

ENDOKRİNOLOJİ VE HAYVANSAL ÜRETİM

4. Hafta

Prof.Dr. Gürsel DELLAL

4.HAFTA:HORMON ANALİZ YÖNTEMLERİ

(Polat, 2001.Hormon Analiz Yöntemleri. Doktora Semineri.
A.Ü.Fen.Bilimleri.Enstitüsü.Danışman:Prof.Dr.Gürsel Dellal)

Hormon, iç salgı bezler (Endokrin glandlar) tarafından salgılanarak kana verilen, bazı organların aktivitelerinde etkili olan ve metabolik olayları regüle eden maddelerdir. Hormonlar kimyasal özelliklerine göre 3 grupta toplanır. **Polipeptit ve protein yapısında olanlar;** Hipotalamus, hipofiz, paratiroid ve pankreas tarafından salgılanırlar. Bunların bazıları, TSH, FSH, LH, ACTH, STH, MSH, parathormon, kalsitonin, insülin gibi.

Steroid yapıdaki hormonlar; Surrenal korteksi ve gonodlardan salgılanırlar. Bunlar, Aldosteron, kortikosteron, testosteron, progesteron, östrojenler gibi.

Amin hormonlar: bunlar aminoasit yapısında olup, triod bezi ve surrenal medulası tarafından salgılanırlar. T₃ (Trilodotironin), T₄ (Tiroksin), adrenalın, noradrenalın gibi.

4.HAFTA:HORMON ANALİZ YÖNTEMLERİ

Hormonlar çok az miktarlarda üretilirler. Kandaki ölçüleri miktar açısından çok azdır. Görevleri açısından büyük önem taşırlar. Patolojik bir olgu durumunda kandaki miktarlarının değişmesi (azalması veya çoğalması) hastalığın tanısında büyük önem taşımaktadır. Aynı zamanda verilen tedavinin olumlu ve olumsuz yönleri, tedavi aşamasında hormon düzeylerinin ölçümü önemlidir. Dolayısıyla hormon analiz yöntemleri önemli bir yer teşkil eder.

Günümüzde hormon analizleri ileri teknolojiler kullanılarak çok rahat, seri hızlı bir şekilde yapılmaktadır. Analizlerde genelde hormonların, antikor-antijen ilişkisinden, protein yapılarından yararlanılarak tespitleri mümkündür.

Son yıllarda, hormon analiz yöntemlerinin kullanım alanları veteriner hekimlikte ve hayvancılık alanında yaygınlaşmıştır. Özellikle hayvancılıkta döl verimi, gebelik ve kısırlık kontrollerinde büyük önem taşımaktadır. RIA (Radioimmunoassay) nanogram ve pikogram düzeyindeki duyarlılığından dolayı hayvan yetiştiriciliğinde önem kazanmıştır.

4.HAFTA:DEVAM

IMMUNOASSAY

Radyoimmunoassay (RIA) ve enzim immunoassay (EIA) radyoaktif veya enzim işaretli proteinler kullanılarak antijen veya antikor tayin edilir. RIA, pekçok ilaç, hormon, antijen ve benzer maddeleri belirlemede kullanılır, teşhis, tedavi ve hormonal fonksiyonları değerlendirmede faydalıdır. EIA, enzim işaretli spesifik antihuman IgG (IgM veya IgA) kullanılarak sabit bir antijene, bağlanması ile tayin edilir.

1- RADIOIMMUNOASSAY

Radioassay'lerin bir dalı olan, Radioimmunoassay (RIA), adından da anlaşılacağı gibi, radyoaktif atomların spesifik immuno-kimyasal reaksiyonlarda kullanılmasıdır. Radyoaktif atomların immüno-kimyasal reaksiyonlarda ilk olarak 1960 yılında Berson ve Yalow adlı araştırmacılar tarafından insülün tayininde denenmiştir.

4.HAFTA:DEVAM

Radioimmunoassay yönteminin klinik laboratuvarlarında kullanılmağa başlamasından en fazla etkilenen Tıp dallarından biri de Endokrinoloji ve metabolizma Hastalıkları olmuştur. Bugün Modern Endokrinoloji ve metabolizma laboratuvarlarında kullanılmakta olan klasik metodlar yerlerini RIA yöntemine bırakmaktadır. RIA ile rutin olarak yapılmaktadır.

