24, 14-29.

32. Won s, Kho H, Kim Y, Chung S, Lee S. (2001). Analysis of residual saliva and minor salivary gland secretions. *Arch. Oral Biol*, 46 (7), 619-624.
33. Lagerlof F, Dawes C. (1984). The volume of saliva in the mouth before and after swallowing *Journal Dent. Res*, 63 (5), 618-621.
34. Speirs R.I. (1984). Secretion of saliva by human lip mucous glands and parotid in response to gustatory stimuli and chewing. *Arch.Oral Biol*. 29 (11), 945-948.
35. Haeckel R. (1990) relationship between intraindividual variation of the saliva/plasma and of the arteriovenous concentration ratio as demonstrated by the administration of caffeine. *Journal Clin. Chem. Biochem*, 28 (5), 279-284.
36. Davenport HW. (1977). Salivary secretion. In: Physiology of the Digestive Tract: an Introductory Text. Davenport HW(Ed.) *Year Book Medical Publishers*.IL.USA,88-94.
37. Ferguson DB. (1999). Flow rate and composition of human labial gland saliva. *Arch Oral Biol*, 40, S11-S4.
38. Whelton H. (1996). Introduction: The anatomy and physiology of salivary glands. In: Saliva and oral health. Editors Edgar, WM and O'Mullane, DM. 2nd edition, *British Dental Association*, London, UK, Pages 1-17.
39. Lee JM, Garon E, Wong DT. (2009). Salivary diagnostics. *Orthod Craniofac Res*, 12(3), 206-11.
40. Wong DT. (2008). Salivary diagnostic: enhancing disease detection and making medicine better. *Eur Journal Dent Education*,12 Suppl 1, 22-9.
41. Ozmeric N. (2004). Advances in periodontal disease markers. *Clin Chim Acta* 343 (1-2):1-16.
42. Lyte M. (2004). Microbial endocrinology and infectious disease in the 21st century. *Trends Microbiol*, 12 (1),14-20.
43. Gallucci WT., Baum A., Laue L., Rabin DS., Chrousos GP., Gold PW., et al. (1993). Sex differences in sensitivity of the hypothalamicpituitary-adrenal axis. *Health Psychol*,12 (5), 420-5.
44. Kinney JS., Morelli T., Braun T., Ramseier CA., Herr AE., Sugai JV., et al. (2011). Saliva/pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. *Journal Dent Res*, 90 (6), 752-8.
45. Loo JA., Yan W., Ramachandran P., Wong DT. (2010). Comparative human salivary and plasma proteomes. *Journal Dent Res*, 89 (10), 1016-23.
46. Den R., Toda M., Nagasawa S., Kitamura K., Morimoto K. (2007). Circadian rhythm of human salivary chromogranin A. *Biomed Res*, 28 (1), 57-60.

47. Wagner H., Nörr H., Winterhoff H. (1994). Plant adaptogens. *Phytomedicine* 1 (1), 63-76.
48. Toda M., Morimoto K. (2008). Effect of lavender aroma on salivary endocrinological stress markers. *Arch Oral Biol*, 53 (10), 964-8.
49. Grisel JE., Bartels JL., Allen SA., Turgeon VL. (2008). Influence of beta-endorphin on anxious behavior in mice: interaction with EtOH. *Psychopharmacology (Berl)*, 200 (1), 105-15.
50. Barfield ET., Barry SM., Hodgins HB., Thompson BM., Allen SS., Grisel JE. (2010). Beta-endorphin mediates behavioral despair and the effect of ethanol on the tail suspension test in mice. *Alcohol Clin Exp Res*, 34 (6), 1066-72.
51. Deinzer R., Schüller N. (1998). Dynamics of stress related decrease of salivary immunoglobulin A (sIgA): relationship to symptoms of the common cold and studying behavior. *Behav Med*, 23 (4), 161-9.
52. Ng V., Koh D., Chan G., Ong H., Chia SE., Ong CN. (1999). Are salivary immunoglobulin A and lysozyme biomarkers of stress among nurses? *Journal Occup Environ Med*, 41 (10), 920-7.
53. Pradeep AR., Raj S., Aruna G., Chowdhry S. (2009). Gingival crevicular fluid and plasma levels of neuropeptide substance-P in periodontal health, disease and after nonsurgical therapy. *Journal Periodontal Res*, 44 (2), 232-7.
54. Padgett DA., Glaser R. (2003). How stress influences the immune response. *Trends Immunol*, 24 (8), 444-8.
55. Ben-Eliyahu S., Shakhbar G., Page GG., Stefanski V., Shakhbar K. (2000). Suppression of NK cell activity and of resistance to metastasis by stress: a role for adrenal catecholamines and beta-adrenoceptors. *Neuroimmunomodulation*, 8 (3), 154-64.
56. Morgan CA 3rd., Southwick S., Hazlett G., Rasmusson A., Hoyt G, Zimolo Z., et al. (2004). Relationships among plasma dehydroepiandrosterone sulfate and cortisol levels, symptoms of dissociation, and objective performance in humans exposed to acute stress. *Arch Gen Psychiatry*, 61 (8), 819-25.
57. Dawes, C. (1972). Circadian rhythms in human salivary flow rate and composition. *Journal Physiol*. 220, 529–545. doi:10.1113/jphysiol. 1972. sp009721.
58. De Almeida P del, V., Grégio, A.M., Machado, M.A., de Lima Edgar WM. (1992). Saliva: its secretion, composition and functions, *Br. Dent. Journal*, 72, 305-312.
59. Chicharro JL., Lucia A., Perez M., Vaquero AF., Urena R. (1998). Saliva composition and exercise. *Sport Med.*, 26 (1):17-27.
60. Melvin JE., Yule D., Shuttleworth T., Begenisich T. (2005). Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. *Ann Rev. Physiol* 67:445-69.

