T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYALİZ HASTALARINDA ARJİNİN VE ARJİNİN ÜRÜNLERİNİN DÜZEYLERİ

Veli UĞURCU

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Ali ÜNLÜ

KONYA-2013

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİYALİZ HASTALARINDA ARJİNİN VE ARJİNİN ÜRÜNLERİNİN DÜZEYLERİ

Veli UĞURCU

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Ali ÜNLÜ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2006/095 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2013

S.Ü. Sağlık Bilimleri Ensitüsü Müdürlüğü'ne

Veli UĞURCU tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Biyokimya(Tıp) Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı	: Prof. Dr. İdris MEHMETOĞLU Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi
Danışman	: Prof. Dr. Ali ÜNLÜ Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üye	: Doç. Dr. Uğur ARSLAN Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Bahadır ÖZTÜRK Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi

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. Tevfik TEKELİ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Kronik böbrek hastalığı (KBH) bütün dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de önemli toplum sağlığı sorunlarındandır. Diyaliz tedavisi, KBH Evre V hastalarına uygulanan en yaygın tedavi yöntemidir. Diyaliz tedavileriyle kronik KBH Evre V hastalarına uygulanan diyaliz tedavileri ile hastalık bulguları ve belirtilerinin ancak bir kısmı nispeten ortadan diyaliz tedavisi ile kaybolmaktadır. Fonksiyonu bozulmuş böbreklerin yeniden işlev görmeleri sağlanamaz. Sürekli diyaliz tedavi programındaki KBH hastalarında yaygın patofizyolojik değişiklikler söz konusu olmaktadır. Tanı ve tedavideki ilerlemelere rağmen diyaliz hastalarında kardiyovasküler morbidite ve mortalite halen çok yüksektir.

Son yıllarda arjinin ve metabolitleri üzerine yoğun ilgi söz konusudur. Hızlı büyüme dönemi, travma veya enfeksiyon gibi durumlarda gereksinimi artan L-arjinin koşullara bağlı esansiyel bir amino asittir. Protein, ornitin, üre, kreatin, poliaminler ve nitrik oksit (NO) gibi moleküllerin sentezine katılan arjinin, posttranslasyonel modifikasyon işlemleri esnasında metillenmiş türevlerine dönüşmektedir. Güçlü vazodilatasyon etkisi olan NO sentezini regüle eden Nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin aktivitesini, arjinin ürünü olan asimetrik dimetil arjinin (ADMA) inhibe etmektedir.

Nitrik oksit bağımlı azalmış vazodilatasyon ise aterosklerotik hastalıklarda erken gösterge olarak kabul edilmektedir. Diyaliz hastalarında arjinin, nitrik oksit ve asimetrik dimetilarjinin metabolizmasındaki değişiklikler kalp damar hastalıkları ve mortalite artışından sorumlu olabilir.

Bu çalışmaya gönüllü olarak katılan diyaliz hastalarında cinsiyet, diyabet, sigara içimi, ay olarak diyaliz tedavi süresi, diyaliz tedavi yeterliliği yönünden, koroner arter hastalığı tanısı alan ve almayan hasta alt gruplarındaki özelliklere göre arjinin, NO, ADMA gibi moleküllerin plazma düzeylerinin incelenmesi hedeflenmiştir. İlgili hasta alt gruplarında arjinin, ADMA ve NO yanı sıra albümin, üre, kreatinin seviyelerinin de kıyaslanması amaçlandı. Böylece çalışmada diyaliz tedavi programındaki hastalarda arjinin, nitrik oksit, asimetrik dimetilarjinin değişiklikleri tespit edilerek değerlendirilmesi KBH ile ilgili aydınlatıcı ipuçlarına ulaşmayı sağlayabileceği varsayıldı.

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu 2006/095 onayı sayılı alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu projeyi destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğüne teşekkür ederiz. Tezin hazırlanması esnasında yardım ve desteklerinden dolayı tez danışmanım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ali ÜNLÜ'ye, Prof. Dr. İdris MEHMETOĞLU, Prof. Dr. Sadık BÜYÜKBAŞ, Prof. Dr. Ali Muhtar TİFTİK, Prof. Dr. Mehmet GÜRBİLEK, Prof. Dr. Mehmet AKÖZ, Uz. Dr. Said Sami ERDEM, Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi ile Konya Necmeddin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakütesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri, öğretim görevlileri, araştırma görevlileri ile diğer çalışanlarına ve Merkez Biyokimya Laboratuvarlarının bütün çalışanlarına, ayrıca yetişmemize katkıda bulunan bütün değerli hocalarımıza, tezin tamamlanmasında fedakârlıklarını esirgemeyen tüm dost ve arkadaşlarıma, sevgili eşim ve çocuklarıma teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ i

İÇİNDEKİLER ii

KISALTMALAR vi

ÇİZELGELER DİZİNİ vii

RESİMLER ve ŞEKİLLER DİZİNİ viii

GRAFİKLER DİZİNİ ix

1.GENEL BİLGİLER 1

1.1. Böbreğin Yapısı ve Görevleri 1

1.2. Kronik Böbrek Hastalığı 1

1.2.1. Kronik Böbrek Hastalığının Etyolojisi ve Epidemiyolojisi 4

1.2.2. Kronik Böbrek Hastalığının Patofizyolojisi 5

1.2.3. Kronik Böbrek Hastalığının Tedavisi 6

1.2.3.1. Hemodiyaliz Tedavisi 6

1.3. Arjinin ve Ürünleri 11

1.3.1. Arjinin 11

1.3.2. Metil Arjininler 18

1.3.2.1. Asimetrik Dimetilarjinin 18

1.3.3. Nitrik Oksit 23

2. GEREÇ VE YÖNTEM 28

2.1.1. Hastaların Belirlenmesi 28

2.1.2. Numunelerin Toplanması 28

2.1.3. Kullanılan Reaktif ve Çözeltiler 29

2.1.4. Kullanılan Cihazlar 29

2.2.1. Albümin, Üre, Kreatinin Düzeylerinin Ölçümü 30

2.2.2. Nitrik Oksit Düzeyleri Ölçümü 30

2.2.3. Arjinin ve ADMA Düzeyleri Ölçümünde HPLC'nin Kullanımı 30

2.2.3.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi (HPLC) Yöntemi 30

2.2.3.2. Mobil Faz solüsyonlarının Hazırlanması 31

2.2.3.3. Mobil Fazların Filtrasyonu ve Degaze Edilmesi.....31
2.2.3.4. Arjinin Standardının Hazırlanması 32
2.2.3.5. ADMA Standardının Hazırlanması.....32
2.2.3.6. Numune hazırlanması.....32
2.2.3.7. Derivatizasyon işlemi ve standart grafiklerinin hazırlanması.....32
2.2.3.8. Pompa.....33
2.2.3.9. Analiz Safhası 33
2.2.3.9.1. Arjinin standart çalışmaları.....33
2.2.3.9.2. ADMA standart çalışmaları 34
2.3. İstatistiksel Analizler.....35

3. BULGULAR 36

3.1. Çalışma Grupları 36
3.2. Arjinin, ADMA, NO Sonuçlarının Analizleri.....36
3.3. Diyaliz Hastalarının Genel Analizi 39
3.4. Diyaliz Hastalarının Diyabet Yönünden Genel Analizi.....41
3.5. Diyaliz Hastalarının Koroner Arter Hastalığı Yönünden Genel Analizi 44
3.6. Diyaliz Tedavisi Alan Hastalarda Korelasyon Analizleri.....46

4. TARTIŞMA 51
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 59
6. ÖZET….....60
7. SUMMARY 61
8. KAYNAKLAR 62
9. ÖZGEÇMİŞ.....69

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABY: Akut Böbrek Yetmezliği

ADMA: Asimetrik Dimetilarjinin

Bknz: Bakınız

DDAH: Dimetil Arjinin Dimetil Amino Hidrolaz

eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

ESRD: End stage renal disease

GFO: Glomerüler Filtrasyon Oranı

HCL: Hidroklorük Asit

HPLC: Yüksek Performans Likit Kromatografi

KBH: Kronik Böbrek Hastalığı

KBY: Kronik Böbrek Yetmezliği

L-NMMA: N -Monometil L-arjinin

M: Molar

µmol/L: Mikromol/Litre

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

OPA: o-Fitaldialdehid

RRT: Renal replasman tedavisi

SDBY: Son dönem böbrek hastalığı (KBH Evre V)

SDMA: Simetrik Dimetilarjinin

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 1.1: DOQI (Dialysis Outcome Quality Index) sınıflamasına göre kronik böbrek hastalığının evrelenmesi...……...……..3

Çizelge 1.2: 2010 yılı içinde hemodiyaliz programına alınan KBH hastalarının altta yatan etyolojik nedenlere göre dağılımı.….……..4

Çizelge 2.1: Mobil fazların akış şeması..……...…….33

Çizelge 2.2: Arjinin konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar..….……..34

Çizelge 2.3: ADMA konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar..….…….34

Çizelge 3.1: Tüm katılımcıların genel parametreleri..……36

Çizelge 3.2: Hasta ve kontrol grubunda ADMA, Arjinin ve NO Düzeyleri ..37

Çizelge 3.3: Diyaliz hastalarının genel analitik değerleri ve cinsiyet yönünden karşılaştırılması..…….……40

Çizelge 3.4: Diyaliz hastalarının diyabetik olup olmamasına göre değerlendirmesi..……..……42

Çizelge 3.5: Diyaliz hastalarının genel analitik değerleri ve koroner arter hastalığı (KAH) olup olmaması yönünden değerlendirmesi.….…….44

Çizelge 3.6: Diyaliz tedavisi alan hastalarda arjinin, NO, ADMA ve arjinin/ADMA arasında Pearson Korelasyon analizi..……47

Çizelge 3.7: Diyaliz hastalarında yaş, diyaliz süresi, üre, kreatinin, arjinin ve NO parametreleri arasında Pearson korelasyon istatistik değerlendirmesi….48

Çizelge 3.8: Diyaliz tedavisi gören erkek hastalar arasında yaş, diyaliz süresi, üre, albumin, kreatinin, arjinin ve NO paremetreleri arasında yapılan korelasyon analizi..…….49

Çizelge 3.9: Diyaliz tedavisi alan kadın hastalarında yaş, diyaliz süresi, üre, albumin, kreatinin, arjinin, NO ve ADMA paremetreleri arasında Pearson korelasyon istatistik değerlendirmesi..……50

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1.1: Böbrek ve nefronun yapısı 1

Şekil 1.2: Türkiye'de diyaliz hasta sayılarının yıllara göre değişimi ……5

Şekil 1.3: Diyaliz tedavisi gören bir hasta 8

Şekil 1.4: Hemodiyaliz uygulama şeması 9

Şekil 1.5: L-arjinin kimyasal yapısı 11

Şekil 1.6: Arjinin ve asimetrik dimetil arjininin sentezi ve metabolizması 12

Şekil 1.7: L-arjinin ve metil arjininlerin kimyasal yapıları 18

Şekil 1.8: Asimetrik dimetil arjinin (ADMA)'in kimyasal yapısı 19

Şekil 1.9: Asimetrik dimetilarjinin (ADMA) oluşumunda metionin/homosistein yolu ve ADMA metabolizması 19

Şekil 1.10: ADMA metabolizması 20

Şekil 1.11: Nitrik oksitin sentezi 24

Şekil 1.12: Asetilkolin reseptörleri veya reseptörsüz, kalsiyum bağımlı veya kalsiyumdan bağımsız yollar ile kan akımının oluşturduğu gerilim stresi ile endotelyal NO sentazın stimülasyonu sonucu NO üretiminin gösterimi 24

Şekil 1.10: NOS izoenzimlerince NO sentezi 26

a) Asetilkolin (ACh) tarafından vasküler endotel hücrelerin stimülasyonu ile eNOS tarafından NO sentezi.

b) Nöronal dentritin Glutamat tarafından stimülasyonu ile nNOS tarafından NO sentezi.

c) Bir makrofajın sitokinlerle ve sentezlenen iNOS mRNA ile indüksiyonu sonucu iNOS tarafından NO sentezi.

Şekil 2.1: HPLC sisteminin şematizasyonu 31

Şekil 2.2: Arjinin standart grafiği. ……...33

Şekil 2.3: ADMA standart grafiği ……...34

Şekil 2.4: Arjinin ve ADMA için örnek standart kromatogramı 35

Şekil 2.5: Numune Arjinin ve ADMA için örnek kromatogramı 35

Şekil 3.1: KBH Hastaları ve Kontrol Grubu ADMA Grafiği ……37

Şekil 3.2: KBH Hastaları ve Kontrol Grubu Arjinin Grafiği ……..38

Şekil 3.3: KBH Hastaları ve Kontrol Grubu Arjinin/ADMA Grafiği …….38

Şekil 3.4: KBH Hastaları ve Kontrol Grubu NO Grafiği ……..…..…39

Şekil 3.5: Diyaliz hastalarının cinsiyet yönünden kreatin düzeyleri ……...40

Şekil 3.6: Diyaliz hastalarının cinsiyet yönünden arjinin düzeyleri grafiği….……..…41

Şekil 3.7: Diyabetik olan ve olmayan diyaliz hastalarının yaş ortalamaları grafiği….42

Şekil 3.8: Diyabetik olan olmayan diyaliz hastalarının albümin düzeyleri grafiği…...43

Şekil 3.9: Diyabetik olan olmayan diyaliz hastalarının diyaliz tedavi süreleri…….43

Şekil 3.10: Koroner Arter Hastalığı olan olmayan diyaliz hastalarının yaş ortalamaları grafiği ……...…45

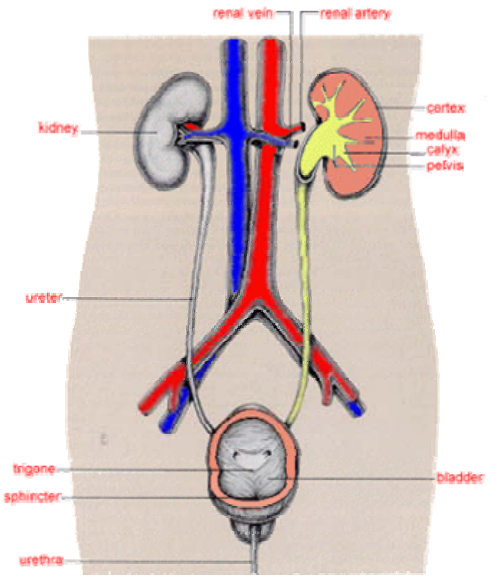
Şekil 3.11: Koroner Arter Hastalığı olan-olmayan diyaliz hastalarında albumin düzeyi grafiği……..…..45

Şekil 3.12: Koroner Arter Hastalığı olan olmayan diyaliz hastalarında ortalama diyaliz tedavi süresi……...46