Bilindiği gibi hormonlar, vücudumuzdaki endokrin glandlar (bezler) tarafından salgılanarak kana verilen ve ilgili organlar üzerinde büyük fizyolojik etkileri olan, metabolik olayları regüle eden kimyasal maddelerdir. Hormonların biyolojik sıvılardaki seviyeleri ug, ng ve pg mertebesindedir. Bu kadar küçük miktarlarda buldukları halde fizyolojik tesirleri büyük olan bu maddelerin biyolojik sıvılarda tesbit ve tayinleri büyük önem taşımaktadır.

4.HAFTA:DEVAM

RADIOIMMUNOASSAYIN PRENSİBİ:

RIA tekniğinde serumda miktar tayini yapılacak hormon veya ilaç molekülüne karşı hayvanlarda anti serum hazırlanır. Bu hazırlanan hormon ile hazırlanan anti serum, maksimum miktarda birbiri ile özgül olarak birleşmesi gerekir. Anti serumu hazırlana antijen molekülü radyoaktif maddelerle işaretlenir. ^3H (Tritium), I^{125} veya I^{131} gibi radyoaktif maddeler kullanılır. En çok I^{125} dir. Çünkü yarılanma süresi (bozulma) 60 gündür. I^{131} de ise 8 günlük yarılanma süresi vardır. Anti serum radyoaktif madde ile işaretlenmesi antijeni immünolojik özgülüğünü değiştirmemektedir.

Testte kullanılabilirliği olan bir anti serum, işaretli antijenin % 70 ile birleşebilmektedir. Testin yapılışında işaretlenmemiş hormon anti serum ile karıştırılır. Daha sonra işaretli antijen ilave ediler. İşaretli antije ve işaretlenmemiş antijen, antikor ile reaksiyona girdikten sonra antijen-antikor kompleksi çeşitli

4.HAFTA:DEVAM

yöntemler ile çöktürülür. Çökelekte radyoaktivite ölçümü yapılarak, antikorun ne kadar kısmının işaretli antijenle birleştiği saptanır. Çökelekteki radyoaktivite ölçümü ne kadar az ise, antikorun büyük bir kısmı numunedeki işaretlenmemiş antijen ile birleşmiş demektir. Numunedeki bilinmeyen hormon veya çeşitli antijenik maddelerin niceliksel ölçümü için, bu antijen ile daha önceden standart eğrisinin çizilmesi gereklidir. Şekil 1 deki grafikte görüldüğü gibi test, işaretlenmemiş antijeni üç ayrı sulandırımı ile yapılır. Bu üç ayrı sulandırımındaki antijen miktarı apsis üzerinde, çökelekte saptanan radyoaktivite ölçümü ordinat üzerinde gösterilerek standart eğri çizilir. Daha sonra numunelerdeki hormon miktarı testte okunan radyoaktif değerlerin eğriye uygulanması ile saptanır.

4.HAFTA:DEVAM

Bu yöntemin ikinci safhası, reaksiyon sona erdikten sonra, işaretli serbest antijen ile işaretli bağlanmış antijeni birbirinden ayırmaktır. Burada antijen molekülü çok küçük olduğundan kendiliğinden bir çökme olmamaktadır. Bu ayırmada çeşitli fiziko kimyasal veya immünolojik teknikler kullanılabilir. Örneğin; talk veya aktif kömür ile serbest antijen bağlanarak çöktürülür. Üst sıvıda antikor ve işaretli antijen kalır. İmmünolojik teknik ile antijen-antikor kompleksi çöktürülebilir. Ortama teknikte kullanılan antikora karşı hazırlanmış anti serum ilave edilerek antijen-antikor kompleksi presipite edilir genellikle bu immünolojik yöntem kullanılmaktadır. Burada kullanılan anti-antikorun hiçbir hormon antijeni ile birleşmemiş olması gerekir. Antijen antijen kompleksini çöktürmek için Farr tekniği de kullanılabilir. Bu teknikte antijenle birleşen antikoru çökertmek için % 50 amonyum sülfat kullanılır. Burada serbest kalan antijenin amonyum sülfatta çözelti halinde olması gerekir. Çökeltiği santrfüj ve yıkama ile ayırdıktan sonra radyoaktif sayaçda (gama spektrometresi) okunarak bağlı antijen oranı hesaplanır.

Steroid hormonlar antijenik olmadıkları için taşıyıcı proteinler bağlanarak bu hormonlara karşı özgül antikorlar oluşturulur.

