T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GLUKOZ YÜKLENMESİNİN SERUM ASİMETRİK DİMETİL ARJİNİN (ADMA) VE ARJİNİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Kuddusi YİĞİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TİBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Yard. Doç. Dr. Sedat ABUŞOĞLU

KONYA – 2015

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GLUKOZ YÜKLENMESİNİN SERUM ASİMETRİK DİMETİL ARJİNİN (ADMA) VE ARJİNİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Kuddusi YİĞİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TİBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Yard. Doç. Dr. Sedat ABUŞOĞLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 14202018 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA – 2015

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü' ne

Kuddusi Yiğit tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof.Dr. Ali ÜNLÜ Selçuk Üniversitesi	İmza
Danışman:	Yard.Doç.Dr. Sedat ABUŞOĞLU Selçuk Üniversitesi	İmza
Üye:	Yard.Doç.Dr. Hüseyin Tuğrul ÇELİK Turgut Özal Üniversitesi	İmza

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu …….....tarih ve …...…….……..sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tez çalışmamda daima bana yol gösteren değerli hocam Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ali ÜNLÜ' ye

Yüksek lisans sürecimde tez aşamamda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam, danışmanım Yard. Doç. Dr. Sedat ABUŞOĞLU' na,

Bölümümüzün değerli öğretim üyeleri Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV, Doç. Dr. Abdullah SİVRİKAYA, Yard. Doç. Dr. Bahadır ÖZTÜRK ve Yard. Doç. Dr. Esma MENEVŞE hocalarıma ve laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımcı olan üniversitemizin tüm biyokimya laboratuvarı çalışanlarına,

Yüksek lisans eğitimim süresince ve hayatımın her anında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli eşime ve aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR iv

1.GİRİŞ……1

1.1. Arjinin……3

1.1.1. Arjinin Metabolizması……..…….4

1.1.2. Arjinin ve Nitrik Oksit……....5

1.1.3. Arjininden Glukoz ve Glukojen Oluşumu……...……...5

1.2. Metil Arjininler……..……5

1.2.1. Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA)……...……...……...7

1.2.2. ADMA Sentezi……8

1.2.3. ADMA Yıkımı……...…….9

1.3. Diabetes Mellitus ve ADMA…….……...…….……..10

1.4. Endotel Disfonksiyonu ve ADMA…...……...…….……11

1.5. Kardiyovasküler Hastalıklar ve ADMA……..13

1.6. OGTT (Oral Glukoz Tolerans Testi)……...……15

1.6.1. OGTT Endikasyonları……...……....15

2. GEREÇ VE YÖNTEM…….17

2.1. Gereç…….……...17

2.1.1. Çalışma Şekli ve Olgu Seçimi……..17

2.1.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması…….17

2.1.3. Kullanılan Reaktif ve Çözeltiler……...18

2.1.4. Kullanılan Cihazlar……...……...…….……18

2.2. Yöntem…….……19

2.2.1. ADMA, Arjinin ve Diğer Metabolitlerin Analizi.……19

2.2.2. Mobil Faz A'nın Hazırlanması……...……..19

2.2.3. Mobil Faz B'nin Hazırlanması…...……..…….19

2.2.4. Mobil Fazların Filtrasyonu ve Degaze Edilmesi……...…….……...19

2.2.5. ADMA Standart Hazırlanması……...……...……19

2.2.6. Arginin Standart Hazırlanması……...……...……20

2.2.7. SDMA Standart Hazırlanması……..……..…..20

2.2.8. L-NMMA Standart Hazırlanması…...…….….20

2.2.9. Sitrüllin Standart Hazırlanması……...…….…21

2.2.10. Türevleştirici Reaktif Hazırlanması…….……..…….21

2.2.11. Çözdürücü Reaktif Hazırlanması……...……..……...……21

2.2.12. Numune Hazırlanması ve Ölçümü…….……21

2.3. İstatistiksel Analiz……...…….22

3. BULGULAR……..23

4. TARTIŞMA……...37

5. SONUÇ VE ÖNERİLER……..40

6. KAYNAKLAR……..41

7. EKLER……..45

8. ÖZGEÇMİŞ……..46

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADMA : Asimetrik Dimetil Arjinin

ATP : Adenozin Tri Fosfat

DDAH : Dimetilarjinin Dimetil Amino Hidrolaz

DM : Diabetes Mellitus

EDRF : Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör

eNOS : Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

ESI : Elektro Sprey İyonizasyon

HCl : Hidroklorik Asit

HDL : Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

HPLC : Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi

iNOS : İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

LC-MS/MS : Sıvı Kromatografi Kütle/Kütle Spektrometresi

LDL : Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

LNMMA : N-Monometil L-Arjinin

NADPH : Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

NDDG : Amerikan Ulusal Diyabet Veri Toplama Grubu

NO : Nitrik Oksit

NOS : Nitrik Oksit Sentaz

OGTT : Oral Glukoz Tolerans Testi

oxLDL : Oksitlenmiş Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

PKC : Protein Kinaz C

PRMT : Protein Arjinin Metil Transferaz

SAH : S-Adenozil Homosistein

SAM : S-Adenozil Metiyonin

SDMA : Simetrik Dimetil Arjinin

SOD : Süperoksid Dismutaz

TNF-α : Tümör Nekrozis Faktör-α

VEGF : Vasküler Endotel Büyüme Faktörü

VKİ : Vücut Kitle İndeksi

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Glukoz Yüklenmesinin

Serum Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA) ve Arjinin

Düzeylerine Etkisi

‘‘Kuddusi Yiğit’’

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2015

Glukoz yüklemesi yapılan ve bilinen herhangi bir sağlık problemi olmayan bireylerde, glukoz yüklemesine bağlı olarak meydana gelen kan glukozunun akut yüksekliğinin ADMA düzeylerini etkileyerek endotel disfonksiyonuna olası etkilerini araştırmayı amaçladığımız çalışmamız, 30 erkek 32 bayan toplam 62 hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda 62 bireyin herbirinden açken ve 75 gr glukoz yüklenmesinden sonraki 60. ve 120. dakikalarda ayrı ayrı kan örneği alınmış ve bu numunelerden Arjinin, ADMA, SDMA, LNMMA, Sitrüllin, Arjinin/ADMA değerleri belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre glukoz yüklenmesinden sonra Arjinin, Sitrüllin ve Arjinin/ADMA değerlerinin anlamlı olarak düştüğü, ADMA, SDMA, LNMMA değerlerinde ise anlamlı bir değişikliğin olmadığı gözlemlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: ADMA, Arjinin, Glukoz Yüklenmesi

SUMMARY

T.R.

SELÇUK UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

The Effect Of Glucose Loading On

Serum Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and

Arginine Levels

‘‘Kuddusi Yiğit’’

Department of Medical Biochemistry

MASTER OF SCIENCE THESIS / KONYA-2015

The study was designed with 62 healthy individuals (30 men, 32 women) who do not take any medications and have no known diseases to find out the possible effects of acute blood glucose elevations on serum ADMA levels contributing to endotelial disfunction.

Fasting and 60. and 120. hour blood samples were collected from 62 subjects and Arginin, ADMA, SDMA, L-NMMA, Citrulline levels were analyzed. Arginin/ADMA ratio was calculated.

According to study’s results, Arginin, Citrullin and Arginin/ADMA levels were decreased and ADMA, SDMA, L-NMMA levels were found to be constant after glucose loading.

Key Words: ADMA, Arginine, Glucose loading

1. GİRİŞ

Hastalıkların tanısında kullanabilmek amacıyla birçok molekül üzerinde bilimsel çalışmalar devam etmektedir. Bu moleküllerden bir tanesinin bile tanı amacıyla kullanılabilmesi, klinisyenler açısından hastalığın tanısının konulmasında oldukça önemlidir. Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) önemi giderek artan ve klinik tanıda kullanabilmek amacıyla üzerinde çalışmaların yoğun olarak devam ettiği bir moleküldür (Alaçam ve ark 2010).

L-arjinin takviyesi tıbbın değişik alanları için bir umuttur. Özellikle kardiyovasküler sistem ile ilgili patolojilerde L-arjininin nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından nitrik oksite (NO) dönüşerek oluşturduğu olumlu etkiler çok önemlidir. Koroner arter hastalıklarının tedavisi ve önlenmesinde, arjininin endotele bağımlı dilatatör yanıtı düzelttiğine işaret edilmektedir (Maxwell ve Cooke 1998).

Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) endojen nitrik oksit sentaz inhibitörüdür. Lokal nitrik oksit (NO) sentezini engelleyerek vazospazma ve endotel disfonksiyonuna neden olmakta ve koroner arter hastalık gelişimi için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Ateroskleroz gelişim süreci kompleks bir süreçtir ve multifaktöryel nedenlere dayanmaktadır. Artmış kan basıncı etyolojisinde, nitrik oksit sentezindeki azalma ile seyreden vazokonstrüksiyon önemli rol oynamaktadır. Yine endotel disfonksiyonunda azalmış NO düzeyleri önemli etkilere sahiptir. Endotel disfonksiyonu kronik bir süreç sonucu gelişmekte ve bu sürece katkıda bulunan parametreler önemli risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. NO sentezini azaltan ADMA' nın endojen bir inhibitör molekül oluşu son zamanlarda ADMA üzerine olan çalışmaları yoğunlaştırmıştır (Erdem ve Ünlü 2009).

ADMA' yı önemli kılan, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini yarışmalı olarak inhibe etmesidir. Nitrik oksit sadece endotel bağımlı vazodilatasyon değil aynı zamanda damar duvarındaki düz kas proliferasyonu, lümendeki hücre-hücre etkileşimleri, platelet adezyon ve agregasyon inhibisyonu ve monosit adezyon inhibisyonu gibi düzenleyici fonksiyonları da olan; vasküler dengenin sağlanmasında ve organ kan akımının idamesinde rol alan kilit bir moleküldür (Cooke ve Dzau 1997, Napoli ve Ignarro 2001).

Anjiogenez stimülasyonu, süperoksit radikallerinin salınışının engellenmesi gibi vasküler sistem üzerindeki fonksiyonlarından dolayı nitrik oksite 'endojen anti-aterojenik molekül' adı verilmiştir (Cooke ve Tsao 1994, Cooke ve Losordo 2002).

ADMA, böylesine önemli fonksiyonlara sahip anti-aterojenik bir molekülün sentezini selektif olarak inhibe eder ve NO' in koruyucu etkilerinden vasküler sistemin faydalanmasını engelleyerek patofizyolojik etkilerini gösterir (Rees ve ark 1990, Vallance ve ark 1992).

Arjinin, protein sentezine ve amonyak detoksifikasyonuna katılan şartlı bir esansiyel aminoasit olarak tanımlanır. Arjininin en önemli fizyolojik yollarından bir tanesi NO oluşumunda nitrik oksit sentaz enziminin tek substratı olmasıdır (Yavuz 2006).

L- arjinin takviyesinin bir çok sistem üzerine, özellikle de kardiyovasküler sisteme olumlu etkileri vardır. L-arjininin kardiyovasküler işlevleri olumlu etkilediği, koroner arter hastalığı olan hastalarda myokardiyal iskemiyi önlediği; normal veya yetersiz renal işlevi olan esansiyel hipertansiyon hastalarında kan basıncını ve renal vasküler direnci azalttığı belirlenmiştir. Arjininin temel rolü NO sentezinde bir prekürsör olmasından kaynaklanır. L-arjinin endotel hücrelerinde NO aracılığı ile vazokonstrüksiyonu, trombotik aktiviteyi, düz kas hücresi proliferasyonunu, enflamasyonu, intimal lezyon oluşumunu inhibe eder (Maxwell ve Cooke 1998, Tapiero ve ark 2002).

Diabetes mellitus (DM), yüksek kan şekeriyle seyreden ve pek çok patolojiye neden olan, oldukça sık karşılaşılan endokrin metabolik bozukluklardan biridir. Bu hastalık gelişmiş ülkelerdeki genel popülasyonda %5-10 oranında görülür. Mikro ve makro anjiyopatinin neden olduğu geç komplikasyonları sağlık ve ekonomi açısından ciddi yükler getirir (Kutlu 2007).

DM önemli bir kardiyovasküler risk faktörüdür. Kardiyovasküler mortalite diyabetik olmayanlara göre diyabetli erkeklerde 2-3 kat, diyabetik kadınlarda 3-5 kat artmıştır. Tüm diyabetik hasta ölümlerinin %70-80' inden kardiyovasküler

hastalıklar sorumludur ve bu ölümlerin dörtte üçü koroner arter hastalığına bağlıdır (Öngen 2004, Johnstone ve Nesto 2005).

DM' de hiperglisemi ve ilişkili pek çok faktör kardiyovasküler risk artışından sorumludur. Kan şekeri, glukoz toleransının bozulduğu erken evrelerden başlayarak kardiyovasküler risk artışına yol açmaya başlar (Işık ve ark 2009).

Endotel disfonksiyonu kronik bir süreç sonucu gelişmekte ve bu sürece katkıda bulunan parametreler önemli risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Endotel disfonksiyonuna neden olan bu parametrelerden birinin de kronik hiperglisemi olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir. Bizde çalışmamızda glukoz yüklemeye bağlı olarak kan glukozunun akut yüksekliğinin ADMA düzeylerini etkileyerek endotel disfonksiyonuna olası etkilerini araştırmayı amaçladık.

1.1. Arjinin

İlk olarak Hedin tarafından 1895'te bulunmuş olan arjinin pozitif yüklü (bazik) R gruplu bir aminoasittir. Nötral pH' ta guanidinyum grubu içeren bir proton alıcısı olup, polar özellik taşımakta, proteinlerin yüzeyinde yerleşmektedir. Molekül ağırlığı 174 daltondur. D ve L arjinin olarak var olan iki formundan, proteinlerde bulunanı L-arjininindir (Barbul 1986, Carcillo 2003).

Sağlıklı erişkinler için esansiyel olmayan bu aminoasit, gelişmeleri için yüksek miktarlarda aminoasit gereksinimi olan çocuklar ve gençler için esansiyeldir. L-arjinin gereksinimi büyüme dönemi gibi fizyolojik durumlardan, travma yada enfeksiyon gibi metabolik statüdeki değişikliklerden büyük ölçüde etkilenmektedir. Bu bağlamda arjininin 'koşullara bağlı esansiyel bir aminoasit' olarak değerlendirilmesi daha doğrudur (Balbul 1986, Morris 2004).