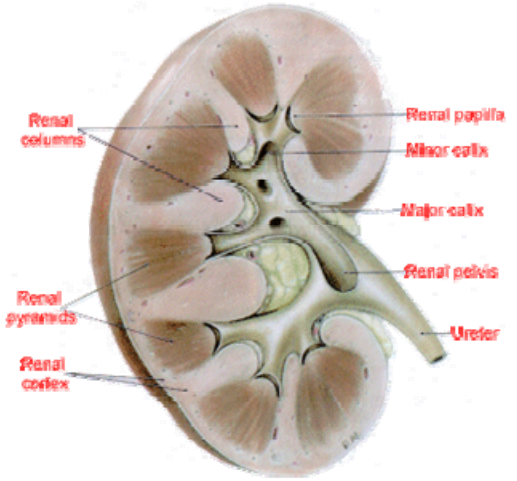
1. GENEL BİLGİLER

1.1. Böbreğin Yapısı ve Görevleri

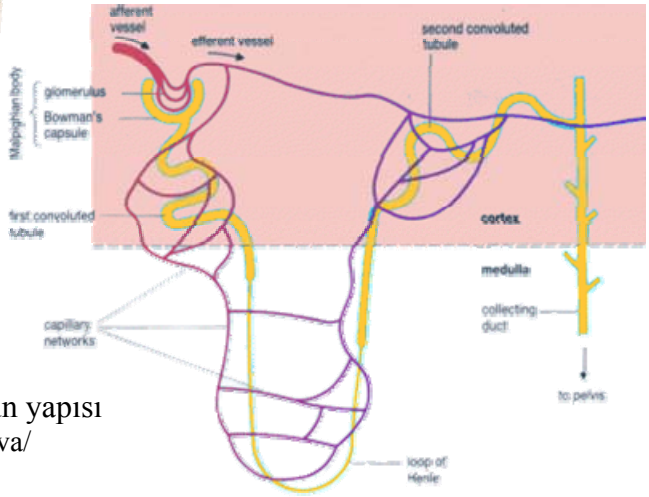
Böbreklerimiz, karın boşluğunda, üst lumbar vertebralar düzeyinde yer alan hayati organlarımızdır. Her erişkin böbrek yaklaşık 125-175 g ağırlığında ve 12 cm boyutlarındadır. Kesit düzeyinde dışta korteks, içte ise medulla ve konik yapılar vardır. Piramid şeklindeki bu konik yapıların uzantıları böbrek hilusuna doğru olup papillaları oluşturur. Her papilla bir küçük kaliks tarafından çevrilidir. Bu kaliksler bir araya toplanarak renal pelvisi oluşturan büyük kaliksleri yaparlar. Kanın glomerullerde süzülerek oluşan filtrat tübülüslerden geçerek idrar oluşmakta ve buradan üreterler aracılığıyla mesaneye geçerek vücuttan uzaklaştırılmaktadır (Şekil 1.1).



a) Boşaltım sistemi



b) Böbreğin yapısı



Şekil1.1: Böbrek ve nefronun yapısı
(http://www.le.ac.uk/pa/teach/va/anatomy/case4/4 1.html)

c) Nefronun yapısı

Her böbrek yaklaşık 1,3 milyon işlev ünitesi olan nefronlardan oluşur. Nefronlar Bowman kapsülü olarak bilinen ve süzme işlevi gören kapiller bir ağ olan glomerül kapsül boşluğunun açıldığı ve süzüntünün geri emildiği proksimal tüp, idrarın sulandırılarak hacminin artırıldığı henle kulpu, asit-baz dengesinin sağlanmasında etkili distal tüp ve idrarın yoğunlaştırılıp suyun geri emildiği toplayıcı kanallardan oluşur. Nefronlardan gelen toplayıcı kanallar birleşerek papiller kanallara açılmaktadır. Glomerüllere gelen kan filtre edilerek proksimal tübüle geçtiği zaman filtrat adını alır. Filtratta su, aminoasitler, potasyum, sodyum, klor, bikarbonat gibi inorganik tuzlarla glukoz vardır. Bir günde yaklaşık 150-180 litre filtrat oluşmakta ve bunun yaklaşık 1,5 litresi idrar olarak atılmaktadır. Böbreğin genel fonksiyonları; metabolizma sonucu oluşan vücut için toksik olan atıkların uzaklaştırılması; ekstrasellüler sıvı hacmi ile ekstrasellüler sıvı kompartmanındaki solütler arasındaki dengenin sağlanması; genel anlamda vücut elektrolit dengesinin sağlanması; plazma osmotik basıncın düzenlenmesi; eritropoetin hormonu ve renin sentezi; antidiüretik hormon (ADH) salgılanması; asit-baz dengesinin düzenlenmesi şeklinde sayılabilir (Akpolat T, 2007)

1.2. Kronik Böbrek Hastalığı

Kronik böbrek hastalığı (KBH) nefronların ilerleyici ve geri dönüşümsüz kaybı sonucu ortaya çıkar. Tanı böbrek fonksiyonlarının laboratuvar testlerine bazen de böbrek biyopsisi yapılmasına dayanmaktadır. Kronik böbrek hastalığı son dönem böbrek yetmezliği (SDBY)'ne kadar ilerleyebilmektedir. Bu duruma yeni ifadesi ile evre V KBH veya kronik böbrek yetmezliği (KBY) de denmektedir.

Son dönem böbrek yetmezliğinde glomerüler filtrasyon değerinde azalma ile böbreğin sıvı-solüt dengesinin ve metabolik-endokrin fonksiyonlarında da kronik ve ilerleyici olarak bozulmasıyla birçok metabolik ve hormonal sürecin etkilenmesine yol açan üremik sendroma neden olmaktadır. Üremi veya üremik sendrom, KBY'nin neden olduğu bütün klinik ve biyokimyasal anormallikleri içeren bir deyimdir ve çoğu kaynakta KBH Evre V ile eş anlamda kullanılmaktadır. Hastaların klinik semptom ve bulguları böbrek hastalığının derecesi ve gelişme hızı ile yakından ilişkilidir. Kronik böbrek yetmezliğinden etkilenmeyen organ veya sistem yok kabul edilebilir (Yalçın ve Akpolat 1996).Özellikle KBH'li hastalarda bozulan metabolik süreçler, klinikte en belirgin olarak hasta morbiditesi ve mortalitesinden sorumlu

tutulan kardiyovasküler bozuklukları ön plana çıkarır (Akoğlu ve Süleymanlar 1996, Yalçın ve Akpolat 1996, Akpolat ve ark 2007).

Böbreklerin fonksiyonel kapasitelerinin belirlenmesi için spesifik kriter, glomerüler filtrasyon oranıdır (GFO). Sağlıklı bireylerde böbreğin GFO değeri 125 ml / dk / 1,73 m^2'dir. Kronik böbrek hastalığının ilerlemesiyle GFO zamanla giderek azalmaktadır (Akoğlu ve Süleymanlar 1996).

Böbrek yetmezliği tanısı için yaygın olarak kullanılan bir başka parametre ise kan kreatinin düzeyinin artışıdır. Kreatin fosfatın yıkım ürünü olan kreatinin'in normal kan değerleri 70-120 µmol/L olup, bu değerin 120 µmol/L'yi geçmesi böbrek fonksiyonlarında yetersizlik olduğunu gösterir (Davison 1998).

2008 yılında Amerikan Birleşik Devletleri (ABD)'de Ulusal Böbrek Vakfı'nın kronik böbrek hastalığı ile ilgili hazırladığı klavuza göre [DOQI (dialysis outcome quality index)]; glomerüler filtrasyon hızında azalma olsun veya olmasın, böbrekte 3 aydan uzun süren yapısal veya işlevsel bozuklukların eşlik ettiği idrar, kan ya da görüntüleme yöntemleri ile saptanan bir hasar olması durumu kronik böbrek hastalığı olarak ifade edilmiştir (Çizelge 1.1) (Erişim Tarihi: 21 Aralık 2012 http://www.kidney.org/professionals).

Çizelge 1.1: DOQI (Dialysis Outcome Quality Index) sınıflamasına göre kronik böbrek hastalığının evrelenmesi (Akpolat T ve ark 2007).

Evre	**Tanımlama**	**GFH (ml/dak/1,73 m^2)**
1	Normal veya artmış GFH ile birlikte böbrek hasarı	≥ 90
2	Hafif azalmış GFH ile birlikte böbrek hasarı	60-89
3	Orta derece azalmış GFH	30-59
4	İleri derece azalmış GFH	15-29
5	Böbrek yetmezliği	< 15 (veya diyaliz)

GFH: Glomerüler filtrasyon hızı,

GFO böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde günümüzde kullanılan en geçerli sınıflama durumudur. Serum kreatinin değeri ile GFO Cockcroft-Gault formülü ile hesaplanır.

Cockcroft-Gault formülü;

Kreatin klirensi (ml/dk) = (140-Yaş) x Ağırlık / 72 x Kreatin

Çıkan sonuç kadınlarda kas kütlesi farkından dolayı 0,85 ile çarpılır.

Ayrıca verilerin doğrudan girildiği ve diğer hesaplamaların da yapılabileceği internet siteleri de mevcuttur (Erişim Tarihi: 21 Aralık 2012 http://www.tsn.org.tr).

1.2.1. Kronik Böbrek Hastalığının Etyolojisi ve Epidemiyolojisi

Kronik böbrek hastalıklarının oluşumunda birçok etyolojik faktör söz konusudur. Bunlar arasında; diyabetik nefropati ve hipertansiyon bütün dünyada ilk sıralarda gelir. KBH'nin diğer etyolojik nedenleri arasında ise; primer glomerüler hastalıklar, tübülo-intertisyal hastalıklar, renal vasküler hastalıklar, kronik üriner sistem tıkanıklığı, kollojen doku hastalıkları ve bazı metabolik hastalıklar sayılabilir (Stein ve Wild 2002). Türkiye'deki KBH hastalıklarının etyolojik nedenleri Çizelge 1.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.2: 2010 yılı içinde hemodiyaliz programına alınan KBH hastalarının altta yatan etyolojik nedenlere göre dağılımı (Türk Nefroloji Derneği Türkiye Rejistirisi, 2011).

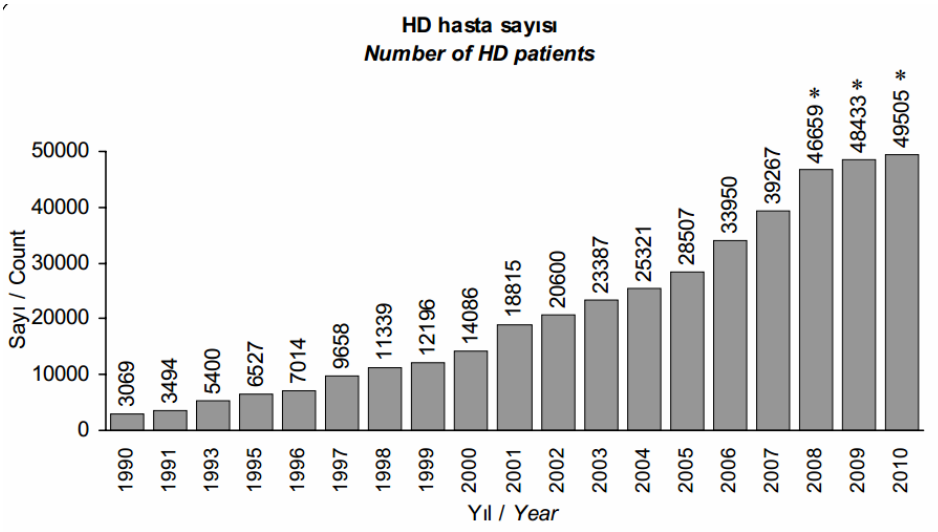
KBH Etyoloji	Vaka Sayısı (n)	Yüzde Dağılım (%)
Diyabetes Mellitus	4100	32,7
D. M: (Tip I)	832	6,6
D. M: (Tip II)	3268	26,1
*Hipertansiyon	3258	26
Glomerulonefrit	836	6,7
Polikistik Böbrek Hastalıkları	470	3,8
Piyelonefrit	295	2,4
Amiloidoz	206	1,6
Renal Vasküler Hastalık	174	1,4
Diğer	1453	11,6
Bilinmeyen	1584	12,7

* Hipertansiyonun primer etyolojik sebep olmayabileceği, kronik böbrek yetmezliğine bağlı oluşan sekonder hipertansiyon olabileceğine dair kuvvetli ihtimal vardır.
(Erişim Tarihi: 21 Aralık 2012, http://www.tsn.org.tr/folders/file/2010_registry.pdf)

Kronik böbrek hastalığının günümüzde görülme sıklığı giderek artmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda diyabetik ve hiprtansif hasta grublarının oranının artdığını bildirmektedir. Kronik böbrek hastalığının önlenmesinde risk faktörleri olan kişilerde, erken teşhis önemli olup bu hastalar mutlaka izlenmelidir (Akpolat ve Ark 2007) .

Son 10 yılda, KBH Evre V vakalarının yıllık artış oranı yaklaşık % 10 seviyelerine yükseldiği bildirilmiştir. Türkiye'de 1996 yılından 2010 yılına kadar olan süre içerisinde hemodiyalize giren hasta sayısı 5 katına çıkarak 2010 yılı itibari ile Türkiye'de 50 000 civarına ulaşmıştır (Şekil 1.2).

Şekil 1.2: Türkiyede diyaliz hasta sayılarının yıllara göre değişimi (Diyaliz istatistik yıllığı 2010, http://www.tsn.org.tr/folders/file/2010_registry.pdf).



1.2.2 Kronik Böbrek Hastalığının Patofizyolojisi

Etyolojik nedenlerden bağımsız olarak nefron kayıpları sonucu sağlam nefronların adaptasyon sürecinde hipertrofiye uğrayarak klirens yükleri artmaktadır. Nefron uyumundaki bu süreçte sağlam nefronlarda intrakapiller basınç artışı söz konusudur. Bu basınç artışı sonucu nefronlardan filtre olan protein kaybını da artırarak proteinüriye sebep olmaktadır. Proteinürinin şiddeti böbrek hasarı ile doğru orantılı olup sebep-sonuç ilişkisi olarak da değerlendirilebilir. Ayrıca renin-anjiotensin sisteminin aktivitesi de artar. Anjiotensin ve diğer sitokinlerin bu bölgedeki artışı, glomerüllerin skleroza gitmesine neden olur. Sklerozu hızlandıran faktörler, kronik böbrek hastalığının progresyonunu da artırır. Proteinüri,

hipertansiyon ve hiperlipidemi başlıca risk faktörlerinden sayılabilir. Uyum sağlayan sağlam nefronlar üremik sendromun ortaya çıkmasını geciktirmekte ancak bu süreçte nefronların harabiyeti de hızlanmaktadır (Akpolat ve ark 2007).

Son dönem böbrek yetmezliğine gidişi engellemek ve ilerlemeyi yavaşlatabilmek için altta yatan esas sebebin tedavisinin yapılması gerekmektedir. Diyabetik glomerülosklerozda kan şekeri kontrolü, hipertansif nefrosklerozda kan basıncının regülasyonu, lupus nefriti gibi immünolojik olaylarda immünsüpresif tedavi kullanılması gibi yöntemlerle KBH'nın ilerlemesi yavaşlatılabilmektedir (Remuzzi ve ark 2006).

1.2.3. Kronik Böbrek Hastalığının Tedavisi

Hastalığın erken evrelerinde semptomatik tedavi yeterli olsa da böbreklerin tümüyle görevini yapamaz duruma geldiği Evre V'te ise hemodiyaliz, periton diyalizi ve böbrek transplantasyonu olmak üzere üç temel tedavi yöntemi bulunmakta olup, organ nakli ile ilgili yaşanılan zorluklar sebebiyle günümüzde en çok hemodiyaliz tedavisi uygulanmaktadır (Serdengeçti 1997).

Hemodiyaliz tedavisi ile KBH'larının mümkün olduğunca yaşam kalitelerinin artırılması, uzun dönemde ortaya çıkabilecek komplikasyonlardan korunmanın sağlanması hedeflenmektedir.

1.2.3.1. Hemodiyaliz Tedavisi

Diyaliz, yarı geçirgen bir membrandan hastanın kanı ile uygun içerikli diyaliz solüsyonu (diyalizat) arasında sıvı-solüt değişimini esas alan bir tedavi şeklidir. Böbrek fonksiyonunu icra edemediği için hastanın kanında konsantrasyonu artan toksik solütlerin diyalizata doğru geçişi sağlanarak hastada mevcut olan sıvı-solüt dengesizliğini normale yaklaştırılmaya çalışılmış olunur (Daugirdas ve ark 2010).

Hemodiyaliz, temel fizik kurallarına dayalı olarak yürütülür. Hemodiyaliz tedavisi hasta kanını diyaliz cihazı vasıtasıyla yarı geçirgen bir membran aracılığı ile diyalizat çözeltisi ile karşılaştırılarak uygulanır. Hasta kanının içindeki üremik toksinler diyalizat çözeltisine geçerken, kan sıvısını ve solütün içeriğini yeniden düzenleyerek hastaya geri verilmesi esasına dayalı olarak sürdürülür. Diyaliz yarı geçirgen bir membran aracılığı ile hastanın kanı ve uygun diyaliz solüsyonu arasında

sıvı-solüt değişimini prensiplerini esas alan bir tedavi yöntemidir (Depner ve ark 1999).