4.HAFTA:DEVAM

RIA İLE TAYİN EDİLEN BELLİ BAŞLI HORMONLAR VE BİLEŞİKLER

HİPOFİZ BEZİNİN FONKSİYONLARI İÇİN:

- FSH (Folikül stimüle eden hormon)
- LH (Luteinleştirici hormon)
- GH (Somatotropik hormon)
- TSH (Tiroidi stimüle eden hormon)
- MSH (Melanositleri stimüle eden hormon)
- ACTH (Adrenokortikotropik hormon)
- Prolaktin

4.HAFTA:DEVAM

TİROİD BEZİNİN FONKSİYONLARI İÇİN:

- T₃ (Triiodotironin)
- T₄ (Tetraiodotironin = Tiroksin)
- TBG (Tiroksin bağlayan globulin)
- Serbest T₃
- Serbest T₄
- Revers T₃
- Tiroid hormonlarının, bazı formüller yardımı ile etki ve fonksiyonlarının tayini (FTI, FTA, ETI v.s) v.s.

PARATİROİD BEZİNİN FONKSİYONLARI İÇİN:

- Parathormon
- Cyclic AMP
- Calcitonin (Aynı zamanda tiroidin muayyen tümörlerinin tesbiti için)

PANKREAS FONKSİYONLARI İÇİN:

- İnsülin
- Glukogon
- Proinsülin

4.HAFTA:DEVAM

SURRENAL FONKSİYONLAR İÇİN:

- Plazma kortizolu
- Pregnanetriol
- Dehidroepiandrosteron
- Androstendion
- Aldosteron, Renin, Angiotensin
- Medulla hormonlar ve deriveleri, c-AMP, c- GMP v.s.

GONAD FONKSİYONLARI İÇİN:

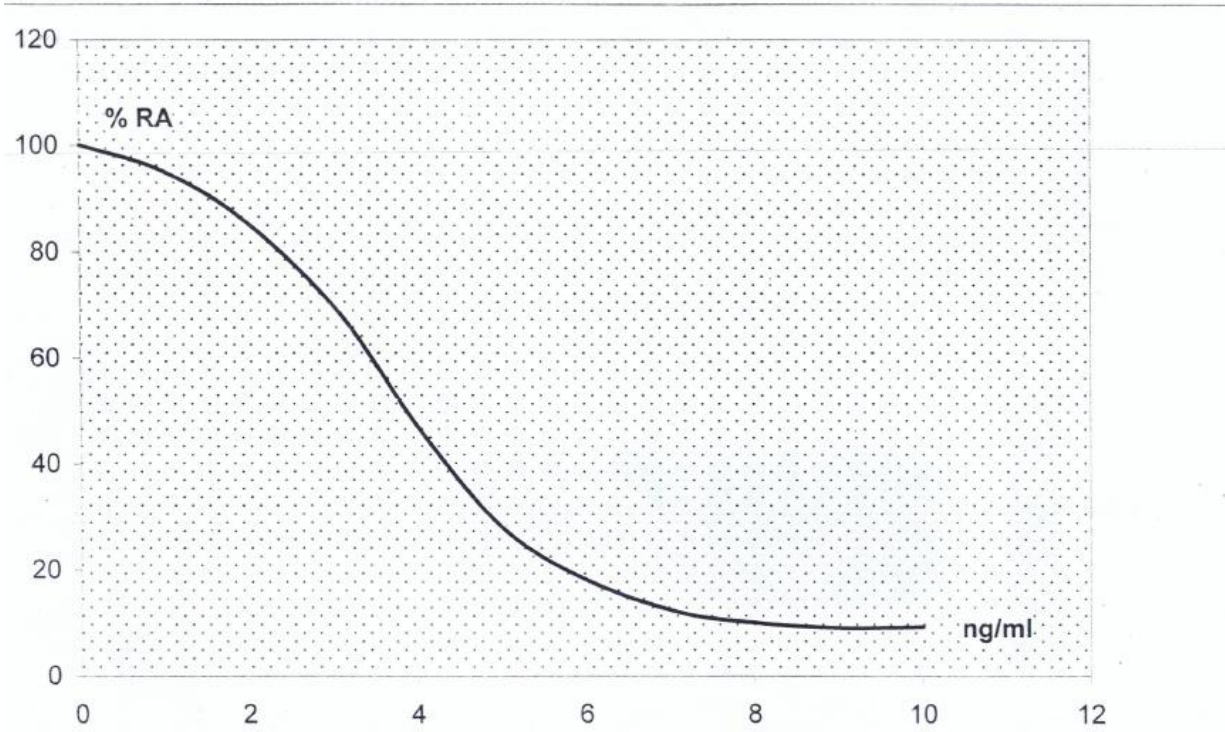
- Testosteron
- Dehidrotestosteron
- Total Östrojenler ve fraksiyonları
- Progesteron
- Etiokolanolon
- Androsterone, v.s.

