

**OTOLOG SERUM SUBSTRAFI İLE KANDA VE İDRARDA
PEPSİNOJEN AKTİVİTESİ TAYİN ÜZERİNE
BİR ÇALIŞMA**

Dr. Necip DANIŞOĞLU (*)

Dr. Kemal ÖZKAN ()**

Dr. Meral KONYALIOĞLU (*)**

Dr. Abdülkadir DÖKMECİ (**)**

İnvitro olarak pepsinin pH 2 de proteinleri hidrolizle parçaladığının bilinmesinden bu yana geçen sürede (1, 2) pepsin üzerinde bu konuda pek çok sayıda çalışma yapılmıştır. Özellikle idrar ve kanda pepsinin proenzimi olan pepsinojenin tayini, ilk olarak literatürde 1924'te görülmeye başlanmıştır (3). Daha sonra denatüre edilmiş hemoglobini substrat olarak kullanan metodlar yayınlanmıştır (4). Bunu izleyen zamanlarda substrat olarak kazein kullanıldığını görmekteyiz (5, 6). Bazı araştırmacılar da kurutulmuş insan plazması substratı kullanmışlardır (7). Bunlardan başka, sentetik substrat N - asetil - fenilalanin - di - iyodotirozin (8) ve radioaktif iyotlu serum albumini kullananlara (9) rastlamaktayız.

Gerek kanda, gerekse idrarda pepsinojen aktivitesini başka substratlarla değil, hastanın kendi kan serumu proteinlerinden (otolog serum proteinlerinden) yararlanarak tayin etme metodunu ilk önce Uete ve arkadaşları 1969 da ortaya atmışlardır (10). 1972 de Lombarts (11) ise bu metodu biraz modifiye ederek yaptığı çalışmayı yayınlamış ve mide - duodenum hastalıklarında yapılagelmekte olan, sonuçları tartışmalı ve zaman alıcı, hasta için zahmetli sayılan mide suyu asidite tahlilleri yerine, rutin olarak kullanılabileceğini ileri sürmüştür.

* A. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Kürsü Başkanı, Gastroenteroloji Kür. Prof.

** A. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Kürsüsü Doçenti.

*** A. Ü. Tıp Fak. Biyokimya Kürsüsü Asistanı.

**** A. Ü. Tıp Fak. Gastroenteroloji Kürsüsü Asistanı.

Gerçekten, mide - duodenum hastalıkları ve makrositer anemi durumlarında konu son derece önemlidir. Enzim tayinlerinde kullanılacak substratın nasıl pahalı olduğu ve güçlüklerle temin edilebildiği bu konuda araştırma yapanlarca bilinir. Bizim uygulayacağımız metotta da ayrıca bir substratın temini bahis konusu değildir. Hastanın kendi kan serumu proteinleri doğrudan doğruya substrat olarak kullanılacaktır.

Sonuçlarımızı, klinik, radyolojik ve cerrahi bulgularla imkânlar ölçüsünde karşılaştırarak, testin ufak modifikasyonlarla uygulanma olanak ve değerini araştırmak amacıyla bu çalışma yapılmıştır.

MATERYEL ve METOT :

Çalışma materyeli olarak gereken mide suyu, kan ve idrar nümuneleri gastroenteroloji kliniğinin poliklinik ve klinik hastalarından alınmıştır. 21 kişilik normaller grubu klinik ve öteki laboratuvar incelemeleri bakımından sağlam şahıslardan meydana gelmiştir. 19 vak'adan meydana gelen duodenal ülserliler grubu, klinik ve radyolojik olarak ülser teşhisi kesinleşen hastalardır. Aşili olan 8 vak'a ile mide kanseri teşhisli 3 vak'a ise ayrı birer grup olarak toplanmıştır. Bu gruplar ayrıntılı olarak sırayla Tablo : II, III, IV ve V'te gösterilmişlerdir.

