

Gebeliğin ve Hiperprolaktineminin Kadınlarda Tükürük ve Eritrosit Arginaz Düzeylerine Etkileri

Semih Rasim GÜNER¹, Hidayet ŞEKER¹, Şendoğan GÜLEN²

ÖZET

Bu çalışmamızda, gebelik döneminin ve hiperprolaktineminin, insan tükürük ve eritrosit arginazı aktivite düzeylerinde ne gibi değişimler yapabileceğini saptamaya çalıştık.

Çalışmamız sonuçlarında, gebelerin tükürük arginaz aktivitesinde kontrol grubuna göre 4 ila 5 kat artış saptanmış, buna karşın eritrosit arginaz aktivitesinde küçük düşüş gözlenmiştir. Hiperprolaktinemi hastalarının sonuçları da gebelik dönemine çok benzerdir.

Tükürük ve eritrositlerde gözlenen zıt sonuçlar, insanda arginazın iki farklı gen tarafından sentezlendiği tezini destekler niteliktedir. Bu etkilenmeler muhtemelen hormonal değişimlerden kaynaklanmaktadır.

Hiperprolaktinemi hastalarının tükürük arginaz aktivitelerinde belirgin artış saptanmıştır; bu bulgu yeni çalışmalarla desteklenmesi halinde hiperprolaktinemi tanısında değerli bilgi verebilir.

Anahtar Kelimeler: Arginaz, Hiperprolaktinemi, Gebelik, Tükürük, Eritrosit.

SUMMARY

THE EFFECTS OF PREGNANCY AND HYPERPROLACTINEMIA, IN WOMEN, UPON THE ACTIVITIES OF SALIVA AND ERYTHROCYTES ARGINASES

In this study, we attempted to elucidate the effects of pregnancy and hyperprolactinemia upon the activity of arginase in saliva and erythrocytes of women.

The results obtained showed that saliva arginase activity in pregnant increased 4 or 5 folds. On the other hand, the decrease in erythrocyte arginase level was very small compared to the control subjects. When saliva and erythrocyte arginases were measured in the prolactinemia patients, similar results were observed.

These opposite results might support the idea that both arginases are controlled by the different genes. Changes in hormonal status might cause different enzyme activities.

A significant increase in arginase activity due to hyperprolactinemia in saliva has been shown. This finding may play a valuable role for the diagnosis of hyperprolactinemia.

Key Words: Arginase, Hyperprolactinemia, Pregnancy, Saliva, Erythrocyte.

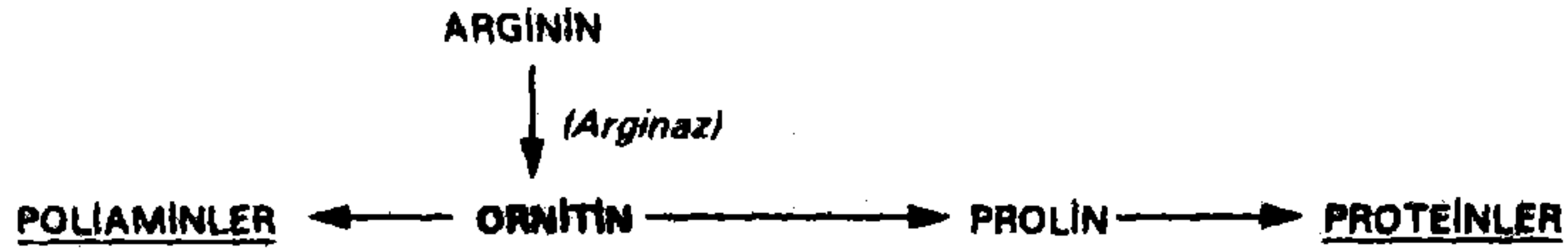
Aminoasitlerin katabolizmaları sonucu oluşan amonyak, memelilerde üreye dönüştürülerek organizmadan uzaklaştırılır. Arginaz (L-Arginin amidino-hidro-laz, EC:3.5.3.1), Krebs-Henseleit üre döngüsünün son basamağını katalize eden ve arginini üre ve ornitine parçalayan enzimdir. İnsan

dokularında molekül ağırlıkları 120.000 dalton olan ancak farklı immünokimyasal ve elektroforetik özellikler gösteren 5 farklı izoenzimi saptanmıştır (1,2,3).