Deneysel olarak ilk diyaliz uygulamaları 1913 yılında John Jacob Abel ve meslektaşları tarafından yaşayan hayvanların kanı üzerinden difüzyon esasına dayalı molekül taşınmasını esas alan ilk uygulamayı rapor etmişlerdir. Abel'in bu çalışmasından sonra Georg Haas 1924'de Almanya'da insan diyaliz çalışmaları yapılmıştır. İnsanda ise ilk klinik hemodiyaliz uygulamaları 1945 yılında Hollanda'lı hekim olan Kolff tarafından gerçekleştirilmiştir. Kolff bu uygulamasında yarı geçirgen membran olan sellülöz asetat membran ve antikoagülan madde olarak da heparin kullanmıştır (Gottshalk ve Feliner 1997).

Kronik böbrek hastalığı Evre V (Son dönem böbrek yetmezliği, SDBY) diğer tedavilerin yanı sıra diyaliz tedavilerini de gerektiren klinik durumdur. Günümüzün ileri teknolojisi diyaliz tedavilerine de yansımıştır. Diyaliz hastalarında optimal diyaliz tedavisinin sağlanması hayati öneme haizdir. Bu nedenle uygulamalarda seçilecek membran tipi, diyaliz solüsyonu içeriği, kan akım hızı, diyalizat akım hızı, diyaliz sıklığı ve diyaliz süresinin her hasta için ayrı ayrı uygun bir şekilde belirlenmesi gereklidir. Diyaliz tedavisinde yüksek imkanlar sağlamıştır. Hacim kontrollu, bikarbonat diyalizi uygulaması yapabilen, gelişmiş moniterizasyon ve alarm sistemleri olan cihazlar geliştirilmiştir.

Hemodiyaliz işleminin aslında üç kompartmanı vardır;

1) Diyalizör (filtre),
2) Kan pompası yardımıyla kanın diyalizörden geçişini sağlayan sistem,
3) Solüt klirensi için belirli bir kimyasal kompozisyonda hemodiyaliz sıvısı (diyalizat).

Diyalizörler Hallow fiber (içi boş kapiller) veya paralel tabakalar şeklinde olabilir. Membranların kimyasal yapısı sellüloz, substituted sellüloz, yarı-sentetik veya sentetik yapıda olabilir. Diyaliz membranın (diyalizör) kapiller içinde hastanın kanı, kapiller arasında ise hemodiyaliz cihazında hazırlanmış diyalizat bulunur. Diyalizat elektrolit içeriği, hastanın kanında normalde bulunması gereken fizyolojik değerlerde olmalıdır. Hasta kanından uzaklaştırılması istenen moleküller ise diyalizat sıvısında bulunmaz. Böylece difüzyon prensibine göre yarı geçirgen memrandan üremik toksinler diyalizat sıvısına geçmektedir. Ayrıca diyalizat sıvısında, hasta kanında normalde bulunması gereken fizyolojik metabolik değerlere ulaştıracak şekilde diyalizat sıvısından hastaya geçişi sağlanacak elektrolitler (bikarbonat,

sodyum, potasyum gibi) de bulunmalıdır. Hastanın klinik durumuna göre tedavi bireyselleştirilmekte ve idrarla vücuttan atılması gereken üremik toksinler uzaklaştırılırken aynı zamanda sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesi sağlanmaktadır (Daugirdas ve ark 1994).

Hemodiyaliz hastadan kan seti aracılığı ile alınan kanın diyaliz işlevini yapacak membran aracılığı ile diyalizat solüsyonuyla karşılaştırılarak hemodiyaliz cihazında hastanın kanının tekrar hastaya geri döndürülerek yürütülen klinik tedavi yöntemidir. Diyaliz tedavisinde hasta kanı diyaliz membranı ve diyalizat çözeltisinin karşılaştırılarak suda erimiş olan düşük ağırlıklı toksinlerin hasta kanından uzaklaştırılması sağlanmış olur. Bu amaçla kullanılan hemodiyaliz cihazları bu alanda sağlanan bilimsel ve teknolojik gelişmelerle etkin yöntemlerle tedavi sürecini monitörüze eder. Hasta kanı ven setinden 300-400 mL/dk hızla gelirken diyaliz membranının diğer tarafındaki diyalizat solüsyonu genellikle 500-800 mL/dk hızlı akışı ile karşılaştırılır. Yeterli kan akımının sağlanması için damar giriş yolu girişimleri yapılır. Bu yolla merkezi venöz kataterizasyon veya arterio-venöz fistülle, fistülün uygulanamadığı durumlarda da greft uygulamaları ile vasküler erişim sağlanmaktadır (Arık ve ark 2009).

Hemodiyaliz makinaları, yapay böbrek cihazları olarak çok çeşitli fonksiyon görmektedir. Esas olarak membran aracılığı ile karşılaştırılmış kan ve diyalizat arasında sıvı-solüt değişimi ve ultrafiltrasyon tedavisi ile hastadaki birikmiş sıvı uzaklaştırılmaktadır.

Şekil 1.3: Diyaliz tedavisi gören bir hasta (hastanın izniyle).

Hemodiyaliz tedavisinin, difüzyon ve ultrafiltrasyon olmak üzere iki esası vardır. Difüzyon, yarı geçirgen membranla ayrılmış, iki farklı sıvı kompartmanındaki sürekli titreşim halindeki moleküllerin konsantrasyon farkı ile ilişkili olarak çok yoğun olduğu ortamdan az yoğun olduğu ortama net geçişidir. Ultrafiltrasyon, hidrostatik basınç farkı ile suyun ve su içindeki solütlerin membranın diğer tarafına geçiş hareketidir (Akpolat ve ark 2002).

Hemodiyalizde kullanılan membranlar, kimyasal yapılarına göre selüloz, substituted selüloz, sentetik selüloz veya tamamen sentetik yapıda olabilir. Diyaliz membranın (diyalizör) lifleri içinden hastanın kanı, kapillerin dış çeperinden ise diyalizat adı verilen hemodiyaliz çözeltisi hemodiyaliz cihazı tarafından geçirilir (Daugirdas 1994).

Diyalizat çözeltisi, hastanın tedavi gereksinimlerine göre belirlenmiş konsantrasyonlarda örneğin bikarbonat için 33-35 mEq/L olan tampon çözeltisiyle beraber sodyum, potasyum, glukoz, mağnezyum gibi molekülleri içerir. Diyaliz tedavinde kullanılan çözelti, diyalizör vasıtasıyla hasta kanıyla karşı karşıya getirilir.

Membran direnci adı verilen hemodiyalizdeki difuzyon olayı, membranların yapısı, kalınlılığı ve üzerindeki yarı geçirgenliği sağlayan porların şekilleri tarafından farklılık arzeder. Difüzyon ile üre molekülü gibi diyaliz membranından geçebilen küçük molekül ağırlıklı moleküller, konsantrasyon gradiyentine bağlı olarak kan kompartımanından diyalizat bölümüne titreşim hareketiyle geçerler. Aynı fizik kuralı ile diyalizat solüsyonunda yüksek konsantrasyonda bulunan bikarbonat ise kan tarafına difüze olur. Hastada su fazlalığının uzaklaştırılması, membran boyunca olan hidrostatik basıncın farkına bağlı olarak ultrafiltrasyonla sağlanır. Hemodiyaliz hastasının kişisel ihtiyacına göre haftada üç seans 4-6 saat diyaliz tedavisi uygulanır (Şekil 1.4).

Şekil 1.4: Hemodiyaliz uygulama şeması (Erişim Tarihi: 21 Aralık 2012 www.sagliksifa.com)

Diyaliz kalitesi ve tedavi yeterliliği yaşam kalitesi açısından çok önemlidir. Bu nedenle uygulamalarda kullanılan membranın uygun seçilmesi tedavinin bireyselleştirilmesi yönünden önemlidir. Kan akım hızı ve diyalizat çözeltisi hastanın durumuna uygun hale getirilmelidir. Sıvı elektrolit dengesi sağlanmalı diyaliz sıklığı ve diyaliz tedavi süreleri yeteri kadar sağlanmalıdır (Charra ve ark 1992).

Diyaliz tedavi yeterliliği yanı sıra hastanın beslenme takibi ve kuru ağırlığının doğru olarak belirlenmesi önemlidir. Ayrıca üremik toksinlerin yeterince uzaklaştırılması ve sıvı elektrolit dengesinin de sağlanması gerekir. Böbrek fizyolojisinde asit baz metabolizması ve endokrin fonksiyon kayıpları ile ilişkili eksikliklerin giderilmesi amacıyla rekombinant DNA teknoloji ile üterilen eritropoietin hormonu gibi tamamlayıcı ilaç tedavileri uygulanır. Böylece kronik diyaliz programındaki hastaların her biri için ayrı ayrı değerlendirilmiş diyaliz tedavi programları planlanmalıdır. Bu planlama kapsamında hastanın klinik durumu, laboratuvar bulguları ve tedavi yeterliliği periyodik olarak değerlendirilmeye alınır. Her hasta için ortaya çıkan farklı durumlara göre yeni tedavi protokolü planlanmalıdır (Covic ve ark 1998).

Diyaliz tedavisinde değerlendirilmesi yönünden diyaliz yeterliliği önemli bir kriterdir. Üremik toksisiteden böbrek işlevinin bozulması sebebi ile vücuttan atılamayan metabolitler, solütler sorumludur. Diyaliz yeterliliğinin değerlendirilmesinde düşük molekül ağırlığı molekül ağırlığı 60 Dalton olan ürenin kandan temizlenmesinin ölçülmesi esas alınmıştır. Ürenin kandan temizlenme miktarı diyaliz süresi ile doğru orantılıdır (Corea ve ark 1994).

Diyaliz etkinlik katsayısı (KoA)'nın yüksek değerlerine sahip etkin diyalizer ve kan akımı hızlandırılarak diyaliz dozu arttırılabilir. Diyaliz yeterliliğinin tayininde üre temizlenme oranı ve plazma üre düzeyi kullanılarak hesaplanır. Üre temizlenme oranı düşük ise diyaliz yetersizliği vardır. Üre düzeyleri, üre temizlenme miktarı ve üre yapım hızı ile ilişkilidir. Üre yapım hızı protein katabolizma hızına bağımlıdır. Üre temizlenme ölçümleri, diyaliz sonrası ve diyaliz öncesi plazma üre oranı ve K (diyaliz etkinlik katsayısı) x T (süre) / V (sıvı hacmi) formülü kullanılarak yapılır. Yani üreden temizlenen plazma miktarının üre dağılım hacmine bölünmesi ile elde edilmiş olur. KT/V değerinin en az 1,2 olması hedeflenir (Hakim ve ark 1994, NKF K/DOQI 2000).

Hemodiyalizin optimal dozunun belirlenmesi için hastanın subjektif olarak yaşam kalitesini değerlendirilmesi, uzun dönemde KBH'ya bağlı ortaya çıkabilecek

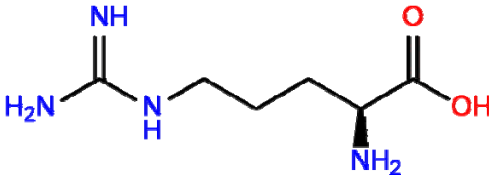
istenmeyen ve eşlik eden hastalık (ko-morbit) durumlarından korumayı sağlayıcı, başta sağ kalımını iyileştiren, hemodiyalizin maliyet-etkinliğinin yararının (kost efektivite) belirlenmesi gereklidir (Daugirdas 1994).

Diyaliz sırasında plazmadan temizlenen üre miktarı; R= diyaliz sonrası/ diyaliz öncesi plazma üre azotu hesaplanarak ölçülür. Düşük değerler, kan plazma üresinin yüksek temizlenme miktarını gösterir. Örneğin diyaliz öncesi 100 mg/dl olan plazma üre düzeyi, diyaliz sonrası 30 mg/dl olarak saptanır ise R=30/100=0.3 bulunur. Ürenin azalma hızı (URR, urea reduction rate) ise diyaliz seansı sırasında ürenin azalma derecesidir. Diyaliz etkinliği hakkında fikir verir. % URR = 100 x (1-R) formülü ile hesaplanır. Vaka örneğine göre URR=100 x (1-0,3) = %70'tir. Yeterli diyaliz uygulaması diyebilmemiz için bu değerin en az % 65 olması önerilir (Daugirdas ve Depner 1994).

1.3 Arjinin ve Ürünleri

1.3.1 Arjinin

Arjinin (2-amino-5-guanidinovalerik asit) yan zinciri olarak bir guanidinyum grubu ve nötral pH da pozitif yük taşıyan ve yarı esansiyel bir aminoasittir (Champe ve Harvey 1994). Vücutta sentez edilen arjinin normalde kas ve bağ dokusu için yeterli olmaktadır (Efron ve Barbul 1998).



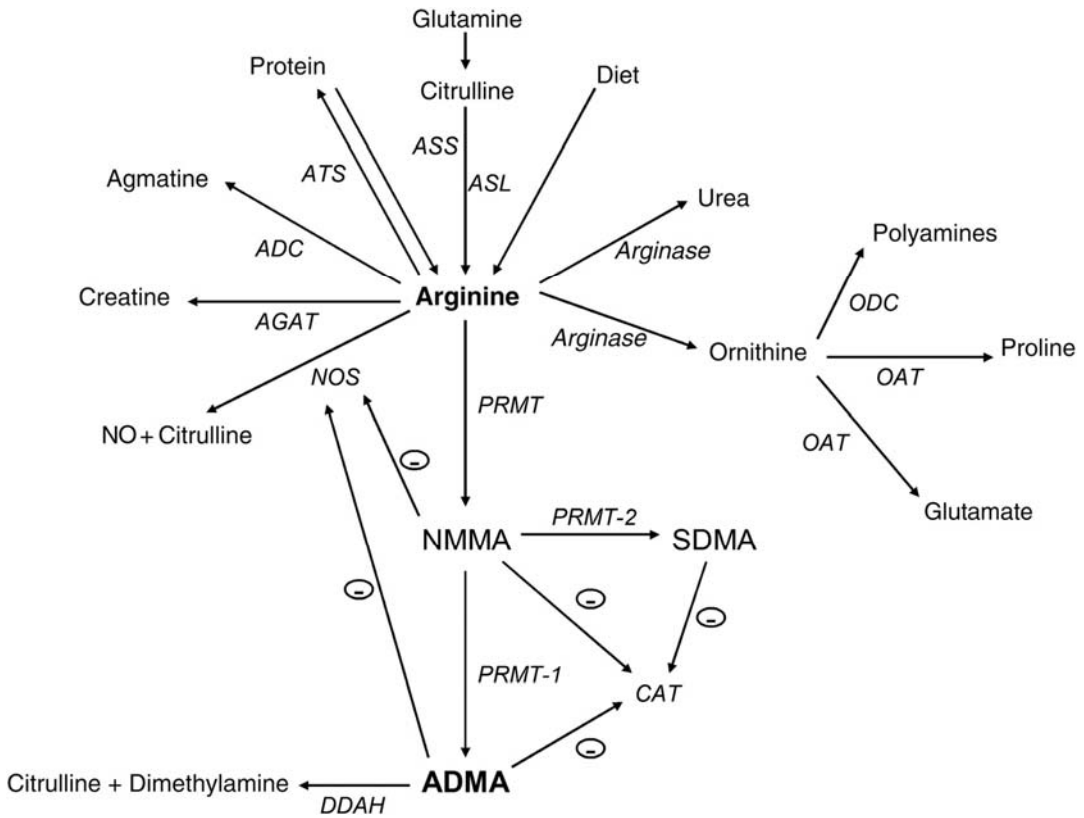
Şekil 1.5: L-arjinin kimyasal yapısı (Erişim Tarihi: 21 Aralık 2012, http://chemistry.about.com).