Mide tubajı ile aç karnına alınan mide suyu 0,1 N NaCH ile p-dimethylaminoazobenzol indikatörüne karşı (pH : 2,9'dan aşağıda kırmızı, pH : 4,0'ten yukarda sarı) titre edilerek ünite (100 ml' mide suyu için sarfedilen ml. sodyum hidroksit) cinsinden hesaplandı. Anasidite durumlarında alkol ya da histamin stimülasyonu yapılarak anasiditenin gerçekten olup olmadığı kontrol edildi).

SERUMDA ve İDRARDA PEPSİNOJEN AKTİVE TAYİNİ :

Kullanılan ayıraçlar :

— Bakır sülfat çözeltisi ($D_{25} - 1,100$) : 159 gr. $\text{Cu SO}_4 \cdot 5 \cdot \text{H}_2\text{O}$ bir litre distile suda eritildikten sonra bu ana çözeltiden uygun sulandırma ile $D = 1,015 - 1,030$ arasında bir seri çözelti hazırlandı (12).

— Triklor asetik asit çözeltisi: % 20 gr. : 200 gr. Trichlor acetic acid distile suyla litreye tamamlandı.

— 0,2 N HCl: 20 ml. N HCl + 80 ml. distile su.

— Standart tirozin çözeltisi (15,347 μ gr/ml. veya 0,0571 μ mol/ml.) Önce ana çözelti (517,35 mg. tirozin 500 ml. 0,1 N FCl de eritilir) hazırlandı. (Tirozin molekül ağırlığı — 181,2) Bunun konsantrasyonu 1034,7 μ g/ml.'dir. Standart çalışma çözeltisi, ana çözeltinin 100 kere sulandırılması (1 ml. ana çözelti + 99 ml. distile su) ile elde edildi.

— Folin - Ciocalteu ayırıcı: 100 gr. sodium tungstat, 25 gr. sodium molibdat, 50 ml. phosphoric acid, 100 ml. kesif hidroklorik asit, 150 gr. lithium sulphat ve birkaç damla brom katılmasıyla 1 litre ayıraç hazırlandı (12).

a) Serumda: Vena kan serumunda bakır sülfatlı özgül ağırlık metodu (11, 12) ile total protein miktarı tayin edildikten sonra pepsinojen aktivite tayini için gereken serum miktarı hesaplandı. Substrat olarak kullanılacağı için protein konsantrasyonunun bütün deneylerde aynı değerde (% 1 gr.) ve aynı pH da olması için (10) gereken seyreltme yapıldı. Örneğin, üzerinde çalışılan serum 100 ml. de (p) gr. protein ihtiva ediyorsa

4

— ml. serum bir santrifüj tüpüne alınarak buna 0,22 ml. . 0,2
p

4

N HCl ve (4 — — — 0,22) ml. distile su karıştırılıp toplam
p

hacmi 4 ml. ve protein konsantrasyonu % 1 gr. olan substrat çözeltisi hazırlandı.

Her bir nümune için yukarda anlatılan tarzda ikişer tane substrat çözeltisi yapılarak tüplerden birine N (nümune), ötekine K (kör) işaretleri kondu.

Yalnız K işaretli tüpe olmak üzere 1 ml. % 20 gr.'lık triklorasetik asit çözeltisi konduktan sonra K ve N tüpleri 37 C'lik su banyosunda 24 saat bırakıldı. Bu sürenin sonunda su banyosundan çıkarılan tüplerden N işaretli olana 1 ml. triklorasetik

asit çözeltisi konarak enzim aktivitesi durduruldu. Beş dakika bekledikten sonra her iki tüp santrifüj edilerek (20 dakika 4000 r.p.m.) berrak üst sıvılar ayrıldı. K ve N tüplerinde ayrılan berrak üst sıvılarda bulunan tirozin aminoasidi aşağıda gösterilen çalışma şemasına göre (Tablo: I) kolorimetrik olarak tayin edildi :

Tablo : I — Çalışma Şeması

	AK	S	K	N
Distile su	1,7	0,7	0,7	0,7 ml.
Standart tirozin çözeltisi (10,347 μ g/ml.)	—	1 ml.	—	—
K santrifüj tüpü berrak üst sıvısı	—	—	1 ml.	—
N santrifüj tüpü berrak üst sıvısı	—	—	—	1 ml.
Folin - Ciocalteu ayırıcı	0,3	0,3	0,3	0,3 ml.
0,5 N. NaOH	2	2	2	2 ml.