GASTRO-ENTESTİNAL HORMONLAR:

Gastrin v.s.

Bunların dışında RIA ile Virütik araştırmalar, Anti DNA antikorları, Prostaglandinler, IgE ve Vitamin B 12 tesbitide yapılmaktadır.

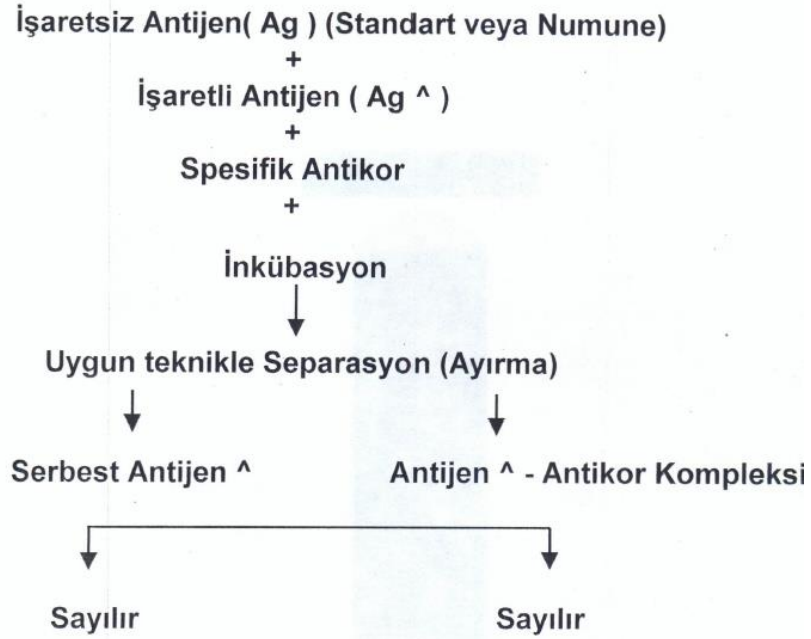
4.HAFTA:DEVAM (Polat 2001)



Şekil 1: Bir standart veya Doz-Cevap Eğrisi

(x-ekseninde antijen konsantrasyonları, y-ekseninde % bağlı R.A gösterilmiştir.)

4.HAFTA:DEVAM(Polat 2001)



Şekil 2: Bir Radioimmunoassay çalışma şeması

4.HAFTA:DEVAM

DİĞER RADIOASSAY'LER:

Radio-enzimatik assay: Bu yöntemde bağlayıcı ajan olarak enzimler kullanılır.

Radioreseptör assay: Bu yöntemde bağlayıcı ajan olarak kısmen saflaştırılmış doku reseptörlerinden faydalanılır.

Immuno-radiometrik assay: Bu yöntemde RIA'nın, aksine, antigen yerine antibody bir radyoaktif atomla işaretlenmiştir.

Radio-“Displacement”assay: Bu yöntemle hasta serumuna tayin edilecek hormonun, işaretli ve işaretli preparatı aşırı miktarlarda ilave edilerek inkübasyona tabi tutulur. Bağlı ve serbest fonksiyonlar RIA'daki gibi aynıdır.

4.HAFTA:DEVAM

2- ELİSA IMMUNOASSAY:

Enzime bağlı immunosorbent tekniği-Enzyme linked immunosorbent assay. Elisa yöntemi (EIA) ile günümüzde en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Hem hızlı sonuç vermesi hemde aşamalarının daha kolay olması nedeniyle tercih edilmektedir. Günümüzdeki tüm hastanelerin laboratuvarının tercih ettiği yöntemden birisidir. Bu yöntemde hormonların protein yapısından yararlanılmaktadır. Bu proteinleri tanıyan spesifik enzimler uygun ortamlarda çeşitli aşamalardan geçirilerek birleşmesi sağlanır. Bu bileşikler filtre sistemi ile süzülerek bir yüzeyde (filtre yüzeyi) toplanır. Bunlar üzerinde çeşitli dalga boylarında ışık (spektrofotometrik) geçirilerek yüzde konsantrasyonları hesaplanır. Her teste özgü bir kalibrasyon uygulanarak hesaplamaları ortaya çıkarılır. Günümüzde bu yöntem tamamen otomasyon şeklinde yapılmaktadır. Manuel sistem hemem hemen yok gibidir. Çok spesifik çalışmalarda kullanılır.