Arjinin eksojen kaynaklı veya vücut protein döngüsünden, barsaklardaki sentezden veya büyük oranda *de novo* hücre sentezinden kaynaklı endojen olarak üretilir. Arjinin sentezi daha çok böbreklerde gerçekleşmektedir. Glutamat ve sitrüllinden arjinin sentezi ince barsak, böbrek ve karaciğerde gerçekleşir. İnce barsaklarda glutamattan oluşan sitrüllin sistemik dolaşıma geçer, böbreklerin proksimal tübüllerinde arjinine çevrilir (Barbul 1986). Arjinin ayrıca karaciğerde üre döngüsünün ara ürünü olarak da sentezlenmektedir. Arjinin protein sentezine

katılmakla beraber ornitin, üre, kreatin, poliamin ve NO sentezinde yer alan ve aynı zamanda glikojenik olan bir amino asittir (Visek 1986).

Arjinin ve metabolizması üzerine birçok çalışma vardır. Wu ve Morris'in (1998) bildirdiğine göre; bu aminoasit ilk olarak Schulze ve Steiger tarafından 1886 yılında Acıbakla fidanlarından izole edilmiştir. 1895'de Hedin tarafından hayvansal proteinlerin bir komponenti olarak tanımlanmıştır. 1987 yılında arjininin nitrat sentezinin öncülü Hibbs ve ark (1987) ve endotel türevli gevşetici faktörün NO olduğu anlaşılmıştır (Ignarro ve ark 1987).

Arjinin birçok metabolik yolda rol oynamaktadır (Şekil 1.6). Arjinaz enzimi, arjininin üre, ornitin, prolin, poliaminler, glutamat ve glutamine dönüşümünü kolaylaştırarak metabolizmasında yer alan önemli bir enzimdir. Arjinin, üre döngüsü yoluyla amonyak detoksifikasyonu için nitrojenin taşınmasında, depolanmasında ve atılımında rol alır (Tong ve Barbul 2004).



ADC, arjinin dekarboksilaz; ADMA, asimetrik dimetilarjinin; AGAT, arjinin glisin amidinotransferaz; ASL, arjininosüksinat liyaz; ASS, arjininosüksinat sentaz; ATS, arjinil-tRNA sentetaz; CAT, katyonik amino asit taşıyıcısı; DDAH, dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz; NMMA,*N*-monometil-arjinin; NO, nitrik oksid; NOS, nitrik oksid sentaz; OAT, ornitin aminotransferaz; ODC, ornitin dekarboksilaz; PRMT, protein arjinin metiltransferaz; SDMA, simetrik dimetilarjinin (Visser ve ark 2010).

Şekil 1.6: Arjinin ve asimetrik dimetilarjininin sentezi ve metabolizması.

Arjininin farklı fizyolojik etkileri vardır. Yapılan araştırmalarda arjininin immün cevabı arttırdığı gösterilmiştir. Bu etkilerini alveolar makrofajlarda fagositik aktiviteyi (Tachibana ve ark 1985), natural killer (katil hücre) ve lökosit hücre aktivasyonunu (Green ve ark 1990), nötrofil sayısını artırarak (Mühling ve ark 2002) sağlamaktadır. Ayrıca arjininin gastrik ülserler, kemik kırıkları, diyabetik ayak ülserleri, ikinci derece yanıklar, radyasyon enteritleri ve ince barsağın ülseratif lezyonları gibi farklı yara iyileşmelerinde de olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Kirk ve ark 1993).

Arjininin son ürünlerinden olan NO, glutamat ve agmatin hücrelerde haberci moleküllerdendir (Williams 1997). Arjinin aynı zamanda glutamat ve asetil CoA'dan N-Asetilglutamat sentezleyen N-asetilglutamat sentaz'ın allosterik aktivatörü olarak da etki gösterir (Meijer ve ark 1990). N-Asetilglutamat, arjinin ve üre sentezinde anahtar enzim rolü olan Karbamoil-fosfat sentaz 1 (KPS-I)'in kofaktörü şeklinde düzenleyici rol oynayabilir. Bunun haricinde arjinin insülin, büyüme hormonu, glukagon ve prolaktin gibi hormonların sekresyonunu da arttırmaktadır (Barbul 1986, Reyes ve ark 1994). Bu sebeplerden dolayı günlük diyetle arjinin alımı, tüm vücut protein metabolizmasına bağlı arjinin homeostazının düzenlenmesinde fizyoloji ve beslenme açısından büyük önem taşır.

Arjininin katıldığı metabolik yollar

Arjinin, çeşitli dokularda önemli bileşiklerin yapılarında yer alır. Protein sentezi, glukoz ve glikojen oluşumu, ornitin, üre, NO, kreatin, agmatin, prolin ve glutamat sentezi, poliaminlerin biyosentezinin yanısıra tuftsin ve antidiüretik hormon (ADH) yapısında yer alır (Soeters ve ark 2002, Foye ve ark 1995).

Arjininden glukoz ve glukojen oluşumu

Glukojenik bir aminoasit olan arjinin, arginaz ile ornitin ve üreye dönüşür. Bu reaksiyon karaciğerde üre döngüsünün bir parçası olarak oluşur. Ornitin transaminasyonla glutamat gama-semialdehit üzerinden sitrik asit siklusunun bir metaboliti ve glukoneogenez substratı olan α-ketoglutarata dönüşür (Onat ve ark 2002).

Arjininden nitrik oksit (NO) oluşumu

Nitrik oksit (NO), tüm memeli hücrelerinde L-arjininden nitrik oksit sentazın (NOS-arjinin deaminaz) etkisi ile sentezlenir. Bu tepkimede moleküler O_2, NADPH, FAD, FMN, tetrahidrobiopterin, Ca^{+2}, hem kompleksi (Fe^{+2}) ve tiyol gibi çeşitli kofaktörlere ihtiyaç vardır (Jiang ve ark 2004). Bu kofaktörler, L-arjininin elektron-oksidasyonu ile arjinini NO ve sitrülline çevirirler.

NOS'ın üç izoformu bulunmaktadır:

1. Tip 1 nöronal NOS (nNOS)
2. Tip 2 indüklenebilir NOS (iNOS)
3. Tip 3 endotelyal NOS (eNOS)

nNOS, ilk olarak santral ve periferik sinir hücrelerinde bulunmuştur. eNOS, endotel hücrelerine spesifiktir. nNOS ve eNOS, Ca^{+2} bağımlı olup sürekli olarak az miktarda NO sentezlerler. Ca^{+2} bağımlı olmayan iNOS; makrofaj, miyosit, düz kas hücreleri ve hepatositlerde; belirli sitokinlerin ve lipopolisakkarit içeren mikrobiyal ürünlerin uyarısıyla NO üretimini katalizler. NOS tarafından NO'nun bazal salınımı devamlı olarak vazodilatatör etki oluşturur. iNOS tarafından sentezlenen NO ile makrofajların tümör hücreleri üzerine olan sitotoksik aktivitelerine katkıda bulunur (Tapiero ve ark 2002).

Arjininden kreatin sentezi

Arjininin guanido grubunun glisine aktarılması ile guanidoasetat oluşur ve S-adenozil metiyonin (SAM)'den sağlanan metil grubu ile metilasyonu sonucu enerji metabolizmasında rol oynayan kreatin oluşur. Kreatinin fosfatlanması ile, kaslarda yüksek enerjili fosfat deposu görevini üstlenen kreatin fosfat elde edilir (Adam ve Yiğitoğlu 2012).

Arjininden poliamin sentezi

Arjininden sentezlenen, çok sayıda amino grubu içeren pütresin, spermidin ve sperminden oluşan katyonik bileşikler poliaminlerdir.

Pütressin iki yoldan oluşur: Birinci yolda; arjinin, arginaz ile ornitin ve üreye çevrilir. 5 karbon ve 2 amino gruplu bir amino asit olan ornitin, protein yapısına katılmaz. Ornitin, ornitin dekarboksilaz tarafından dekarboksile olarak 4 karbon ve 2 amino grubu taşıyan pütresine dönüşür (Onat ve ark 2002).

İkinci yolda; arjinin, arjinin dekarboksilaz ile dekarboksilasyona uğrayarak agmatin oluşur. Agmatin, bir imino-hidrolaz ile N-karbamoil pütresine, bu da N-karbamoil-pütresin amido-hidrolaz ile pütresine çevrilir (Morris 2004).

Poliamin sentezine katkısı olan diğer bir amino asit metiyonindir. SAM'dan, adometdekarboksilaz ile adenozilmetiltiyopropilamin oluşur. Bunun propilamino grubu pütresine aktarılarak, 7 karbon ve 3 amino gruplu spermidin, ikinci bir propilamino grubu spermidine eklenerek 10 karbon ve 4 amino gruplu spermin elde edilir (Morris 2004).

Poliaminler başlıca hücre bütünlüğünün stabilizasyonu, DNA ve RNA sentezinin uyarılması, DNA'nın stabilizasyonu, hücre döngüsünün düzenlenmesi, protein kinaz inhibisyonu gibi önemli etkilerden sorumludur (Robert ve ark 1990).

Arjinin Eksikliği

Arjinin sağlıklı erişkinlerde esansiyel olmadığınndan eksikliği sık görülmez, ancak vücutta artan negatif azot dengesine bağlı olarak eksikliği söz konusu olabilir. Çok hızlı büyüme, gebelik, travma, sepsis, kanda aşırı amonyak, arjinine antagonist olan lizinin varlığı veya malnütrisyon eksiklik nedeni olabilir (Carcillo 2003).

Eksiklik belirtileri arasında saçların kırılması ve dökülmesi, kötü yara iyileşmesi, konstipasyon, fasiyel raş, musküler distrofi benzeri kas zayıflıkları gözlenir. Karaciğerde glukoz ve lipid metabolizması anormallikleri vardır; karaciğerde yağlanma, bu durum ilerlerse hepatik siroz ve hepatik koma gelişebilir. Bu durumlarda arjininin dışarıdan takviyesi gerekir (Milner 1985).

Arjinin Fazlalığı (hiperarjininemi)

Hiperarjininemi, otozomal resesif kalıtılan arginaz eksikliğine bağlıdır. Arginaz enziminde kısmi veya tam defekt vardır. Çok nadir görülen bu kalıtsal hastalıkta arjinin fazlalığı doğumdan sonra ilk yıl asemptomatik olup, diyetteki protein miktarı arttıkça bulgular ortaya çıkar. Mental gerilik, epileptik nöbetler, spastik displeji yanı sıra; hiperammonemik koma gelişir. Kan, idrar ve serebrospinal sıvıda arjinin ve amonyak artışı ile seyreder. Eritrositlerde ise düşük arginaz aktivitesi saptanır. Bu olgulara arjinin ve proteinden kısıtlı diyetle semptomatik tedavi uygulanır (Robert ve ark 1990, Hewson ve ark 2003).

Arjininin klinik kullanımda önemi

L-arjinin suplemantasyonunun birçok sistem üzerine, özellikle de kardiyovasküler sisteme olumlu etkileri vardır. L-arjininin kardiyovasküler sistemi olumlu etkilediği, koroner arter hastalığı olan hastalarda miyokardiyal iskemiyi önlediği; normal veya yetersiz renal işlevi olan essansiyel hipertansiyon hastalarında kan basıncını ve renal vasküler direnci azalttığı ileri sürülmüştür. Arjininin bu rolü NO sentezinde bir prekürsör olmasından kaynaklanabilir. L-arjininden sentezlenen NO endotel hücrelerinde vazokonstriksiyonu, trombotik aktiviteyi, damar düz kas hücre proliferasyonunu, enflamasyonu, intimal lezyon oluşumunu engelleyebilir (Maxwell ve Cooke 1998, Tapiero ve ark 2002). 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 (Tapiero ve ark 2002, Blum ve Cannon 2001). Hiperkolesterolemili tavşanlarda L-arjininin kronik uygulanımı endotel bağımlı vazodilatasyonu sağlamakta ve aterosklerotik plak oluşumunu önlemekte, endotelyal fonksiyonunu korumaktadır. Buna karşın NOS antagonistlerinin aynı hayvan modellerinde aterogenezi hızlandırdıkları belirlenmiştir (Maxwell ve Cooke 1998).

L-arjininin antioksidan aktivitesi de vardır. Hidrojen peroksid (H_2O_2) ve süperoksit anyonlarını (O_2^-) temizler (Nagase ve ark 1997). LDL'nin, aterogenez patogenezinde çok önemli olan okside LDL'nin oluşumunu engelleyebilmektedir. L-arjinin, okside-LDL oluşumunu inhibe ettiğini için antiaterojenik etkiye sahiptir (Vergnani ve ark 2000).

Sonuç olarak, L-arjinin kalp damar sistemi ile ilgili olarak kardiyovasküler hastalıklarda, ateroskleroz, hipertansiyon, hiperlipidemi, anjina pektoris, konjestif kalp yetmezliği ve pulmoner hipertansiyonda yarar sağlayabilir (Maxwell ve Cooke 1998, Cooke 2003).

L-arjininin immun sistem üzerine de birçok olumlu etkisi vardır. *İn vivo* ve *in vitro* immunomodülatör aktiviteye sahip olan L-arjinininin metabolizması makrofajlar ve T lenfositler için çok önemlidir. L-arjinin periferal kanda lenfosit mitogenezini arttırır, sitotoksik T hücrelerini (T_c,CD_8) azaltır. Böylece yardımcı T hücreleri (T_h, CD_4)/sitotoksik T hücreleri oranı artar. Mikroorganizmalara ve tümör hücrelerine karşı makrofaj aktivitesini arttırır (Carcillo 2003, Tapiero ve ark 2002).

L-arjinin, immunomodülatör etkiye sahip tuftsinin yapısına da katılmaktadır (Cillari ve ark 1994).

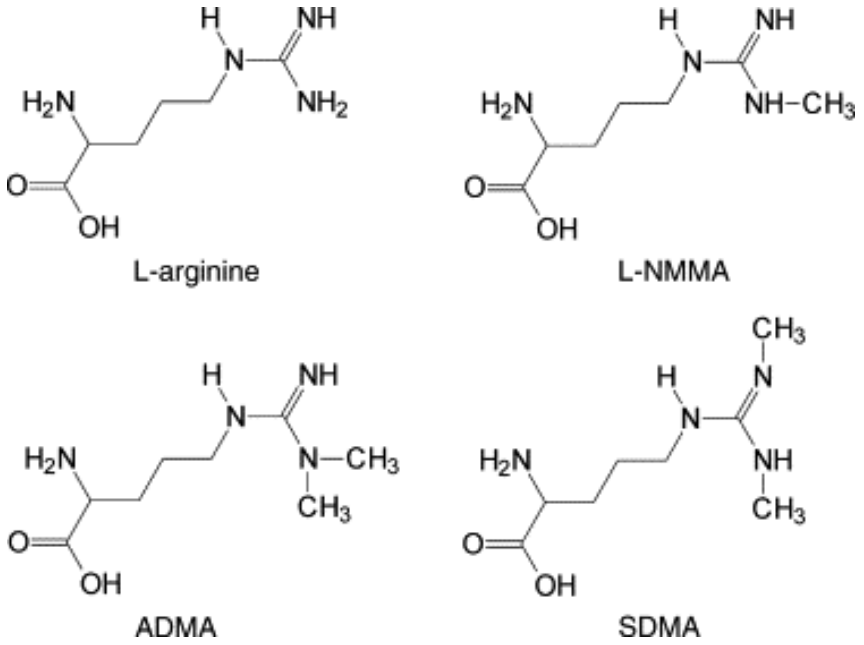
Kanser tedavisinde özellikle de meme kanserinin tedavisinde olumlu etkilerine işaret edilmiştir. Yanıklar, travma, kanser, HIV ve cerrahi girişimler enfeksiyon riskinin arttığı durumlardır. Bu durumlarda arjinin suplementasyonu yarar sağlayabilir. Sepsis durumlarında da arjinin takviyesi çok büyük önem taşıyabilir; çünkü makrofajlar enfeksiyonla NO salınımı ve peroksinitrit radikallerinin oluşumu üzerinden savaşırlar. Klinik araştırrmalar arjinin, ya da arjinin ile birlikte glutamininin farmakolojik dozlarının, cerrahi girişim geçirmiş veya ağır bir fiziksel hasara uğramış olgularda immun işlevleri düzelttiğini ve hastanede yatış süresinin kısalttığını ortaya koymuştur (Field ve ark 2000).