Arjinin, total kolesterol ve LDL-kolesterolü düşürücü etkiye sahip olup, hiperkolesterolemi tedavisinde yararlı olabilmektedir. Oral veya intravenöz arjinin takviyesinin hiperkolesterolemik hastalarda ve sigara tiryakilerinde endotelyal

disfonksiyonunu geriye döndürdüğü belirlenmiştir (Blum ve Cannon 2001, Tapiero ve ark 2002).

Aterosklerozun bir arjinin yetmezlik hastalığı olduğu, lizin/arjinin oranının arttığı üzerinde durulmaktadır (Tapiero ve ark 2002).

1.1.1. Arjinin Metabolizması

Arjinin, protein sentezine ve amonyak detoksifikasyonuna katılan şartlı bir esansiyel aminoasit olarak tanımlanır. Ayrıca glikojenik bir aminoasit olduğundan glukoza çevrilebilir ve enerji oluşturmak için katabolize edilebilir (Visek 1986). Arjinin ince bağırsak lümeninden enterositler tarafından alınarak, aktif transportla emilir. Küçük bir kısmı enterositlerde metabolize olur ve burada protein sentezinde kullanılır. Metabolize olmamış kısım ise portal dolaşımla karaciğere taşınarak bir miktar daha metabolize olur. Karaciğerde metabolize olmamış arjinin sistemik dolaşıma geçer, çeşitli dokulara dağılır ve metabolik olaylara katılır. Glomeruler filtrasyona uğrayan arjininin yaklaşık tamamı reabsorbe olur (Onat ve ark 2002, Morris 2004).

Arjinin besinlerle dışardan alınabileceği gibi vücutta da endojen kaynaklı olarak elde edilebilir. Vücutta endojen arjinin sentezi üç yoldan olur. Bunlar; sitrüllinden arjinin sentezi (ince bağırsak, böbrek ve karaciğerde), glutamattan arjinin sentezi, proteinlerin yıkımından arjinin oluşumu şeklindedir (Onat ve ark 2002, Soeters ve ark 2002).

Arjinin, arjinaz ile ornitin ve üreye ayrılır. Arjinazın da, tip 1 ve tip 2 olmak üzere iki izoformu vardır. Total arjinaz aktivitesinin büyük kısmını oluşturan tip 1 arjinaz, sitozolik bir enzim olup karaciğerde üre siklusunun bir parçası olarak yüksek düzeylerde bulunmaktadır. Tip 2 arjinaz, mitokondriyaldir. Karaciğer dışında bir çok dokuda bulunur; total arjinaz aktivitesinin sadece küçük bir kısmını oluşturur (Soeters ve ark 2002).

1.1.2. Arjinin ve Nitrik Oksit

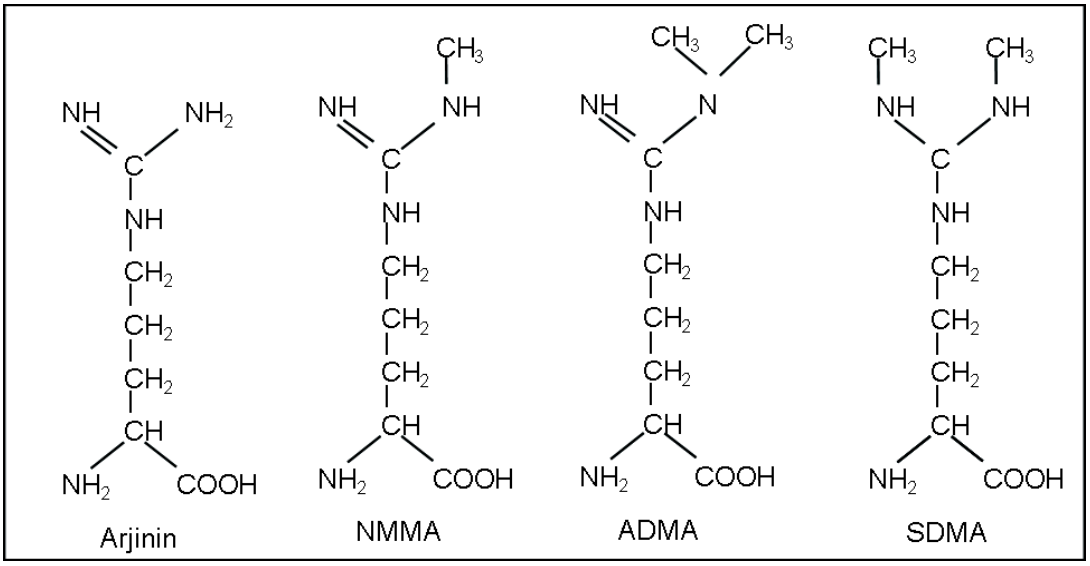
Arjininin en önemli fizyolojik yollarından bir tanesi NO oluşumunda nitrik oksit sentaz enziminin tek substratı olmasıdır. Bir nörotransmitter ve sitotoksik etkili bir molekül olarak bilinen NO aynı zamanda endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak da adlandırılır ve kan damarlarında vazodilatasyona yol açar (Palmer ve ark 1987). Bu etkisinden dolayı konjestif kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı ve impotans gibi endotelyal disfonksiyon ve sınırlı kan akımından kaynaklanan bir çok kardiyovasküler hastalığın tedavisinde kullanımı önerilmiştir (Cooke ve Tsao 1997).

1.1.3. Arjininden Glukoz ve Glukojen Oluşumu

Glukojenik bir aminoasit olan arjinin, arjinaz ile ornitin ve üreye dönüşür. Bu reaksiyon karaciğerde üre döngüsünün bir parçası olarak oluşur. Ornitin transaminasyonla glutamat-γ-semialdehit üzerinden sitrik asit siklusunun bir metaboliti ve glukoneogenez substratı olan α-ketoglutarata dönüşür. Oluşan glukoz ihtiyaca göre karaciğer ve kasta glukojene dönüşür (Onat ve ark 2002).

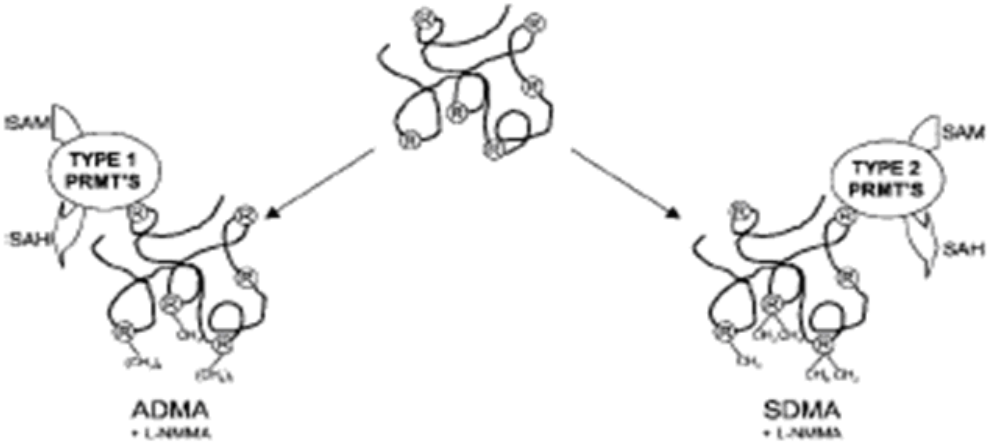
1.2. Metil Arjininler

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), N-monometil L-arjinin (l-NMMA) ve simetrik dimetil arjinin (SDMA) başlıca metil arjinin türevleridir (Şekil 1.1). Metil arjininler proteinlerdeki arjinin rezidülerinin posttranslasyonel modifikasyon ile metillenmesi sonucu oluşan türevlerdir. Bu metilasyonu protein arjinin metil trasnferaz (PRMT) enzimi katalizler ve böylelikle proteinlerin içindeki arjinin' in guanido azotuna 1 veya 2 metil grubu aktarımı gerçekleşir. Bu reaksiyonlar esnasında PRMT grubu enzimler S-adenozil metiyonini (SAM) metil vericisi olarak kullanırlar (Clarke 1993, Mcbride ve Silver 2001).



Şekil 1.1. Arjinin ve Metillenmiş Arjinin Formları (Ueda ve ark 2007).

PRMT grubu enzimlerinin 2 alt grubu tanımlanmıştır (tip 1 ve tip 2). PRMT reaksiyonları sonucu monometilasyon yada dimetilasyonoluşur. Dimetilasyon olarak, tip 1 PRMT reaksiyonu sonucu ADMA oluşurken, tip 2 PRMT reaksiyonu sonucu SDMA oluşur (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Arjininin Metilenmiş Formlarının Sentezi (Vallance ve Leiper 2004).

Her iki tip PRMT'nin birkaç izoformu vardır, her iki izoformuda monometilasyon ile L-NMMA oluşumuna yol açabilir. İnsanlarda PRMT aktivitesi gösteren 9 adet PRMT' nin PRMT 5, 7, 9; PRMT 2 olarak, diğer PRMT' ler ise PRMT 1 olarak bilinir (Krause ve ark 2007).

Tip 1 PRMT en çok rastlanılan tipidir ve kardiyovasküler sistemde kalp, düz kas hücreleri ve endotelyal hücrelerde bulunduğu gösterilmiştir (Clarke 1993, Vallance ve ark 1992). Artan LDL ile birlikte artmış tip 1 PRMT ekspresyonu ile ADMA düzeylerinin LDL ile pozitif korelasyonu olduğu gözlemlenmiştir. Endotelyal hücre kültürlerinde LDL, oxLDL konsantrasyonu artışı PRMT gen ekspresyonu artışına neden olur. Bu etki ADMA oluşumundaki değişikliklerle koreledir (Boger ve ark 2000).

Tip 1 PRMT aktivitesi sonucu oluşan ürünlerin nitrik oksit sentazı (NOS) inhibe edebilme özelliği vardır. Tip 2 PRMT, SDMA oluşumunda rol oynar. SDMA' nın NOS' u inhibe etme özelliği yoktur. PRMT' lerin akciğerlerde fonksiyonel olduğu ve hipoksinin akciğerde PRMT 2 ekspresyonu ve akciğer ADMA konsantrasyonlarında düzenleyici olduğu gösterilmiştir (Yıldırım ve ark 2006).

1.2.1. Asimetrik Dimetiarjinin (ADMA)

ADMA, nükleoproteinlerde bulunan arjinin rezüdülerine, protein arjinin metil transferaz (PRMT) enzimi tarefından metil gruplarının sentez sonrası düzenlemeyle eklenmesi ve bu proteinlerin yıkılması sonucunda meydana gelen ve önemi giderek artan bir metillenmiş arjinin türevidir (Vallance ve Leiper 2004).

ADMA hem endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS)'ı hemde indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS)'ı doz bağımlı bir şekilde inhibe etmektedir (Teerlink ve ark 2009).

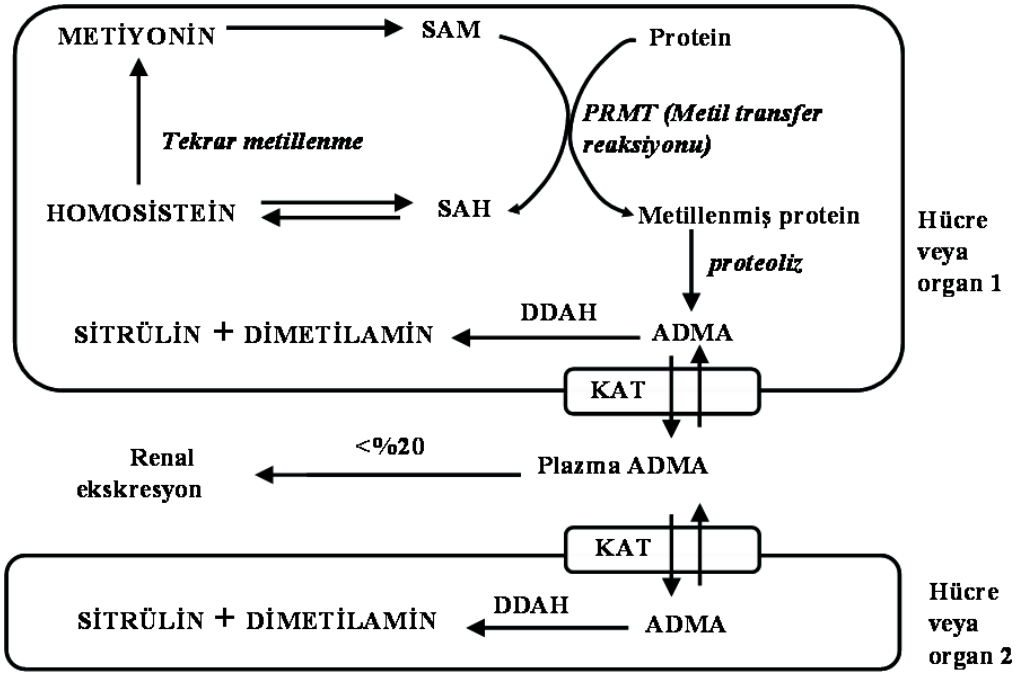
İnsanlarda ADMA yüksekliği, ilk kez böbrek yetmezliği olan bireylerde saptanmıştır. Bugün pek çok hastalık durumunda ADMA düzeyi yüksekliği bilinmektedir. Nitrik oksit (NO) üretimindeki anormallikler, obezite, septik şok, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, renal yetmezlik gibi birçok hastalıkta ADMA artışı görülmektedir (Wahbi ve ark 2001).