Üre döngüsünün tüm enzimlerini içeren karaciğer hem üre sentezinin, hem de arginaz

¹ Uzm. Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, EDİRNE

² Prof. Dr., Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, EDİRNE



ŞEKİL I. Arginazın Üre sentezi dışındaki işlevleri

aktivitesinin en aktif olduğu organdır. Ancak arginaz, karaciğer dışında birçok dokuda da bulunmaktadır (ekstrahepatik arginaz). Bu dokuların başlıcaları; eritrosit, lökosit, trombosit, beyin, bağırsak, böbrek, tükürük bezleri, iskelet ve kalb kası, tiroid, plasenta, meme dokusu, deri ve testislerdir (4,5).

Tam çalışan üre döngüsü olmayan karaciğer dışı birçok dokuda ve ürotelik olmayan bazı canlılarda da aktif arginaz enzimi bulunması, arginazın üre sentezi dışında da bazı görevleri olabileceği düşüncesini gündemde tutmaktadır. Bu konuda meme bezi, tiroid bezi, gebe uterusu ve ince bağırsak gibi bazı dokularda yapılan çalışmalarda bu görevleri 2 sentez yoluyla ilişkilendirilmektedir (4,6-9.):

- 1- Dokuda büyüme faktörü olarak kabul edilen *poliaminlerin sentezi*.
- 2- Başta kollagen olmak üzere *bazı proteinlerin sentezi*.

Her iki sentez yolunda da ortak başlangıç, arginaz etkisiyle oluşan ornitindir.

İn vitro ve in vivo çalışmalarda arginaz aktivitesinin, östrojen, kortikosteroidler, tiroid hormonu ve glukagon gibi bir çok hormondan etkilendiği, gebelik, özellikle laktasyon döneminde meme dokusunda yüksek aktiviteye eriştiği bilinmektedir (7,10-13).

Bu çalışmada ilk olarak protein sentezinin hızlandığı ve birçok hormonal değişimin olduğu gebelik döneminde, insan tükürüğünde ve eritrositlerinde, arginaz aktivitesinde nasıl bir değişim olduğu saptanmaya çalışılmıştır.

Gebelerde yüksek düzeylere erişen prolaktin hormonu, insanda meme gelişimini ve laktasyonu düzenleyen temel hormondur. Büyüme hormonu ile yapısal olarak aynı ailedendir. Hayvan deneylerinde büyüme hormonu eksikliğinde onun etkilerine benzer etkiler oluşturabildiği, protein sentezini etkileyerek azot dengesini pozitif yöne döndürebildiği gösterilmiştir (14,15).

Henüz tam olarak açıklanamamış olan prolaktinin etki mekanizmasında poliaminlerin rolü

olduğu ve poliamin sentezi engellendiğinde, prolaktin etkisinin de azaldığını bildiren çalışmalar mevcuttur (16-18).

Prolaktinin, yukarıda bahsettiğimiz protein sentezi ve poliaminlerle ilişkisi gözönüne alınırsa, arginaz ile prolaktin arasında da bir etkileşim mevcut olabilir. Buradan yola çıkarak çalışmamızda ikinci olarak; hiperprolaktinemi vakalarında tükürük ve eritrosit arginazı aktiviteleri saptanmaya çalışılmıştır.

Hiperprolaktinemi vakalarında arginaz aktivite düzeyi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

MATERYAL VE METOD

Araştırmamızda Trakya Üniversitesi Hastanesi polikliniklerine başvuran 20'si II. trimester, 20'si III. trimester olmak üzere toplam 40 gebe ve 10 hiperprolaktinemi vakasından sabah aç karnına alınan tükürük ve kan örnekleri kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak, sağlık sorunu olmayan kız öğrenciler ve laboratuvar çalışanlarından alınan 20 örnek kullanılmıştır.