Arjininin ürogenital sistem üzerindeki etkileri çok fazladır. Hem erkek hem de kadınlarda seksüel fonksiyonda etkilidir. Kadınlarda NO üzerinden klitoral ve vaginal kan akımını arttırarak orgazmı kolaylaştırır. Erkeklerde de genital bölgede kan akımını arttırrmakta, ereksiyon ve libido artışına sebep olmaktadır. *İn vivo* ve *in vitro* çalışmalar arjinin/NO yolağının aktivasyonundan sonra penil ereksiyon oluştuğunu kanıtlamıştır. Erektil disfonksiyonu olan hastalarda arjinin suplementasyonu seksüel işlevlerde düzelmeye neden olmuştur (Chen ve ark 1999). Seminal sıvı arjininden zengin bir sıvı olup L-arjinin sperm oluşumunu ve sperm motilitesini arttırır. Erkek infertilitesinde, erektil disfonksiyon ve oligospermi tedavisinde L-arjinin umut vericidir (Chen ve ark 1999, Schachter ve ark 1973).

Akut böbrek yetmezliğinde (ABY) arjinin kullanımı son zamanlarda ilgilenilen çalışma alanlarındandır. İskemi reperfüzyon hasarına bağlı ABY de, renal vasküler dilatasyon sağlayan, renal hücre apopitozunu önleyen ve oksidatif strese karşı koruyucu olan endotelyal NOS aktivitesi azaldığı ileri sürülmektedir. Rat modellerinde ekzojen L-arjinin uygulanımının doku arjinin düzeylerini arttırdığı, iskemik ABY'de artan süperoksid radikal üretiminin baskılandığı gösterilmiştir (Chan 2004).

1.3.2. Metil Arjininler

Hastalıkların tanısında kullanabilmek amacıyla birçok molekül üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Bu moleküllerden bir tanesinin bile tanı amacıyla kullanılabilmesi, klinisyenler açısından hastalığın tanısının konulmasında oldukça önemlidir. Protein arjinin metil transferaz (PRMT) enzimi tarafından arjinin rezidülerinin metillenmesiyle sentezlenir. Bu metil arjininler arasında asimetrik dimetilarjinin (ADMA), simetrik dimetilarjinin (SDMA) ve N-monometil L-arjinin (L-NMMA) bulunmaktadır (Şekil 1.7).



Şekil 1.7: L-arjinin ve metil arjininlerin kimyasal yapıları (Martens-Lobenhoffer ve Bode-Böger 2007).

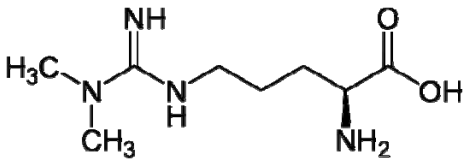
1.3.3. Asimetrik Dimetilarjinin

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA) önemi giderek artan ve klinik tanıda kullanabilmek amacıyla üzerinde çalışmaların yoğun olarak devam eden bir moleküldür.

Asimetrik dimetilarjinin, asimetrik metillenen proteinin ürünüdür. Enzimle proteinlerdeki arjininlerin metillenmesi suretiyle oluşurlar. İnsan kan ve idrarında bulunan endojen bir moleküldür (Moncada ve ark 1989). İnsanlarda ADMA

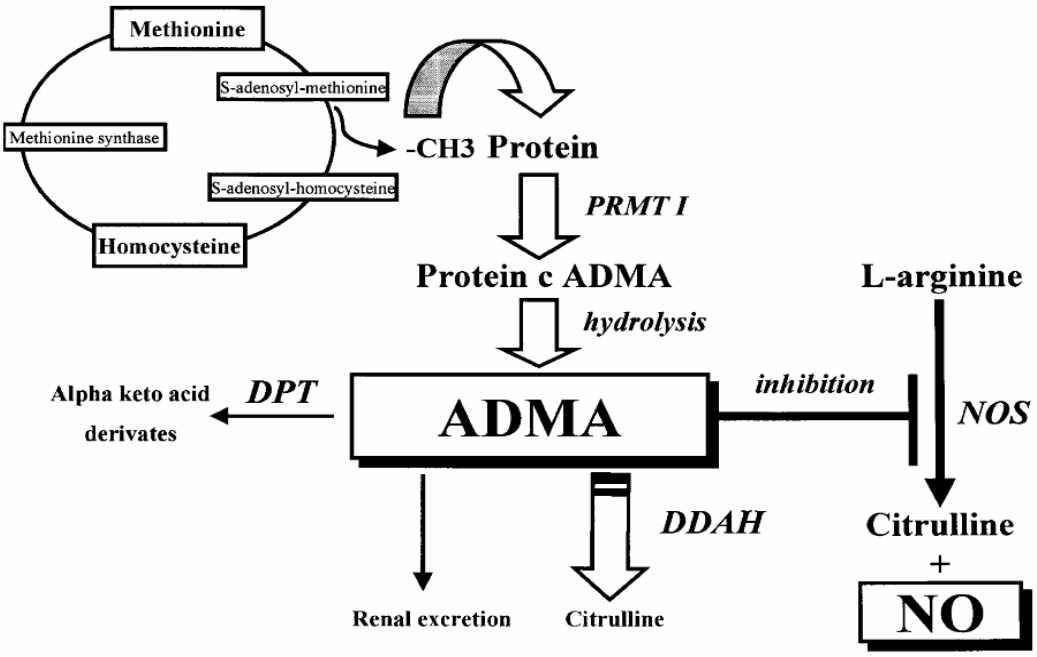
yüksekliği, ilk kez böbrek yetmezliği olan bireylerde saptanmıştır (üremik toksin). Bugün, pek çok hastalık durumunda ADMA düzeyi yüksekliği bilinmektedir.

1992 yılında Vallance ve arkadaşları ADMA'yı ilk olarak insan plazma ve idrarında NOS'un endojen inhibitörü olarak tanımlamışlardır (Şekil 1.8) (Böger ve Ron 2005).



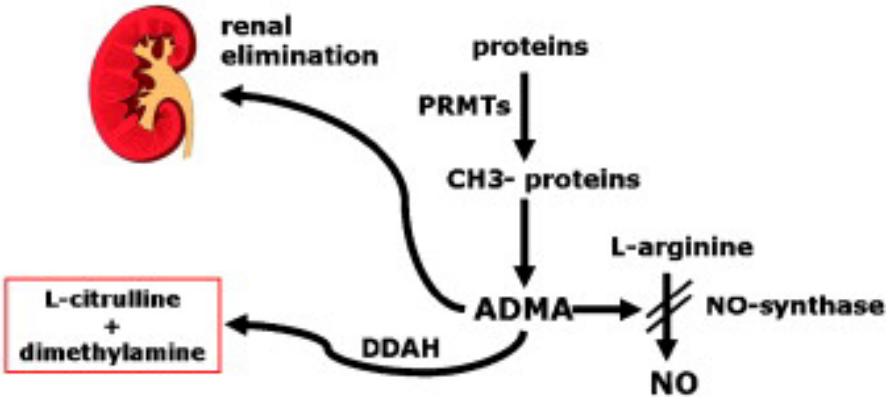
Şekil 1.8: Asimetrik dimetilarjinin (ADMA)'in kimyasal yapısı (Erişim Tarihi: 21 Aralık 2012 http://upload.wikimedia.org).

Asimetrik dimetilarjinin kadar güçlü olan L-NMMA'nın plazmadaki konsantrasyonları ADMA'dan 10 kat daha düşüktür. Simetrik dimetilarjinin'nin plazmadaki konsantrasyonları ADMA kadar olsa da, NOS üzerinde herhangi bir etkisi yoktur. Asimetrik dimetilarjinin, SDMA ve L-NMMA'nın üçü de PRMT enzimleri tarafından sentezlenir. Bu enzim sistemi, S-adenozilmetiyoninden (SAM) bir metil grubunu S-adenozilhomosistein (SAH) oluşturmak üzere arjinine transfer eder. Daha sonra da homosisteine tekrar hidrolize olur (Şekil 1.9)



Şekil 1.9: Asimetrik dimetilarjinin (ADMA) oluşumunda metionin/homosistein yolu ve ADMA metabolizması (Kielstein ve ark 2001).

Protein arjinin metil transferaz enziminin 2 tipi tanımlanmıştır. PRMT-1 (protein arjinin metil transferaz-1) histon ve RNA binding proteini metillerken ADMA ve L-NMMA oluşturur, oysa PRMT-2 (protein arjinin metiltransferaz-2) sadece miyelin bazlı proteini metiller ve SDMA ve L-NMMA oluşturur. Şekil 1.10.'da da görüldüğü gibi ADMA ve L-NMMA, DDAH (dimetil aminohidrolaz) ile sitrülin ve dimetilamin ya da monometilamine indirgenir. DDAH'ın 2 formu vardır. DDAH-1 çoğunlukla nNOS içeren dokularda, DDAH-2 ise eNOS ya da iNOS içeren dokularda bulunur. Farmakolojik olarak DDAH'ın inhibisyonu ADMA'yı artırırken, NO üretimini azaltır. DDAH, endotel hücreleri, beyin, pankreas gibi birçok organda bulunurken, ADMA metabolizmasından sorumlu başlıca organlar karaciğer ve böbreklerdir (Tsikas ve ark 2000).



Şekil 1.10: ADMA metabolizması (Krzyzanowskaa ve ark 2008).

Asimetrik dimetilarjinin'in endotel disfonksiyonu için yeni bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmektedir. Asimetrik dimetilarjinin, NOS'un kompetitif inhibitörüdür. Plazma ADMA düzeylerinin ateroskleroz, konjestif kalp yetmezliği v.b birçok kardiyovasküler rahatsızlıklarda yükseldiği tespit edilmiştir (Holven ve ark 2003).

Artmış ADMA konsantrasyonları hiperkolesterolemi, hiperhomosisteinemi, diabet, periferal arteriyal okluzif hastalık, hipertansiyon, koroner arter hastalığı, kronik kalp yetmezliği, preeklampsi, erektil disfonksiyon ve diğer klinik durumlarla ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Böger ve Ron 2005). Kronik obstrüktif akciğer hastalıklı hastalarda kronik hipoksi ve bronş konstrüksiyonuna bağlı olarak serum ADMA seviyelerin yükseldiği gösterilmiştir (Erdem ve ark 2008). Normotansif obez hastalarda da ADMA seviyelerin sağlıklı bireylerden yüksek olduğu rapor edilmiştir (Koç ve ark 2010).

Antioksidanlar, ADMA yıkılımını hızlandırmaktadır. Medikal tedavide ADMA'yı azaltan ajanlar olarak; L-Arjinin, folik asit, vitamin B6 ve B12 kullanılmaktadır. Ayrıca oksidan stresi azaltan egzersiz gibi diğer durumların da ADMA'yı azalttığı düşünülmektedir (Celermajer 1997). Hiperhomosisteinemide de ADMA yükselmektedir. Bunun yanı sıra hiperhomosisteinemi tedavisi için verilen folik asidin ADMA'nın da plazma düzeylerinin azalmasını sağladığı rapor edilmiştir (Holven ve ark 2003).

Genel olarak kardiyovasküler risk faktörü, diabetes mellitus, periferik damar hastalıkları gibi konularda yoğun olmak üzere alkolik siroz, pulmoner hipertansiyon, çeşitli tedavilerde (simvastatin, ACE-inhibitörleri, hormon replasman tedavisi, vitamin E), erektil disfonksiyon, preeklamsi ve multiple organ yetmezliklerinde ADMA ile ilgili bilimsel araştırmalar vardır. Ayrıca kronik obstrüktif akciğer hastalarında ADMA düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu rapor edilmiştir (Erdem 2006).

Vasküler endotelde gerçekleşen reaksiyonda ADMA, NOS aktivitesini inhibe etmesiyle L-Arjininin hücre içine alınımı engellenmiş olur. Güçlü vazodilatatör etkisi olan nitrik oksit (NO); platelet agregasyonu, lökosit migrasyonu, hücresel adezyon ve vasküler düz kas proliferasyonunu inhibe eden bir moleküldür (Jiang ve ark 2004, Sela 2005). NO'nun vasküler homeostazın sağlanmasında önemli fonksiyonu vardır. Ortamda NO azaldığında, endotel homeostaz vazokonstrüksiyon lehine bozulur ve endotelyal disfonksiyon başlar (Endemann ve Schiffrin 2004).

Asimetrik dimetilarjinin'in diyabet, koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği, hipertansiyon, hiperkolesterolemi ve hiperhomosisteinemi gibi durumlarda serum seviyelerinde artış meydana gelmektedir (Çakir ve ark 2004).

İnsulin bağımlı, bağımsız ve gestasyonel diabette ADMA'nın arttığı bilinmektedir. Lin ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, Diabetes Mellitus (DM)'da 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 akümülasyonu 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).

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

Hemodiyaliz tedavisi gören hastalarda endotel disfonksiyonu ve serum ADMA seviyeleri arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir (Ito ve ark 1999). Endotelyal disfonksiyonu ya fiziksel travma veya daha hafif hücresel zedelenme olarak bilinir ve aterogenezisi başlatan temel olaydır. NOS inhibisyonu endotel disfonksiyonuna yol açarak, koroner spazma, miyokard infarktüsüne, hipertansiyona neden olur. Endotelyal disfonksiyonu NO'nun lokal olarak azlığına eşlik edebilir. Bu, endotelde NO üretiminin azalmasıyla veya süperoksit anyonlarının aşırı üretimiyle alakalı olabilir. NO lokal bir vazodilatördür ve aynı zamanda trombosit adezyonunu, agregasyonunu, düz kas hücre çoğalmasını ve endotel ile lökosit etkileşimlerini baskıladığından, ADMA aracılığıyla baskılanmış veya azalmış NO aktivitesi aterosklerozun başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunabilir (Ito ve ark 1999). Yapılan çalısmalarda, ADMA seviyeleri gelişebilecek olan kardiyovasküler hastalık ve mortalitenin habercisi olarak görülmektedir (Böger ve ark 1998).

Periferal arteriyel hastalık ve kronik hiperhomosisteinemili hastalarda endotel disfonksiyonunda ADMA'nın potansiyel rolünün araştırıldığı bir çalışmada; 76 hasta üzerinde plazma total homosistein, ADMA, total kolesterol, DM, sigara, sistolik kan basıncı arasındaki ilişki bulunmuştur. Ayrıca Akım Bağımlı Dilatasyon (yüksek rezolüsyonlu radial arter ultrasonu) ile regresyonu yapıldığında anlamlı ilişki bulunmuştur. Anjiotensin Converting Enzim (ACE) inhibitörleri ve anjiotensin I (AT1) reseptör blokörlerinin ADMA ve Arg/ADMA oranını azalttığı gösterilmiştir (Sydow ve ark 2004).

Obesite, sigara gibi ciddi kardiyovasküler hastalık risk faktörleri ile plazma ADMA düzeyleri arasında ilişki gösterilmiştir. Gastroplastik cerrahi sonrası morbid obezlerde yapılan bir çalışmada, kilo vermeden önce ve kontrollere göre plazma ADMA düzeyleri arasında kuvvetli ilişki gösterilmiştir (Kryzuzanowska ve ark 2004). Yüksek karbonhidratlı diyet ve alkol alan gruba göre plazma ADMA düzeyleri düşük bulunmuştur (Paiva ve ark 2004).