1.2.2. ADMA Sentezi

Serbest ADMA oluşumu için iki kompleks olayın gerçekleşmesi gerekir. Birincisi proteinlerdeki arjinin kalıntılarının metillenmesi, ikincisi ise bu metilenmiş proteinlerin proteoliz yoluyla serbest aminoasitlere kadar yıkılmasıdır. Serbest ADMA, bu yıkım ile ortaya çıkmaktadır (Erbil ve ark 2012). Proteinlerdeki arjinin kalıntılarına metil gruplarının eklenmesini, protein arjinin metil transferaz (PRMT) enzimleri sağlar (Clarke 1993). PRMT enziminin iki ana tipi vardır. Her ikiside arjiininin monometillenmesini sağlayabilir. Böylece N-monometil-L-arjinin (NMMA) oluşur. Fakat ikinci bir metil grubu eklendiğinde oluşacak ürün, PRMT enziminin tipine bağımlıdır. Tip 1 PRMT enzimi, aynı guanidino azotunu dimetilleyerek N,N-dimetil-L- arjinin (ADMA) oluşumunu katalizlerken, tip 2, her iki guanidino azotunu monometilleyerek N,N-dimetil-L-arjinin (SDMA) oluşumunu gerçekleştirir (Vallance ve Leiper 2004, Tran ve ark 2003).

PRMT enzimleri metil vericisi olarak S-adenozilmetionin (SAM) kullanırlar. SAM ise ATP ve metiyoninden sentezlenir. SAM, metil grubunu transfer ettikten sonra S-adenozilhomosisteine (SAH) çevrilir. Oluşan homosistein ya trans-sülfürasyon yolu ile metabolize edilir yada tekrar metillenerek metiyonine dönüşür (Şekil 1.3). Tekrar metilasyon reaksiyonu, metil vericisi olarak vitamin B ve 5-metil tetrahidrofolik aside bağımlıdır. ADMA sentezi için iki adet metil grubu transferine ihtiyaç vardır ve bu reaksiyonda yan ürün olarak iki homosistein oluşur. Plazma homosistein ve ADMA seviyeleri arasında pozitif korelasyon varlığı bildirilmiştir (Holven ve ark 2003).

Proteine bağlı arjininin metillenmesi ile oluşan proteine bağlı ADMA' nın NOS enzimi üzerinde inhibitör etkisi yoktur. Bu inhibisyon için metillenmiş proteinlerin proteolizi ile oluşan serbest ADMA şarttır. Bugüne kadar serbest arjininden ADMA sentezlendiğine dair literatürde bir bilgi yoktur (Erbil ve ark 2012).



Şekil 1.3. ADMA Oluşumu ve Metabolizması (Erbil ve ark 2012).

1.2.3. ADMA Yıkımı

ADMA' nın katabolizmasında üç önemli yol mevcuttur: Birincisi; ADMA'nın dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi tarafından sitrüllin ve dimetilaminlere yıkılmasıdır(>%90). İkincisi; ADMA'nın değişmeden böbreklerden atılmasıdır(~%5). Üçüncüsü ise; dimetilarjinin pürivat aminotransferaz enzimi tarafından α-ketoasidlere dönüştürülmesidir(<% 5) (Ogawa ve ark 1989, Ogawa ve ark 1990).

ADMA yıkılımının düzenlenmesinde DDAH merkezi rol oynar. DDAH, böbrek, karaciğer, pankreas ve kan damarlarında eksprese olmaktadır. İki izoformundan DDAH-1 tipik olarak nöronal NOS'un eksprese olduğu dokularda bulunmaktadır. DDAH-2 ise eNOS' u içeren dokularda fazla bulunmaktadır. DDAH, ADMA için spesifiktir, SDMA'yı etkilemez. Bir çok hastalıkta azalmış DDAH aktivitesi, dolaşımdaki ADMA düzeylerinin artışına yol açmaktadır. Hiperglisemi ve hiperkolesterolemi gibi durumlar direkt olarak ADMA birikimi ile sonuçlanan DDAH aktivitesinde azalmaya neden olur (Chan ve Chan 2002).

1.3. Diabetes Mellitus ve ADMA

Diabetes mellitus, insülinin etki ve sekresyonunun ya da her ikisinin birden bozukluğu ile ortaya çıkan ve hiperglisemi ile karakterize olan metabolik hastalıklar topluluğudur (Orçun ve ark 2003).

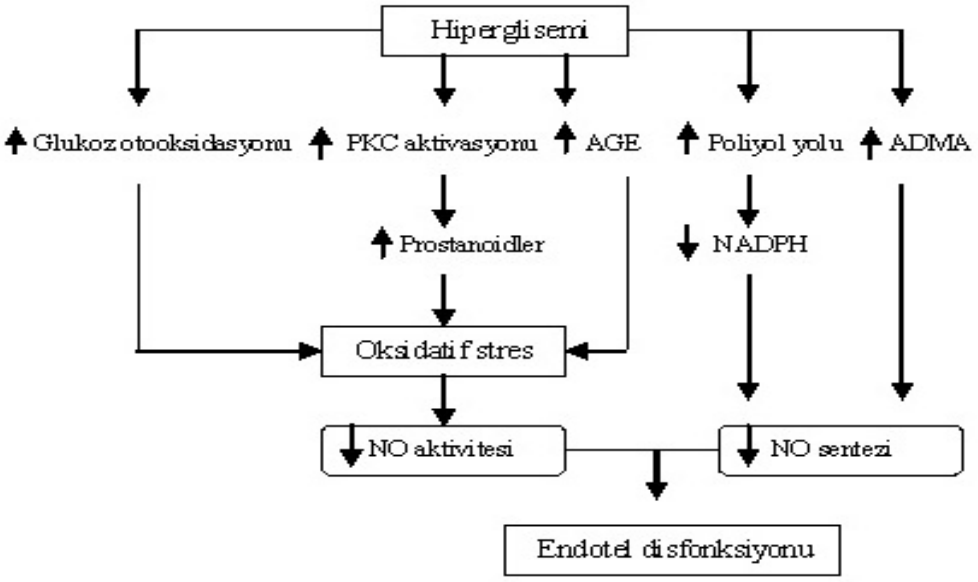
İnsülin bağımlı, bağımsız ve gestasyonel diabette ADMA' nın arttığı bilinmektedir. Lin ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, DM' de bozulan nitrik oksit sentaz yolu incelenmiştir. Streptozotosinle indüklenen diabetik ratlarda, plazma ADMA, diabetik olan ratlardan daha yüksek bulunmuştur. Yüksek glukoza maruz bırakılmış hücre kültürlerinde diabetik ratlardaki DDAH aktivitesinin normalden daha yüksek olduğu vasküler düz kas ve insan endotelyal hücrelerinde; DDAH aktivitesinin bozulduğu ve ADMA birikimi olduğu gösterilmiştir. İnsan endotelyal hücrelerinde polietilen glikol ile kombine süperoksid dismutaz (SOD) eklendiğinde DDAH aktivitesi ve ADMA birikiminin geri döndüğü gösterilmiştir (Lin ve ark 2002).

Tarnow ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; tip 1 DM' de erken diabetik nefropatide kardiyovasküler morbiditenin belirteci olarak artmış ADMA değerlendirilmiş ve 1993 yılından bu yana takip edilen belirgin diabetik nefropatisi olan 408 hasta ve 192 normoalbuminirik tip1 DM kontrol grubu olarak çalışmaya alınmış ve bu çalışma sonucunda nefropatililerde plazma ADMA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Başka bir çalışmada myokard infarktüsü ve inme gelişen 44 hastada, kontrol grubuna göre plazma ADMA düzeyinin arttığı gösterilmiş ve bu çalışmada ayrıca erken diabetik nefropatide morbidite ve mortalitenin fazla olduğu gösterilmiştir (Tarnow ve ark 2004).

Diabetik hastalarda serum tümör nekrozis faktör-α (TNF-α) ve vasküler endotel growth faktör (VEGF)' nin yanı sıra ADMA' nın da yükseldiğini gösteren çalışmalar vardır (Makino ve ark 2005, Xiong ve ark 2005).

Endotel disfonksiyonunun insülin direnci ile ilişkisi bilinmekle birlikte patofizyolojik temel net değildir. Bu konuda ADMA artışının insülin direnci

gelişimine katkıda bulunabileceği yönünde görüşler mevcuttur (Şekil 1.4) (Chan ve Chan 2002).



Şekil 1.4. ADMA, Hiperglisemi ve Endotel Disfonksiyonu ile İlgili Mekanizmalar (Chan ve Chan 2002).

Diabetik komplikasyonlar açısından makrovasküler ve retinopati gibi mikrovasküler komplikasyonlarla ADMA arasında kuvvetli ilişki saptanmıştır (Krzyzanowska ve ark 2006, Malecki ve ark 2007). Bir çalışmada tip 1 diabetli hastalarda artmış ADMA düzeyleri ve ADMA'nın VKİ, açlık kan şekeri, LDL kolesterol ve HDL kolesterol ile ilişkisi ortaya konmuştur (Altınova ve ark 2007).

Hipergliseminin ADMA artışına nasıl yol açabileceği tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda hipergliseminin oksidatif stresi uyarıp ADMA' yı metabolize eden DDAH enzim aktivitesini bozduğu (Lin ve ark 2002) ve oksidatifstresin ADMA' yı sentez eden arjinin metiltransferaz ekspresyonunu etkilediği (Maas 2005) yönünde görüşler ortaya konmuştur.

1.4. Endotel Disfonksiyonu ve ADMA

NO vasküler homeostazda çok önemli bir yere sahiptir ve vazodilatör aktivitesinin yanı sıra, vasküler hastalıklarda anahtar rol oynayan lökosit adezyonu,

trombosit agregasyonu ve vasküler düz kas hücre proliferasyonunu inhibe edebilmektedir. Hayvan modellerinde vasküler NO sentezindeki değişikliklerin, ateroskleroz ve restenozun ilerlemesinde önemli etkiye sahip olduğu izlenmiştir. NOS yolunun bozulması, kardiyovasküler olaylar için bağımsız bir göstergedir (Işıklar ve Mutaf 2010). NOS' un endojen inhibitörü olarak ADMA' nın önemi, ilk defa Vallance ve arkadaşları tarafından son dönem böbrek hastalığı olan kişilerde tanımlanmıştır (Vallance ve ark 1992). Bu hastalarda renal klirensin azalması sonucu artmış plazma ADMA düzeyleri diyaliz ile düşürülerek endotel fonksiyonunda düzelme sağlanmıştır. Daha sonraki çalışmalarda, artmış ADMA düzeyleri ile endotelyal vazodilatör disfonksiyon arasında ilişki bir çok kez ortaya konmuştur.

Damar düz kasları tarafından salgılanan faktörler daha çok vazokontrüksiyona sebep olurken, endotel tabakasının salgıladığı faktörler ise daha çok vazodilatasyonda rol alır. Endotel tarafından salgılanan NO' nun damar yapısını ve fonksiyonlarını koruyucu etkileri bulunmaktadır. Endotelde meydana gelen bir harabiyet NO düzeylerinde azalma meydana getirmekte, bu da damar fonksiyonlarının bozulmasına yol açmaktadır. NO eksikliğinde damar düz kaslarında proliferasyon izlenmekte, damar duvarının esnekliği azalmakta ve bunların sonucu olarak akışa bağımlı vazodilatasyon kaybı ortaya çıkmaktadır (Cooke 2005).

Klinik ve deneysel çalışmalar endotel disfonksiyonunu, artmış oksijen kökenli serbest radikal üretimiyle ilişkilendirmiştir (Sydow ve Münzel 2003). NO' nun yarılanma ömrü oksidatif stres altında azalmaktadır. NO süperoksit anyonlarıyla birleşmekte, peroksinitrit meydana gelmekte ve meydana gelen bu ürün lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır (Rubanyi ve Vanhoutte 1986, Beckman ve Koppenol 1996). ADMA, NOS aktivitesini inhibe ettiğinden NO düzeylerinde bir azalmaya yol açmakta, bunun sonucu olarak da endotel fonksiyon bozuklukları gelişmektedir.

Hiperkolesterolemik erişkinlerde yüksek ADMA düzeyleri ile endotel bağımlı vazodilatasyon arasında negatif korelasyon gösterilmiştir. Hiperkolesterolemik kişilerde intravenöz arjinin infüzyonu, endotel fonksiyonunu onarır ve üriner nitrat

ekskresyonunu arttırır. ADMA arjininin kompetitif inhibitörüdür ve arjininin tüm bu etkilerini inhibe edebilir (Böger 2003).

İnsanlarda plazma ADMA düzeyleri, hızla değişebilir. Bu da endotelyal vazodilatör fonksiyondaki değişiklikler ile ilişkilidir. ADMA günümüzde endotel disfonksiyonu için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Cooke 2004).

1.5. Kardiyovasküler Hastalıklar ve ADMA

Arjininden NO oluşumu ADMA gibi çeşitli arjinin analogları tarafından inhibe edilir. Bu analoglar trombüs oluşumu ve ateroskleroza sebep olabilir. Akut koroner sendromlu olgularda yapılan çalışmalarda ADMA seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur. Bu hastaların medikal tedavi sonrası ADMA seviyelerinin azaldığı gözlenmiştir (Bae ve ark 2005).

ADMA, NOS inhibisyonu yoluyla NO düzeyini azaltarak, endotel bağımlı gevşemeyi bozar ve kan basıncını yükseltir. NOS inhibisyonu böbrekleride etkileyerek sodyum ekspresyonunun azalmasına neden olur. Vücutta sodyum tutulumunun artışı, hipertansiyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Ruilope ve ark 1994).

ADMA' nın intra-arteryal infüzyonu lokal vazokontsrüksiyona neden olurken, sistemik infüzyonu sistemik vasküler rezistansı arttırır ve renal fonksiyonu bozar. Deneysel ve klinik çalışmalarda ADMA düzeylerindeki küçük değişikliklerin bile vasküler NO üretiminde, vasküler tonusta ve sistemik vasküler dirençte anlamlı değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (Böger ve Ron 2005).

Azuma ve arkadaşları karotid arterlerine balon uygulanan tavşanların rejenere endotelyumunda sağlıklı olanlara göre düşük intraselüler arjinin ve yüksek ADMA seviyeleri bulmuşlardır. Bu bulgular rejenere endotelyumda DDAH aktivitesinin düşük olduğunu ve arjinin seviyesinin yetersiz olduğunu düşündürmektedir (Zoccali ve ark 2004).