Alınan tükürük örnekleri Vorteks karıştırıcı ile 2 dakika karıştırılıp, 10.000 rpm'de, 15 dakika süreyle santrifüje edilerek tortularından uzaklaştırılmış ve buzdolabında +4°C'de saklanarak üç gün içinde enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

Kan örnekleri, kol veninden heparinli tüplere alınmıştır. Eritrositler santrifüj edilerek ve soğuk serum fizyolojik ile üç kere yıkanarak plazmadan ayrılmış, MnCl₂ ile hemoliz edilerek hemolizat haline getirilmiş, 3 gün içinde enzim kaynağı olarak kullanılmak üzere +4°C de saklanmıştır. Arginazın, Mn⁺⁺ iyonları ile 55°C'de preinkübasyonu enzim aktivitesini ve dayanıklılığını artırmaktadır (5,19,20). Çalışma öncesinde tükürük örnekleri 6 mM. MnCl₂ de 20 dakika, hemolizat 2,5 mM. MnCl₂'de 10 dakika, 55°C'de preinkübasyona tabi tutulmuştur.

Aktivite ölçümü, substrat olarak kullanılan argininin, arginazla hidrolizi sonucu oluşan ürenin miktarının TDMU (Tiyosemikarbazid Diasetil Monoksim Üre) yöntemi ile spektrofotometrik

TABLO I. Gebelerin, hiperprolaktinemilerin ve kontrol grubunun tükürük arginazı aktivite düzeyleri.

	Ünite	Özgül Ünite
Kontrol Grubu (n=20)	6,88 ±2.65	5,24 ±1.45
2.Trim Gebeler (n=20)	30,88 ±18.4*	19,12 ±8.56*
3.Trim Gebeler (n=20)	40,89 ±20.3*	24,81 ±8.31*
Hiperprolaktinemiler (n=10)	34,71 ±22.2*	19,92 ±6.8 *

* İstatistiksel olarak anlamlı, p=0

olarak saptanması ile gerçekleştirilmiştir (21). Reaksiyon ortamında; 0.4 ml., 50 mM. L-arginin, 0.4 ml. 100 mM karbonat tamponu ve 0.2 ml. enzim kaynağı vardır ve pH'ları 9.7'ye getirilmiştir. Reaksiyon süresi tükürük için 20 dakika, eritrositler için 10 dakika olarak belirlenmiştir.

Enzim aktivitelerinin tanımında ünite terimi kullanılmıştır.

ÜNİTE ; 1 ml. enzim kaynağında, tükürük için 1 saatte, eritrosit için 1 dakikada 37°C de, substrat olarak kullanılan L-Arginin'den oluşan ürenin µmol olarak ifadesidir.

Enzim aktiviteleri, tükürükte ml.deki protein miktarına, hemolizatta ise ml.deki hemoglobin miktarına bölünerek standardize edilmeye çalışılmış ve özgül ünite olarak tanımlanmıştır.

Tükürükte ünite: µmol üre/saat/mg.protein

Eritrositte ünite: µmol üre/dakika/mg. hemoglobin

Tükürük protein miktarları değiştirilmiş Lowry yöntemi (22) ile, hemoglobin miktarları Drabkin yöntemi ile tespit edilmiştir (23).

Serum prolaktin düzeyleri RIA yöntemi ile Monobind firmasının hazır kitleri kullanılarak, nükleer tıp laboratuvarında saptanmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda 2. ve 3. trimestr olarak 2 gruba ayrılan normal gebelerin ve hiperprolaktinemili hastaların tükürük ile eritrositlerindeki arginaz enzim aktiviteleri saptanmış, gebe olmayan sağlıklı kişilerle (kontrol grubu) ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

Gebe grubundaki kadınların yaş ortalaması 27, kontrol grubu kadınların ise 25.5, hiperprolaktinemili kadın hastaların yaş ortalaması 31'dir. Hiperprolaktinemi tanıları klinik olarak konmuş ve

laboratuvar ile doğrulanmış olan hastalardan kan ve tükürük örnekleri tedavileri başlamadan alınmıştır.

Tablo I'de görüldüğü gibi gebe gruplarının ve hiperprolaktinemili hasta grubunun tükürük arginazı özgül aktiviteleri birbirlerine yakın düzeydedir. Hem hiperprolaktinemi, hem de gebe gruplarının tükürük arginaz aktiviteleri kontrol grubuna göre 4 ila 5 kat artış göstermektedir. Bu istatistiksel olarak kesin anlamlıdır (p=0).