Eid ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; obesite, sigara ve ADMA ilişkisi incelenmiştir. Yaş ortalaması 70 olan 563 yüksek riskli hastanın, ADMA düzeyi ve L-Arjinin/ADMA oranı arasında ciddi metabolik risk faktörleriyle korelasyonunun yüksek çıktığı gösterilmiştir (Eid ve ark 2004). Dolaşımdaki metilarjininlerin artışı

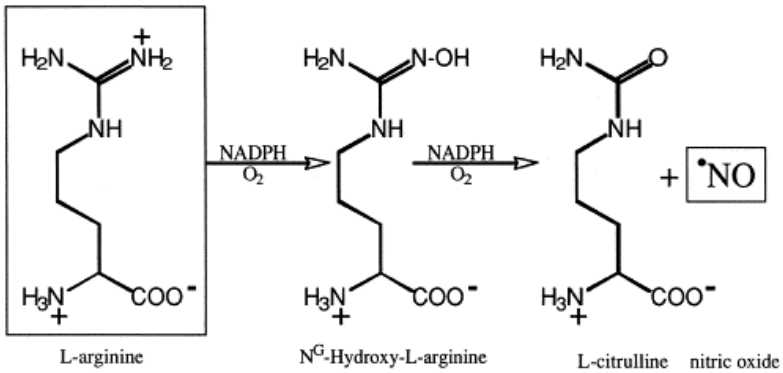
ile insülin direncinde protein turnover artması arasında ilişki olabileceğine dair hipotezle obez ve yaşlılarda bu etkinin şiddetlendiğini düşünen araştırmacılar; dolaşımda ADMA, SDMA ve NMMA'nın obez ve yaşlılarda artışını göstermişlerdir (Marliss ve ark 2005).

1.3.4. Nitrik Oksit

Renksiz ve son derece toksik bir gaz olan nitrik oksit (NO) serbest radikal yapısında olmasından dolayı yarı ömrü çok kısadır. NO lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir ve suda erir (Moncada ve ark 1989, Grisham ve M.B. 1997). Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen NO, bilinen en düşük molekül ağırlıklı, reaktif (biyoaktif) memeli hücresi sekresyon ürünüdür (Sidney ve ark 2004). Düşük konsantrasyonlarda iken NO toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevlerin gerçekleşmesinde rol alır.

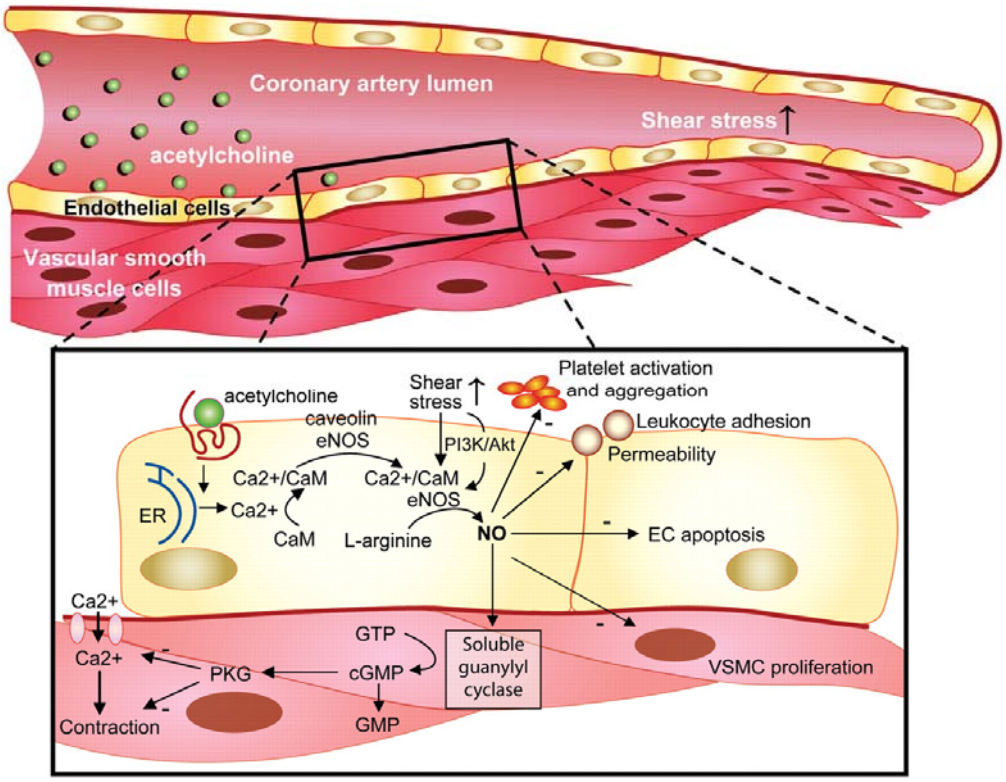
Nitrik oksitin biyosentezi

Nitrik oksitin sentezi için kullanılan öncül biyomolekül arjinin aminoasitidir. Memelilerde arjinin ihtiyaca bağlı olarak yarı esansiyel bir aminoasittir (Moncada ve Higgs 1993). NO, L-arjininden sentez edilerek endotelden salınan, suda çözünebilen, çesitli renal ve ekstrarenal etkileri bulunan, vasküler düz kas tonusunu azaltarak vazodilatasyona yol açan ve yarı ömrü birkaç saniye olan bir moleküldür. NO, membranları kolayca geçebilme özelliği olan, oldukça lipofilik bir moleküldür. NO sentezleyen enzimlerin (NOS) katalize ettiği reaksiyonlar sonucunda L-arjinin, L-sitrullin ve NO'ya dönüsür**.** Tepkimenin ilk basamağında N-Hidroksi Arjinin (N-OH-Arjinin) oluşur. Bu ara ürün oldukça stabildir. Enzime sıkı bağlı olan ara ürün ikinci aşamada sitrüllin ve nitrik oksite çevrilir (Şekil 1.11) (Özkan ve Dweik 2001, Kılınç ve Kılınç 2003).



Şekil 1.11: Nitrik oksitin sentezi (Giulivi 2003).

Bütün memeliler dahil olmak üzere çok çesitli canlı türlerinde arjininden NO sentezlemekte ve çeşitli fizyolojik etkiler göstermektedir (Şekil 1.12) (Marletta 1993).



Şekil 1.12: Asetil kolin reseptörleri veya reseptörsüz, kalsiyum bağımlı veya kalsiyumdan bağımsız yollar ile kan akımının oluşturduğu gerilim stresi ile endotelyal NO sentazın stimülasyonu sonucu NO üretiminin gösterimi (Herrmann ve ark 2010).

Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri

Nitrik oksit sentezini katalizleyen NOS enzimlerinin konstitütif (cNOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak üzere iki temel izoformu bulunur. Konstitütif enzimin ayrıca iki izoformu vardır. Bunlardan biri endotelyal NOS (eNOS) olup, membranda

bulunan bir enzimdir ve endotel kaynaklı gevşeme faktörünün sentezinden sorumludur. Konstitütif enziminin ikinci formu ise merkezi sinir sistemi ve nöronlarda haberci molekül olarak kullanılan NO'nun üretiminden sorumlu olup, nöronal NOS (nNOS) olarak adlandırılır (Şekil 10).

Konstitütif enzimlerin aktiviteleri mutlak olarak Ca^{+2}/kalmodülin bağımlıdır. Aktiviteleri düşük olup kısa süreli NOS enzimini katalizlerler. Enzimlerin aktiviteleri glikokortikoidlerden etkilenmez. Endotelyal tipi mast hücreleri, plateletler, pankreasın beta adacıklarında, vasküler düz kas hücrelerinde bulunur. Nöronal tipi, sinir sistemi, adrenal bez (medulla ve korteks) ve astrositlerde bulunur. NOS enziminin indüklenebilir olan izoformu (iNOS) ise alt birim olarak kalmodüline ihtiyaç duyar. Aktivitesi için hücre içi kalsiyuma bağımlı değildir. iNOS sitoplazmik bir enzimdir. Uzun süreli NO sentezini katalizlerler. Enzim aktivitesi yüksektir. Bu izoform ilk olarak makrofajlardan saflaştırılmıştır. iNOS enziminin sentezini lipopolisakkaritler gibi çeşitli bakteriyel ürünler ile inflamatuvar sitokinler (interferon gama, IL_1, IL_2, TNF-α gibi) indüklerler. iNOS sadece fagositik lökositlere özgü olmayıp, uygun indüksiyon sağlandığında bütün çekirdekli hücreler bu enzimi sentezleme yeteneğine sahiptir (Marletta 1993).

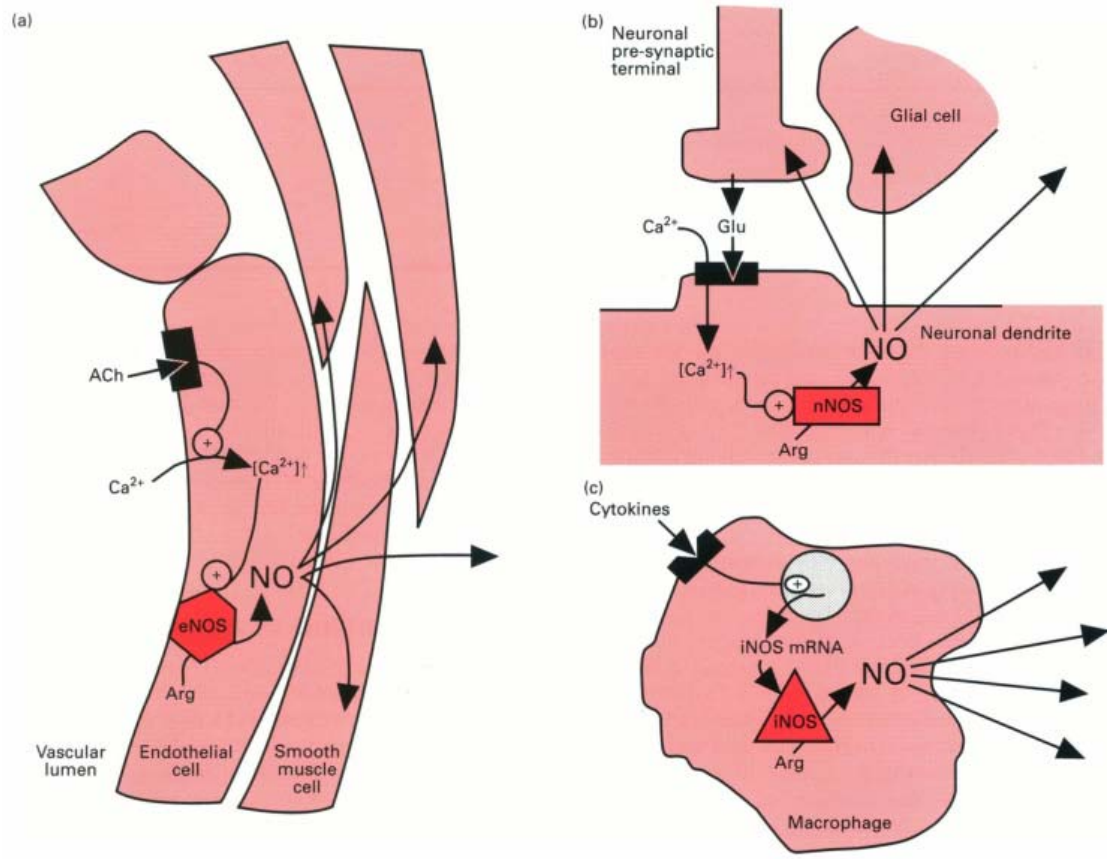
Nitrik oksit sentaz enzimi iki sekilde uyarılmaktadır;

1. *Yapısal tipe spesifik olarak:* Asetilkolin gibi bir haberci, endotel hücresi üzerindeki reseptörüne bağlanır bundan sonra impulsla Ca^{+2} iyon kanalları açılarak, hücre içi Ca^{+2} düzeyi yükselir. Ardından Ca^{+2}'un kalmoduline bağlanmasıyla oluşan kompleks, yapısal bir enzim olan eNOS'u uyarır. Arjininden NO ile sitrüllin oluşur. Oluşan NO, endotelden düz kas hücrelerine geçer. Düz kas hücrelerinin sitozolündeki guanilat siklaz'ın hem grubundaki demir atomuna bağlanarak onu aktifleştirir. Böylece GTP'den cGMP oluşumunun artmasına neden olur. Artan cGMP ise düz kasların gevşemesine ve sonuçta damarlarda vazodilatasyona neden olur (Şekil 10a).

Ayrıca diğer bir yapısal enzim olan nNOS da aynı mekanizma ile uyarılmaktadır (Şekil 10b).

2. *Uyarılabilir tipe spesifik olarak:* Burada lipopolisakkaritler ve sitokinler gibi ajanların Ca^{+2}'ye bağımlı olmayan NOS'u indüklemeleri söz konusudur. İlgili hücrede önceden NOS yoktur veya çok azdır. Uyarıcılar tarafından transkripsiyonel olarak mRNA üzerinden enzim eksprese edilir ve NOS ile NO sentezlenir. Bu sistem

özellikle makrofajlarda görülür, bu tip enzim indüklenebilir NOS (iNOS) olarak adlandırılır (Şekil 1.13).



Şekil 1.13: NOS izoenzimlerince NO sentezi (Knowles ve Moncada 1994).
a) Asetil kolin (ACh) tarafından vasküler endotel hücrelerin stimülasyonu ile eNOS tarafından NO sentezi.
b) Nöronal dentritin Glutamat tarafından stimülasyonu ile nNOS tarafından NO sentezi.
c) Bir makrofajın sitokinlerle ve sentezlenen iNOS mRNA ile indüksiyonu sonucu iNOS tarafından NO sentezi.

Nitrik oksitin fonksiyonları:

1. Trombositlerin agregasyonunu, adezyonunu ve aktivasyonunu inhibe etmesinin yanı sıra, pıhtı oluşumunun erken fazının düzenlenmesinde görev almaktadır (Herce-Pagliai ve ark 1998),

2. Vasküler ya da vasküler olmayan düz kasların gevşemesini sağlar. Böylece sistemik kan basıncının ve dolaşımın düzenlenmesinde rol oynar (Wink ve Mitchell 1998),

3. Peroksit radikali ($ROO^{\cdot}$)'ni yakalayabilmesi nedeniyle güçlü bir lipit peroksidasyonu inhibitörüdür (Halliwell ve ark 1999),

4. Lökositlerin endotel hücrelerine adezyonunu ve migrasyonunu önler. Lenfosit aktivasyonunu indirgeyerek, kronik ve akut inflamatuvar reaksiyonları düzenler (Garcia ve Stein 2006),

şeklinde sayılabilir.

ADMA ve NO arasındaki ilişki

NO sentezini gerçekleştiren NOS, endojen metilarjininler tarafından inhibe edilebilir. Asimetrik dimetilarjinin, endojen NOS inhibitörlerinin en önemlisi olarak görünmektedir. Günümüzde NO'nun azalması sonucunda ortaya çıkan endotelyal disfonksiyonun (ED), aterosklerotik vasküler hastalık sürecinde merkezi bir rol oynadığı yaygın kabul görmektedir. L-arjinin/NO yolağındaki yetersizlik, ateroskleroz ile ilişkili kardiyovasküler hastalıkların bağımsız olarak ortaya çıktığını gösterebilir (Cooke 2000, Suwaidi ve ark 2000).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.1. Hastaların Belirlenmesi

Araştırmanın evreni, Konya-Karaman bölgesindeki diyaliz hastalarıdır. Karaman ilinde çalışmayı kabul eden hastaların tamamı araştırmaya dâhil edilmiştir. Kontrol grubu ise Meram Tıp Fakültesine başvurmuş, bilinen bir hastalığı olmayan bu çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllü kişilerden oluşturuldu. Bu araştırma Selçuk Üniversitesi İnsan Etik Kurulu onayı (2006/095) alınarak gerçekleştirildi.