ADMA seviyeleri kalp yetmezliği olan hastalarda da artar. ADMA' nın ventrikül kontraksiyonu ve kalp hızını azaltma kapasitesi vardır. ADMA' nın kardiyak fonksiyondaki rolü ve kalp yetmezliğindeki endotel fonksiyonundaki rolü tam aydınlatılamamıştır (Lentz ve ark 2003).

Yüksek ADMA düzeyleri kardiyovasküler olay insidansının artması yanında konsantrik sol ventriküler hipertrofi ve karotid arter intima media kalınlığının artması ile de kuvvetli bir ilişki gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Zoccali ve ark 2004). Karotid intima media kalınlığı güçlü kardiyovasküler risk belirtecidir (Hodis ve ark 1998). Plazma ADMA konsantrasyonları klinik aşikar aterosklerozu olanlarda olmayanlara göre yüksek olarak bulunmuştur (Kielstein ve ark 1999).

ADMA hayvan modellerinde, anjiogenezi inhibe eder. Kültür hücrelerinde ve deneysel tümör hücrelerinde DDAH' ın aşırı ekspersyonu, anjiogenik olayların başlamasına neden olmaktadır. DDAH' ın aşırı ekspresyonu, vasküler endotelyal büyüme faktörü ekspresyonunda artışa neden olur ve bunun anjiogenezin ilerlemesinde önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (Smith ve ark 2003). ADMA düzeyindeki artışlar, kardiyovasküler riskteki artışa önemli katkıda bulunmaktadır. Hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi, hipertansiyon, insülin direnci, diabet, hiperhomosisteinemi gibi koroner kalp hastalığına risk oluşturan durumlarda ve aterosklerotik hastalıklarda ADMA düzeylerinin artmış olduğu saptanmıştır (Böger 2003, Vallance ve Leiper 2004).

Hücre kültürlerinde LDL-Kolesterolün de DDAH aktivitesi ve PRMT ekspresyonunu etkilediği gösterilmiştir (Böger ve ark 2000). Klinik olarak sağlıklı 116 kişide yapılan çalışmada yüksek ADMA düzeyleri ile karotid arter intima-media kalınlığı arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (Miyazaki ve ark 1999). Orta yaşlı 150 kişiyi içeren çalışmada yüksek ADMA düzeylerinin, akut koroner hastalık riskini 3.9 kat arttırdığı gösterilmiştir (Valkonen ve ark 2001).

Kardiyovasküler patoloji için tedavinin amacı artmış ADMA' nın etkilerini ortadan kaldırmak veya ADMA seviyelerini azaltmaktır. Teorik olarak arjinin,

ADMA' nın yerini alabilir ve NOS aktivitesini tamir edebilir. Arjininin hiperkolesterolemili hastalarda endotel disfonksiyonunu ve periferal vasküler hastalığı olan hastalarda yürüme zorluğunu düzelttiği gözlenmiştir. Bu hastalarda ADMA düzeylerini azaltmada diğer bir alternatif yol DDAH ekspresyonunu veya aktivitesini artırmaktır (Böger ve ark 1998).

1.6. OGTT (Oral Glukoz Tolerans Testi)

OGTT, asemptomatik diabetin saptanmasında tüm ülkelerde tanınan standart bir testtir (West 1975, Harris 1993).

Herhangi bir zamanda alınan kan glukozundan diabetin saptanması başarısı düşüktür. Çünkü hastanın son yemek yeme saati, yemeğin içeriği gibi standardize edilemeyen faktörler hastanın glisemi durumunu yanlış değerlendirmemize neden olur (Singer ve Nathan 1989, WHO 1980). Bu durumda çeşitli uygulama zorlukları olmasına rağmen OGTT iyi bir diabet teşhis yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır.

Harris ve arkadaşları OGTT' nin tüm zorluklarına rağmen sensitivite, spesifite ve pozitif prediktif değerinin fazla olmasının tüm bu dez avantajların önüne geçtiğini bildirmiştir (Harris ve ark 1992).

OGTT ile WHO kriterlerine göre değerlendirildiğinde, komplikasyonların henüz başlamadığı erken dönemde diabet tanısı konabilmektedir. Bu nedenle daha zahmetli olan NDDG kriterlerinin yerine güvenle OGTT uygulanabilir (Orçun ve ark 2003).

1.6.1. OGTT Endikasyonları

1. Tarama testinde açlık kan şekerinin 110 mg/dl ve üzerinde yada postprandiyal kan şekerinin (120. dakika) 140 mg/dl ve üstünde bulunması.
2. Gestasyonel diyabeti belirlemek veya reddetmek.
3. Şişmanlık ve/veya özellikle ağırlıklı ailesel diabet hikayesi olanlar.
4. Otozomal dominant (mody) tipi diabet hikayesi olanlar.

5. Açıklanamayan nöropati, retinopati, ateroskleroz, koroner arter hastalığı, periferik vasküler hastalıklar (özellikle 50 yaş altında olanlarda).
6. Operasyon, stres, travma, infarktüs, serebral vasküler olaylar, kortikosteroid kullanımı, gebelik esnasında anormal glukoz değerleri veya glikozüri görülenlerde bu olaylar geçtikten sonra test yapılmalıdır.
7. Reaktif hipoglisemi düşünülen kişilerde (bu kişilerde OGTT süresi daha uzun tutulur) (Kabalık ve ark 1995).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Çalışma Şekli ve Olgu Seçimi

Çalışmamız için Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 30 Ekim 2013 tarih ve 2013/316 sayılı kararı ile onay alınmıştır. Çalışmamız için Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinin çeşitli polikliniklerine gelen ve muayene sonrası oral glukoz tolerans testi (75 gr OGTT) istenen hastalardan alınan kanlar kullanılmıştır. Çalışmaya alınan tüm bireyler çalışmaya gönüllü olarak katılmak isteyen kişilerden seçilmiştir. Bu hastalardan alınan kanlardan istenen testler çalışıldıktan sonra kalan atık serumlar çalışmamızda kullanılmıştır. 30 erkek 32 bayan toplam 62 hasta çalışmaya alınmıştır. Çalışmamızda bilinen herhangi bir kronik rahatsızlığı (diabetes mellitus, hipertansiyon, karaciğer, böbrek, kalp hastalıkları vs.) olmayan bireylerin örnekleri kullanılmıştır. Bilinen herhangi bir akut veya kronik rahatsızlığı olanlar, sigara ve alkol kullananlar ile çalışmaya katılmayı kabul etmeyenler dışlama kriteri olarak belirlenmiştir.

2.1.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Çalışmaya alınan bireylerden 8 saatlik açlığı takiben ilk olarak sabah venöz kan örnekleri alınmıştır. Ardından bireylere glukoz yüklemesi yapılarak (75 gr) yüklemeden sonraki birinci ve ikinci saatlerdede bireylerin venöz kanları alınmıştır. Bu alınan kanlar antikoagülan içermeyen tüplere alınmış ve santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Bu bireylerin hekimleri tarafından istenen testler çalışıldıktan sonra bireylerin kalan atık serumları ayrılarak yapacağımız biyokimyasal analizler gerçekleştirilinceye kadar -80°C' de saklanmıştır. Çalışmamızda hastalardan, hekimlerinin istediği testler için alınan kan örneklerinden başka ekstra kan örneği alınmamıştır.

2.1.3. Kullanılan Reaktif ve Çözeltiler

1) ADMA Standart (Calbiochem, Lot: 311204, US)
2) Arjinin Standart (Merck, 519- K 538944, Darmstadt Germany)
3) HCl (Merck, K 25039614-814, Darmstadt Germany)
4) Metanol (HPLC Grade, Merck, Katolog No: 26301108-914 , Darmstadt Germany)
5) Asetonitril (Gas chromatography SupraSolv® Merck Katalog No: 1000172500, Almanya)
6) [D7]- ADMA (Medical Isotopes Katalog No: DLM-7476-5, , A.B.D)
7) Formik Asit (98-100% Suprapur® Merck Katalog No: 1116701000, Almanya)
8) Bütanol (Sigma Katalog No: W217808-1KG-K)
9) SDMA Standart, L-NMMA Standart, Sitrüllin Standart.

2.1.4. Kullanılan Cihazlar

1) Santrifüj (Beckman Coulter)
2) pH Metre
3) Nuçe Erleni
4) Magnetik Karıştırıcı, Magnetik Bar
5) Millipore Filtre
6) Vorteks
7) Phenomenex Luna C18 50 x 2.1 mm (5 µm) kolon (HPLC Brand Katalog No: 00A-4040-B0 A.B.D).
8) Shimadzu LC-20AD (Japonya) yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile eşlenmiş Applied Biosystems MD SCIEX (USA) API 3200 marka kütle spektrometre (LC-MS/MS) cihazı.

2.2. Yöntem

2.2.1. ADMA, Arjinin ve Diğer Metabolitlerin Analizi

ADMA, arjinin ve diğer metabolitlerin ölçümlerinde Di Gangi ve ark.' nın (2010) yaptıkları ölçüm referans alınmış, çeşitli yeni düzenlemelerle modifiye edilerek ölçüm süresi kısaltılmıştır.

ADMA, arjinin ve diğer metabolitlerin düzeyleri gradient pompa kullanılarak analiz edildi. Gradient mobil fazları olarak Mobil faz A ve B hazırlandı.

2.2.2. Mobil Faz A' nın Hazırlanması

1 litre HPLC grade su içerisinden 1 ml çekilip atıldı, üzerine 1 ml formik asit ilave edilerek mobil faz A hazırlandı.

2.2.3. Mobil Faz B'nin Hazırlanması

1 litre metanol içerisinden 1 ml çekilip atıldı, üzerine 1 ml formik asit ilave edilerek mobil faz B hazırlandı.

2.2.4. Mobil Fazların Filtrasyonu ve Degaze Edilmesi

Hazırlanan mobil faz 0.45 µm filtreler kullanılarak filtre edildi. Degaze işlemi ultrasonik degazer ile gerçekleştrildi.

2.2.5. ADMA Standart Hazırlanması

ADMA stok standart solüsyonu (5mg) 5ml metanol içinde hazırlanıp buzdolabında saklandı. Stok solüsyonunun 1000 mg/L ile dilüsyonuyla standart solüsyonu (50 µM) hazırlandı. Hazırlanan 50 µM standart solüsyondan seri dilüsyonlarla sırasıyla 25 µM, 12,5 µM, 6,25 µM, 3,1 µM, 1,56 µM, 0,78 µM, 0.39 ve 0.18 olmak üzere standart çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan standartlar derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak 40 µl enjekte edildi. Alınan pik alanlarıyla ADMA standart grafiği oluşturuldu.

2.2.6. Arjinin Standart Hazırlanması

Arjinin stok standart solüsyonu (1 mM) 0.1 M metanol içinde hazırlanıp buzdolabında saklandı. Stok solüsyonunun 0.1 M metanol ile dilüsyonuyla standart solüsyonu (500 µM) hazırlandı. Hazırlanan 500 µM standart solüsyondan 0.1 M metanol ile dilüsyonla sırasıyla 250 µM, 125 µM, 62,5 µM, 31,125 µM, 15,56 µM, 7,78 µM, 1,945 µM olmak üzere standart çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan standartlar derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak 40 µl enjekte edildi. Alınan pik alanlarıyla arjinin standart grafiği oluşturuldu.

2.2.7. SDMA Standart Hazırlanması

SDMA stok standart solüsyonu (5mg) 5ml metanol içinde hazırlanıp buzdolabında saklandı. Stok solüsyonunun 1000 mg/L ile dilüsyonuyla standart solüsyonu (50 µM) hazırlandı. Hazırlanan 50 µM standart solüsyondan seri dilüsyonlarla sırasıyla 25 µM, 12,5 µM, 6,25 µM, 3,1 µM, 1,56 µM, 0,78 µM, 0.39 µM olmak üzere standart çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan standartlar derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak 40 µl enjekte edildi. Alınan pik alanlarıyla SDMA standart grafiği oluşturuldu.

2.2.8. L-NMMA Standart Hazırlanması

LNMMA stok standart solüsyonu (5mg) 5ml metanol içinde hazırlanıp buzdolabında saklandı. Stok solüsyonunun 1000 mg/L ile dilüsyonuyla standart solüsyonu (50 µM) hazırlandı. Hazırlanan 50 µM standart solüsyondan seri dilüsyonlarla sırasıyla 25 µM, 12,5 µM, 6,25 µM, 3,1 µM, 1,56 µM, 0,78 µM, 0.39 µM olmak üzere standart çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan standartlar derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak 40 µl enjekte edildi. Alınan pik alanlarıyla LNMMA standart grafiği oluşturuldu.

2.2.9. Sitrüllin Standart Hazırlanması

Sitrüllin stok standart solüsyonu (1 mM) 0.1 M metanol içinde hazırlanıp buzdolabında saklandı. Stok solüsyonunun 0.1 M metanol ile dilüsyonuyla standart solüsyonu (500 µM) hazırlandı. Hazırlanan 500 µM standart solüsyondan 0.1 M metanol ile dilüsyonla sırasıyla 250 µM, 125 µM, 62,5 µM, 31,125 µM, 15,56 µM, 7,78 µM, 1,945 µM olmak üzere standart çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan standartlar derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak 40 µl enjekte edildi. Alınan pik alanlarıyla sitrüllin standart grafiği oluşturuldu.

2.2.10. Türevleştirici Reaktif Hazırlanması

Bir cam beher veya erlene 19 ml bütanol konuldu. Üzerine 1 ml asetilklorid eklenerek türevleştirici reaktif hazırlandı.

2.2.11. Çözdürücü Reaktif Hazırlanması

18 ml HPLC grade distile su alınarak bir cam beher veya erlene konuldu. Üzerine 2 ml metanol eklendi. Bu karışımdan 20 µl çekilip atıldı. Üzerine 20 µl formik asit eklenerek çözdürücü reaktif hazırlandı.

2.2.12. Numune Hazırlanması ve Ölçümü

1) Her bir katılımcıdan 10 mL venöz kan örneği tüplere (BD vacutainer, USA) alındı ve Soğutmalı santrifüjde (4^0C) 3500 devirde 10 dakika santrifüj sonrası serum örnekleri ayrılıp analize dek -80 ^{0}C' de saklandı.