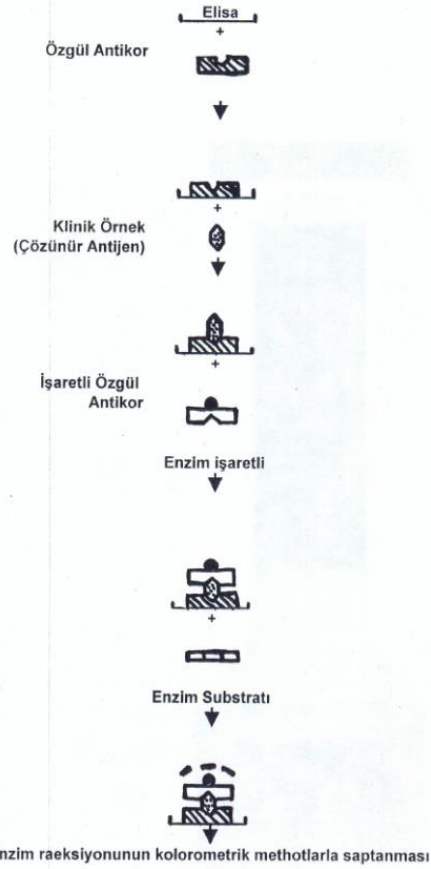
EIA yönteminin bir çok versiyonları mevcuttur. Bunlardan EMIT Enzim - Multiplied İmmunoassay tekniği, CEDIA Cloned enzyme donor immünoassay, FPIA Fluorasan Plolarizasyon immünoassay, MEIA Mikropartikler Elisa İmmunoassay. Bunların bir çoğunda aynı sistem uygulanmaktadır. Değişik olan kmlar kullanılan bazı birleşiklerin farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

4.HAFTA:DEVAM

ANTİKOR ÖLÇÜMÜNDE KULLANILAN İNDİREK YÖNTEM:

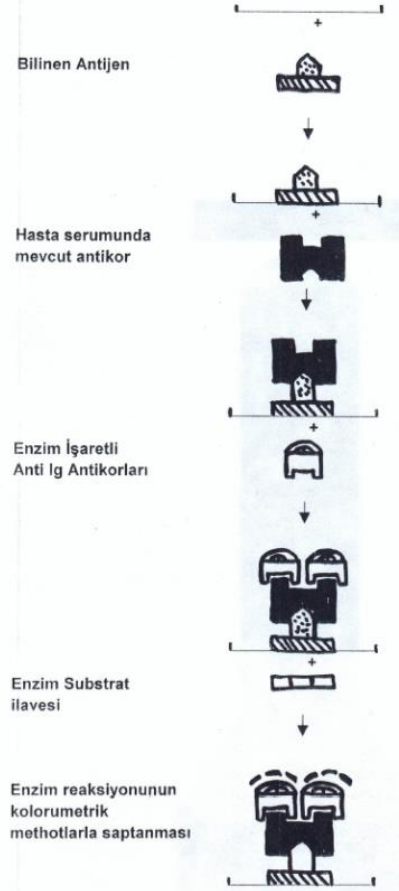
Bu yöntemde plastik kaplara bilinen antijen adsorbe edilir. Daha sonra bilinmeyen veya hasta serumu ile işleme sokulur, lastik kaba adsorbe ettiğimiz antijen özgül antikoru var ise, antijen- antikor birleşmesi olacaktır. Daha sonra enzim ile işaretli anti insan gamaglobulini işleme sokulur. Bu coombs serumuda, virüs ile birleşen antikora bağlanır. En sonunda yıkanmadan sonra cooms serumuna bağlı enzim substratı ilave edilir. Cooms serumunun işaretlenmesinde peroksidaz, alkelen fosfotaz ve beta galaktosidaz enzimleri kullanılır. Bu enzimleri açığa çıkması için de, örneği alkelen fasfotaz için 4-nitro-fenil fosfat, peroksidaz için 5-aminosalisilik kullanılır. Substrat ilaveis ile açığa çıkan renk gözle veya spektrometre ile okunur. (Şekil 3)

4.HAFTA:DEVAM (Polat 2001)



Şekil 3: Elisa Yönteminde Antikor ölçümünde kullanılan İndirekt yöntem.

4.HAFTA:DEVAM (Polat 2001)



Şekil 4: Elisa yönteminde antijen veya virüslerin ölçümünde kullanılan çift antikor sandviç yöntemi.