2.Trimestr gebeler ile hiperprolaktinemi grubunun sonuçları birbirine çok yakındır. En yüksek aktivite 3.trimestr gebelerde bulunmuştur (p=0.039).

Tablo II'de görüldüğü gibi eritrositlerde sonuçlar farklıdır. Tükürükteki sonuçların aksine hem gebe gruplarında hemde hiperprolaktinemilerde, kontrol grubuna göre küçük bir düşme gözlenmiştir. Ancak sadece 3.trimestr gebelerde gözlenen düşme 0,05 seviyesinde anlamlı görünmektedir. Diğer gruplarda gözlenen düşmeler istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Hiperprolaktinemili hastaların kan prolaktin düzeyleri ile tükürük arginaz aktiviteleri arasında zayıf bir korelasyon vardır. $r = 0,30$ ($0,25 < r < 0,50$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsanda ne tükürükte ne de eritrositlerdeki arginaz enziminin işlevi konusunda bugün sahip olduğumuz bilgiler ışığında kesin bir yorum getirmek mümkün görülmemektedir. Gebelerde tükürük arginaz aktivitesinin araştırıldığı bir yayına rastlanmamıştır.

Laktasyon dönemindeki farelerin meme dokusunda saptanan arginaz aktivitesi karaciğer hariç tüm dokulardan daha yüksektir ve bu aktivite

TABLO II. Eritrosit arginazı aktivite düzeyleri

	Erit.Arg Akt.	U/Hb.
Kontrol (n=20)	54,31 ± 7.96	
2.Trim.Gebeler (n=20)	50,25 ± 11.8	p >0,05
3.Trim.Gebeler (n=20)	47,83 ± 9.06	p= 0,02 *
Hiperprolaktinemiler (n=10)	51,83 ± 8.89	p >0,05

* İstatistiksel olarak anlamlı (p<0,05)

TABLO III. Hiperprolaktinemiilerde Tükürük Arginaz Aktiviteleri (Özgül Ünite) ile Kan Prolaktin Düzeyleri (ng/ml)

Olgu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Arginaz	13,2	28,0	16,1	28,0	20,5	15,7	18,2	32,5	12,0	19,0
PRL	28,6	20,8	31,5	34,4	48,7	27,9	21,3	38,0	24,5	26,5

yüksekliği Yip ve Knox tarafından süt üretimi için artmış protein sentezi ile ilişkilendirilmiştir (7).

Arginazın substratı olan arginin, erişkinlerde esansiyel değildir fakat protein sentezinin hızlandığı gebelik ve çocukluk dönemlerinde esansiyel (besinlerle alınması zorunlu) aminoasit olarak kabul edilmektedir. Pau ve Milner; farelerde sağlıklı gebelik ve laktasyon için arginine gerek duyulduğunu, arginin eksikliğinin plasental RNA ve protein sentezini düşürdüğünü bildirmişlerdir (9).

Konarska ise ince barsak, böbrek ve beyin dokularında arginaz enziminin üre senteziyle değil poliamin senteziyle ilgili olduğunu öne sürmektedir (10).

Çalışmamızda saptadığımız gebelerin tükürüğündeki arginaz aktivite artışı, literatürdeki gebe farelerin özellikle meme dokusu olmak üzere karaciğer, böbrek, bağırsak ve plasenta gibi bazı dokulardaki gözlenen aktivite yüksekliği ile paralellik içindedir (7,11).

İnsan eritrositlerinde gebelik döneminde yapılan bir çalışmada eritrosit arginaz aktivitesinde %30'a varan düşme gözlenmiştir (25). Bu gözlem de bizim çalışmamızla uyumludur.

İşlevini bilmesek de tükürükte saptanan bu artış muhtemelen gebelikte düzeyi yükselen hormonlarla ilişkilidir. Arginaz enziminin hormonlardan etkilendiğini bildiren birçok araştırma mevcuttur. Hayvan ve doku kültürü deneylerinde kortikosteroidler, glukagon, östrojen ve tiroid hormonunun karaciğer arginazını aktive ettiği gösterilmiştir. Testosteronun ise böbrek arginazını aktive ettiği, karaciğer arginazına ise bir etki yapmadığı gösterilmiştir (10-13).