2) 100 µL metanol içerisinde çözülmüş iç standart (d7-ADMA), 200 µL serum örneğinin üzerine eklendikten sonra 13000 rpm' de 10 dakika santrifüj ile çöken proteinler uzaklaştırıldı.

3) Süpernatant temiz bir tüpe toplanıp 60 ^{0}C de azot gazı altında uçuruldu.

4) Türevleştirme işlemi için taze hazırlanmış 200 µL %5 (v v−1) lik bütanol/asetil klorid solüsyonu eklenip 60’^{0}C de 20 dakika sıcakta bekletildi. Tekrar 60 ^{0}C’ de solvent uçuruldu.

5) Çözdürme işlemi %0.1 (v v−1) formik asit içeren 100 µL su–metanol (90:10, v v−1) ile sağlandı.

6) Analitik kolona 40 µL enjeksiyon yapıldı. Bu metodun gün içi ve günler arası değişkenlik (CV) değerleri sırasıyla % 8.6 ve % 10.1 idi.

7) Serum ADMA, arjinin, SDMA, L-NMMA ve sitrüllin düzeyleri Shimadzu LC-20AD (Japonya) yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile eşlenmiş Applied Biosystems MD SCIEX (USA) API 3200 marka kütle spektrometre (LC-MS/MS) cihazında elektrosprey iyonizasyon (ESI) tekniği kullanılarak pozitif mod ile ölçüldü. Kromatografik analiz Phenomenex Luna C18 marka kolon ile modifiye edilmiş bir metot ile gerçekleştirildi.

2.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiki analiz SPSS v16 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Anlamlılık seviyesi $p<0.05$ olarak kabul edildi. Tüm ölçümlerin dağılımlarının normal olup olmadığının tespiti için tek örneklem Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı. Cinsiyetin tüm ölçülen değerler üzerine etkisi normal dağılan veriler için bağımsız örneklem t testi ile normal dağılmayan veriler için Mann-Whitney U testi ile incelendi. VKİ (vücut kütle indeksi)’ nin tüm ölçülen değerler üzerine etkisi normal dağılan veriler için varyans analizi ile normal dağılmayan veriler için Kruskal Wallis testi ile incelendi. Her bir ölçülen değer için kendi içerisinde 0-60 ve 120. dk. değerlerinin karşılaştırılmasında normal dağılan veriler için tekrarlı varyans analizi normal dağılmayan veriler için Friedman testi kullanıldı. Tüm ölçülen değerlerin bir birleriyle olan ilişkileri ise normal dağılan veriler için Pearson korelasyon testi ile normal dağılmayan veriler için Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi.

3. BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen kişilerin elde edilen verileri çizelge 3.1' de özetlenmiştir. Tablo 3.1' de gösterildiği üzere p değeri 0.05' den büyük olan veriler normal dağılım göstermektedir.

Çizelge 3.1. Çalışmaya Dahil Edilen Kişilerin Verileri.

PARAMETRE	N	ORTALAMA±STANDART SAPMA	STANDART HATA	P
Yaş	62	39.71 ± 11.36	1.44	0.62
Vücut kitle indeksi	62	29.11 ± 5.95	0.75	0.44
Glukoz 0.dk	62	104.13 ± 14.89	1.89	0.55
Glukoz 60.dk	62	165.19 ± 56.54	7.18	0.13
Glukoz 120.dk	62	132.39 ± 50.42	6.40	0.64
ADMA 0.dk	62	0.453 ± 0.185	0.023	0.54
ADMA 60.dk	62	0.455 ± 0.204	0.025	0.10
ADMA 120.dk	62	0.458 ± 0.305	0.038	0.03
Arjinin 0.dk	62	477.48 ± 425.14	53.99	0.01
Arjinin 60.dk	62	324.05 ± 201.24	25.55	0.01
Arjinin 120.dk	62	340.95 ± 212.76	27.02	0.21
SDMA 0.dk	62	0.515 ± 0.187	0.023	0.59
SDMA 60.dk	62	0.511 ± 0.177	0.022	0.40
SDMA 120.dk	62	0.502 ± 0.234	0.029	0.35
LNMMA 0.dk	62	0.078 ± 0.081	0.010	0.00
LNMMA 60.dk	62	0.082 ± 0.088	0.011	0.00
LNMMA 120.dk	62	0.076 ± 0.075	0.009	0.00
Sitrüllin 0.dk	62	40.62 ± 26.58	3.37	0.04
Sitrüllin 60.dk	62	29.11 ± 18.51	2.35	0.14
Sitrüllin 120.dk	62	25.05 ± 15.92	2.02	0.08
Arjinin/ADMA 0.dk	62	1019.85 ±585.63	74.37	0.03
Arjinin/ADMA 60.dk	62	743.74 ± 376.40	47.80	0.01
Arjinin/ADMA120.dk	62	762.61 ± 380.90	48.37	0.16

Cinsiyet ile diğer tüm veriler arasındaki istatistiksel karşılaştırma neticesinde elde edilen sonuçlara göre LNMMA 0.dk, LNMMA 60.dk, LNMMA 120.dk ve Arjinin/ADMA 60.dk verileri cinsiyet değişkenine göre farklılıklar göstermektedir ($p<0.05$). Bu veriler dışındaki diğer tüm veriler cinsiyet değişkenine göre oldukça farksızdır ($p>0.05$). Elde edilen veriler çizelge 3.2' de özetlenmiştir.

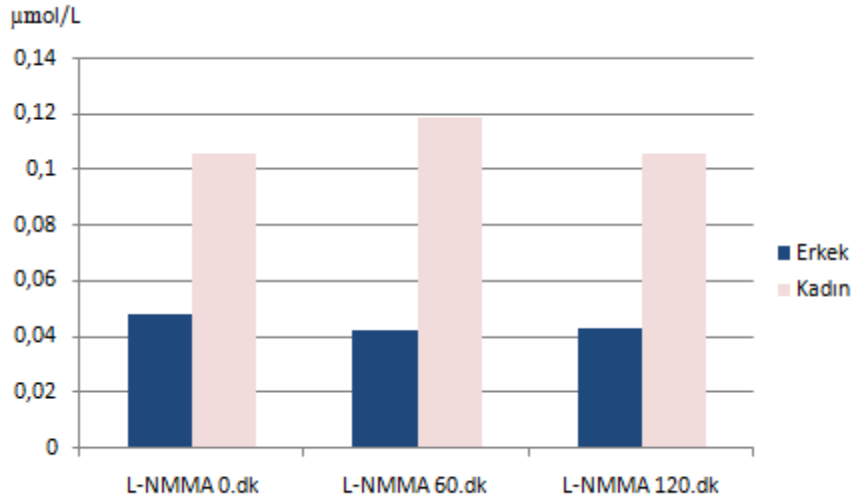
Çizelge 3.2. Cinsiyet İle Diğer Veriler Arasındaki Bulgular.

Parametre	Cinsiyet	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	P
Yaş	kadın	32	37.75	10.28	1.81	0.16
	erkek	30	41.81	12.25	2.23	
Vücut kitle indeksi	kadın	32	30.03	7.01	1.23	0.21
	erkek	30	28.12	4.48	0.81	
Glukoz 0.dk	kadın	32	101.09	14.04	2.48	0.09
	erkek	30	107.37	15.31	2.79	
Glukoz 60.dk	kadın	32	156.34	54.36	9.61	0.21
	erkek	30	174.63	58.21	10.62	
Glukoz 120.dk	kadın	32	133.75	42.18	7.45	0.82
	erkek	30	130.93	58.67	10.71	
ADMA 0.dk	kadın	32	0.441	0.176	0.031	0.56
	erkek	30	0.468	0.197	0.036	
ADMA 60.dk	kadın	32	0.471	0.255	0.045	0.96
	erkek	30	0.437	0.132	0.024	
ADMA 120.dk	kadın	32	0.462	0.409	0.072	0.09
	erkek	30	0.453	0.128	0.023	
Arjinin 0.dk	kadın	32	416.03	429.03	75.84	0.07
	erkek	30	543.03	418.11	76.33	
Arjinin 60.dk	kadın	32	284.56	160.44	28.36	0.11
	erkek	30	366.17	232.63	42.47	
Arjinin 120.dk	kadın	32	310.47	221.63	39.18	0.24
	erkek	30	373.47	201.48	36.78	
SDMA 0.dk	kadın	32	0.496	0.213	0.037	0.41
	erkek	30	0.536	0.156	0.028	
SDMA 60.dk	kadın	32	0.497	0.211	0.037	0.52
	erkek	30	0.526	0.133	0.024	
SDMA 120.dk	kadın	32	0.475	0.294	0.052	0.34
	erkek	30	0.532	0.145	0.026	
LNMMA 0.dk	kadın	32	0.106	0.103	0.018	0.02
	erkek	30	0.048	0.028	0.005	
LNMMA 60.dk	kadın	32	0.119	0.108	0.019	0.01
	erkek	30	0.042	0.022	0.004	
LNMMA 120.dk	kadın	32	0.106	0.093	0.016	0.01
	erkek	30	0.043	0.018	0.003	
Sitrüllin 0.dk	kadın	32	46.35	30.39	5.37	0.14
	erkek	30	34.51	20.57	3.75	
Sitrüllin 60.dk	kadın	32	32.23	19.21	3.39	0.17
	erkek	30	25.77	17.43	3.18	
Sitrüllin 120.dk	kadın	32	26.61	16.11	2.84	0.43
	erkek	30	23.41	15.83	2.89	

Çizelge 3.2. (Devam) Cinsiyet İle Diğer Veriler Arasındaki Bulgular.

Arjinin/ADMA 0.dk	kadın	32	909.31	554.87	98.08	0.05
	erkek	30	1137.76	603.67	110.21	
Arjinin/ADMA 60.dk	kadın	32	649.81	305.65	54.03	0.03
	erkek	30	843.94	421.92	77.03	
Arjinin/ADMA 120.dk	kadın	32	727.85	430.49	76.11	0.46
	erkek	30	799.69	322.99	58.96	

LNMMA 0.dk, LNMMA 60.dk ve LNMMA 120.dk ile cinsiyet arasındaki farklılık kadın bireylerin LNMMA seviyelerinin erkek bireylere göre oldukça farklı olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 3.1. Erkek ve Kadınlarda Ölçülen L-NMMA Düzeyleri.

Kadın bireylerin (n=32) kendi içinde LNMMA 0-60-120.dk verileri değerlendirilmiş olup kadınlarda LNMMA 0-60-120.dk verileri birbirinden farksız olduğu gözlemlenmiştir ($p>0.05$).

Çizelge 3.3. Kadın Bireylerde LNMMA Verileri.

Kadın (n=32)	**Ortalama (µmol/L)**	**Standart Sapma**	**P**
LNMMA 0.dk	0.106	0.103	
LNMMA 60.dk	0.119	0.108	0.19
LNMMA 120.dk	0.106	0.093	

Erkek bireylerin (n=30) kendi içinde LNMMA 0-60-120.dk verileri değerlendirilmiş olup erkeklerde LNMMA 0-60-120.dk verileri birbirinden farksız olduğu gözlemlenmiştir (p>0.05).

Çizelge 3.4. Erkek Bireylerde LNMMA Verileri.

Erkek (n=30)	Ortalama (µmol/L)	Standart Sapma	P
LNMMA 0.dk	0.048	0.028	
LNMMA 60.dk	0.042	0.022	0.15
LNMMA 120.dk	0.043	0.018	

Hasta boyları ve vücut ağırlıklarının ölçüm değerleri üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmadığını tespit etmek amacıyla ilk olarak VKİ (Vücut Kitle İndeksi) hesaplaması yapılmıştır. VKİ, ağırlık ile boyun metre cinsinden karesine oranlanmasıyla elde edilmiştir. Ardından elde edilen VKİ oranları normal kilolu, fazla kilolu ve obez şeklinde 3 gruba ayrılarak sınıflandırılmıştır. Dünya sağlık örğütünün (WHO) sınıflandırmasına göre; Vücut kitle indeksi 18,5-25 arası normal kilolu, 25-30 arası fazla kilolu, 30 ve üzeri obez olarak kabul edilmektedir (Günöz 2002).

Vücut kitle indeksi ile diğer tüm veriler arasında yapılan istatistiksel incelemeler neticesinde Glukoz 0.dk ve Glukoz 60.dk ölçüm verileri vücut kitle indeksine göre farklılıklar göstermektedir (p<0.05). Diğer verilerde VKİ açısından bir farklılık gözlemlenmemiştir (p>0.05) (Çizelge 3.5.).

Çizelge 3.5. VKİ İle Diğer Veriler Arasındaki İlişkiler.

Parametre	VKİ Grupları	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	P
Glukoz 0.dk	normal kilolu	13	93,23	14,59	4,04	
	fazla kilolu	25	104,88	13,1	2,62	0,01
	obez	24	109,25	14,23	2,91	
	Total	62	104,13	14,89	1,89	
Glukoz 60.dk	normal kilolu	13	124,85	49,6	13,75	
	fazla kilolu	25	165,92	51,61	10,32	0,01
	obez	24	186,29	55,06	11,24	
	Total	62	165,19	56,54	7,18	
Glukoz 120.dk	normal kilolu	13	105,54	43,44	12,04	
	fazla kilolu	25	131,81	45,44	9,08	0,05
	obez	24	147,54	54,37	11,09	
	Total	62	132,39	50,42	6,41	
ADMA 0.dk	normal kilolu	13	0,462	0,224	0,062	
	fazla kilolu	25	0,479	0,164	0,032	0,55
	obez	24	0,422	0,187	0,038	
	Total	62	0,453	0,185	0,023	
ADMA 60.dk	normal kilolu	13	0,472	0,164	0,045	
	fazla kilolu	25	0,444	0,086	0,017	0,92
	obez	24	0,457	0,297	0,061	
	Total	62	0,455	0,204	0,025	
ADMA 120.dk	normal kilolu	13	0,423	0,151	0,041	
	fazla kilolu	25	0,444	0,121	0,024	0,63
	obez	24	0,491	0,467	0,095	
	Total	62	0,458	0,305	0,038	
Arjinin 0.dk	normal kilolu	13	458,85	457,56	126,91	
	fazla kilolu	25	489,41	370,33	74,06	0,66
	obez	24	475,17	476,11	97,18	
	Total	62	477,48	425,14	53,99	
Arjinin 60.dk	normal kilolu	13	405,62	334,71	92,83	
	fazla kilolu	25	293,76	131,17	26,23	0,74
	obez	24	311,42	161,48	32,96	
	Total	62	324,05	201,24	25,55	
Arjinin 120.dk	normal kilolu	13	392,62	249,61	69,22	
	fazla kilolu	25	298,92	168,32	33,66	0,39
	obez	24	356,75	233,03	47,56	
	Total	62	340,95	212,76	27,02	
SDMA 0.dk	normal kilolu	13	0,467	0,189	0,052	
	fazla kilolu	25	0,534	0,157	0,031	0,57
	obez	24	0,522	0,216	0,044	
	Total	62	0,515	0,187	0,023	

Çizelge 3.5. (Devam) VKİ İle Diğer Veriler Arasındaki İlişkiler.