(AK : ayıraç körü, S : standart, K : serum körü, N : serum nümunesi tüpü)

Tüplere yukardaki sıraya göre çözeltiler konduktan sonra iyice karıştırılarak 20 dakika beklendikten sonra 690 nm. de optik dansiteler okundu. (Optik dansite işaretleri : k = kör, n = nümune, s = standart, a = ayıraç körü optik dansiteleri)

Bulunan optik dansite değerlerinden aşağıda gösterilen formüle göre pepsinojen aktivitesi hesaplandı :

$$\begin{aligned} \text{Serumda pepsinojen aktivitesi} &= \frac{10,347}{s - a} \times (n - k) \times \frac{5 \times p}{4} = \\ (\mu\text{g. tirozon/ml./24 saat}) & \\ &= 12,934 \times \frac{(n - k) \times p}{s - a} \end{aligned}$$

$$\text{Serumda pepsinojen aktivitesi} = \frac{0,0571}{(d_{\mu} \text{ mol. tirozin/ml./24 saat})} \times (n - k) \times \frac{5 \times p}{4} =$$

(mIU = milienternasyonalünite)

$$= 0,0714 \times \frac{(n - k) \times p}{s - a}$$

b) İdrarda : İdrarda pepsinojen aktivite tayini için çalışma metodu prensip olarak serumdan farklı değildir. Ancak serum alınırken hem substrat, hem de tayin edilecek enzim aynı nümunenin içinde beraberce oldukları halde, idrar nümunesi içindeki enzim aktivitesini tayin etmek için serum protein substratı ayrıca ilâve edilmiştir. Serumdan gelen endojen pepsinojenin tahrip edilmiş olması gerekir. Bunun için metotta ufak değişimler yapılmıştır :

Endojen pepsinojeni tahribedilmiş % 1 gr. protein ihtiva eden serum protein çözeltisi hazırlanması :

3 tane santrifüj tüpü alındı. Her birine ayrı ayrı $\frac{4}{p}$ ml.

serum + 0,22 ml. . N . HCl konup karıştırıldı. (pH : 2)

37°C de 1 saat bekletildi.

Bu tüplerden biri alınarak 1 damla fenolftalein endikatörüne karşı 1 N . NaOH ile titre edilerek sarfedilen NaOH miktarı bulundu. Bu miktar NaOH öteki iki tüpe (kör ve nümune tüpleri) konarak tüpler içindeki karışımın pH'sının yaklaşık olarak 8 olması sağlandı. Bahis konusu pH ortamında yarım saat bekletilerek endojen pepsinojeni tahrip edildi. pH : 8 de pepsinojen irreversibl olarak aktivitesini kaybetmektedir (10).

Kör ve nümune tüplerine konmuş olan N . NaOH hacmine eşit hacimde N . HCl ilâve edilerek ortamın pH'sı yeniden eski duruma (pH : 2'ye) getirildi. Buna göre tüplere konan sıvı hacmi hesaplandı ve her biri içinde 4 ml.'lik toplam hacim olacak kadar distile su kondu.

Yukarıda anlatılan tarzda hazırlanan ve içlerinde 4'er ml. % 1 gr.'lık protein çözeltisi bulunan kör ve nümune tüplerine ayrı ayrı 0,1 ml. sulanmış idrardan (0,3 ml. idrar 0,7 ml. distile su) konup karıştırıldı. Yalnız kör tüpüne 1 ml. triklorasetik asit çözeltisi katıldıktan sonra her ikisi 37°C su banyosuna daldırıldı ve bundan sonraki işlem aynen serum pepsinojen tayini gibi yapıldı.