4.HAFTA:DEVAM

ANTIJEN VEYA VIRÜSLERİN ÖLÇÜMÜNDE KULLANILAN ÇİFT ANTİKOR SANDVIÇ YÖNTEMİ:

Bu yöntemde özgül antikor plastik kaba bağlanır. Daha sonra aranan antijeni içeren sıvı ile işleme sokulur. Daha sonra virusa veya antijene özgül enzim ile işaretli antikor ilave edilir. En son olarak enzim substartı ilave edilir. Burada renk oluşması ile ilk adsorbe edilen antikora özgül antijenin varlığı gösterilir. (Şekil 4)

ANTIJENİ ÖLÇMEK İÇİN İNDİREK ELİSA YÖNTEMİ:

Önce antijene özgül antikor plastil kaba adsorbe edilir. İkinci olarak test materyeli ilave edilir. Antijen var ise bağlanır. Daha sonra o antijene özgül antikor ilave edilir, en sonra da enzimle işaretli cooms serumu ve enzim substati konulur ve renk ölçülür.

4.HAFTA:DEVAM

3- CHEMILUMİNESENCE: İmmünoassay-CL= CL:

Bu yöntemin esası kimyasal reaksiyonlar sonucunda meydana gelen ışığın(Foton) emisyonu ile yapılır. Genellikle oksidasyon reaksiyonlar yüksek enerjilidir. Bu enerji bir ışın (foton) veya mavi ışın 450 nm ve 63.5 kcal/mol 'dür. Bu ışınlar genellikle luminometri denilen bir cihazın emisyonundan yararlanılır. Bu emisyonun konsantrasyonuna göre değerlendirme daha önce yapılmış olan kalibrasyon eğrisi üzerinden çıkarılır. Kimyasal reaksiyonlarda kullanılan bileşikler ise genelde akridium ester, oksalat ester, sülfonamid ve luminol dur. Aynı zamanda her hormona özgü bir anti-hormon antikorları kullanılmaktadır. Bu reaksiyonlar esnasında oluşturulan bir kararsız yapının bazik ve asidik bir ortamda karşılaştırılması sonucunda çok bir reaksiyonla enerjinin yani ışığın(foton) ortaya çıkması ile olur. Genelde bazik olarak sodyum hidroksit (NaOH) ve asidik madde olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanılır. Bu reaksiyonun sonucunda çıkan ışınlar kısabir süreli olduğundan 20 saniye içerisinde okuma yapılır.

CL ile bir çok hormon, vitaminler, tümer markırları, viral tarama, DNA analizi, enzim analizi, steroidler ve bazı proteinlerin miktar ve tayini yapılabilmektedir.

4.HAFTA:DEVAM

4- İMMUNOFLORESANS TESTİ:

İmmunofloresans yönteminin temeli, antikor molekülünün çeşitli floresan veren kimyasal bileşikler ile birleştikten sonra antikor molekülünün immünolojik özgüllüğünün değişmemesidir. 1941 yılında Coons'un dokudaki pnömokok polisakkaridlerinin yerleşme yerlerini saptamak üzere, pnömokok anti-serumunu beta-anthracene ile bağlaması, bu yöntemin kullanım alanına girmesini sağlamıştır. Mikrobiyolojik tanıda ve otoimmün hastalıkların tanısında çeşitli şekillerde uygulanmaktadır.

4.HAFTA:DEVAM

DİREKT YÖNTEM:

Direkt yöntemde örneğin, bir bakteri tanısında o bakteriye özgül antiserum, Fluorescein isothiocyanate (FITC) ile kimyasal olarak bağlanır. FITC yerine diğer bir floresans veren madde rhodamin ile de işaretleme yapılabilir. Rhodamin ile işaretlenen antikör boyanmalarında mikroskopta kırmızı renkli bir floresan görülür. Bu bakterinin şüphe edildiği ortamda alınan örnek, lam üzerine damlatılır. Belirli bir süre bekletildikten sonra yıkanır ve floresan ışık veren ışık kaynağı ile mikroskopta tetkik edilir. Mikroskopta bakterinin özel morfolojisinde floresan görünümlerin saptanması, olumlu sonucu gösterir. FITC ile işaretli antiserumlar ile yapılan boyamada, bakteriler yeşil-sarı renkte görülür.