61. Smith PM. (1996). Mechanisms of secretion by salivary glands. In: Saliva and oral health. Editors Edgar, WM and O'Mullane, DM. 2nd edition. *British Dental Association*, London, UK, Pages 17-37.
62. Dawes C. (1987). Physiological factors affecting salivary flow rate, oral sugar clearance, and the sensation of dry mouth in man. *Journal Dent Res*, 66, 648-653.
63. Fenoll-Palomares C., Munoz- Montagud JV., Sanchiz V., Herrenos B., Henandez V., Benages A. (2004). Unstimulated salivary flow rate, pH and buffer capacity of saliva in healthy volunteers. *Rev. Esp Enferm Dig*. 96 (11):773-83.
64. Bardow A., Moe D., Nyvad B., Nauntofte B. (2000). The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO<sub>2</sub>. *Arch Oral Biol*. 45, 1-12.
65. Tenovuo J, Legerlof F.(1996).Saliva In: Thylstrup A, Fejerskov O eds. *Textbook of Clinical Cariology*. 2nd ed. Munksgaard. Copenhagen. 17-43.
66. Waterman HA., Blom C., Holterman HJ., Gravenmade EJ., Mellema J. (1988). Rheological properties of human saliva. *Arch Oral Biol*, 33, 589-96.
67. Van der Reijden WA., Veerman ECI., Nieuw Amerongen AV. (1993). Shear rate dependent viscoelastic behavior of human glandular salivas. *Biorheology*, 30,141-52.
68. Nordbo H., Darwish S., Bhatnagar RS. (1984). Salivary viscosity and lubrication: influence of pH and calcium. *Scand Journal Dent Res*, 92, 306-14.
69. Biesbrock AR., Dirksen T., Schuster G. (1992). Effects of tung oil on salivary viscosity and extent and incidence of dental caries in rats. *Caries Res* 26, 117-23.
70. Tabak LA. (1995). In defense of the oral cavity: structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. *Ann Rev Physiol*, 57, 547-64.
71. Levine MJ., Reddy MS., Tabak LA., Loomis RE., Bergey EJ., Jones PC., Cohen RE., Stinson MW., Al-Hashimi I. (1987). Structural aspects of salivary glycoproteins. *Journal Dent Res*, 66, 436-41.
72. Hay DI., Bowen WH. (1996). The functions of salivary proteins. In: Saliva and oral health. Editors Edgar, WM and O'Mullane, DM. 2nd edition. *British Dental Association*, London, UK, Pages 37-57.
73. Baughan LW., Robertello FJ., Sarrett DC., Denny PA., Denny PC. (2000). Salivary mucin as related to oral Streptococcus mutans in elderly people. *Oral Microbiol Immunol* 15, 10-4.
74. Nielsen PA., Mandel U., Therkildsen MH., Clausen H. (1996). Differential expression of human highmolecular-weight salivary mucin (MG1) and low-molecular-weight mucin (MG2). *Journal Dent Res*, 75, 1820-6.

75. Hay DI., Ahern JM., Schluckebier SK., Schlesinger DH. (1994). Human salivary acidic proline-rich protein polymorphisms and biosynthesis studied by high-performance liquid chromatography. *Journal Dent Res*, 73, 1717-26.
76. Gibbons RJ., Hay DI. (1989). Adsorbed salivary acidic proline-rich proteins contribute to the adhesion of *Streptococcus mutans* JBP to apatitic surfaces. *Journal Dent Res*, 68, 1303-7.
77. Douglas CW. (1994). Bacterial-protein interactions in the oral cavity. *Adv Dent Res*, 8, 254-62.
78. Carlen A., Bratt P., Stenudd C., Olsson C., Strömberg N. (1998). Agglutinin and acidic proline-rich protein receptor patterns may modulate bacterial adherence and colonization on tooth surfaces. *Journal Dent Res*, 77, 81-90.
79. Li T., Khah MK., Slavnic S., Johansson I., Stromberg N. (2001). Different type 1 fimbrial genes and tropisms of commensal and potentially pathogenic *Actinomyces* spp with different salivary acidic prolinerich protein and statherin ligand specificities. *Infect Immun* 69, 224-33.
80. Aguirre A., Mendoza B., Levine MJ., Hatton MN., Douglas WH. (1989). In vitro characterization of human salivary lubrication. *Arch Oral Biol*, 34, 675-7.
81. Lu Y., Bennick A. (1998). Interaction of tannin with human salivary proline-rich proteins. *Arch Oral Biol*, 43,717-28.
82. Zee KY., Samaranayake LP., Attstrom R. (2001). Salivary immunoglobulin A levels in rapid and slow plaque formers: a pilot study. *Microbios* 106, suppl 2, 81-7.
83. Brandtzaeg P., Berstad AE., Farstad IN., Haraldsen G., Helgeland L., Jahnsen FL., Johansen FE., Natvig IB., Nilsen EM., Rugtveit J. (1997). Mucosal immunity - a major adaptive defense mechanism. *Behring Inst Mitt* 98; 1-23.
84. Escolar Castellon JD., Escolar Castellon A., Roche Roche PA., Minana Amada C. (1992). Bronchialassociated lymphoid tissue (BALT) response to airway challenge with cigarette smoke, bovine antigen and anti-pulmonary serum. *Histol Histopathol* 7; 321-8.
85. Brandtzaeg P. (1989). Salivary immunoglobulins. In: Human saliva: *clinical chemistry and microbiology*. Volume II. Editor Tenovuo JO. Pp. 2-54. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
86. Proctor GB., Carpenter GH. (2001). Chewing stimulates secretion of human salivary secretory immunoglobulin A. *Journal Dent Res* 80,909-13.
87. Ben-Aryeh H., Serouya R, Kanter Y., Szargel R., Laufer D. (1993). Oral health and salivary composition in diabetic patients. *Journal Diabetes Complications*, 7, 57-62.
88. Bratthall D., Widerström L. (1985). Ups and downs for salivary IgA. *Scand Journal Dent Res*, 93,128-34.