BULGULAR ve TARTIŞMA :

Mide çalışması (gastrik fonksiyon, başka bir deyişle mide salgılama faaliyeti) hakkında bilgi edinmek üzere ileri sürülen teknikler arasında, kan ve idrar pepsinojeni tayini için hemoglobin ve kazein substratı kullanılanlarda maksimum proteoliz pH 3 - 4'te olmaktadır. Üstelik total gastrektomili hastalarda, bu metodla yapılan pepsinojen miktarlarında değişme olmadığı saptanmıştır (10, 13). Öte yandan saf haldeki pepsinle yapılan çalışmalarla enzim aktivitesi için gerekli optimal pH'nın 3 - 4 değil 2 olduğu bilinmektedir (10). Bu noktalar dikkate alınınca hemoglobin veya kazein üzerine yapılan proteolitik etkinin serumdaki pepsinojenden ileri gelmediği kanısı uyanmaktadır. Halbuki bizim de modifikasyonlarla uyguladığımız Uete (10) metodunda kullanılan pH : 2 ortamı pepsinojene özgü bir ortam sağlamaktadır. Üstelik gastrektomili hastalarda, bu metodla kanda son derece düşük aktivite bulunmaktadır (10). Buna göre, metodun tayin ettiği proteolitik aktivitenin, midenin asinilerindeki esas hücreler (peptik hücre, chief cell) tarafından salgılanan pepsinojenin bir kısmının kan dolaşımına geçmesi ve deney şartlarında (invitro olarak) asit ortamda (düşük pH da) otokatalizle pepsine dönüşmesinden ileri geldiği şüphesizdir. Kan serumu pepsinojen seviyesi, midede bulunan peptik hücre kitlesi hakkında yaklaşık olarak bilgi veren bir indeks olarak farzedilmektedir (16, 17). Bazı araştırmacılar (22) ise kan ve idrar pepsinojenini, mide mukozasında pepsin salgı fonksiyonu için hassas bir gösterge olarak kabul etmektedirler. Aksi görüşü ileri süren ve kan pepsinojeninin sabit olduğunu, mide salgı fonksiyonunu gösteren bir ayna olamayacağını ileri süren araştırmacılara da rastlanmaktadır (18).

Deney esnasında asit ortamda molekül ağırlığı 42500 olan pepsinojen, molekül ağırlığı 34500 olan pepsine dönüşmektedir.

Tablo : II — Normaller Grubu

Sıra No.	Protokol No.	Adı	Yaşı	Cins	Mide Asiditesi (Ünite)	Kanda Pepsinojen (m.i.U.)	İdrarda Pepsinojen (m.i.Ü.)
1	12051/72	M. Y.	65	E	25 Ü	129	3669
2	1271/72	E. K.	22	K	50 Ü	115	644
3	12427/72	S. A.	27	K	40 Ü	265	4149
4	12730/72	S. N.	60	E	20 Ü	279	501
5	12485/72	M. B.	58	E	60 Ü	261	333
6	12152/72	F. Ç.	38	E	50 Ü	228	472
7	12011/72	M. Ü.	61	E	45 Ü	181	2207
8	3261/72	Ç. Ş.	15	E	50 Ü	86	400
9	12795/72	N. Ö.	32	E	45 Ü	189	0
10	2483/71	Ş. T.	58	E	20 Ü	53	1066
11	13064/72	G. A.	30	K	30 Ü	67	153
12	13574/72	A. Ç.	30	E	45 Ü	38	3165
13	13488/72	R. B.	29	K	30 Ü	27	451
14	13573/72	Z. K.	57	K	65 Ü	345	381
15	12969/72	H. K.	32	E	40 Ü	355	1766
16	13399/72	S. T.	40	K	35 Ü	37	277
17	13297/72	S. Y.	58	K	15 Ü	189	1361
18	14491/72	H. G.	31	E	45 Ü	571	932
19	14209/72	A. K.	49	E	50 Ü	878	400
20	477/73	E. B.	53	K	50 Ü	978	6908
21	13854/73	M. M.	65	K	25 Ü	400	1427
Ortalama (X)					39,76	270	1536
Standart Sapma (Sd)					13,65	259	1732
Standart Hata (SE)					2,98	56,6	387