SDMA 60.dk	normal kilolu	13	0,472	0,158	0,043	
	fazla kilolu	25	0,523	0,132	0,026	0,68
	obez	24	0,519	0,226	0,046	
	Total	62	0,511	0,177	0,022	
SDMA 120.dk	normal kilolu	13	0,464	0,171	0,047	
	fazla kilolu	25	0,499	0,142	0,028	0,74
	obez	24	0,527	0,328	0,067	
	Total	62	0,502	0,234	0,029	
LNMMA 0.dk	normal kilolu	13	0,074	0,063	0,017	
	fazla kilolu	25	0,078	0,087	0,017	0,98
	obez	24	0,081	0,087	0,017	
	Total	62	0,078	0,081	0,011	
LNMMA 60.dk	normal kilolu	13	0,077	0,078	0,021	
	fazla kilolu	25	0,082	0,081	0,016	0,85
	obez	24	0,085	0,101	0,021	
	Total	62	0,082	0,088	0,011	
LNMMA 120.dk	normal kilolu	13	0,064	0,051	0,013	
	fazla kilolu	25	0,084	0,088	0,017	0,76
	obez	24	0,074	0,072	0,014	
	Total	62	0,076	0,075	0,009	
Sitrüllin 0.dk	normal kilolu	13	31,51	23,21	6,44	
	fazla kilolu	25	47,81	28,06	5,61	0,18
	obez	24	38,06	25,71	5,24	
	Total	62	40,62	26,58	3,37	
Sitrüllin 60.dk	normal kilolu	13	22,47	16,71	4,63	
	fazla kilolu	25	35,31	20,41	4,08	0,07
	obez	24	26,25	15,93	3,25	
	Total	62	29,11	18,51	2,35	
Sitrüllin 120.dk	normal kilolu	13	18,76	12,27	3,41	
	fazla kilolu	25	30,68	17,82	3,56	0,05
	obez	24	22,59	14,13	2,88	
	Total	62	25,05	15,92	2,02	
Arjinin/ADMA 0.dk	normal kilolu	13	990,39	651,97	180,82	
	fazla kilolu	25	956,24	460,01	92,01	0,62
	obez	24	1.102,06	674,61	137,71	
	Total	62	1.019,85	585,63	74,37	
Arjinin/ADMA 60.dk	normal kilolu	13	813,22	442,09	122,61	
	fazla kilolu	25	671,26	288,88	57,77	0,34
	obez	24	781,61	420,43	85,82	
	Total	62	743,74	376,41	47,81	
Arjinin/ADMA 120.dk	normal kilolu	13	862,53	303,35	84,13	
	fazla kilolu	25	660,19	293,59	58,71	0,21
	obez	24	815,17	476,35	97,23	
	Total	62	762,61	380,91	48,37	

Glukoz 0.dk ve Glukoz 60.dk ölçüm verilerinin vücut kitle indeksine göre gösterdiği farklılığın sebebini araştırmak için post hoc. (tukey testi) analizleri yapıldı. Analiz sonucunda VKİ arttıkça Glukoz 0.dk ve Glukoz 60.dk verilerinin ortalamalarınında artmakta olduğu gözlemlendi (çizelge 3.6.).

Çizelge 3.6. VKİ Grup Verileri.

Veriler	VKİ Grupları	P
	Normal Kilolu-Fazla Kilolu	0.04
Glukoz 0.dk	Normal Kilolu-Obez	0.01
	Fazla Kilolu-Obez	0.51
	Normal Kilolu-Fazla Kilolu	0.06
Glukoz 60.dk	Normal Kilolu-Obez	0.01
	Fazla Kilolu-Obez	0.37

Glukoz 0-60-120.dk değerleri ile diğer ölçüm değerleri arasındaki ilişkinin araştırılması için korelasyon analizi uygulaması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 3.7' de özetlenmiştir.

Çizelge 3.7. Veriler Arasındaki Korelasyon Bulguları.

Veriler	Glukoz 0.dk	Glukoz 60.dk	Glukoz 120.dk
Glukoz 0.dk		**r:0,81**	**r:0,78**
		p:0,01	**p:0,01**
Glukoz 60.dk	**r:0,81**		**r:0,86**
	p:0,01		**p:0,01**
Glukoz 120.dk	**r:0,78**	**r:0,86**	
	p:0,01	**p:0,01**	
ADMA 0.dk	r:0,12	r:-0,02	r:0,02
	p:0,34	p:0,83	p:0,85
ADMA 60.dk	r:0,18	r:0,05	r:0,08
	p:0,15	p:0,67	p:0,51
ADMA 120.dk	r:0,22	r:0,11	r:0,15
	p:0,07	p:0,37	p:0,23
Arjinin 0.dk	r:0,08	r:-0,02	r:0,01
	p:0,49	p:0,83	p:0,98
Arjinin 60.dk	r:0,03	r:-0,03	r:-0,05
	p:0,76	p:0,78	p:0,66
Arjinin 120.dk	r:0,01	r:-0,04	r:-0,06
	p:0,94	p:0,71	p:0,59

Çizelge 3.7. (Devam) Veriler Arasındaki Korelasyon Bulguları.

SDMA 0.dk	r:0,21	r:0,02	r:0,01
	p:0,09	p:0,82	p:0,98
SDMA 60.dk	**r:0,25**	r:0,09	r:0,08
	p:0,04	p:0,48	p:0,51
SDMA 120.dk	r:0,21	r:0,12	r:0,11
	p:0,08	p:0,34	p:0,43
LNMMA 0.dk	r:-0,11	r:-0,07	r:0,08
	p:0,36	p:0,54	p:0,48
LNMMA 60.dk	r:-0,13	r:-0,13	r:0,02
	p:0,28	p:0,28	p:0,85
LNMMA 120.dk	r:-0,12	r:-0,09	r:0,04
	p:0,32	p:0,45	p:0,71
Sitrüllin 0.dk	r:-0,05	r:-0,08	r:-0,02
	p:0,65	p:0,51	p:0,83
Sitrüllin 60.dk	r:-0,01	r:-0,04	r:0,01
	p:0,93	p:0,75	p:0,87
Sitrullin 120.dk	r:-0,07	r:-0,08	r:-0,04
	p:0,56	p:0,51	p:0,73
Arjinin/ADMA 0.dk	r:-0,07	r:-0,04	r:-0,08
	p:0,54	p:0,73	p:0,51
Arjinin/ADMA 60.dk	r:-0,03	r:-0,02	r:-0,08
	p:0,78	p:0,82	p:0,51
Arjinin/ADMA 120.dk	r:-0,16	r:-0,15	r:-0,22
	p:0,21	p:0,24	p:0,07
Vücut kitle indeksi	**r:0,27**	**r:0,25**	**r:0,28**
	p:0,02	**p:0,04**	**p:0,02**

Glukoz 0.dk verisinin, glukoz 60.dk, glukoz 120.dk, SDMA 60.dk ve VKİ verileri ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Glukoz 0.dk verisinin; glukoz 60.dk ile %81 pozitif yönlü, glukoz 120.dk ile %78 pozitif yönlü, SDMA 60.dk ile %25 pozitif yönlü ve VKİ ile %27 pozitif yönlü ilişkisi gözlemlenmiştir. Glukoz 0.dk verisinin diğer verilerle herhangi bir ilişkisi tespit edilememiştir ($p>0.05$).

Glukoz 60.dk verisinin, glukoz 0.dk, glukoz 120.dk ve VKİ verileri ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Glukoz 60.dk verisinin; glukoz 0.dk ile %81 pozitif yönlü, glukoz 120.dk ile %86 pozitif yönlü ve VKİ ile %25 pozitif yönlü ilişkisi olduğu gözlemlenmiştir. Glukoz 60.dk verisinin diğer verilerle herhangi bir ilişkisi tespit edilememiştir ($p>0.05$).

Glukoz 120.dk verisinin, glukoz 0.dk, glukoz 60.dk ve VKİ verileri ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Glukoz 120.dk verisinin; glukoz 0.dk ile %78 pozitif yönlü, glukoz 60.dk ile %86 pozitif yönlü ve VKİ ile %28 pozitif yönlü ilişkisi olduğu gözlemlenmiştir. Glukoz 120.dk verisinin diğer verilerle herhangi bir ilişkisi tespit edilememiştir ($p>0.05$).

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin tekrarlı ölçümlerinin yapıldığı 0-60 ve 120.dk verilerinin kendi içlerinde birbirlerinden farklı olup olmadıklarını belirleyebilmek amacıyla ilişkili örneklem tek yönlü varyans analizi uygulaması yapılmış ve aşağıda elde edilen sonuçlar özetlenmiştir.

Glukoz değerlerinin 0-60-120.dk ölçümleri arasında önemli farklar olduğu tespit edilmiş ($p<0.05$) ve post hoc. analizleri yapılmıştır (Çizelge 3.8.- 3.9.).

Çizelge 3.8. Glukoz 0-60-120. Dakika Tekrarlı Ölçüm Verileri.

Veriler	Ortalama (mg/dl)	Standart Sapma	P
Glukoz 0.dk	104.12	14.89	
Glukoz 60.dk	165.19	56.54	0.01
Glukoz 120.dk	132.38	50.42	

Çizelge 3.9. Glukoz Grup Verileri.

Glukoz Grupları	P
Glukoz 0.dk-Glukoz 60.dk	0.01
Glukoz 0.dk-Glukoz 120.dk	0.01
Glukoz 60.dk-Glukoz 120.dk	0.01

ADMA değerlerinin 0-60-120.dk ölçümlerinin birbirinden oldukça farksız olduğu tespit edilmiş ($p>0.05$) ve çizelge 3.10.-3.11.' de özetlenmiştir.

Çizelge 3.10. ADMA 0-60-120. Dakika Tekrarlı Ölçüm Verileri.

Veriler	Ortalama (µmol/L)	Standart Sapma	P
ADMA 0.dk	0.453	0.185	
ADMA 60.dk	0.455	0.204	0.99
ADMA 120.dk	0.458	0.305	

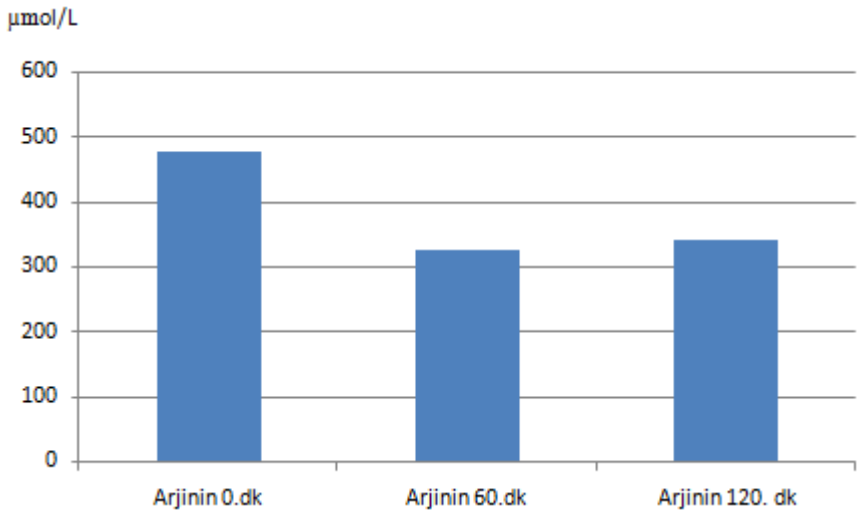
Çizelge 3.11. ADMA Grup Verileri.

ADMA Grupları	P
ADMA 0.dk-ADMA 60.dk	0.99
ADMA 0.dk-ADMA 120.dk	0.99
ADMA 60.dk-ADMA 120.dk	0.99

Arjinin değerlerinin 0-60-120.dk ölçümleri arasında önemli farklar olduğu tespit edilmiş ($p<0.05$) ve post hoc. analizleri yapılmıştır (Çizelge 3.12.-3.13.).

Çizelge 3.12. Arjinin 0-60-120. Dakika Tekrarlı Ölçüm Verileri.

Veriler	Ortalama (µmol/L)	Standart Sapma	P
Arjinin 0.dk	477.48	425.14	
Arjinin 60.dk	324.04	201.24	0.01
Arjinin 120.dk	340.95	212.76	



Şekil 3.2. Denek Serumlarından Ölçülen Arjinin Ortalamaları.

Çizelge 3.13. Arjinin Grup Verileri.

Arjinin Grupları	**P**
Arjinin 0.dk-Arjinin 60.dk	0.01
Arjinin 0.dk-Arjinin 120.dk	0.01
Arjinin 60.dk-Arjinin 120.dk	1.00

SDMA değerlerinin 0-60-120.dk ölçümlerinin birbirinden oldukça farksız olduğu tespit edilmiş (p>0.05) ve çizelge 3.14.-3.15.' de özetlenmiştir.

Çizelge 3.14. SDMA 0-60-120. Dakika Tekrarlı Ölçüm Verileri.

Veriler	**Ortalama (µmol/L)**	**Standart Sapma**	**P**
SDMA 0.dk	0.515	0.187	
SDMA 60.dk	0.511	0.177	0.83
SDMA 120.dk	0.502	0.234	

Çizelge 3.15. SDMA Grup Verileri.