Direkt yöntem özellikle hasta numunelerinde bakteri teşhislerinde çok kullanılmaktadır. Bugün dışkıdan enteropatojenik E.coli, boğazdan alınan örneklerde Beta-hemolitik streptokok grup A tanısında, kuduz tanısında kuduzlu beyinlerinde yapılan sürme preparatlarda Negri cisimciklerinin saptanmasında ve diğer birçok bakteri ve virus tanısında kullanılmaktadır. (Şekil 5)

4.HAFTA:DEVAM

İNDİREKT YÖNTEM:

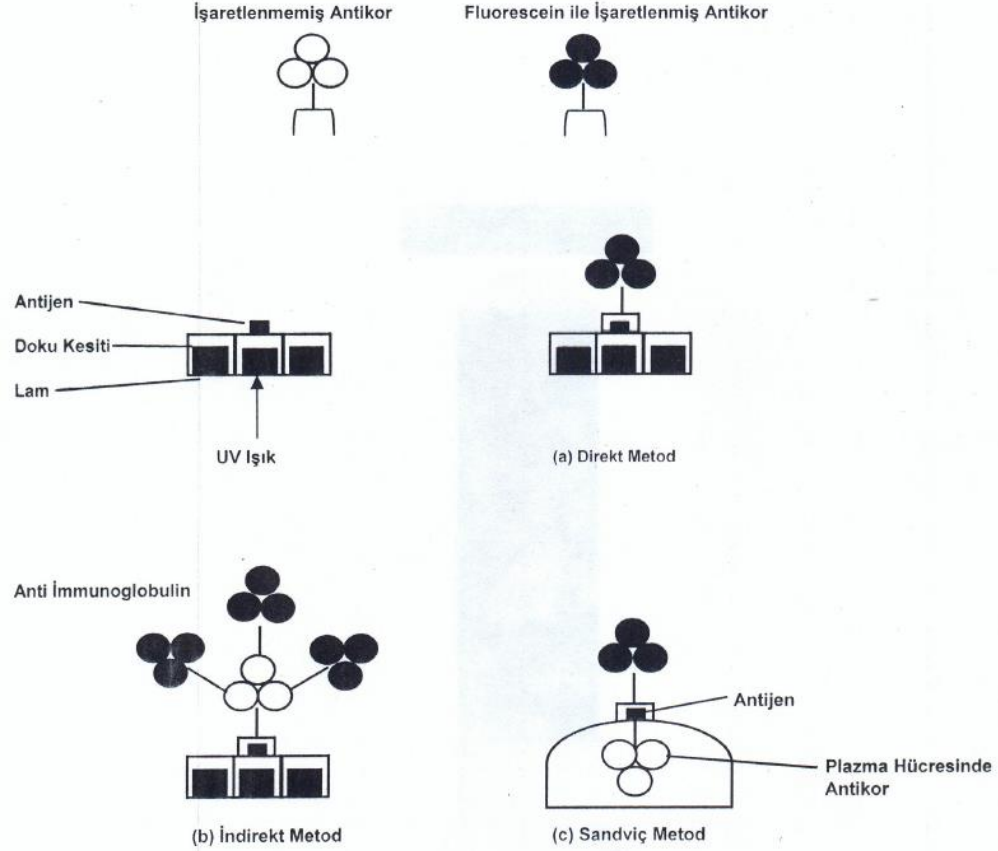
İndirekt yöntem genellikle hasta serumunda antikor varlığını saptamak için kullanılmaktadır.

Bu yöntemde antijen bir bakteri, bir hücre veya bir hücre organeli, örneğin hücre çekirdeği olabilir. Bu antijen üzerine hasta serumu konduğunda, eğer hasta serumunda, o antijene özgül antikor var ise, antijen ile birleşir ve daha sonra yıkandığında, birleşmemiş antikorlar veya diğer serum proteinleri temizlenmiş olur.

Bu preparat üzerine daha sonra FITC ile işaretlenmiş anti insan gamaglobulini ilave edilir. Hasta serumunda antijene özgül antikor var ise bu antikor preparatta antijene bağlı olarak kalır. Daha sonra ilave ettiğimiz işaretli anti-insan gamma globulini, antijene bağlı kalan antikor *molekülüne bağlanır*. Florescein ışıklı mikroskopda tetkik edildiğinde antijen varlığı özel morfolojisi ile görülür. Bu yöntemde bir tek işaretli anti-insan Ig kullanarak çok çeşitli antijenlere karşı hasta serumunda bulunabilecek antikorların araştırılması yapılabilir. Bu kolaylığın yanında indirekt yöntemde floresans daha parlak olarak görülmektedir. İndirekt yöntem, frenginin serolojik teşhisinde çeşitli virusların serolojik tanısında ve ençok otoantikorların saptanmasında kullanılmaktadır.