Hiperprolaktinemi, kadınlarda ovulasyon bozuklukları, düzensiz adet ve sterilite, galaktore, hirsutismus gibi belirtilere yol açan klinik bir durumdur (26). Hiperprolaktinemili hastaların tükürük arginaz aktivitelerindeki 4 kat yükselme ve gebelerdeki sonuçlar ile olan benzerliği dikkat çekicidir. İnsanda hiperprolaktinemi ile arginaz enzimi arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlayamadık.

Gebelerde tükürük arginaz aktivite artışında gebelik döneminde yükselen birçok hormon etkili olmuş olabilir. Hiperprolaktinemiilerde ise prolaktin dışında diğer gebelik hormonları yükselmez, östrojen ve progesteron düzeylerinde ise düşme gözlenir. Seks hormonlarının ritmik salgıları

bozular. Sadece testosteron ve dehidroepiandrosteron seviyelerinde nispi bir yükselişten bahsedilebilir (26,27).

Prolaktin hormonu (PRL), 198 aminoasit içeren, molekül ağırlığı 22-23.000 dalton olan polipeptit hormondur. Yarı ömrü kesin saptanamamakla birlikte 7-29 dakika arasındadır. Reseptörleri hemen hemen her organda bulunur. Gebelerde serum PRL düzeyleri 8. haftadan itibaren artmaya başlar, doğum yaklaştığında düzeyi 10 kat artarak 180 ng/ml'ye erişir. İnsanda laktasyonu düzenleyen temel hormondur ancak bunun dışında tam açığa kavuşturulamamış birçok etkisinden bahsedilmektedir. Prolaktin büyüme hormonu ile yapısal olarak aynı ailedendir (14,15,18,28-30).

Hayvan deneylerinde büyüme hormonu eksikliğinde onun etkilerine benzer etkiler oluşturabildiği, protein sentezini etkileyerek azot dengesini pozitif döndürebildiği gösterilmiştir. Meme epitelinde protein sentezini artırır. Sütteki kazein proteinin sentezinden sorumludur (14, 15).

Henüz tam olarak açıklanamamış olan prolaktinin etki mekanizmasında, c-GMP, prostaglandinler ve poliaminlerin rolü tartışılmaktadır (18,30,32).

Arginazın etkisiyle oluşan ornitinden sentezlenen poliaminler (spermin, spermidin ve putresin); memeli embriyogenezini de içeren fizyolojik ve patolojik büyümenin düzenlenmesinde önemli rol oynayan biyomoleküllerdir. DNA ve RNA biyosentezinin uyarılması, hücre proliferasyonu ve büyümesi ile yakından ilişkilidir (10,31).

Prolaktinin etki mekanizmasında poliaminlerin rolü olduğu ve poliamin sentezi engellendiğinde, prolaktin etkisinin de azaldığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Deneysel olarak prolaktin, fosfoprotein sentezini uyarmakta ancak poliamin sentezi engellendiğinde bu etkisi düşmektedir. Laktoz sentezi üzerine de prolaktinin etkisi için poliaminlerin gerekliliği gösterilmiştir. Prolaktin, poliamin biyosentezinde anahtar enzim olan, ornitin dekarboksilazı uyarmaktadır. Seminal bezlerde doku büyümesine ve poliamin seviyesine doğrudan uyarıcı etkisi vardır (16-18,32).

Buradan hareketle, hem arginazın hemde prolaktinin poliaminlerle ve protein sentezi ile ilişkilerini göz önünde tutarak çalışmamızın sonuçlarını değerlendirdiğimizde ekstrahepatik

arginazın, prolaktin hormonundan pozitif olarak etkilendiği spekülatif olarak ileri sürülebilir.

Hiperprolaktinemili hasta tükürüklerindeki arginaz aktivitesinde saptadığımız belirgin artışın, çok örnekli yeni çalışmalar ile desteklenmesi halinde, hiperprolaktinemi tanısında yardımcı bir bulgu olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Hastalardan alınan bir tükürük örneğinde arginaz aktivite tayini için klasik biyokimya gereçleri yeterlidir.