Tablo : III — Mide Kanserliler Grubu

Sıra No.	Protokol No.	Adı	Yaşı	Cins	Mide Asiditesi (Ünite)	Kanda Pepsinojen (m.I.U.)	İdrarda Pepsinojen (m.I.Ü.)
1	12069/72	Ş. Ö.	61	E	65 Ü	316	1065
2	12677/72	M.K.	60	E	Asit yok	415	238
3	13387/72	H. K.	60	E	Asit yok	364	1386

Tablo : IV — Duodenal Ülserliler Grubu

Sıra No.	Protokol No.	Adı	Yaşı	Cins	Mide Asiditesi (Ünite)	Kanda Pepsinojen (m.I.U.)	İdrarda Pepsinojen (m.I.Ü.)
1	12003/72	T. Ç.	31	K	10 Ü	377	Yok
2	11006/72	Y. K.	34	E	90 Ü	446	3292
3	5966/71	S. Ü.	41	E	80 Ü	128	887
4	21280/Eski	H. A.	39	E	60 Ü	330	1026
5	3571/70	A. B.	33	E	80 Ü	152	11664
6	12617/72	F. E.	34	E	95 Ü	163	44
7	12562/72	A. S.	53	E	62 Ü	640	1400
8	12801/72	O. Ö.	32	E	45 Ü	172	15
9	12551/72	H. Z.	60	K	55 Ü	196	593
10	12054/72	R. Ö.	55	K	25 Ü	146	38
11	13796/72	A. T.	48	E	30 Ü	12	839
12	6364/72	A. S.	43	E	25 Ü	207	285
13	11142/72	M. T.	24	E	45 Ü	91	556
14	13481/72	M. Ö.	27	E	30 Ü	25	181
15	13627/72	E. A.	47	K	40 Ü	53	303
16	6265/72	E. K.	59	E	30 Ü	90	2306
17	14452/72	S. Ö.	49	K	30 Ü	83	1315
18	14814/72	H. D.	47	K	50 Ü	400	—
19	14509/72	A. B.	63	E	45 Ü	354	1385

Ortalama (X)	49	260	1659
Standart Sapma (Sd)	23,95	314,4	2808,2
Standart Hata (SE)	5,5	72	662

Pepsinojende % 3,2, pepsinde ise % 5 kadar tirozin amino asidi bulunmaktadır (18). Başka bir deyişle pepsinojen moleküllü pepsine dönüşürken, % 15'ini meydana getiren bir polipeptid zinciri kendisinden ayrılmaktadır. Bu ayrılan polipeptid, adeta bir inhibitör gibidir. Molekülden ayrılır ayrılmaz aktif hale geçen pepsin tarafından derhal proteolitik olarak parçalanır ve ortamdan uzaklaştırılır (18).

Normaller, duodenal ülserliler, mide kanserliler ve aşıli olan hasta gruplarına ait bulgularımız Tablo: II, III, IV ve V'de gösterilmiştir. 21 kişilik normallerde pepsinojen aktivitesi ($m\mu\text{mol/ml/1 saat}$) kanda (ortalama $\pm$ S. E. olarak 270 ± 57 , idrarda 1536 ± 387 , 19 tane duodenal ülserli vak'ada bu değerler sırayla 260 ± 72 ve 1659 ± 662 dir. Aşıli vak'alarında ise 174 ± 44 ve 1454 ± 500 bulunmuştur. Üç hastadan ibaret olan mide kanserlilerde ortalama değerler kan için 66, idrar için 162'dir. Mide asiditesi değerleri ise normallerde 40 ± 3 , duodenal ülserlilerde 49 ± 5 bulunmuştur. Bulunan bu değerleri, literatürde rastlanılan başka araştırmacıların benzer konuda verdiği değerlerle karşılaştırmak oldukça güçtür. Çünkü rastlanılan değerler, başka metodlarla elde edilmiş ve istatistik bakımından ayrı bir biçimde verilmişlerdir. Örneğin, Sandifer (15) normaller için serum pepsinojeninin sadece ortalama değerini 18,7 olarak göstermiştir. Alhady (16) Çinli, Malezyalı ve Hintlilerde kanda sırayla 1225 ± 542 , 1234 ± 550 ve 1294 ± 634 milienternasyonal ünite değerlerini bildirmektedir. Küley (19) ise yine başka bir metodla (5) ve sadece idrarda çalışarak normaller için $28 \pm 9,9$ ünite/saat bulmuştur. Bizim uyguladığımız metodun benzerini (otolog serum protein substratı) kullanan Lombarts (14) ise 28 kişilik normaller grubunda asidite için (ortalama $\pm$ S. D.), 60 ± 47 , kanda pepsinojen için 92 ± 75 değerlerini vermektedir. 16 vak'adan ibaret duodenal ülserliler için bildirdiği değerler sırayla $91 \pm 5\bar{g}$ ve 169 ± 75 'tir. Mezkûr araştırmacının pepsinojen değerleri $\mu\text{g. tirozin/ml/24 saat}$ hesabıyladır. Bu değerleri, bizim kullandığımız m.I.U. (milienternasyonal ünite = $m\mu\text{mol/ml/24 saat}$) cinsinden değerlendirebilmek için 5,5 faktörü ile çarpmak gerekecektir. Tirozin için $1 m\mu\text{mol} = 0,180$