89. Mellanen L., Sorsa T., Lähdevirta J., Helenius M., Kari K., Meurman JH. (2001). Salivary albumin, totalprotein, IgA, IgG and IgM concentrations and occurrence of some periodontopathogens in HIV infected patients: a 2-year follow-up study. *Journal Oral Pathol Med*, 30, 553-9.
90. Steerenberg PA., van Asperen IA., van Nieuw Amerongen A., Biewenga A., Mol D., Medema GJ. (1997). Salivary levels on immunoglobulin A in triathletes. *Eur Journal Oral Sci*, 105, 305-9.
91. Seidel BM., Schubert S., Schulze B., Borte M. (2001). Secretory IgA, free secretory component and IgD in saliva of newborn infants. *Early Hum Dev*, 62, 159-64.
92. Vernejoux JM., Tunon de Lara JM., Villanueva P., Vuillemin L., Taytard A. (1994). Salivary IgE in allergic patients and normal donors. *Int Arch Allergy Immunol*, 104,101-3.
93. Meyer P., Zechel T. (2001). Quantitative studies of lysozyme and phosphohexose isomerase enzymes in mixed saliva in oral squamous epithelial carcinoma. *Hals-Nasen-Ohrenheilkunde (HNO)*, 49(8) :626-9.
94. Noble RE. (2000). Salivary alpha-amylase and lysozyme levels: a non-invasive technique for measuring parotid vs. submandibular/sublingual gland activity. *Journal Oral Sci*, 42, 83-6.
95. Tenovuo J. (1989). Non-immunoglobulin defense factors in human saliva. In: Human saliva: *clinical chemistry and microbiology*. Editor Tenovuo JO. Vol II, Pp 55-61. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
96. Samaranayake YH., Samaranayake LP., Pow EH., Beena VT., Yeung KW. (2001). Antifungal effects of lysozyme and lactoferrin against genetically similar, sequential *Candida albicans* isolates from a human immunodeficiency virus-infected southern Chinese cohort. *Journal Clin Microbiol*, 39, 3296-302.
97. Salvolini E., Martarelli D., Di Giorgio R., Mazzanti L., Procaccini M., Curatola G. (2000). Age related modifications in human unstimulated whole saliva: a biochemical study. *Aging*, 12, 445-8.
98. Battino M., Ferreiro MS., Gallardo I., Newman HN., Bullon P. (2002). The antioxidant capacity of saliva. *Journal Clin Periodontol*, 29, 189-94.
99. Tsai H., Bobek LA. (1998). Human salivary histatins: promising anti-fungal therapeutic agents. *Crit Rev Oral Biol Med*, 9, 480-97.
100. Koshlukova SE., Lloyd TL., Araujo MW., Edgerton M. (1999). Salivary histatin 5 induces non-lytic release of ATP from *Candida albicans* leading to cell death. *Journal Biol Chem* 274, 18872-9.
101. Bercier JG., Al-Hashimi I., Haghighat N., Rees TD., Oppenheim FG. (1999). Salivary histatins in patients with recurrent oral candidiasis. *Journal Oral Pathol Med*, 28, 26-9.

102. Jainkittivong A., Johnson DA., Yeh CK. (1998). The relationship between salivary histatin levels and oral yeast carriage. *Oral Microbiol Immunol*, 13,181-7.
103. Wroblowski K., Muhandiram R., Chakrabartty A., Bennick A. (2001). The molecular interaction of human salivary histatins with polyphenolic compounds. *Eur Journal Biochem*, 268, 4384-97.
104. Yan Q., Bennick A. (1995). Identification of histatins as tannin-binding proteins in human saliva. *Biochem Journal*, 311, 341-7.
105. Lamkin MS., Arancillo AA., Oppenheim FG. (1996). Temporal and compositional characteristics of salivary protein adsorption to hydroxyapatite. *Journal Dent Res*, 75,803-8.
106. Alturfan E., Demir G., Kasıkçı E., Tunalı-Akçay T., Pisiriciler R., Çalışkan E., Yarat A. (2008). Altered biochemical parameters in the saliva of patients with breast cancer. *Tohoku Journal Exp. Med.* 212(2):89-96.
107. Tenovuo J., Lagerlöf F. (1994). Saliva. In: *Textbook of clinical cariology*. Second edition. Editors Thylstrup A and Fejerskov O. Pp. 17-43, chapter 2. Munksgaard, Copenhagen, Denmark.
108. Lamont RJ., Demuth DR., Davis CA., Malamud D., Rosan B. (1991). Salivary-agglutinin-mediated adherence of *Streptococcus mutans* to early plaque bacteria. *Infect Immun* 59, 446-50.
109. Stenudd C., Nordlund A., Ryberg M., Johansson I., Kallestal C., Stromberg N. (2001). The association of bacterial adhesion with dental caries. *Journal Dent Res*, 80, 2005-10.
110. Oberg SG., Isutzu KT., Truelove EL. (1982). Human parotid saliva protein concentration: dependence on physiological factors. *Am Journal Physiol*, 242, G231-G236.
111. Jenzano JW., Brown CK., Mauriello SM. (1987). Temporal variations of glandular kallikrein, protein and amylase in mixed human saliva. *Arch Oral Biol*, 32,757-9.
112. McGurk M., Hanford L., Justice S., Metcalfe RA. (1990). The secretory characteristics of epidermal growth factor in human saliva. *Arch Oral Biol*, 35; 653-9.
113. Weisiger RA. (1996). Laboratory tests in liver disease. In: *Cecil textbook of medicine*. Editors Bennett JC, Plum F. P. 761. Saunders, Philadelphia, USA.
114. Appel GB. (1996). Glomerular disorders. In: *Cecil textbook of medicine*. Editors Bennett JC, Plum F. Pp. 572-6. Saunders, Philadelphia, USA.
115. Kohavi D., Klinger A., Steinberg D., Mann E., Sela NM. (1997). Alpha-amylase and salivary albumin adsorption onto titanium, enamel and dentin: an in vivo study. *Biomaterials* 18; 903-6.

116. Izutsu KT., Truelove EL., Bleyer WA., Anderson WA., Schubert MM., Rice JC. (1981). Whole saliva albumin as an indicator of stomatitis in cancer therapy patients. *Cancer*, 48, 1450-4.
117. Henskens YM., van der Velden U., Veerman EC., Nieuw Amerongen AV. (1993). Protein, albumin and cystatin concentrations in saliva of healthy subjects and of patients with gingivitis or periodontitis. *Journal Perio Res*, 28, 43-8.
118. Meurman JH., Rantonen PJF. (1994). Salivary flow rate, buffering capacity, and yeast counts in 187 consecutive adult patients from Kuopio, Finland. *Scand Journal Dent Res*, 102, 229-34.
119. Meurman JH., Pyrhönen S., Teerenhovi L., Lindqvist C. (1997). Oral sources of septicemia in patients with malignancies. *Eur Journal Cancer Oral Oncol*, 33, 389-97.
120. Biswas SD. (1982). Effect of urea on pH, ammonia, amino acids and lactic acid in the human salivary sediment system incubated with varying levels of glucose. *Arch. Oral Biol*, 7 (8):683-691.
121. Carlsson J., Hamilton I. (1994). Metabolic activity of oral bacteria. In: *Textbook of clinical cariology*. Second edition. Editors Thylstrup A and Fejerskov O. Pp. 71-88, chapter 4. Munksgaard Copenhagen, Denmark.
122. Dibdin GH., Dawes C. (1998). A mathematical model of the influence of salivary urea on the pH of fasted dental plaque and on the changes occurring during a cariogenic challenge. *Caries Res*, 32,70-4.
123. Redrawn from G N Jenkins. (1978). *The physiology and biochemistry of the mouth (4th Edition)*. Blackwell, London. viii, 599 p.
124. Mäkinen KK. (1989). Salivary enzymes. In: *Human saliva: clinical chemistry and microbiology*. Volume II. Editor Tenovou JO. Pp. 93-120. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
125. Pedersen AM., Bardow A., Beier Jensen S., Nauntofte B. (2002). Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Diseases*, 8, 117-29.
126. Almståhl A., Wikström M., Groenink J. (2001). Lactoferrin, amylase and mucin MUC5B and their relation to the oral microflora in hyposalivation of different origins. *Oral Microbiol Immunol*, 16, 345-52.
127. Scannapieco FA., Torres G., Levine MJ. (1993). Salivary alpha-amylase: role in dental plaque and caries formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 4, 301-7.
128. Yao Y., Grogan J., Zehnder M., Lendenmann U., Nam B., Wu Z., Costello CE., Oppenheim FG. (2001). Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spectrometry. *Arch Oral Biol*, 46, 293-303.