Radyoimmün yöntemler ile prolaktin tayini her laboratuvarda yapılamamakta, kullanım ömrü çok kısa olan radyoaktif kit'ler ve gama sayıcı alet gerektirmektedir. Ayrıca radyoimmün yöntemlerle ölçülen prolaktinin biyoaktivitesi değil, immünoaktivitesidir ve klinik bulgularla her zaman uyumlu değildir. Klinik belirtileri olan ancak kan prolaktin seviyelerinin ölçümü normal çıkan vakalar (latent hiperprolaktinemi) vardır (33). Hiperprolaktinemilerde gözlemlediğimiz arginaz aktivite artışı eğer prolaktin hormonundan kaynaklanıyorsa bu

prolaktinin biyoaktivitesini ifade eder ve latent hiperprolaktineminin tanısında yardımcı olabilir.

Sonuç olarak;

1-Arginazın birçok hormondan etkilendiği bilinmektedir. Gebelerin ve hiperprolaktinemili hastaların tükürük arginaz aktivitelerinde benzer olarak 4 ila 5 kat artış saptanması, muhtemelen prolaktin hormonunun etkisinden kaynaklanmış olabilir.

2-Gebelerde ve hiperprolaktinemilerde, tükürük arginaz aktiviteleri artarken, eritrosit arginazı artmamakta tersine küçük (% 7-13) bir düşüş göstermektedir. Bu zıt etkilenmeler, literatürdeki "insanda arginaz enziminin en az iki gen tarafından kontrol edildiği" tezini desteklemektedir.

3-İlk defa bizim tarafımızdan saptanan hiperprolaktinemili hastalardaki tükürük arginazı aktivite artışı dikkat çekicidir. Çok örnekli yeni çalışmalar ile desteklenmesi halinde hiperprolaktinemi vakalarının laboratuvar tanısında kullanılabilceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Murray RK, Mayes PA, Granner DK and Rodvell VW. Proteinlerin ve Aminoasit Azotunun Katabolizması. In Harper'ın Biyokimyası. A Lange Medical Book. Çev.Menteş G, Ersöz B. İstanbul, Barış Kitabevi. 22.baskı.1993, 340-353.
2. Lubońska MK, Zamecka E and Poremska Z. The isolation and Immunological Properties of Two Arginase Forms from Human Erythrocytes. *Biochem Med and Metab Biol* 39: 247-257, 1988.
3. Zamecka E and Poremska Z. Five Forms of Arginase in Human Tissues. *Biochem Med and Metab Biol* 39:258-266, 1988.
4. Konarska L, Tomaszewski L and Roleyk U. Studies on L-Arginase in eveloping Rat Small Intestine, Brain and Kidney. I. Ontogenic Evolution of arginase isoenzymes. *Biochem Med and Met Biol* 35: 156- 69, 1986.
5. Konarska L, Tomaszewski L, Colombo JP and Terheggen HG. Human Salivary Arginase and its Deficiency in Argininaemia. *J Clin Chem Biochem* 23:337-342, 1985.
6. Pohjanpelto Pand Holtta E. Arginase Activity of Different Cells in Tissue Culture. *Biochim Biophys Acta* 757 (2): 191-195, 1983.
7. Yip CM and Knox WE. Function of Arginase in the Lactating Mammary Gland. *Biochem J* 127:893-899,1972.
8. Mendez JD, Yanez R and Wong C. Uterine Arginase Inhibition Affect the Rat Embryonic Development. *Contraception* 33 (6): 597- 604, 1986.
9. Pau MY and Milnes JA. Arginine Deficiency during Gestation and Lactation in the Rat. *J Nutr* 111: 184-193, 1981.
10. Konarska L, Tomaszewski L and Rolczyk U. Studies on Arginase in Developing Rat Small Intestine, Brain and Kidney. II. Effect of Hydrocortisone and Thyroxine. *Biochem Med and Met Biol* 35 (2) : 170 - 178, 1986.
11. Matsuzaki S, Suzuki M and Hamana K A. Possible Role of Arginase in the the Regulation of polyamine biosynthesis in the Rat Thyroid. *Acta Endocrin* 98:57-61, 1981.
12. Husson A and Vaillant R. Hormonal Regulation of Three Urea Cycle Enzymes in Rat Fetal Liver. *Biol of the Neonat* 35: 74-81, 1979.
13. Ulbright C and Snodgrass PJ. Coordinate Induction of the Urea Cycle Enzymes by Glucagon and Dexamethason is Accomplished by Three Different Mechanizms. *Arc Biochem Biop* 301: 237-243, 1993.
14. Greenspan FS and Forsham PH. Anterior Pituitary. In: Basic&Clinical Endocrinology. Middle East Edit. California. 1983, 38-88.
15. Atasü T. Reprodüktif Endokrinoloji Dışında Prolaktin. In: Prolaktin Patolojisi ve Kliniği. İstanbul, Başkent Yayınları, 1984, 203-207.
16. Oppat CA and Rillema JA. Cyclic Nucleotides and Polyamines in Prolaktin Prolactin Stimulation of Lactose Biosynthesis. *Am J Phys* 257: E318-322, 1989.
17. Linebaugh BE and Rillema JA. Polyamine Influences on the Prolactin Stimulation of Phosphoprotein Synthesis in Hydroxyurea Synchronized MCF -7 Human Mammary Epithelial Cells. *Horm Metab Res* 23: 414-422, 1991.
18. Atasü T. Prolaktin Reseptörleri ve Etki Mekanizması. In: Prolaktin Patolojisi ve Kliniği. İstanbul, Başkent Yayınları, 198481-90.