1

$\mu\text{g.}$ 'dir. — = 5,5 eder. Bu işlemi yaptıktan sonra karşılaştırmak
0,18

SONUÇ :

Tablo : V — Aşılı Olan Vakalar

Sıra No.	Protokol No.	Adı	Yaşı	Cins	Mide Asiditesi (Ünite)	Kanda Pepsinojen (m.İ.U.)	İdrarda Pepsinojen (m.İ.Ü.)
1	5966/71	S. Ü.	41	E	Asit yok	203	1056
2	8341/72	V. O.	20	E	»	110	345
3	4633/Eski	İ. Ö.	52	E	»	21	427
4	13862/71	A. Y.	27	E	»	396	44
5	13334/72	F. Ş.	57	K	»	38	4243
6	13639/72	T. D.	35	K	»	138	1068
7	14457/72	R. B.	61	E	»	225	2702
8	14144/72	H. Ö.	66	E	»	258	1747
Ortalama (X)						173,6	1454
Standart Sapma (Sd)						123,7	1414
Standart Hata (SE)						43,8	500

Tablo : VI

	Asidite	Kanda Pepsinojen		
	DU — N	DU — N	DU — N	A — N
P	$0,10 < P < 0,50$	$P < 0,50$	$0,50 < P < 0,10$	$0,50 < P < 0,10$
Farklılığın yorumu	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz

(DU : Duodenal ülserliler, N : Normaller, A : Aşılı vakalar)

Tablo : VII

İdrarda Pepsinojen			
	DU — N	DU — N	A — N
P	$P > 0,50$	$P > 0,50$	$P > 0,50$
Farklılığın yorumu	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz

ÖZET :

Gastrointestinal bir hastalık belirtisi göstermeyen 21 kişilik normaller grubu ile 19 duodenal ülserli ve 8 aşılı vak'ada otolog serum substratı kullanılarak kan ve idrarda pepsinojen aktivite tayinleri yapılmıştır. Ayrıca bu grupların mide asiditeleri incelenmiştir. Kanda ve idrarda aktivite, poteoliz sonucu açığa çıkan tirozin olarak ($m\mu$ mol/ml/24 saat) m.I.U. cinsinden hesaplanmıştır. Ortalama $\pm$ standart hata hesabıyla normaller için kanda 270 ± 57 , idrarda 1536 ± 387 , duodenum ülserli hastalar grubunda sırayla 260 ± 72 ve 1659 ± 662 , aşılı gösterenlerde ise 174 ± 44 ve 1454 ± 500 bulunmuştur. İstatistik önem bakımından ortalamalar arasında farkların bu gruplarda önemsiz olduğu saptanmıştır.

SUMMARY

Determination of the Activity of Pepsinogen in Blood and Urine

Using autologous serum substrate, determination of the activity of pepsinogen in blood and urine is performed among a group of 21 normal people showing no gastrointestinal symptom, 19 patients suffering from duodenal ulcer and 8 achilia. Gastric acidity of these groups is also investigated. Activities in blood and urine are calculated as the m.I.U. of tyrosine ($m\mu$ mol/ml/24 hr) liberated after the proteolysis.