Bu merkezlerin klinik sorumlularıyla görüşülerek bilgileri doğrultusunda görüşme izni alınan ve çalışmayı kabul eden hastalar araştırmaya dahil edildi. Hastalar, araştırma konusunda bilgilendirildi. Kabul etmeyen hastalar araştırmanın dışında tutuldu. Araştırma izni alınan merkezlerde diyaliz tedavi programındaki hastaların kabul kriterleri şu şekilde düzenlendi;

- On sekiz yaşından büyük olan,
- En az üç aydan uzun süreli diyaliz tedavi programında olan,
- Araştırmayı kabul eden,
- İletişim kurulabilen,
- Soruların tamamını yanıtlayabilecek yeterlilikte olan ve
- Bilişsel işlevleri normal olan, iletişim ve işitsel sorunu bulunmayan kişiler çalışmaya dahil edildi.

2.1.2. Numunelerin Toplanması

Hastalar, diyaliz tedavisi öncesinde venöz kan seti ponksiyonunu takiben, yatar pozisyonunda iki ayrı jelli düz tüpe üre, kreatinin, albumin, arjinin, NO, ADMA ölçümleri için kan örnekleri alındı.

Hasta ve kontrol gruplarından alınan kan numuneleri jelli düz tüplere alınarak soğuk zincir ilkelerine uyularak bekletilmeden laboratuvara ulaştırıldı. Soğutmalı santrifüjde, 2000x*g* devirde +4ºC'de 10 dakika santrifüj edildi. ADMA ve Arjinin çalışmaları için ayrılan serumlardan 2'şer mL, sülfosalisilik asit ile deproteinizasyon işlemi yapılarak ependorf tüplere aktarıldı. Çalışma gününe kadar -80ºC derin dondurucuda muhafaza edildi. Diğer parametreler için serum örnekleri yedekli olarak ependorf tüplere aktarılarak soğuk zincir kurallarına uygun şekilde Meram Tıp

Fakültesi, Biyokimya AD, araştırma laboratuvarında çalışıldı.

2.1.3. Kullanılan Reaktif ve Çözeltiler

1. Üre assay kiti (Calbiochem, DIUR-500, USA)
2. Nitrit-Nitrat Analiz Kiti (Cayman, 780001)
3. Kreatinin assay kiti (Bioassay, DICT-200, USA)
4. Albumin assay kiti (Bio-rad, 200-0206, Germany)
5. Arjinin Standart (Merck, 519- K 538944, Germany)
6. HCL (Merck, K 25039614-814, Germany)
7. Metanol (Merck, K 26301108-914, Germany)
8. Sodyum Asetat ($CH_3COONa(H_2O)_3$, Merck, 9023840A, Germany)
9. Tetrahidrofuran (Merck, K 34870914 529, Germany)
10. Sülfosalisilik Asit (Merck 53656684, Germany)
11. O-Fitaldialdehit (Merck S 30064448, Germany)
12. Borik Asit (Sigma, B 7660, Germany)
13. 2-Merkaptoetanol (Merck, 805740-1000, Germany)
14. Potasyum Hidroksit (Sigma, P5958, Germany)

2.1.4. Kullanılan Cihazlar

1. Soğutmalı santrifüj (Hettich Rotina 46R, Germany)
2. pH Metre (Henna, Germany)
3. Nuçe Erleni
4. Magnetik karıştırıcı, magnetik bar
5. Su trombu
6. Filtre (GP 0,22 micron, 25 mm diameter Z35, 990-4 Millex millipure)
7. Agilent 1100 serisi HPLC cihazı Floresans dedektörlü (USA)
8. Analitik Kolon; 250x4,6mm C18 Supelcosil 5µm kolon
9. Beckman Coulter LX20 otoanalizörü
10. Elisa Okuyucu LX 50A Automated Strip Reader

2.2.1. Albumin, Üre ve Kreatinin Düzeyleri Ölçümü

Spektrofotometrik yöntemle Beckman kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar gr/dL olarak hesaplandı. Ölçüm için Beckman Coulter LX20 otoanalizörü kullanıldı.

2.2.2. Nitrik Oksit Düzeyleri Ölçümü

Kanda nitrik oksit hızla okside olarak önce nitrit (NO_2^-) daha sonra da nitrata (NO_3^-) dönüştüğünden, nitrit-nitrat seviyelerine bakılarak değerlendirilir. Bu ölçümler için öncelikle Griess reaksiyonu ile deproteinizasyon yapılmalıdır. Nitrik oksit miktarı Cortas ve Wakid (1990) tarafından çalışılan Griess reaksiyonu ile belirlendi. Total nitrit (nitrit + nitrat) konsantrasyonu kolorimetrik kit yöntemi ile (Cayman Chemical Company, CM780001, USA) değerlendirildi. Otoanalizörde 490 nm'de ölçüldü. Sonuçlar µm/L olarak ifade edildi.

2.2.3. Arjinin ve ADMA Düzeyleri Ölçümünde HPLC'nin Kullanımı

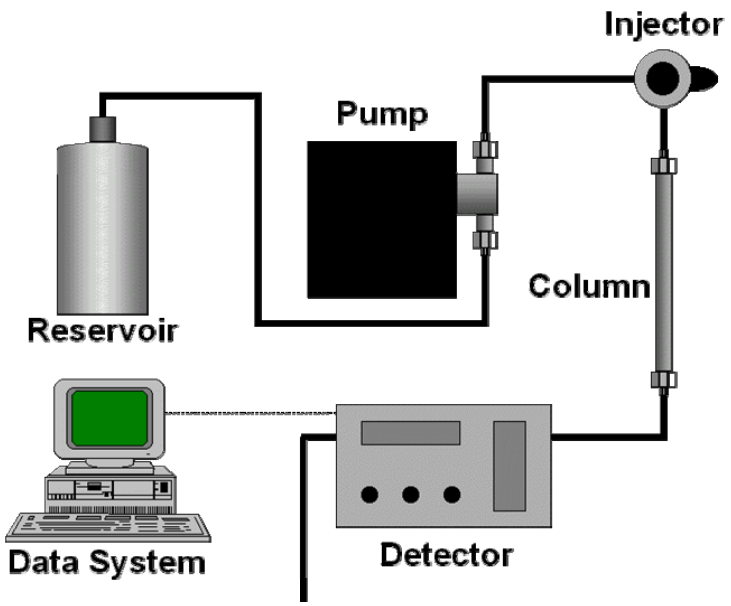
Çalışmamızda Agilent 1100 HPLC cihazı kullanıldı.

2.2.3.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi (HPLC) Yöntemi

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ayırma gücü ve duyarlılığı yüksek olan bir tekniktir.

HPLC, yüksek basınçlı bir pompa ile basınca dayanıklı bir sistemle mobil fazın kolonda bulunan sabit fazdan geçişi kolaylaşmakta ve böylece kısa sürede araştıralacak moleküller ayrabilmektedir. Mobil faz olarak kullanılan çözücü önce güçlü bir pompa yardımı ile tüm sistemden geçirilir. Daha sonra ayrılması istenen karışım, bir mikro enjektörle sisteme verilir. Mobil fazla sürüklenen maddeler kolona geçerler, sabit faz içeren kolonda maddelerin dağılımı, adsorbsiyonu, iyon değiştirme özelliklerine göre ayrılırlar. Kolonu bu şekilde terk eden maddeler uygun bir detektörle (UV absorbsiyonu, refraksiyon, floresans ölçen) kalitatif ve kantitatif değerlendirilebilir. Kaydedilen piklerle kromatogramlar hazırlanır.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz için gerekli şartlar sağlandı. Analiz yapılacak numunelerin ayrıştırılması için uygun kolon, hareketli faz ve akış hızının seçilmesi ayarlandı.



Şekil 2.1: HPLC sisteminin şematizasyonu (Erişim Tarihi 12 Kasım 2012 http://www.lcresources.com)

2.2.3.2. Mobil Faz solüsyonlarının Hazırlanması

820 mililitle (mL)'lik pH 6,8 olan sodyum asetat [CH_3COONa $(H_2O)_3$] tamponuna 170 mL metanol ilave edildi. Bu çözeltiye 10 mL tetrahidrofuran eklenerek 1 litre (L) mobil A fazı hazırlandı.

220 mL'lik pH'sı 6,8 olan sodyum asetat tamponu üzerine 770 mL metanol ilave edilmiş çözeltiye yine 10 mL tetrahidrofuran eklendi. 1L mobil B fazı hazırlandı.

2.2.3.3. Mobil Fazların Filtrasyonu ve Degaze Edilmesi

Su trombu ve nuçe erleni kullanılarak 0,45 mikron filtlereden geçirilen mobil fazların içeriğindeki çözünmüş gazların giderilmesi (degaze) işlemi tamamlandı.

2.2.3.4. Arjinin Standardının Hazırlanması

1 mM arjinin stok standart solüsyonundan 600 µM, 300 µM, 150 µM, 75 µM, 37,5 µM ve 18,75 µM olacak şekilde 0,1 M hidroklorik asit (HCl) ile farklı konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan standart çözeltilere derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak 10'ar µl enjekte edildi. Alınan pik alanlarıyla arjinin standart grafiği oluşturuldu.

2.2.3.5. ADMA Standardının Hazırlanması

0,5 mM ADMA stok standart solüsyonundan 0,1 M Hidroklorik Asit HCl ile farklı dilüsyonlarda sırasıyla 25 µM, 12,5 µM, 6,25 µM, 3,1 µM, 1,56 µM ve 0,78 µM olmak üzere standart çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan standartlar derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak HPLC cihaza enjekte edildi. Oluşan pik alanlarıyla ADMA standart grafiği elde edildi.

2.2.3.6. Numune hazırlanması

Derin dondurucuda muhafaza edilen serumlar deproteinizasyon için santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatan, 0,22 çaplı enjektör filtrelerden süzülerek sisteme verildi.

Analiz edilecek arjinin ve ADMA standardı enjekte edildi. Deney sonucunda meydana gelen pik kaydedildi. Standardın kolondan çıkış süresi belirlendi. Analizi yapılacak olan standardın düzeyleri kaydedildi. Numuneler İlk olarak gradient pompa ile gradient mobil fazları oluşturuldu.

2.2.3.7. Derivatizasyon işlemi ve standart grafiklerinin hazırlanması

Standart çözeltiler ve numuneler *o*-fitaldialdehid (OPA) kullanılarak derivatize edildi. Derivatizasyon için 10 mg OPA, 0,5 ml metanol ve 2 ml 0,4 M borat karışımında çözüldü. Solüsyonun pH'sı 10'a ayarlandı. Taze olarak hazırlanan bu derivatizasyon solüsyonuna 30 µL merkaptoetanol eklendi. Cihazdaki program ayarlanarak, 1.3 µL örnek süpernatantı ile 8.7 µL derivatizasyon solüsyonu ile karıştırılıp 3 dakika sonrasında cihaza uygulandı. Analiz süresinin sonunda elde edilen piklerin alanları ile standart grafikleri hazırlandı. Bu grafiklerden faydalanılarak örneklerin arjinin ve ADMA değerleri hesaplandı.

2.2.3.8. Pompa

Gradyent mobil faz kullanıldı. Mobil faz A ve B Çizelge 2.1'de gösterildiği gibi dakikada 1 ml olacak şekilde sisteme pompalandı (Teerlink ve ark. 2002).

Çizelge 2.1**:** Mobil fazların akış şeması (akış hızı; 1 mL/dakika)

Süre (Dakika)	A (%)	B (%)
0	87,45	12,55
4,98	81,85	18,15
13,28	59,3	40,7
23,24	31,1	68,9
26,56	11,1	88,9
28,22	11,1	88,9
29,00	87,45	12,55

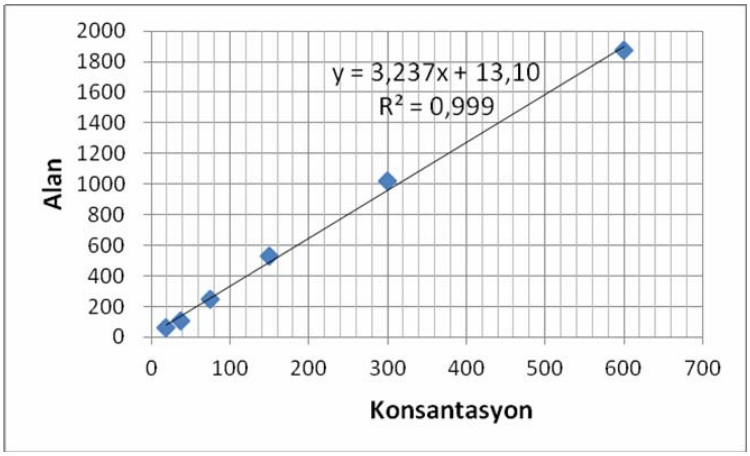
2.2.3.9. Analiz Safhası

Agilent 1100 serisi HPLC cihazında floresans dedektör, eksitasyon 338 nm ve emisyon 425 nm'ye ayarlandı. Kolon olarak, 250 x 4.6 mm C_{18} Supelcosil 5µm kolon kullanıldı (Chen ve ark. 1997). Toplam analiz süresi 29 dk. olacak şekilde ayarlandı.

2.2.3.9.1. Arjinin standart çalışmaları

Arjinin için retansiyon süresi 17,9 dakika olarak belirlenerek değerler standart grafiğinden bulunmuştur (Çizelge 2.1 ve Şekil 2.2).

Şekil 2.2: Arjinin standart grafiği



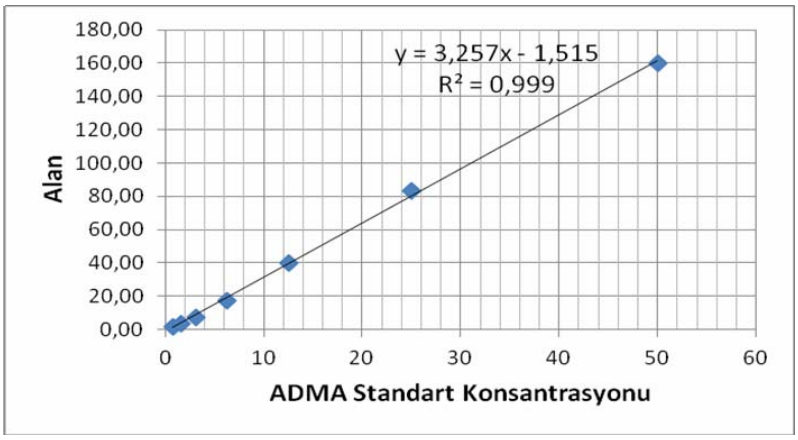
Çizelge 2.2: Arjinin konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar.

Konsantrasyon	**Alan**
18,75 µM	62,5
37,5 µM	107,15
75 µM	249,05
150 µM	529,5
300 µM	1017,85
600 µM	1871,15

2.2.3.9.2. ADMA standart çalışmaları

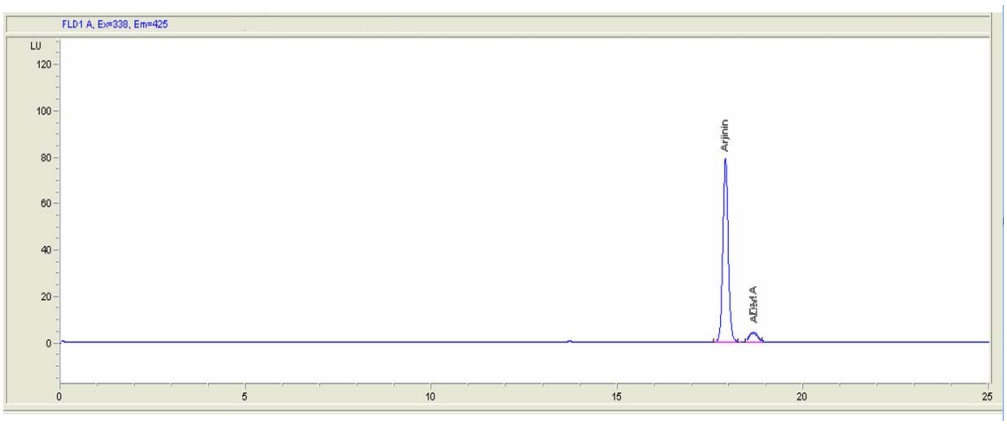
ADMA için retansiyon süresi 18,7 dakika olarak belirlenerek değerler standart grafiğinden bulunmuştur (Şekil 2.4, Çizelge 2.4 ve Şekil 2.2).