SDMA Grupları	**P**
SDMA 0.dk-SDMA 60.dk	1.00
SDMA 0.dk-SDMA 120.dk	1.00
SDMA 60.dk-SDMA 120.dk	1.00

LNMMA değerlerinin 0-60-120.dk ölçümlerinin birbirinden oldukça farksız olduğu tespit edilmiştir (p>0.05) ve çizelge 3.16.-3.17.' de özetlenmiştir.

Çizelge 3.16. LNMMA 0-60-120. Dakika Tekrarlı Ölçüm Verileri.

Veriler	**Ortalama (µmol/L)**	**Standart Sapma**	**P**
LNMMA 0.dk	0.078	0.081	
LNMMA 60.dk	0.082	0.088	0.45
LNMMA 120.dk	0.076	0.075	

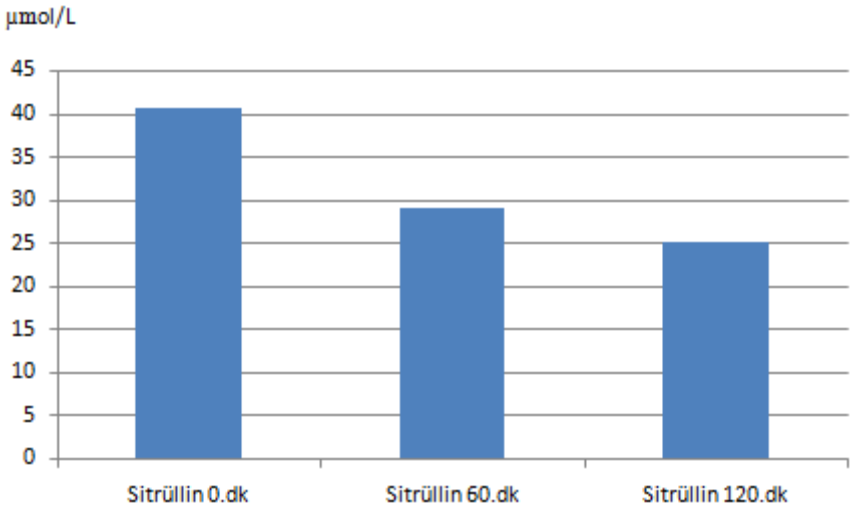
Çizelge 3.17. LNMMA Grup Verileri.

LNMMA Grupları	P
LNMMA 0.dk-LNMMA 60.dk	1.00
LNMMA 0.dk-LNMMA 120.dk	1.00
LNMMA 60.dk-LNMMA 120.dk	0.63

Sitrüllin değerlerinin 0-60-120.dk ölçümleri arasında önemli farklar olduğu tespit edilmiş ($p<0.05$) ve post hoc. analizleri yapılmıştır (Çizelge 3.18.- 3.19.).

Çizelge 3.18. Sitrüllin 0-60-120. Dakika Tekrarlı Ölçüm Verileri.

Veriler	Ortalama (µmol/L)	Standart Sapma	P
Sitrüllin 0.dk	40.62	26.58	
Sitrüllin 60.dk	29.11	18.51	0.01
Sitrüllin 120.dk	25.05	15.92	



Şekil 3.3. Denek Serumlarından Ölçülen Sitrüllin Ortalamaları.

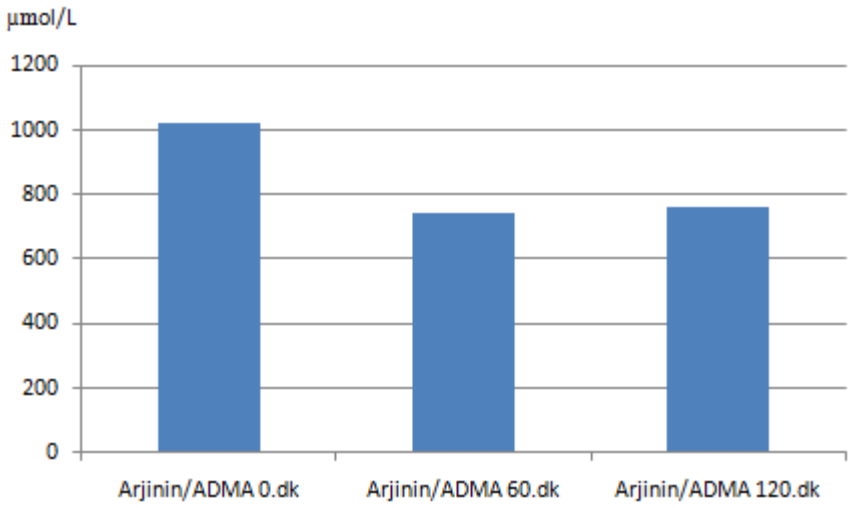
Çizelge 3.19. Sitrüllin Grup Verileri.

Sitrüllin Grupları	P
Sitrüllin 0.dk-Sitrüllin 60.dk	0.01
Sitrüllin 0.dk-Sitrüllin 120.dk	0.01
Sitrüllin 60.dk-Sitrüllin 120.dk	0.01

Arjinin/ADMA değerlerinin 0-60-120.dk ölçümleri arasında önemli farklar olduğu tespit edilmiş ($p<0.05$) ve post hoc. analizleri yapılmıştır (Çizelge 3.20.-3.21.).

Çizelge 3.20. Arjinin/ADMA 0-60-120. Dakika Tekrarlı Ölçüm Verileri.

Veriler	Ortalama	Standart Sapma	P
Arjinin/ADMA 0.dk	1019.85	585.63	
Arjinin/ADMA 60.dk	743.74	376.41	0.01
Arjinin/ADMA 120.dk	762.61	380.91	



Şekil 3.4. Deneklerin Ölçülen Arjinin/ADMA Ortalamaları.

Çizelge 3.21. Arjinin/ADMA Grup Verileri.

Arjinin/ADMA Grupları	**P**
Arjinin/ADMA 0.dk-Arjinin/ADMA 60.dk	0.01
Arjinin/ADMA 0.dk-Arjinin/ADMA 120.dk	0.01
Arjinin/ADMA 60.dk-Arjinin/ADMA 120.dk	1.00

4. TARTIŞMA

Çalışmada 62 bireyden alınan kanlardan elde edilen serumlar kullanılmıştır. Analiz sonuçlarına göre L-NMMA 0.dk, L-NMMA 60.dk ve L-NMMA 120.dk ölçüm değerleri cinsiyet değişkenine göre farklılıklar göstermektedir ($p<0,05$). Kadın bireylerin L-NMMA 0.dk, L-NMMA 60.dk ve L-NMMA 120.dk ölçüm değerlerinin erkek bireylere göre yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.001$). Çalışmada 0-60-120. dakikalarda ölçülen ADMA, arjinin, SDMA, arjinin/ADMA ve sitrüllin ölçüm değerleri ise cinsiyete göre farklılıklar göstermediği tespit edilmiştir. Onat ve arkadaşları Türklerde serum ADMA konsantrasyonları üzerinde yapılmış olan bir çalışmada kadınlarda yüksek bulunan serum ADMA düzeyleri metabolik sendrom ile ilişkili bulunmuş, iki cinsiyette de ADMA düzeyleri ile koroner kalp hastalığı arasında ilişki bulunmamıştır (Onat ve ark 2008). Türkeş ve arkadaşları miyokard infarktüslü hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada ADMA ve NO düzeyleri ile yaş ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını belirtmişlerdir (Türkeş ve ark 2011).

Analizler sonucunda çalışmaya dahil edilen bireyler için 0-60-120. dakikalarda ölçülen ADMA, arjinin, SDMA, L-NMMA, arjinin/ADMA ve sitrüllin ölçüm değerleri VKİ' ye göre farklılıklar göstermemektedir ($p>0.05$). Ancak Eid ve arkadaşları, insanlarda VKİ ile ADMA seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ve kilo verme ile plazma ADMA seviyelerinde azalma meydana geldiğini kaydetmişlerdir (Eid ve ark 2004). Krzyzanowska ve arkadaşları ise morbid obez kadınlarda plazma ADMA seviyelerinin önemli derecede yüksek olduğunu ve kilo vermenin ADMA' yı azalttığını göstermişlerdir (Krzyzano ve ark 2004).

Elde edilen serum ADMA sonuçlarına göre 0-60-120. dakikalarda elde edilen ölçüm değerleri birbirlerinden oldukça farksızdır ($p>0.05$). ADMA, genellikle kronik olarak ateroskleroz gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Akut dönemde glukoz yüklenmesinin damar yapısı üzerine etkisi araştırılmış olup tek başına ADMA değişimini gözlemlemek yerine arjinin/ADMA oranlarının değerlendirmeye alınması uygun olduğundan arjinin değerleri de ölçülmüştür. Arjinin değerlerinin 0-60-120. dakika ölçümleri arasında önemli farklar olduğu tespit edilmiştir. Yapılan post hoc. analizler sonucunda glukoz 60 ve 120. dakika değerlerinin başlangıçta ölçülen arjinin

değerine göre daha düşük olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Serum arjinin düzeyleri genellikle beslenme durumundan etkilenen bir parametredir. Buradaki düşüşün dilüsyonel olup olmadığı bilinmemektedir. OGTT esnasında alınan suyun etkisine bağlı olarak düşüş gözlenmiş olabilir. Buna bağlı olarak arjinin/ADMA değerlerinin 0-60-120. dakika ölçümleri arasında önemli farklar olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Arjinin/ADMA 0. dakika ölçüm değerinin ortalamasının 60. ve 120. dakika ölçüm değerlerine göre oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Arjinin/ADMA oranı kardiyovasküler hastalık riskini değerlendirme açısından daha iyi bir belirteçtir. Fakat arjinindeki değişime bağlı olarak oranlarda da düşüklük izlenmesi söz konusu olabilir. Bunun yanında OGTT esnasında insülin salınımı uyarılmakta olup kan şekerinin regülasyonu gerçekleşmektedir. Kan glukozu insülin uyarımında en etkin parametre olup, aminoasitlerden arjinininde insülin salınımında etkili olduğu bilinmektedir. 60 ve 120. dakikalardaki, arjinin düzeylerinin düşük olması insülin salınımının artmasına bağlı olarak rölatif bir feedback inhibisyon sonucuda olabilir. İnsülin düzeylerindeki artış arjinin düzeylerini baskılamış ise arjinin/ADMA oranındaki düşüklük ortaya çıkabilir.

Konukoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 2 saatlik glukoz yüklemesinden sonra ADMA düzeylerinde 1,5-2 kata varan artışlar gözlenmiştir (Konukoğlu ve ark 2008). Bu sonuçlara göre yükleme sonrası ADMA değerlerinin değişkenlik gösterip arttığı bildirilmesine rağmen bu etkinin net olarak gözlemlenebilmesi için μmol düzeyindeki ADMA seviyeleri için analiz içi değişkenliğin ortaya konması gerekmektedir. ADMA yüksekliğinin ardışık ölçümden kaynaklanan bir fark mı yoksa glukoz etkisine bağlı olarak mı değiştiği araştırılmalıdır.

Galal ve arkadaşları yağtığı çalışmada ise ratlara ADMA infüzyonu yapılıp 0. dk ve 180. dakikaya dek kan şeker ve insülin düzeylerinde artışlar takip edilmiş olup ADMA düzeyinin yüksekliği ile glukoz düzeylerinin %150' lere varan oranlarda artış yaptığı anlaşılmıştır. Bu durum tam tersi bir deney dizaynı ile gösterilmiş olup infüzyonda kullanılan doz fizyolojik düzeylerin çok üstündedir. Bu denli yüksek ADMA infüzyonu deney hayvanlarında strese yol açıp kan şekeri ve devamında

insülin düzeylerini yükseltmiş olabilir. Kan şekerinin akut olarak yüksekliği yani tam tersi tablo için bu makale de fikir vermemektedir (Galal ve ark 2013).

Literatürdeki çalısmaların çoğunda intertisyel arjinin ve sitrüllin düzeyleri birlikte ölçülmüş ve NO üretimindeki artış, arjinin/sitrüllin oranındaki düşme ile gösterilmiştir (Rooayackers 2005). Bizim çalışmamızda sitrüllin düzeyleri 0. dakikadan 120. dakikaya doğru giderken önemli oranlarda düşmektedir. Sitrüllin düzeyleri esas olarak üre siklusu ile belirlenmektedir. Sitrüllin düzeylerini belirleyen bir diğer yolak ise arjininden nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla oluşan reaksiyon olup arjinin düzeylerindeki düşüşün bu reaksiyona bağlı olarak gerçekleştiği düşünülebilir.

Bu tezin kısıtlılıkları arasında hastalara ait insülin, nitrik oksit ve hemoglobin A1c değerlerinin saptanmamış olması ve örnek sayısının azlığı gösterilebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

30 erkek 32 bayan toplam 62 bireyin örneklerinin kullanıldığı çalışmamızda elde edilen bulgulara göre glukoz yüklenmesinden sonra arjinin, sitrüllin ve arjinin/ADMA değerlerinin anlamlı olarak düştüğü, ADMA, SDMA, LNMMA değerlerinde ise anlamlı bir değişikliğin olmadığı gözlemlenmiştir.

Kronik olan bu belirteçlerin yanında nitrik oksit ölçümlerinin de yapılması ve özellikle rastgele OGTT hastaları yerine prediyabetik veya kontrollü veya kontrolsüz diyabeti olan hastalarda deney dizaynı yapılarak tüm demografik veriler ve ilaç kullanımları ile birlikte tasarım gerçekleştirmek daha net sonuçların alımasına yol açacaktır.

6. KAYNAKLAR

Altınova AE, Arslan M, Sepici-Dincel A, Aktürk M, Altan N, Toruner FB. Uncomplicated type 1 Diabetes is associated with increased asymmetric dimethylarginine concentrations. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92: 1881-1885.

Alaçam H, Dikmen ZG, Doğan P , et al. Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) metabolizması ve ADMA'nın oksidatif hasar, endotel hasarı ve çeşitli hastalıklarla ilişkisi. Hacettepe Tıp Dergisi 2010; 41: 75-81.

