

# AMONYAK TESTİ İÇİN PREANALİTİK HATA KAYNAKLARI

Uzm.Dr. BAĞNU ORHAN  
SBÜ İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi

# Amonyak Biyokimya ve Fizyolojisi

- Amonyak, çok çeşitli bileşiklerin metabolizması sırasında birçok dokuda oluşur ve temel olarak karaciğerde üre sentezi ile uzaklaştırılır.
- Amonyak kaynakları:
  - Amino asitlerden: Amino asitler önemli bir amonyak kaynağıdır. Birçok doku, fakat özellikle karaciğer amino asitlerden amonyak oluşturur
  - Glutaminden: Böbrekler glutaminden renal glutaminaz ile amonyak oluşturur
  - Barsakta bakteriyel etki ile: Amonyak; bakteriyel proteazlar, üreazlar ve amino oksidazların kolon içeriğine etkisiyle ve ince ve kalın barsaktaki glutaminin hidrolizinden açığa çıkar
  - Pürin ve pirimidinlerden: Halka yapısında bulunan amino grupları amonyak olarak salınır
- Dolaşımdaki amonyağın temel kaynağı gastrointestinal kanaldır. Gastrointestinal kanalda oluşan amonyak portal dolaşım ile doğrudan karaciğere gider.
- Hepatik portal vendeki plazma amonyak düzeyi, sistemik dolaşım düzeyinin 5 – 10 katıdır. Portal vendeki amonyak karaciğerde üre döngüsü ile metabolize olur.

## Amonyak Referans Aralığı

Yenidoğan	64 – 107	μmol/L
0 – 2 hafta	56 – 92	
>1 ay	21 – 50	
Yetişkin	11 - 32	

# Dolaşımdaki Amonyak ve Klinik Önemi

- Amonyak, dokularda sürekli olarak üretilmesine rağmen kanda çok düşük düzeyde bulunur.
- Bunun nedeni amonyağın karaciğerde üre oluşumu ile hızla uzaklaştırılması ve birçok dokunun özellikle kasların aminoasit azotunu serbest amonyak yerine glutamin veya alanin olarak salıvermesidir.
- Artmış amonyak düzeyi (hiperamonemi) santral sinir sistemi üzerinde toksiktir.
- Amonyak pasif difüzyon ile santral sinir sistemine girer, giriş hızı plazma amonyak konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artar.

# Hiperamonemi Nedenleri

## ▪ Hiperamoneminin kalıtsal nedenleri:

Bebeklerde hiperamoneminin ana nedeni konjenital metabolik hastalıklardır.

En sık görüleni üre döngüsü enzim eksikliğidir

Dibazik amino asitlerin (lizin ve ornitin) metabolizmasını etkileyen kalıtsal bozukluklar

Organik asitlerin metabolizmasını etkileyen kalıtsal bozukluklar da amonyak seviyesini yükseltebilir.

## ▪ Hiperamoneminin edinsel nedenleri:

Karaciğer hastalığı ( siroz, viral hepatit, alkolizm, fulminan hepatik nekroz v.b.)

Reye's sendomu

Gastrointestinal kanamalar (kolonda kan proteinlerinin bakteriyel metabolizması ile amonyak üretimi artar)

Böbrek yetmezliği(kan üre seviyesi arttıkça gastrointestinal kanalda daha fazla üre amonyağa dönüşecektir)

Valproik asit , barbitürat v.b. ilaç kullanımı

Yüksek dozda kemoterapi

## Hangi durumlarda amonyak seviyesi ölçülmelidir?

- ✓ Açıklanamayan veya olağan dışı nörolojik semptomları olan kişilerde
- ✓ Hepatik disfonksiyonlu kişilerde
- ✓ Amonyak düşürücü tedavinin izlenmesinde
- ✓ Kemoterapi alanlarda
- ✓ Sodyum valproat tedavisi alanlarda
- ✓ Kalıtsal metabolik hastalıktan şüphelenilen hastalarda v.b.

# Amonyak Ölçüm Yöntemleri

## ❖ İndirekt ölçüm yöntemleri:

- Önce amonyak alkalizasyon ile serbestleştirilir
- Sonra amonyum indikatörünün renk değişikliği kolorimetrik olarak ölçülür
- İndirekt yöntem kolay otomatize edilemez, özel ekipman gerektirir
- Hasta başı test cihazları ve kuru kimya analizörlerinde kullanılan mikrodifüzyon aparatı da indirekt yöntemi kullanmaktadır

## ❖ Direkt ölçüm yöntemleri:

- Direkt yöntemlerde önce amonyağın ayrılması gerekmez
  - Enzimatik yöntemler direkt amonyak ölçüm yöntemidir
  - Otomatize edilmesi daha kolay olup rutin laboratuvarlarda daha yaygın kullanılır
  - En yaygın amonyak ölçüm yöntemi “glutamat dehidrogenaz” temelli enzimatik yöntemdir
- ❖  $\text{NH}_4^-$  – selektif membran kullanan amonyum elektrotu da direkt ölçüm yöntemlerindedir

## Amonyak Testi İçin Preanalitik Hata Kaynakları

- ✓ Toplam test süreci; preanalitik, analitik ve postanalitik evrelerden oluşur.
- ✓ Preanalitik evre; analiz öncesi aşama olup hastaya uygun testin istenmesi, örneğın alınması, transportu ve analiz için hazırlanmasını içeren süreçtir.
- ✓ Laboratuvar hatalarının büyük kısmı (%60-70) preanalitik aşamada olmaktadır.
- ✓ Amonyak analitinin doğru ölçülmesinde de preanalitik evre büyük önem taşımaktadır.