19. Ozan S ve Gülen Ş. Sığır Tükürüğünde Arginaz Enzimi ve Özelliklerinin Tükürük Bezleri, Eritrosit ve Karaciğer Arginazları ile Karşılaştırılması. *Doğa Derg* 13:154-163, 1989.
20. İlhan N ve Gülen Ş. Tiroid Arginaz Enzim Aktivitesinin Farklı Metal İyonları Varlığında Isıya Karşı Stabilitesi. *Biyokimya Dergisi*, 4:59-67, 1993.
21. Gayer JW and Dabich D. Rapid Method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Analytic Biochem* 39:412-417, 1986.
22. Schacterle GR and Pollack RL. A Simplified Method for the Quantitative Assay of Small Amounts of Protein in Biologic Material. *Analytical Biochemistry*. 51: 651-655, 1973.
23. Kadowaki H and Nesheim MC. An Assay for Arginase in Chicken Kidney. *Comp Biochem Phys* 61: 281-285, 1978.
24. Remesar X, Arola L, Palou A and Alemany M. Arginase Activity during Pregnancy and Lactation. *Horm Met Res* 16: 468-470, 1984.
25. Özdemir Y, İlhan N, Halifeoğlu İ ve Gülen Ş. Biokimyasal Parametrelerin Gebelik Boyunca Değişimi. *Biyokimya Dergisi*. XV: 33-40, 1990.
26. Blackwell RE. Hiperprolaktinemia Evaluation and Management. *Endoc Met Clin North Am* 21: 105-124, 1992.
27. Atasü T. Prolaktin Hormon Fizyolojisi. In: Prolaktin Patolojisi ve Kliniği. İstanbul, Başkent Yayınları, 1984, 21-58.
28. Atasü T. Prolaktinin Meme Gelişimine ve Fizyolojisine Etkileri. In: Prolaktin Patolojisi ve Kliniği. İstanbul, Başkent Yayınları, 1984, 171-192.
29. Atasü T, Şahmay S. Hormon Biyokimyasının Prensipleri. *Reproduktif Endokrinoloji*. 1: 15-31, 1990.
30. Yen SS and Jaffe RB. Prolactin in Human Reproduction. In: Reproductive Endocrinology. W.B. Saunders Comp. 3th Edit. 1991, 357-381.
31. Murray RK, Mayes PA, Granner DK and Rodwell V.W. Aminoasitlerin Özel Ürünlere Çevrilmesi. In: Harper'ın Biyokimyası. A Lange Medical Book. Çev: Menteş G, Ersöz B. İstanbul, Barış Kitabevi. 22.baskı 1993, 382-394.
32. Gonzales SI, Chandrashekar V, Shire JG, Luthy IA and Bartke A. Effects of Hyperprolactinemia on Ornithine Decarboxylase Activity and Polyamine Levels in Seminal Vesicles of Genetically Prolactin-Deficient Adult Dwarf Mice. *Biol of Repro* 44: 321-326, 1991.
33. Atasü T. Prolaktin Patolojisi. In: Prolaktin Patolojisi ve Kliniği. İstanbul, Başkent Yayınları. 1984, 91-128.