Bae SW, Stühlinger MC, Yoo HS, Yu KH, Park HK, Choi BY, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine concentrations in newly diagnosed patients with acute myocardial infarction or unstable angina pectoris during two weeks of medical treatment. Am J Cardiol 2005; 95: 729-733.

Barbul A. Arginine: biochemistry, physiology, and therapeutic implications.JPEN 1986; 10: 227-38.

Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide and peoxynitrite: the good, the bad and the ugly. Am J physiol 1996; 271: 1424-37.

Blum A, Cannon RO. L-arginine for the prevention and treatment of coronary artery disease. Coronary artery disease. 2001; 12: 535-9.

Böger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, et al. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. Circ res. 2000; 87: 99-105.

Böger RH, Bode-Böger SM, Heistad DD, Lentz SR. Elevated plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous inhibitör of nitric oxide synthase, in monkeys with hyperhomocysteinemia. Circulation 1998; 98: 733.

Böger RH, Ron ES. L-arginine improves vascular function by overcoming deleterious effect of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. Alterm Med Rev 2005; 10(1): 14-23.

Böger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk faktor. Cardiovasc Res 2003; 59(4): 824-33.

Carcillo JA. Does arginine become a 'near' essential amino acid during sepsis? Critical Care Medicine 2003; 31: 657-9.

Chan NN, Chan JC. Asymmetric dimethylarginine /ADMA): a potential link between endothelial Dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome? Diabetologia. 2002; 45(12): 1609-16.

Clarke S. Protein methylation. Curr Opin Cell Biol. 1993; 5: 977-983.

Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: the uber marker? Circulation 2004; 109: 1813-8.

Cooke JP. ADMA: its role in vascular disease. Vasc Med. 2005; 10: 11-7.

Cooke J, Dzau V. Derangements of the nitric oxide synthase pathway, L-arginine, and cardiovascular disease. Circulation. 1997; 96: 379-382.

Cooke JP, Losordo DW. Nitric oxide and angiogenesis. Circulation. 2002; 105 (18): 2133-5.

Cooke JP, Tsao PS. Is NO an endogenous anti atherogenic molecule? Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1994; 14: 653-5.

Cooke JP, Tsao PS. Arginine: a new therapy for atherosclerosis? Circulation, 1997; 95: 311-312.

Di Gangi IM, Chiandetti L, Gucciardi A, Moret V, Naturale M, Giordano G. Simultaneous quantitative determination of N(G),N(G)-dimethyl-L-arginine or asymmetric dimethylarginine and related pathway's metabolites in biological fluids by ultrahigh-performance liquid chromatography / electrospray ionization-tandem mass spectrometry. Anal Chim Acta. 2010;677(2):140-8.).

Eid HM, Arnesen H, Hjerkinn EM, Lyberg T, Seljeflot I. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. Metabolism 2004; 53: 1574-79.

Erbil MK, Kurt YG, Yaman H, Çakır E, Akgül EÖ, Çaycı T. Asimetrik dimetilarjininin metabolizması ve klinik önemi. Turk J Biochem, 2012; 37(1): 99-105.

Erdem S, Ünlü A. Asimetrik dimetilarjinin ve klinik önemi. Selçuk Tıp Dergisi 2009; 25 (2): 107-115.

Galal O, Podlogar J, Verspohl EJ. İmpact of ADMA(asymmetric dimethylarginine) on physiology With respect to diabetes mellitus and respiratory system BEAS-2B cells (human bronchial epitheliai cells). Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2013; 65(2): 253-63.

Günöz H. Obezite. Ed: Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri.1.Nobel Tıp Kitapevi,2002:221-6.

Harris MI. Undiagnosed NIDDM. Clinical and public health issues. Diabetes care 1993; 16: 642-52.

Harris MI, Klein RE, Welborn TA, Knuiman MW. Onset of NIDDM occurs at least 4-7 years before clinical diagnozis. Diabetes care 1992; 15: 816-822.

Hodis HN, Mack WJ, Labree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, et al. The role of caratoid arterial intima media thicknees in predicting clinical coronary events. Ann intern Med 1998; 128: 262-9.

Holven KB, Haugstad TS, Holm T, Aukrust P, et al. Folic acid treaatment reduces elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in hyperhomocysteinaemic subjects. Br J Nutr. 2003; 89: 359-63.

Işık S, Delibaş T, Berker D, Aydın Y, Güler S. Kalp hastalıklarında diyabet yönetimi. Anadolu Kardiyoloji dergisi. 2009; 9: 238-47.

Işıklar ÖÖ, Mutaf I. Asimetrik dimetilarjinin ve klinik önemi. Türk klinik biyokimya derg. 2010; 8(2): 75-89.

Johnstone MT, Nesto R. Diabetes mellitus and heart disease. İn:Pickup JC, Williams G, editors. Joslin' s diabetes mellitus. 14 th ed.Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005:975-98.

Kabalık T, Yılmaz C, Tüzün M: Endokronoloji el kitabı ege üniversitesi, İzmir, 1995.

Kielstein JT , Böger RH , Bode-Böger SM , et al. Asymmetric dimethlarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease:Relationship to treatment method and atherosclerotic disease. J Am Soc Nephrol 1999; 10: 594-600.

Konukoğlu D, Fırtına S, Sevin Ö. The relationship between plasma asymmetrical dimethyl-L-arginine and inflammation and adhesion molecule levels in subjects with normal, impaired and diabetic glucose tolerance. Metabolism Clinical and Experimental 2008; 57: 110-115.

Krause CD, Yang ZH, Kim YS, Lee JH, Cook JR, Pestka S. Protein arginine methyltransferases: evolution and assessment of their pharmacological and therapeutic potential. Pharmacol Ther. 2007; 113(1): 50-87.

Krzyzanowska K, Mittermayer F, Krugluger W,et al. Asymmetric dimethylarginine is associated With macrovascular disease and total homocysteine in patients with type 2 diabetes. Atherosclerosis 2006; 189: 236-240.

Krzyzanowska K, Mittermayer F, Kopp HP, Wolzt M, Schernthaner G. Weight loss reduces circulating asymmetrical dimethylarginine concentrations in morbidly obese women. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89: 6277-81.

Kutlu Ç. Diyabetik Nefropatisi olan hastalarda proteinüri seviyeleri ile karotis intima media Kalınlıkları arasındaki ilişkinin incelenmesi. Uzmanlık tezi. Haseki eğitim ve araştıma hastanesi 5. İç hastalıkları kliniği, 2007 İstanbul.

Lentz SR, Rodionov RN, Dayal S. Hyperhomocysteinemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular risk: the potential role of ADMA. Atherosclerosis Supplements 2003; 4: 61-5.

Lin KY, Ito A, Asagami S, Kimoto M, Tsuji H, Reaven GM , Cooke JP: İmpaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus. Circulation. 2002; 106: 987-92.

Maas R. Pharmacotherapies and their influence on asymmetric dimethylarginine (ADMA). Vasc Med. 2005; 10(1): 4957.

Maxwell AJ, Cooke JP. Cardiovascular effect of L-arginine. Curr opin in nephrol and hypertens 1998; 7: 63-70.

Makino N, Maeda T, Sugano M, Watanabe R, Abe N. High serum TNF-alpha level in type 2 diabetic patients with microangiopathy is associated wtih eNOS down-regulation and apoptosis in endothelial cells. J diabetes complications. 2005; 19; 347-55.

Malecki MT, Undas A, Cyganek K, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) is associated with retinopathy in type 2 diabetes mellitus. Diabetes Care 2007; 30: 2899-2901.

Mcbride AE, Silver PA. State of the arg: protein methylation at arginine comes of age. Cell. 2001; 106: 5-8.

Morris SM. Recent advances in arginine metabolism. Curr Opin Clin Nutr Care 2004; 7: 45-51.

Myazaki H, Matsuoka H, Cooke JP. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. Circulation 1999; 99: 1141-1146.

Napoli C, Ignarro LJ. Nitric oxide and atherosclerosis. Nitric oxide. 2001; 5: 88-97.

Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Purufication and properties of a new enzym. NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase from rat kidney. J Biol Chem 1989; 264: 10205-9.

Ogawa T, Kimoto M, Ssaoka K. Dimethylarginine: pyruvate aminotransferase in rats. Purification, properties, and identify with alanine: glyoxylate aminotransferase 2. J Biol Chem 1990; 265; 20938-45.

Onat A, Hergenç G, Can G, Karabulut A. Serum asymmetric dimethylarginine levels among Turks: association with metabolic syndrome in women and tendency to decrease in smokers Halkmzda serum asimetrik dimetilarginin düzeyleri: Kadında metabolik sendromla ilişki ve Sigara içicilerde düşük düzeylere eğilim Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol 2008;36(1):7-13.

Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan biyokimyası, Ankara, Palme yayıncılık, 2002;100-117.

Öngen Z. Ateroskleroz patogenezi. Erol Ç, editör. Klinik Kardiyoloji. Birinci baskı. Ankara: Nobel yayınevi; 2004: 1-20.

Orçun A , Küçükercan İ, Madenci ÖÇ, Kolcu N, Tekçe B. Diabetes mellitus tanı kriterlerinin karşılaştırılmas.Türk Klinik Biyokimya Derg. 2003; 2: 69-74.

Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 1987; 327 (6122): 524-526.

Rees DD, Palmer RM, Schulz R, Hodson HF, Moncada S, et al. Characterization of three inhibitiors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. Br. J. Pharmacol. 1990; 101: 746-52.

Rooyackers O.: Microdialysis to investigate tissue amino acid kinetics. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care, 8(1): 77-82, 2005.

Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Soperoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. Am J Physiol 1986; 10: 11-7.

Ruilope LM, Lahera VK, Rodicio JL, Romero JC. Participation of nitric oxide in the regulation of renal function: possible role in the genesis of arterial hypertension J Hypertens 1994; 12: 625-31.

Singer DE, Nathan DM. Screening for diabetes mellitus. Guide to clinical preventive services U.S. DHHS,1989.

Smith CI, Birdsey GM, Anthony S, Arrigoni FI, Leiper JM, Vallance P. Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase activity modulates ADMA levels, VEGF expression, and cell phenotype. Biochem Biophys Res Commun 2003; 308: 984-9.

Soeters PB, Hallemeesch MM, Bruins MJ, et al. Quantitative in vivo assesment of arginine utilization and nitric oxide production in endotoxemia. Am J Surgery 2002; 183: 480-8.

Sydow K, Münzel T. ADMA and oxidative stress. Atheroscler suppl.2003; 4: 41-51.

Tapiero H, Mathe G, Couvreur GP, Tew KD. Dossier: Free amino acids in human health and pathologies. 1. arginin. Biomed pharmacother 2002; 56: 439-45.

Tarnow L, Hovind P, Teerlink T, Stehouwer CDA, Parving H. Elevated plasma asymmetric dimethylarginine as a marker of cardiovascular morbidity in early diabetic nephropathy in type 1 diabetes. Diabetes care.2004; 27: 765-69.

Teerlink T, Luo Z, Palm F, Wilcox CS. Cellular ADMA: Regulation and action. Pharmacol Res. 2009; 60(6): 448-60.

Tran CTL, Leiper JM, Vallance P. The DDAH/ADMA/NOS pathway. Atherosclerosis Supplements .2003; 4: 3-40.

Türkeş Ş, Erdenen F, Müderrisoğlu C, Genç H, Uzun H, Aral H, Güvenen G.Plasma Asymmetric Dimethylarginine and Nitric oxide levels on early prognosis in patients with myocardial infarction.İstanbul tıp derg. İstanbul Med J. 2011;12(4):153-158.

Ueda S, Yamagishi S, Kaida Y, Okuda S. Asymmetric dimethylarginine may be a missing link between cardiovascular disease and chronic kidney disease. Nephrology (carlton). 2007; 12(6): 582-90.

Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetric dimethylarginine. Lancet 2001; 358: 2127-8.

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S, et al. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1992; 20 (12): 60-62.

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. Lancet 1992; 339: 572-6.

Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: Dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. Arterioscler Thromb Vas Biol. 2004; 24: 1023-1030.

Visek WJ. Arginine needs physiological state and usual diets: A reevaluation. J Nutr, 1986; 116: 36-46.

Wahbi N, Dalton RN, Turner C, Denton M, Abbs I, Swaminathan R. Dimethylarginines in cronic renal failure. J. Clin. Pathol. 2001; 54: 470-3.

West KM. Substantial differences in the diagnostic criteria used by diabetes experts. Diabetes 1975; 24: 641-4.

Word Health Organization: WHO expert committee on diabetes mellitus. Geneva, World Health Org, 1980.

Xiong Y, Lei M, Fu S, Fu Y. Effect of diabetic duration on serum concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthase in patients and rars with diabetes. Life Sci.2005; 77: 149-59.

Yavuz HU. Arjinin ve egzersiz. Spor Bilimleri Dergisi. Hacettepe J. of Sport Sciences.2006; 17 (3): 143-157.

Yıldırım AO, Bulau P, Zakrzewicz D, Kitowska KE, Weissmann N, Grimminger et al. Increased protein arginine methylation in chronic hypoxia: Role of protein arginine methyltransferases. Am J Respir Cell Mol Biol. 2006; 35: 436-43.

Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Novel cardiovascular risk factors in end stage renal disease. J Am Soc Nephrol. 2004; 15: 77-80.

8. ÖZGEÇMİŞ

1985 Konya doğumluyum. İlkokulu 1996 yılında Dumlupınar Mahallesi Ahmet Haş Haş İlköğretim okulunda tamamladım. Ortaokulu 1999 yılında Mehmet Akif Ersoy Lisesinin Orta Okul kısmında tamamladım. 2003 yılında Konya Atatürk Sağlık Meslek Lisesinin Laboratuvar Teknisyenliği bölümünden mezun oldum. 2005 yılında Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuvar bölümünden mezun oldum. 2008 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldum. 2011 yılında Selçuk Üniversitesi Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Pedagojik Formasyon Programını tamamladım. 2006 yılında Laboratuvar Teknisyeni olarak Konya Çumra Devlet Hastanesine atandım. 2015 yılında Konya Beyhekim Devlet Hastanesine tayin oldum ve hala bu göreve devam ediyorum. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Eğitimime devam etmekteyim. Evli ve bir kız babasıyım.