129. Helpman L., Penso J., Zagoory-Sharon O., Feldman R., Gilboa-Schechtman E. (2016). Endocrine and Emotional Response to Exclusion among Women and Men; Cortisol, Salivary Alpha Amylase, and MOOD. *Anxiety, Stress & Coping*, (just accepted), Pages, 1-23.
130. Tanaka Y., Ishitobi Y., Inoue A., Oshita H., Okamoto K., Kawashima C., Nakanishi M., Aizawa S., Masuda K., Maruyama Y., Higuma H., Kanehisa M., Ninomiya T., Akiyoshi J. (2016). Sex determines cortisol and alpha-amylase responses to acute physical and psychosocial stress in patients with avoidant personality disorder. *Brain Behav*, 6 (8).
131. Aguirre A., Levine MJ., Cohen RE., Tabak LA. (1987). Immunochemical quantitation of  $\alpha$ -amylase and secretory IgA in parotid saliva from people of various ages. *Arch Oral Biol*, 32 (4), 297-301.
132. Salvolini E., Mazzanti L., Martarelli D., Di Giorgio R., Fratto G., Curatola G. (1999). Changes in the composition of human unstimulated whole saliva with age. *Aging (Milano)* 11 (2), 119-22.
133. Ahmadi-Motamayel F., Falsafi P., Goodarzi MT., Poorolajal J. (2016). Evaluation of salivary catalase, vitamin C, and alpha-amylase in smokers and non-smokers: a retrospective cohort study. *Journal Oral Pathol Med*. 46(5):377-380. doi:10.1111/jop.12495.
134. Zuabi O., Machtei EE., Ben-Aryeh H., Ardekian L., Peled M., Laufer D. (1999). The effect of smoking and periodontal treatment on salivary composition in patients with established periodontitis. *Journal Periodontol*, 70 (10), 1240-6.
135. Backes TP., Horvath PJ., Kazial KA. (2015). Salivary alpha amylase and salivary cortisol response to fluid consumption in exercising athletes. *Biol Sport*, 32 (4), 275-80.
136. Dušková M., Šimůnková K., Hill M., Hruškovičová H., Hoskovcová P., Králíková E., Stárka L. (2010). Higher levels of salivary alpha-amylase predict failure of cessation efforts in male smokers. *Physiol Res*, 59, 765-771.
137. Dušková M., Šimůnková K., Vítků J., Sosvorová L., Jandíková H., Pospíšilová H., Šrámková M., Kosák M., Kršek M., Hána V., Žánová M., Springer D., Stárka L. (2016). A Comparison of salivary steroid levels during diagnostic tests for adrenal insufficiency. *Prague Med Rep* 117, 18-33.
138. Schönfield P., Preusser F., Margraf J. (2017). Costs and benefits of self-efficacy: Differences of the stress response and clinical implications. *Neurosci Biobehav Rev.*, 75:40-52. doi: 10.1016/j.neubiorev.2017.01.031.
139. Beck A., Fabian G., Fejerdy P., Krause WR., Hermann P., Modos K., Fabian TK. (2015). Alteration of consciousness via diverse photo-acoustic stimulatory patterns. Phenomenology and effect on salivary flow rate, alpha-amylase and total protein levels. *Journal Physiol Paris*, 109 (4), 201-13.

140. Sapolsky RM., Romero LM., Munck A. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *L.Endocr Rev*, 21 (1), 55-89.
141. Gaab J., Rohleder N., Nater UM., Ehlert U. (2005). Psychological determinants of the cortisol stress response: the role anticipatory cognitive appraisal. *Psychoneuroendocrinology*, 30 (6), 599-610.
142. Davis EP., Granger DA. (2009). Developmental differences in infant salivary alpha-amylase and cortisol responses to stress. *Psychoneuroendocrinology*, 34 (6), 795-804.
143. Yorbik O., Mutlu C., Ozturk O., Altinay DK., Tanju IA., Kurt I. (2016). Salivary alpha-amylase levels in youths with anxiety disorders. *Psychiatry Res*, 235, 148-53.
144. Tester RF., Qi X., Karkalas J. (2006). Hydrolysis of native starches with amylases. *Anim Feed Sci Technol*, 130 (1), 39-54.
145. Braithwaite EC., Ramchandani PG., Lane TA., Murphy SE. (2015). Symptoms of prenatal depression are associated with raised salivary alpha-amylase levels. *Psychoneuroendocrinology* 201, 60, 163-72.
146. Lehoczki G., Szabo K., Takacs I., Kandra L., Gyemant G. (2016). Simple ITC method for activity and inhibition studies on human salivary alpha amylase. *Journal Enzyme Inhib Med Chem*, 31 (6), 1648-53.
147. Xiao Z., Storms R., Tsang A. (2006). A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. *Anal Biochem*, 351 (1),146-8
148. White P.C., & Speiser P. W. (2000). Congenital adrenal hyperplasia due to 21 $\alpha$ -hydroxylase deficiency. *Endocr Rev*, 21 (3), 245-291.  
doi: 10.1210/edrv.21.3.0398.
149. Miller, G. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry* 31, pp. 426-428
150. Groschl M., Wagner R., Rauh M., Dorr HG. (2001). Stability of salivary steroids: the influence of storage, food and dental care. *Steroids* 66, 737-41.
151. Raff H., Homar PJ., Burns EA. (2002). Comparison of two methods for measuring salivary cortisol. *Clin Chem*, 48, 207-8.
152. Read GF. (1989). Hormones in saliva. In: Human saliva: *clinical chemistry and microbiology*. Vol II. Editor Tenovuo JO. Pp. 165-69. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
153. Aktümsek, A. (2001). *Anatomi ve Fizyoloji*. Ankara, Nobel Kitabevi, S:108-112 S:186-189