# Amonyak Ölçümünde Preanalitik Evre ve Dikkat Edilecek Konular 1

## □ Hasta hazırlığı:

- Acil durum dışındaki hastaların en az 12 saat aç olması gerekmektedir
- Amonyak seviyesi takibinde ölçümlerin günün aynı saatinde, aynı şartlar altında yapılması önerilmektedir
- Egzersiz ve fiziksel aktivite amonyak seviyesini artırmaktadır
- Hastanın sigara içmemesi gerekir (açlık kan örneğinin alınacağı sabah, gece yarısından itibaren sigara içmemeli)



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)



Food and Chemical Toxicology 44 (2006) 678–688

[www.elsevier.com/locate/foodchemtox](http://www.elsevier.com/locate/foodchemtox)



## Significance of ammonium compounds on nicotine exposure to cigarette smokers

E.W. Willems \*, B. Rambali, W. Vleeming, A. Opperhuizen, J.G.C. van Amsterdam

Laboratory for Toxicology, Pathology and Genetics, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM),  
P.O. Box 1, 3720 BA Bilthoven, The Netherlands

### THE TOBACCO INDUSTRY DOCUMENTS WHAT THEY ARE, WHAT THEY TELL US, AND HOW TO SEARCH THEM

#### 3. Research on how to deliver potent levels of nicotine to the smoker

The documents have revealed that Philip Morris discovered nearly 30 years ago that adding **alkaline ammonia** compounds lowered the acidity of the smoke, which in turn changed the chemical structure of nicotine to allow it to reach the brain faster: a nearly instant “hit” of the drug, something the tobacco chemists call “impact”. The process is similar to that of free-basing cocaine for a rapid and more powerful effect. The process named in the documents as “ammonia technology” was developed by Philip Morris for its Marlboro cigarettes, and quickly copied by the other cigarette companies. British American Tobacco conducted secret breeding experiments of a new tobacco plant yielding twice the amount of nicotine as conventional tobacco. Other manipulations included adding chemicals to the tobacco in order to speed the absorption of nicotine in the lungs, manipulating the blend of tobacco, and adding nicotine to the filter or to the front end of the cigarette.



# The SECRET and SOUL of Marlboro

## Phillip Morris and the Origins, Spread, and Denial of Nicotine Freebasing

Terrell Stevenson, BA, and Robert N. Proctor, PhD

Philip Morris and other tobacco companies have been using ammonia in their manufacturing for more than half a century, and for a variety of purposes: to highlight certain flavors, to expand or “puff up” the volume of tobacco, to prepare reconstituted tobacco sheet (“recon”), to denicotinize (reduce the amount of nicotine in) tobacco, and to remove carcinogens.

By the early 1960s, however, Philip Morris had also begun using ammonia to “freebase” the nicotine in cigarette smoke, creating low-yield (reduced-tar or -nicotine) cigarettes that still had the nicotine kick necessary to keep customers “satisfied” (i.e., addicted). We show that Philip Morris discovered the virtues of freebasing while analyzing the impact of the ammoniated recon used in Marlboro cigarettes.

We also show how Marlboro’s commercial success catalyzed efforts by the rest of the tobacco industry to discover its “secret,” eventually identified as ammonia technology, and how Philip Morris later exploited the myriad **uses of ammonia (e.g., for flavoring and expanding tobacco volume)** to defend itself against charges of manipulating the nicotine deliveries of its cigarettes. (*Am J Public Health* 2008;98:1184–1194. doi:10.2105/AJPH.2007.121657)

- Amonyak bileşikleri tütün endüstrisinde kullanılmakta
- Tütün endüstrisi, amonyak bileşenlerinin kullanılma gerekçesine aroma, tahriş azaltıcı v.s. gibi nedenleri belirtiyorlar
- Ancak amonyak bileşenleriyle tütünün işlem görmesi sonucu; duman alkalizasyonu, uçucu serbest nikotine dönüşüm sağlanıyor. Uçucu serbest nikotinin de hava yolundan kolay emilimi nedeniyle tütün maruziyeti ve tütün kullanımını artırıcı etki ettiği yönünde bilimsel yayınlar var
- Bu konudaki araştırmaların ve bilimsel yayınların sayesinde; tütün spesifik amonyak bileşiklerinin kullanımında global bir kontrol ve kısıtlama olacağı görüşü de yer almakta