After the standard error calculation, average value for the normal is found as 270 ± 57 in blood and 1536 ± 387 in urine, the blood and urine values for duodenal ulcer are 260 ± 72 and 1659 ± 662 respectively.

It is demonstrated that the differences between the averages of the groups has no significance from statistical point of view.

LİTERATÜR

- 1 — Michaelis L. : Die Wirkungsbedingungen des Pepsin Biochem. Z. 65:1, (1914).
- 2 — Northrop J. H. : Pepsin activity units and methods for determining peptic activity. J. Gen. Physiol. 5:263, (1922).
- 3 — Gottlieb, S. : Untersuchungen über die Pepsinmengen in Blut und Harn. Skand. Arch. Physiol. 46:1, (1924).
- 4 — Anson M. L. and mirsky A. E. Estimation of pepsin with hemoglobin. J. Gen. Physiol. 16:59, (1932).
- 5 — West P. M. : Simplified method for determining excretion rate of uropepsin. J. Lab. Clin. Med. 39:159, (1952).
- 6 — Goodman, R. D. : Observation of som of technical and Clinical factors influencing determining of uropepsin excretion in man. J. Lab. Clin. Med. 40:872, (1952).
- 7 — Edwards, K. : Value of plasma pepsinogen estimation. Brit. Med. J. 5165:30, (1960).
- 8 — Chiang, L. : The separate determination of human pepsin and gastricin. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 122:700, (1966).

- 9 — Klotz, A. P. : The laboratory determination of pepsin in gastric juice with radioactive iodinated albumin. *J. Lab. Clin. Med.* 50:753, (1957).
- 10 — Uete, T., Wasa Mr. : A simplified method for the determination of pepsinogen in blood and urine. *Clin. Chem.* 15 (1) 42, (1969).
- 11 — Van Slyke : The Estimation of plasma protein concentration from plasma specific gravity. *J. Biol. Chem.* 183:349, (1950)
- 12 — Varley, H. : *Practical Clinical Biochemistry* Third edition, s. 187 ve 381. William Heinemann Medical Books Ltd. London, (1963).
- 13 — Mirsky, A. E. : Blood plasma pepsinogen. I — The source, properties and assay of the proteolytic of plasma at acid reactions. *J. Lab. Clin. Med.* 40:17, (1952).
- 14 — Lombarts, A., J. P. F. and Peters, H. J. : Routine determination of serum pepsinogen. *Clin. Chim. Acta.* 36:195, (1972).
- 15 — Sandifer, M. G. : Serum pepsinogen determination in hospitalized alcoholic patients. *Quart. J. Studies Alc.* 22 (1), 27 - 33, (1961). *Biol. Abst.* 36 (15) No. 48067, (1961).
- 16 — Card, W. I. : The relationship between acid output of the stomach following maximal histamine stimulation and the parietal cell. *mass. Clin. Sci.* 19:147, (1960).
- 17 — Hanley, W. B. : Hereditary aspect of duodenal ulceration. *Brit. Med. J.* 1:936, (1964).
- 18 — Anscombe, A. R. : Plasma pepsinogen, normal and abnormal secretion. *Ann. Roy. Coll. Surg. Engl.* 35:34, (1964).
- 19 — Küley, M. : Mide fonksiyonlarının incelenmesinde üropepsinojenin değeri. *Türkiye Tıp Akademisi Mecmuası*, 6 - 4 (bis), 801, (1971).
- 20 — Vickers, H. E. : Diagnostik Value of a Single Plasma Pepsinogen Estimation. *Brit. Med. J.* 1453, (1962).
- 21 — Savoye, B. : Valeur du pepsinogène sérique dans les diagnostic des affections gastroduodénales. *Arch. Fr. Mal. Dig.* 58:719, (1969).
- 22 — Ronski, R. : Serum pepsinogen in cirrhosis of the liver. *Federation Proceedings (Translation Suppl.)* 22(3):540, (1963).
- 23 — Hirschowitz, B. I. : Pepsinogen : Its origins, secretion and excretion. *Physiol. Rev.* 37:475, (1957).