154. Castonzo, L.S. (1999). *Fizyoloji*. Ankara, Nobel Kitabevi S:237-250
155. Haymond S, Gronowski A.M. Reproductive related disorders. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns D.E. (2006). *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, 4<sup>th</sup> edition*. St. Louis, Mo: Elsevier Saunders, 2097-152.
156. Therrell, B.L. (2001). Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 30 (1), 15-30.
157. Miller W.L. (2009). The Adrenal Cortex and its Disorders Brook's Clinical Pediatric *Endocrinology* (pp.283-326): Wiley-Blackwell.
158. Greenspan F. S., & Gardner D.G. (2012). Basic&Clinical Endocrinolog. Lange Medical Books/McGraw-Hill. *Yale Journal Biol Med* 85(4):559.
159. Elbüken, G. (2011). *Sağlıklı Popülasyonda Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Aksın Değerlendirilmesinde Kullanılan Bazal ve Uyarılmış Tükürük Kortizol Düzeylerinin Bazal ve Uyarılmış Total Kortizol, Serbest Kortizol ve Serbest Kortizol İndeksi Düzeylerinin Araştırılması* (Yan Dal Uzmanlık Tezi), Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
160. Çamurdan, M.O., Yeşilkaya, E. (2013). Adrenal Korteks Fonksiyonları. In P. Cinaz, Darendeliler, F., Akinci, A., Özkan, B., DüNDAR, B. N., Abacı, A., Akçay T. (Ed.), *Çocuk Endokrinolojisi* (pp. 213-265). Ankara: Nobel Kitabevi.
161. Monder C., White PC. (1993). 11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase. *Vitam Horm*, 47, 187-271.
162. Murphy BEP., Branchaud CTL. (1983). Fetal metabolism of cortisol. *Curr Top Exp Endocrinol*, 5, 197-229.
163. Waddell BJ., Benediktsson R., Brown RW., Seckl JR. (1998). Tissuespecific messenger ribonucleic acid expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2 and the glucocorticoid receptor within rat placenta suggests exquisite local control of glucocorticoid action. *Endocrinology*, 139, 1517-1523.
164. Brown RW., Chapman KE., Koteletsev Y., Yau JL., Lindsay RS., Brett LP., Leckie CM., Murad P., Lyons V., Mullins JJ., Edwards CRW., Seckl JR. (1996). Cloning and production of antisera to human placental 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 2. *Biochem Journal*, 313, 1007-1017.
165. Smith RE., Maguire JA., Stein-Oakley AN., Sasano H., Takahashi K., Fukushima K., Krozowski ZS. (1996). Localization of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II in human epithelial tissues. *Journal Clin Endocrinol Metab*, 81, 3244-3248.
166. Hirasawa G., Sasano H., Takahashi K-I., Fukushima K Suzuki T., Hiwatashi., Toyota T., Krozowski ZS., Nagura H. (1997). Colocalization of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II and mineralocorticoid receptor in human epithelia. *Journal Clin Endocrinol Metab*, 82, 3859-3863.

167. Hennebold JD., Ryu S-Y., Mu H-H., Galbraith A., Daynes RA. (1996). 11 $\beta$ -Hydroxysteroid dehydrogenase modulation of glucocorticoid activities in lymphoid organs. *Am Journal Physiol*, 270, R1296-R1306.
168. Kondo K-H., Kai M-H., Setoguchi Y., Eggertsen G., Sjoblom P., Setoguchi T., Okuda K-I., Bjorkhem I. (1994). Cloning and expression of cDNA of human delta 4-3-oxosteroid 5beta reductase and substrate specificity of the expressed enzyme. *Eur Journal Biochem*, 219, 357-363.
169. Jenkins EP., Andersson S., Imperato-McGinley J., Wilson JD., Russell DW. Genetic and pharmacological evidence for more than one human steroid 5alpha-reductase. *Journal Clin Invest*, 89, 293-300.
170. Killinger DW., Perel E., Daniilescu D., Kharlip L., Lindsay WN. (1990). Influence of adipose tissue distribution on the biological activity of androgens. *Ann N Y Acad Sci*, 595, 199-211.
171. Russell DW., Wilson JD. (1994). Steroid 5-reductase: two genes/ two enzymes. *Ann Rev Biochem*, 63, 25-61.
172. Morris DJ., Latif SA., Rokaw MD., Watlington CO., Johnson JP. (1998). A second enzyme protecting mineralocorticoid receptors from glucocorticoid occupancy. *Am J Physiol*, 274, C1245-C1252.
173. Bhagavan NV., Eun Ha.C. (2011). Essential of Medical Biochemistry. (with Clinical Cases). Chapter 30: Endocrin Metabolism III: Adrenal Glands.1th ed. California, Elsevier Academic Press., 409-418.
174. Candan G. (2002). *Hormonların Genel Yapı ve Özellikleri. Bölüm: 9. Temel Biyokimya*. Ed: Emerk K, Onat T, Sözmen EY. Ankara, Palme Yayıncılık, 481-491.
175. Well PA., Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW. (2009). Diversity of the Endocrine System. *Chapter 41: Harper's Illustrated Biochemistry 28th ed. The McGraw-Hill Companies*, 424-443.
176. Levy MJ., Howlett TA, Marshall WJ, Lapsley M, Day AP, Ayling RM.(2014). Hypothalamic, pituitary and adrenal disorders. *Chapter 18: Clinical Biochemistry (metabolic and Clinical Aspects). 3th ed. Eds:Churchill Livingstone Elsevier*, 349-373.
177. Kaplan, L. C., & Pesce, A. J. (2010). *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation: Mosby/Elsevier*. 5th edition. xxiv, 1176 p.
178. Kokbas U., Kayrın L., Tuli A. (2013). Biosensors and their medical applications. *Arch Med Rev J*, 23:499-513.
179. Skoog, West, Holler, and Crouch's (2011). *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 25-120.