## Amonyak Ölçümünde Preanalitik Evre ve Dikkat Edilecek Konular 2

### ❑ Örnek alımı:

- Turnike uzun tutulmamalı (hatta turnike bağlanmadan kan alınması da öneriler arasında yer alıyor)
- El yumruk yapılmamalı ve sıkma- bırakma hareketinden kaçınılmalı
- Özellikle çocuklarda kan alma zor ve uğraştırıcı olduğunda yanlış amonyak yüksekliğine neden olabiliyor

## Amonyak Ölçümünde Preanalitik Evre ve Dikkat Edilecek Konular 3

### ❑ Örnek türü:

- Venöz kan (veya arteriyel) alınmalı; kapiller kan, kateterden alınan kan kullanılmamalı (pıhtı nedeniyle)
- Antikoagülan olarak EDTA (EtilenDiaminTetraAsetikasit) veya heparin içeren (amonyum heparinli olmamalı) tüpe alınmalı
- Tercihen tüpler önceden soğutulmalı
- Kan alınan tüpte boşluk olmamalı



ELSEVIER

Clinica Chimica Acta 357 (2005) 84–85



www.elsevier.com/locate/clinchim

Accepted Manuscript

Investigations of blood ammonia analysis: Test matrices, storage, and stability



EDTA should be the anticoagulant of measurement of plasma ammonia: problem sample

Amonyak ölçümünde; EDTA ve heparin her ikisi de uygun bulunsa da **EDTA'nın kullanılması** yönünde çalışmalar var:

- Heparinli plazmada; nonspesifik absorpsiyon gözlenmesi, yanlış negatif amonyak ölçülmesi gibi sonuçlar elde etmişler.
- Okzalot antikoagülanlı plazma kullanımı ile ilgili çalışmalarda okzalotun uygun olmadığı sonucuna varılmış. (Brittany N. Goldstein, Jordan Wesler, Amy S. Nowacki, Edmunds Reineks, Marvin R. Natowicz. Investigations of blood ammonia analysis: Test matrices, storage, and stability. Clinical Biochemistry 2017; 01.002.)
- Üretici firmanın direktiflerine uyularak çalışılması öneriliyor.

**Interference by Heparin in Enzymatic Determination of Ammonia Depends on Reaction Composition**

*To the Editor:*

Recently, Dorwart and stated that heparinized plasma is unsuitable for the determination of ammonia with a glutamate dehydrogenase method because a disturbing nonspecific absorbance change takes place during measurement in many patients' samples. In fact, pronounced



ELSEVIER

SCIENCE @ DIRECT®

Clinica Chimica Acta 371 (2006) 196–196



www.elsevier.com/locate/clinchim

Letter to the Editor

Heparin is an unsuitable anticoagulant for the detection of plasma ammonia

samples) measured in the Hitachi 917 showed very low values, ranging from 2.7 to 3.9  $\mu\text{mol/l}$  (Table 1). No such differences were observed in results obtained from Dimension RxL.

## Amonyak Ölçümünde Preanalitik Evre ve Dikkat Edilecek Konular 4

### ❑ Örnek transferi:

- Kan almadan analize kadar tüm aşamalar ÇOK HIZLI gerçekleştirilmelidir
- Örnek alınır alınmaz buz içine konulmalı, kısa sürede transferi sağlanıp soğutmalı santrifüjde, santrifüj edilmelidir (kan alındıktan sonra 15 dakika içinde santrifüj edilmeli)
- Örnekte santrifüjden önce pıhtı kontrolü, santrifüj sonrasında hemoliz, lipemi kontrolü yapılmalı
- En kısa sürede de cihazda ölçüm yapılmalıdır

# Amonyak Ölçümünde Preanalitik Evre ve Dikkat Edilecek Konular 5

## ❑ Örnek depolama koşulları:

- Plazma 4 °C 'de 4 saat, -20 °C 'de 24 saat stabil
- Daha uzun depolamak istendiğinde -70 °C 'de 21 gün depolanabileceği de belirtilmekte

## Amonyak Ölçümünde Ek Öneriler

- ❑ Karaciğer hastalıkları ve metabolik bozukluğu olan çok sayıda hastayı tedavi eden hastanelerde; kan örneği alınması, santrifüjü ve analizin yürütülmesi gibi tüm aşamaların orada yapıldığı “ayrı birim” kurulması tavsiye ediliyor. Böylece olası hatalar en aza indirilip ölçümün güvenilirliği artacaktır.
- ❑ Ölçümde standart bir prosedür belirlenip, uygulanması önemli. Prosedürün her aşamasında yer alan personele bu konuda gerekli eğitim verilmeli.
- ❑ Amonyak preanalitik faktörlerden çok etkilenen bir analit olduğu için beklenmeyen sonuç v.b. konularda klinisyenle iyi iletişim gerekmektedir.



# SONUÇ

- ❑ Amonyak testi; preanalitik evredeki hatalardan çok etkilenen, her aşamasında titizlikle kurallara uyularak çalışılması gereken bir testtir.

**TEŐEKKÜR EDERİM**