İndirekt teknik, anti-kompleman antiserumunun FITC ile işaretlenmesi ile de daha değişik bir şekilde uygulanabilir. Şöyleki indirekt teknikte antijen ve insan serumundaki antikorun birleşmesinden sonra ortam kompleman ile muamele edilir, daha sonra işaretli anti-kompleman serumu ilave edilerek özgül antijen ve antikor birleşmesinin varlığı gösterilebilir. (Şekil 5)

4.HAFTA:DEVAM (Polat 2001)



Şekil 5: İmmunoflorasan Yöntemi

4.HAFTA:DEVAM

SANDVIÇ YÖNTEM:

Bu yöntem bazı özel hallerde kullanılır. Örneğin, bir plasma hücresinde tifo basiline karşı antikor varlığı, göstermek istiyoruz. Bu hücreleri preparat üzerinde ethanol ile tesbit ettikten sonra, tifo antijen ile muamele ederiz. Tifo antikorunu var ise tifo antijeni ile birleşme olacaktır. Daha sonra tifo antijenine karşı hazırlanmış ve FITC ile işaretlenmiş antikor ile muamele edersek ortada tifo antijeni olmak üzere üçlü bir birleşmeyi floresan mikroskopunda göstermiş oluruz. (Şekil 5)

ANTİKOR MOLEKÜLÜNÜN DİĞER MADDELER İLE İŞARETLENMESİ:

Fluorescein isothyocyanate ile yapılan antikor bağlamalarında preparatlar sadece floresan ışıkta tetkik edilebilmekte ve en fazla 2-3 hafta saklanabilmektedir. Daha sonra floresan görünüm solmaktadır. Bu sakıncalardan ötürü. Antikor molekülünü başka işaretleme yolları araştırılmıştır.

Horseradish peroxidase ve phosphatase enzimleri ile yapılan işaretlemelerde preparatları normal ışık mikroskopları ve elekteron mikroskoplar ile tetkin etmek imkanları olmuştur. Elektron mikroskopi tetkikler için demir ihtiva eden bir protein olan ferritin ile antikor molekülüne bağlama yapılmıştır. Antikor molekülüne I^{125} radyoaktif isotopu gayet kolaylıkla bağlanabilir. Bu antikorunkullanıldığı preparatlar, duyarlı fotoğraf filmleri ile örtülerek, siyah renkli gümüş noktacıları antikorun bulunduğu yeri göstermekte kullanılır. Bu yöntemde otoradyografi denir.

4.HAFTA:DEVAM

İMMUNOFLOREASN TEKNİĞİNİN KULLANIM ALANLARI:

İmmunofloresans tekniği bugün en fazla otoantikörlerin aranmasında, Böbrek glomerülleri ve deri gibi, çeşitli dokularda Ig ve C birikmelerinin araştırılmasında, B lenfosit sayımında, çeşitli dokularda tümör ve transplantasyon antijenlerinin araştırılmasında, mikroorganizmaların ve diğer antijenlerin saptanmasında kullanılmaktadır.

5- BİOASSAY:

RIA yönteminden evvel, hormonların serum veya plazmada tayinleri, kompleks ve zaman alıcı ve biyoşimik metodlarla yapılmaktaydı. Örneğin; üzerinde pek çok araştırma yapılmış olan polipeptid hormonların tayinleri ancak bio-assay dediğimiz indirekt bir yöntemle yapılırdı. Bioassay yönteminde 24 saatlik idrar konsantre edilerek bir deney hayvanına enjekte edilir ve meydana getirdiği hormonal etki, bilinen hormon preparatının aynı cins diğer bir deney hayvanında meydana getirdiği hormonal etki ile kıyaslanırdı. Bu metodlar, duyarlılığı ve seçiciliği az, çok zaman alıcı ve neticeleri de tekrarlanabilir değildi. Bütün bu dezavantajlarına rağmen, Bio-assay yöntemi ile polipeptid hormonlar hakkında pek çok kıymetli fizyolojik bilgiler sağlanmıştır.

4.HAFTA:DEVAM

KAYNAKÇA

- 1-Kolođlu, Selahattin Prof. Dr. Radioimmünoassay 1977, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.
- 2-Bryant, Neville J. Laboratory Immunology and Serology 1992 Serological Servicesltd. Toronto, Ontario, Canada.
- 3-Tokgöz, Güner Prof.Dr. Klinik İmmünoloji 1997 A.Ü.Tıp Fak. Antıp A.Ş Yayınları.
- 4-Gülmezođlu, Ekrem Prof.Dr. Bağışıklığın Temelleri 1983 H.Ü. Tıp Fak. Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yayınları.
- 5-Kaymakçı, Mustafa Prof.Dr. Üreme Biyolojisi 1991 Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları.
- 6-Özsar, Semin Doktora Tezi 1983 H.Ü. Biyoloji Bölümü.