180. Bland JM DG. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1, 307-10.
181. Altman DG, Bland JM. (1983). Measurement in medicine: The analysis of comparison studies. *Statistician*, 32, 307-317.
182. Hollis S. (1997). Analysis of method comparison studies. *Ann Clin Biochem*, 33:1-4.
183. Pollack MA., Jefferson SG., Kane JW., et al. (1992). Method comparison-a different approach. *Ann Clin Biochem*, 29, 556-560.
184. Dündar Yenilmez E., Kökbaş U., Kartlaşmış K., Kayın L., Tuli A. (2018). A new biosensor for noninvasive determination of fetal RHD status in maternal blood of RhD negative pregnant women. *PLOS ONE*, Jun 6, 13 (6): e0197855.
185. Hilgert JB., Hugo FN., Bandeira DR., Bozzeti MC. (2006). Stress, cortisol, and periodontitis in a population aged 50 years and over. *Journal Dent Res*, 85 (4), 324-8.
186. Rai B., Kaur J., Anand SC., Jacobs R. (2011). Salivary stress markers, stress and periodontitis: a pilot study. *Journal Periodontol*, 82 (2), 287-92.
187. Chatterton RT., Vogelsong KM., Lu YC., Ellman AB., Hudgens GA. (1996). Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Clin.Physiol*, 16, 433-448.
188. Ferguson DB., Botchway CA. (1979). Circadian variations in flow rate and composition of human stimulated submandibular saliva. *Arch Oral Biol*, 24, 433-7.
189. Ferguson DB., Fort A., Elliott AL., Potts AJ. (1973). Circadian rhythms in human parotid saliva flow rate and composition. *Arch Oral Biol*, 18, 1155-73.
190. Thaysen J.H., Thorn N, A., Schwartz L. L. (1954). Excretion of Sodium, Potassium, Chloride and Carbon Dioxide in Human Parotid Saliva., *Am. Journal Physiol.*,178,155-164.
191. Laudat MH., Cerdas S., Fournier C., Guiban D., Guilhame B., Loton JP. (1988). Salivary Cortisol measurement: A practical approach to assess pituitary-adrenal-function. *Journal Clin Endocrinol Metab*, 66, 343.
192. Walker RF., Riad-Fahmy D., Read GF. (1978). Adrenal status assessed by direct immunoassay of cortisol in whole saliva or parotid fluid. *Clin Chem* 24,1460.
193. Williams GH, Tuck ML, Rose LI, Dluhy RG, Underwood RH. (1972) Studies of the control of plasma aldosterone concentration in normal man. 3. Response to sodium chloride infusion. *Journal Clin Invest* 51(10):2645–52.10.1172/JCI106974
194. Roberts WL., McMillan GA. (2013). Reference information for the clinical laboratory. In: Burtis DA, Burns DE, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 5th ed. St. Louis: Elsevier, p.2131-88.

195. Schumann G., Aoki R., Ferrero CA., et al. (2006). IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. *Clin Chem Lab Med*, 44,1146-55.



**EKLER**

## EK-1 ETİK KURUL ONAYI



T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
Tıp Fakültesi Dekanlığı



Sayı : 24074710-604.01.01- 44  
Konu : Toplantı Kararları

13.11.2018

Sayın *Prof. Dr. Aylin Sepici Dinkel*

Proje Yürütücüsü

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 12 Kasım 2018 tarihinde yapmış olduğu toplantı kararları ekte sunulmuştur.  
Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Taner AKAR  
Dekan a.  
Dekan Yardımcısı



## EK-1 (devamı) ETİK KURUL ONAYI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU  
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

|                                |                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                  |                                                                                                              |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ETİK KURUL BİLGİLERİ           | ETİK KURULUNUN ADI                                                | Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu                                                                                                                                                                                                                            |                                                  |                                                                                                              |
|                                | AÇIK ADRES                                                        | Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara                                                                                                                                                                                                        |                                                  |                                                                                                              |
|                                | TELEFON                                                           | 0312 202 69 58                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |                                                                                                              |
|                                | FAKS                                                              | 0312 202 46 73                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |                                                                                                              |
|                                | E-POSTA                                                           | tipetikkurul@gazi.edu.tr                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                  |                                                                                                              |
| BAŞVURU BİLGİLERİ              | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI                                             | Genç Erişkin Bireylerde Sınav Öncesi ve Sonrası, Erişkin Bireylerde Diş Hekimliği Uygulamaları Öncesi ve Sonrası Tükürük ve Serumda Amilaz, Kortizol, Nitrik Oksit, Endotelin-1 Düzeylerinin Farklı Biyokimyasal Analiz Yöntemleri ile Değerlendirilmesi                     |                                                  |                                                                                                              |
|                                | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI <sup>1</sup> UNVANI/ADI/SOYADI    | Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL                                                                                                                                                                                                                                                |                                                  |                                                                                                              |
|                                | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ | Tıbbi Biyokimya AD. / G.Ü.T.F.                                                                                                                                                                                                                                               |                                                  |                                                                                                              |
|                                | DESTEKLEYİCİ (Varsa)                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                  |                                                                                                              |
|                                | ARAŞTIRMANIN TÜRÜ                                                 | Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji kolleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar- Bireysel araştırma projesi |                                                  |                                                                                                              |
|                                | ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER                                     | TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                          | ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/> | ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>                                                                   |
| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER       | Belge Adı                                                         | Tarihi                                                                                                                                                                                                                                                                       | Ver.No                                           | Dili                                                                                                         |
|                                | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ                                               | 07.11.2018                                                                                                                                                                                                                                                                   | 2                                                | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                | AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU                                          | 07.11.2018                                                                                                                                                                                                                                                                   | 2                                                | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER | Belge Adı                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                  | Açıklama                                                                                                     |
|                                | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                              | <input checked="" type="checkbox"/>              |                                                                                                              |
|                                | BIYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                              | <input type="checkbox"/>                         |                                                                                                              |
|                                | DİĞER                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                              | <input type="checkbox"/>                         |                                                                                                              |

|                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                             |                                                                  |                                                                  |                                                                  |      |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------|
| KARAR BİLGİLERİ                      | Karar No: 831                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Toplantı tarihi: 12.11.2018 |                                                                  |                                                                  |                                                                  |      |
|                                      | <p>Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.</p> <p>Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.</p> |                             |                                                                  |                                                                  |                                                                  |      |
| KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                             |                                                                  |                                                                  |                                                                  |      |
| ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI           | İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                             |                                                                  |                                                                  |                                                                  |      |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:      | Prof. Dr. Canan ULUOĞLU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                             |                                                                  |                                                                  |                                                                  |      |
| Unvanı/Adı/Soyadı                    | Uzmanlık Alanı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Kurumu                      | Cinsiyet                                                         | Araştırma ile ilişkisi                                           | Katılım *                                                        | İmza |
| Prof. Dr. Canan ULUOĞLU BAŞKAN       | Tıbbi Farmakoloji A.D                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | G.Ü.T.F                     | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Prof. Dr. Birol DEMİREL BAŞKAN YARD. | Adli Tıp AD.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | G.Ü.T.F                     | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |

## EK-1 (devamı) ETİK KURUL ONAYI

|                                        |                                           |                                        |                                       |                                       |                            |                                       |                                       |                            |           |
|----------------------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|-----------|
| Prof. Dr. Gonca AKBULUT<br>RAPORTÖR    | Fizyoloji AD.                             | G.Ü.T.F.                               | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | gün       |
| Prof. Dr. Bülent BOYACI<br>ÜYE         | Kardiyoloji AD.                           | G.Ü.T.F.                               | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | MB        |
| Prof. Dr. Öznur L. BOYUNAGA<br>ÜYE     | Radyoloji AD.                             | G.Ü.T.F.                               | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Öznur     |
| Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU<br>ÜYE       | Tıbbi Biyokimya<br>A.D.                   | G.Ü.T.F.                               | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Mustafa   |
| Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU<br>ÜYE      | Tıp Tarihi ve Etik<br>AD.                 | G.Ü.T.F.                               | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Katılmadı |
| Prof. Dr. Aslı KURUOĞLU<br>ÜYE         | Psikiyatri AD.                            | G.Ü.T.F.                               | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Aslı      |
| Doç. Dr. Hakan KAYIR<br>ÜYE            | Tıbbi Farmakoloji                         | COMMAT Ltd.                            | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Katılmadı |
| Doç. Dr. Mutlu DOĞAN<br>ÜYE            | İç Hast. AD. Tıbbi<br>Onkoloji BD.        | Ank. Numune<br>Eğt. ve<br>Araşt. Hast. | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Mutlu     |
| Doç. Dr. N.Arda DEMİRKAN<br>ÜYE        | Genel Cerrahi AD.                         | A.Ü.T.F.                               | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Katılmadı |
| Doç. Dr. Anıl TAPISIZ<br>ÜYE           | Çocuk Sağlığı ve<br>Hast. AD. Ç. Nor. BD. | G.Ü.T.F.                               | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Anıl      |
| Prof. Dr. Pınar ÖZDEMİR<br>ÜYE         | Biyoistatistik AD.                        | H.Ü.T.F.                               | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Katılmadı |
| Doktor Öğr. Üyesi Mustafa GÖKSU<br>ÜYE | Hukukçu                                   | A.H.B.V.Ü<br>Hukuk<br>Fakültesi        | E <input checked="" type="checkbox"/> | K <input type="checkbox"/>            | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Mustafa   |
| Aysel ÖZER<br>ÜYE                      | Sivil Temsilci                            | Emekli<br>Öğr. Üyesi                   | E <input type="checkbox"/>            | K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/> | Aysel     |

\* :Araştırma ile İlişki  
 \*\* :Toplantıda Bulunma

## EK-2 ARAŞTIRMA ANKET FORMU

## ARAŞTIRMA ANKET FORMU

İsim, soyisim:

Yaş:

Cinsiyet: Kadın

Erkek

Boy:

Kilo:

BMI:

Sigara kullanıyor musunuz?

Evet

Hayır

Kahve, kola gibi içecekler tüketiyor mu? Tüketiyorsa ne sıklıkla tüketiyor?

Kahve

Çay

Gazlı İçecek

Alkollü İçecek

Beslenme şeklinizi nasıl tanımlarsınız? Vejeteryan?

Kalıtsal bir hastalığınız var mı? Varsa nedir?

Anne, baba, kardeş, çocuklarda kalıtsal bir hastalık var mı? Varsa nedir?

Hipertansiyon veya Diabetes Mellitus gibi kronik bir hastalığınız var mı? Ailede var mı?

Sürekli kullandığınız ilacınız var mı? Varsa isimleri nelerdir?

NSAI

Hormon

gibi

Periodontal hastalığınız var mı? (NEDEMEK UYGUN OLUR GENEL HERŞEYİ SORGULAMAK İÇİN)

Daha önce periodontal tedavi gördünüz mü?

Diş eti kanamanız olur mu?

Dişlerinizi ne sıklıkla / ne zaman fırçalıyorsunuz?

Diş ipi ve/veya diş arası (ara yüz) fırçası kullanıyor musunuz?

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ŞEMSİ, Rabia  
Uyruğu : T.C  
Doğum tarihi ve yeri : 26/08/1992 Ankara  
Medeni hali : Bekar  
Telefon : 0 (545) 4156384  
e-mail : rabiasemsi2010@gmail.com



| Eğitim Derecesi | Okul/Program                                | Mezuniyet yılı |
|-----------------|---------------------------------------------|----------------|
| Yüksek Lisans   | Gazi Üniversitesi/Tıbbi Biyokimya           | Devam Ediyor   |
| Lisans          | Anadolu Üniversitesi/Uluslararası İlişkiler | Devam Ediyor   |
|                 | Ankara Üniversitesi Kimya Bölümü            | 2014           |
| Lise            | Bahçelievler Deneme Lisesi                  | 2010           |

### Staj

**2013 Emniyet Genel Müdürlüğü Kriminal Polis Laboratuvarları Dairesi Başkanlığı (ANKARA)**

45 Gün

### Yabancı Diller :

**Almanca**

(Orta Seviyede)

**İngilizce**

(İyi Seviyede)

## **KATILDIĞI ULUSAL KURS, CALISTAY, SEMPOZYUM ve KONGRELER**

### **KURSLAR**

2018 DNA Hasarı,Onarımı ve Tandem Kütle Spektrometrik Değerlendirilmesi (İZMİR)

2018 Akım Sitometri Nerde? Nasıl? SBÜ Gülhane Tıp Fakültesi (ANKARA)

2018 Laboratuvar Uygulamalarında Moleküler Tekniklerin Yeri ve Kullanımı Kursu(ADANA)

2016 Biyoistatistik ve SPSS Kursu

2014 Yaşamartı Gelisim Zirvesi

Etkin Beden Dili Yönetimi

Diksiyon ve Konuşma Estetiği

Zaman Yönetimi

Liderlik ve Yönetim Yetkinlikleri

2010 Goethe Institut (ANKARA)

Almanca Dil Kursu

### **ULUSAL KONGRELERDE-CALISTAYLARDA-KURSLARDA GÖREYLER**

**Kurs Eğitim Görevi:** Araştırmada ve Tıbbi Uygulamada Kullanılan Moleküler Laboratuvar Teknikleri:Uygulamalı Eğitim Kursu. Tüm Laboratuvar Uygulamaları. TÜBİTAK-2237-A Bilimsel Eğitim Etkinlikleri Destekleme Programı tarafından desteklenmiştir, Ankara, 10 Eylül – 14 Eylül 2018.

### **CALISTAY,SEMPOZYUM VE KONGRELER**

2019 Türkiye Üniversiteleri Sağlık Bilimleri Enstitüleri 31. Toplantısı (ANKARA)

2019 Biyosensörler IV.Türkiye in vitro Diyagnostik Sempozyumu (İZMİR)

2018 Endokrin ve Metabolik Hastalıklar Tanıdan-Tedaviye Biyobelirteçler III.Türkiye in vitro Diyagnostik Sempozyumu (İZMİR)

2017 1. OMFACELL Kök Hücre Araştırma Öğrenci Topluluğu Sempozyumu-Laboratuvardan Dış Ünitine Mezenkimal Kök Hücreler Gazi Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi (ANKARA)

2017 1.Gazi Tıp Biyokimya Günleri- Obeziteye Multidisipliner Yaklaşım Sempozyumu (ANKARA)

2017 Uluslararası Katılımlı Yeni Nesil Immunoloji Testleri Çalıştayı Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (ANKARA)

## **KATILDIĞI ULUSLARARASI KURS, CALISTAY , SEMPOZYUM ve KONGRELER**

### **KURSLAR**

2014 St.Giles International Language School (LONDRA)

İngilizce Dil Kursu

### **CALISTAY, SEMPOZYUM VE KONGRELER**

2019 FEBS Workshop on Molecular Life Sciences Education (TBİLİSİ, GEORGİA)

2018 TBD International Biochemistry Congress-29<sup>th</sup> National Biochemistry Congress (BODRUM)

2018 FEBS Workshop on Molecular Life Sciences Education: TRAINING TOMORROW'S SCIENTISTS (İZMİR)

### **ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA (PROCEEDİNGS) BASILAN BİLDİRİLER**

1. Erdal Ergünol, Rabia Şemsi, Aylin Sepici Dinçel Implications For "History Of Dentistry And Ethics" In Life Sciences “International Scientific Congress and Exhibition”, İZMİR, 9-11 November 2018

2. Rabia Semsî , Erdal Ergünol , Aylin Sepici Dinçel The View Of The Students About Biochemistry Course From Middle East Countries “TBD International Biochemistry Congress-29<sup>th</sup> National Biochemistry Congress”,BODRUM, Sözlü Sunum, 26-30 October 2018

3. Ayşe İrz , Rabia Semsî , Burak Arslan , Burcu Eser , Aylin Sepici Dinçel The Association Of Tryptophan-Kynurenine Level And Disease Activity Of Mild And Medium/Severe Osas “TBD International Biochemistry Congress-29<sup>th</sup> National Biochemistry Congress”,BODRUM, 26-30 October 2018

4. Aysel Çağlan Günal , Rabia Tural , Rabia Şemsi Özkısa , Nagehan İpiçürük , Aylin Sepici Dinçel Effects Of Zinc And Copper Pyrithione On Vitellogenin Levels Of Zebrafish (Danio Rerio) “TBD International Biochemistry Congress-29<sup>th</sup> National Biochemistry Congress”,BODRUM, 26-30 October 2018

5. Erdal Ergünol, Rabia Semsî, Aylin Sepici Dinçel. There Is Value in Taking The Time To Teach Dental History And Ethics In Dentistry Curriculum “FEBS Workshop on Molecular Life Sciences: Training Tomorrow's Scientists”, İZMİR, Poster Ödülü, 5-7 September 2018

6. Rabia Şemsi, Erdal Ergünol, Aylin Sepici Dinçel, Academic Performance Of International Students in Dental Biochemistry Course “FEBS Workshop on Molecular Life Sciences: Training Tomorrow's Scientists”, İZMİR, 5-7 September 2018

7. **R. Semsî Özkisa**, R. Tural, A. C.Gunal ,A. Sepici Dinçel The evaluation of endocrine disruptor effects of environmental pollutant zinc and copper pyrithione via apoptosis pathways by histopathological and biochemical analyses.Special Issue: 43rd FEBS Congress, FEBS Open Bio 8 (Suppl.S1), page 220 , July 2018.

### **ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTAPLARINDA BASILAN BİLDİRİLER**

1 **Umut Kökbaş**, **Rabia Şemsî**, Aylin Sepici Dinçel, Erdal Ergünol, Abdullah Tuli, Levent Kayrın DNA-Chip for Determination of Point Mutations IV.Türkiye in vitro Diyagnostik Sempozyumu“Biyosensörler”, İZMİR, **Sözlü Sunum Birincilik Ödülü** 20 Şubat-22 Şubat 2019

2 **Rabia Şemsî**, Umut Kökbaş, Burak Arslan , Aylin Sepici Dinçel, Erdal Ergünol, Levent Kayrın Evaluation Of Salivary Cortisol Levels Before And After Examinations In Young Adults Individuals By Different Biochemical Analysis Methods IV.Türkiye in vitro Diyagnostik Sempozyumu, “Biyosensörler”, İZMİR, 20 Şubat-22 Şubat 2019

3 Umut Kökbaş, **Rabia Şemsî**, Burak Arslan, Aylin Sepici Dinçel Erdal Ergünol, Levent Kayrın Evaluation Of Saliva Uric Acid Levels In Young Adult Individuals By Biosensor Method IV.Türkiye in vitro Diyagnostik Sempozyumu,“Biyosensörler”, İZMİR, 20 Şubat-22 Şubat 2019

5.Ayşe İriz, **Rabia Şemsî Özkisa**, Rabia Tural , Aylin Sepici Dinçel. Biomarkers Related with Galectin-1 In Moderate And Medium/Severe Levels Of Obstructive Sleep Apne Syndrome. III. Türkiye in vitro Diyagnostik Sempozyumu, “Endokrin ve Metabolik Hastalıklar, Tanıdan Tedaviye Biyobelirteçler”, İZMİR, 28 Şubat- 02 Mart 2018

6.Ercan Dinçel, **Rabia Şemsî Özkisa**, Funda Kosova, Aylin Sepici Dinçel.Evaluation Of N-Telopeptide Levels in Romatoid Arthritis. III. Türkiye in vitro Diyagnostik Sempozyumu, “Endokrin ve Metabolik Hastalıklar, Tanıdan Tedaviye Biyobelirteçler”, İZMİR, 28 Şubat- 02 Mart 2018

### **Hobiler**

Tenis, Voleybol, Futbol maçı izlemek, Kültürel seyahatler, Kitap okuma



*GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...*