Şekil 2.3: ADMA standart grafiği.

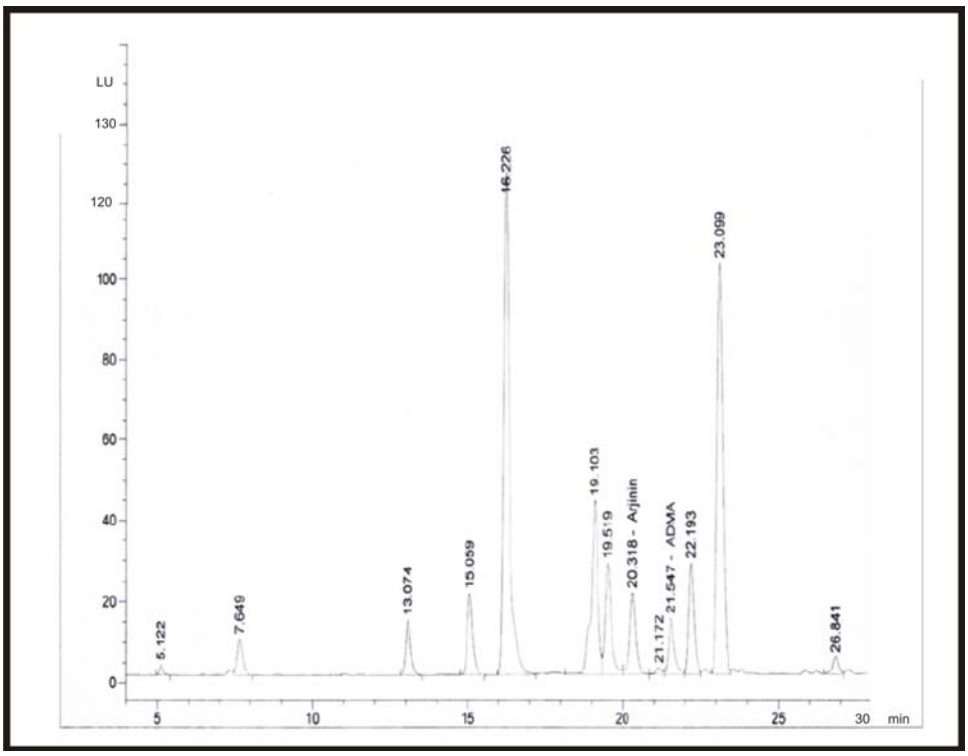


Çizelge 2.3: ADMA konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar.

Konsantrasyon (µM)	Alan
0,78 µM	1,67
1,56 µM	3,61
3,1 µM	7,40
6,25 µM	17,03
12,5 µM	39,69
25 µM	83,24
50 µM	159,85



Şekil 2.4: Arjinin ve ADMA için örnek standart kromatogramı



Şekil 2.5: Numune Arjinin ve ADMA için örnek kromatogramı

2.3. İstatistiksel Analizler

Elde edilen tüm veriler "SPSS 16.0 for Window's" paket programı kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı. Veriler normal dağılıma uymadığı için nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi kullanıldı. Parametrelerin ilişki analizinde Pearson korelasyon testleri kullanıldı. Anlamlılık seviyesi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Çalışma Grupları

Çalışmamıza 53 hemodiyaliz tedavisi gören kronik böbrek yetmezliği hastası ile görünürde sağlıklı ve bilinen herhangi bir kronik hastalığı bulunmayan 34 kişi kontrol grubu olarak alınmıştır. Hasta ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet, diyaliz süreleri ve diyaliz öncesi üre, kreatinin ve albumin değerleri çizelge 3.1'de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi hasta grubu ve kontrol grubu arasında üre, kreatinin ve albumin değerleri arasında anlamlı derecede fark vardı.

Çizelge 3.1: Tüm katılımcıların genel parametreleri.

Parametreler	Hasta	Kontrol	p
n (Erkek/Kadın)	53 (33/20)	34 (19/15)	
Yaş	56,04 ± 13,88	50,80 ± 17,41	AD
Üre (mg/dL)	101,65 ± 17,02	29,42 ± 6,00	p<0,05
Kreatinin (mg/dL)	8,76 ± 1,92	1,05 ± 0,12	p<0,05
Albumin (gr/dL)	3,72 ± 0,30	4,56 ± 0,52	p<0,05
Diyaliz süresi (ay)	40,09 ± 35,92	-	

AD: Anlamlı değil.

3.2. Arjinin, ADMA ve NO Sonuçlarının Analizleri

Çalışmamıza dahil edilen diyaliz hastalarının ve kontrol grubunun arjinin, nitrik oksit ve ADMA düzeyi sonuçları istatistiksel anlam yönünden kıyaslandı.

Arjinin düzeyi kontrol grubunda 399,25±193 µmol/L olarak bulunurken diyaliz hastalarında arjinin düzeyi 355,764±207,9 µmol/L bulundu. Diyaliz hastalarında arjinin düzeyi kontrol grubunda dşük bulumasına rağmen ardaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Ortalama ADMA düzeyi kontrol grubunda 2,7±1,4 µmol/L iken hasta grubunda 7,325±4,794 µmol/L bulundu. ADMA düzeyleri diyaliz hasta grubunda istatistiksel yönden anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,005).

Arjinin/ADMA oranı hasta grubunda 52,8±32,9olarak düşük bulunurken kontrol grubunda 148,4±85,3 yüksek bulundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,001).

Diyaliz hasta grubunda serum nitrik oksit düzey ortalaması 4,96±3,1 µmol/L iken kontrol grubunda 4,89±2,67 µmol/L olarak bulundu. Diyaliz hastalarında serum nitrik oksit düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulunmasına rağmen bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi (p>0,05).

Diyaliz hastalarının ve kontrol grubunun arjinin, NO ve ADMA düzeyi sonuçları çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

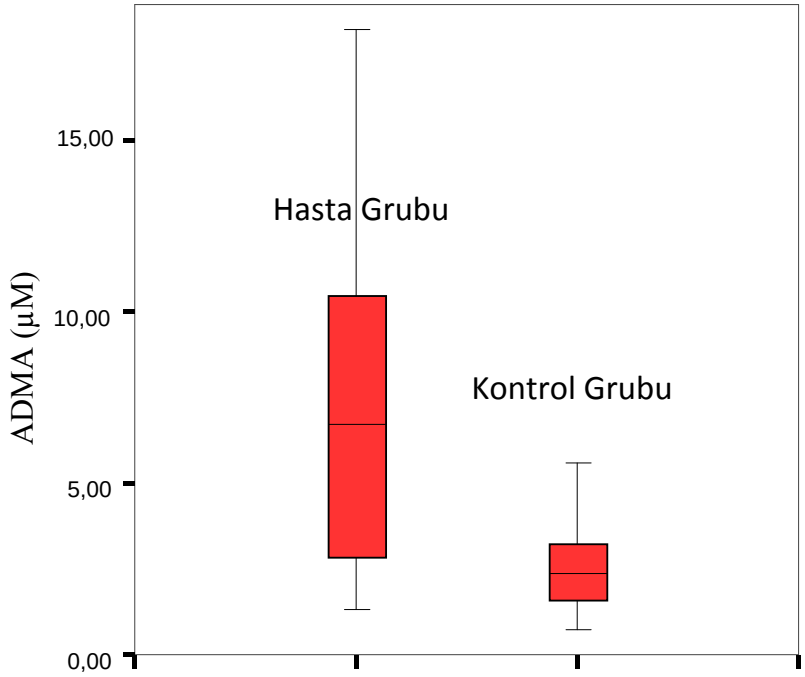
Çizelge 3.2: Hasta ve kontrol grubunda ADMA, Arjinin ve NO Düzeyleri

Parametreler	**Hasta**	**Kontrol**	**p**
n	53	34	
ADMA (µmol/L)	7,3 ± 4,8	2,7 ± 1,4	p<0,005
Arjinin (µmol/L)	355,8 ± 207,9	399,3 ± 193	AD
Arjinin/ADMA	52,8 ± 32,9	148,4 ± 85,3	p<0,001
NO (µmol/L))	4,89 ± 2,67	4,96 ± 3,10	AD

AD: Anlamlı değil.

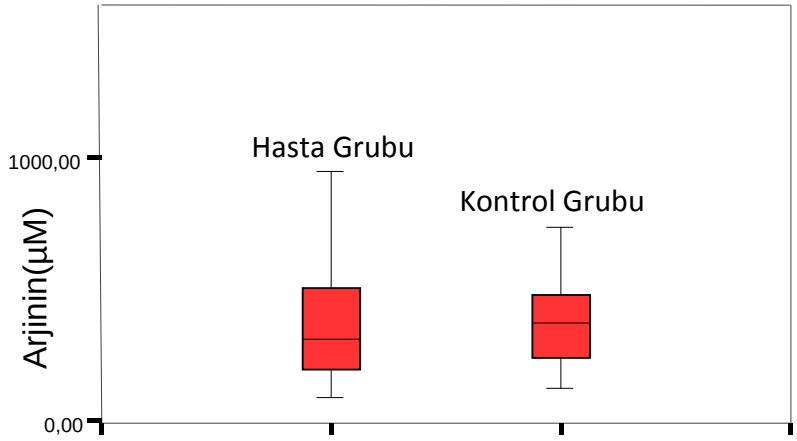
Çalışmaya katılan KBH hasta ve kontrol gruplarının ADMA düzeylerine ait grafik aşağıda gösterilmiştir (Grafik 3.1).

Grafik 3.1: KBH Hastaları ve Kontrol Grubu ADMA Grafiği



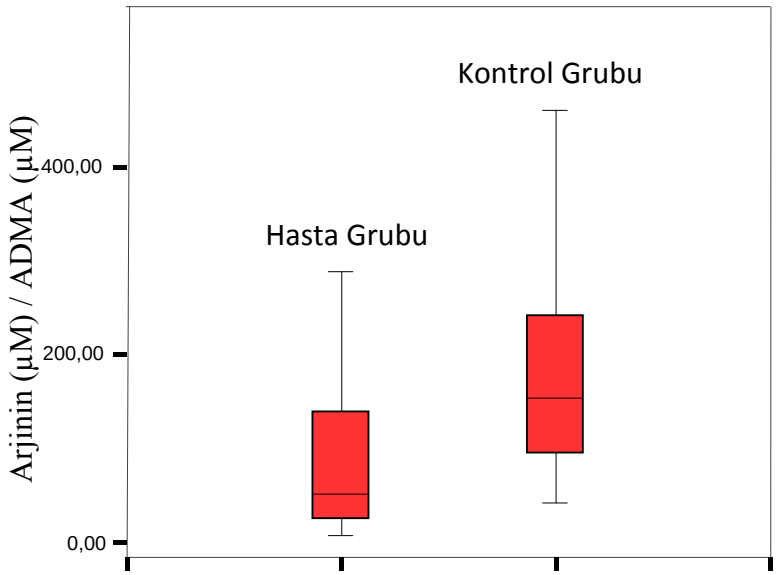
Çalışmaya katılan KBH hasta ve kontrol grupları Arjinin düzeylerine ait grafik aşağıda gösterilmiştir (Grafik 3.2)

Grafik 3.2: KBH Hastaları ve Kontrol Grubu Arjinin Grafiği



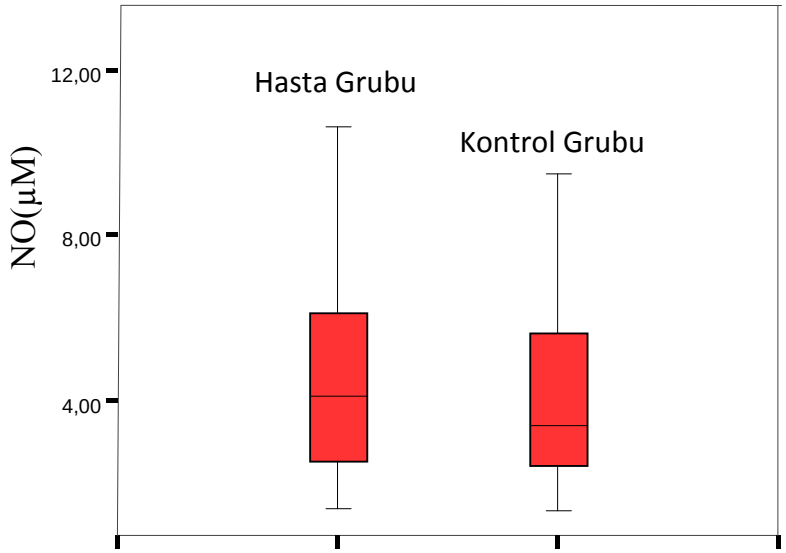
Çalışmaya katılan KBH hasta ve kontrol gruplarının Arjinin/ADMA oranı grafiği aşağıda gösterilmiştir (Grafik 3.3)

Grafik 3.3: KBH Hastaları ve Kontrol Grubu Arjinin/ADMA Grafiği



Çalışmaya katılan KBH hasta ve kontrol grupları NO düzeylerinin grafiği aşağıda gösterilmiştir (Grafik 3.4).

Grafik 3.4: KBH Hastaları ve Kontrol Grubu NO Grafiği



3.3. Diyaliz Hastalarının Genel Analizi

Çalışmaya dahil edilen 53 KBH hastasının 33'ü erkek ve 20'si bayandı. Sırasıyla yaş ortalamaları 56,67 ± 15,64 ve 55,00 ± 10,67 olarak hesaplandı.

Çizelge 8'de her iki cinsiyet arasında yaş, üre, kreatinin albumin, ADMA, NO düzeyleri ile diyaliz süresi (ay olarak) arasında istatistiksel fark yoktu ($p<0,05$).

Fakat her iki cinsiyet arasında kreatinin düzeyleri arasında istatistiksel yönden anlamlı farklılık bulundu ($p=0,035$).

Ayrıca yine her iki cinsiyet arasında arjinin düzeyleri cinsiyetler arasında karşılaştırıldığında, erkeklerde kadınlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,035$).

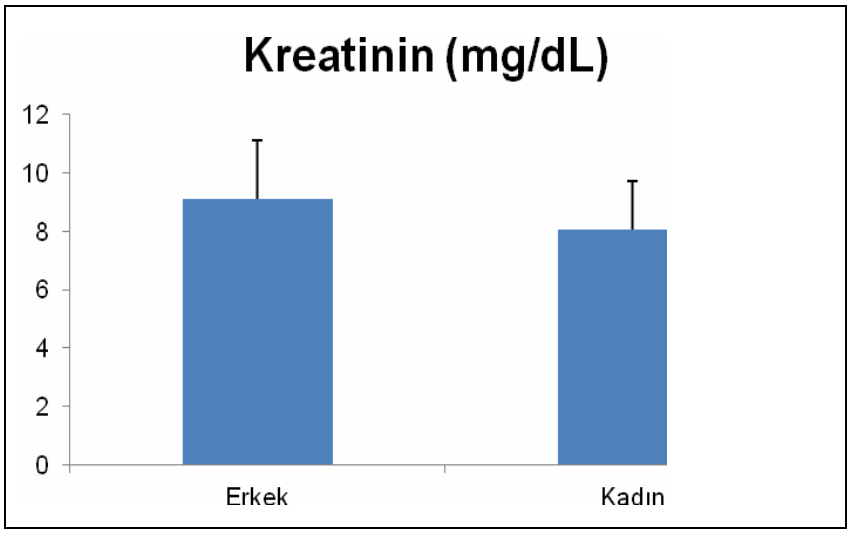
Çizelge 3.3: Diyaliz hastalarının genel analitik değerleri ve cinsiyet yönünden karşılaştırılması.

Parametreler	Hasta (Kadın+Erkek)	Erkek Hastalar	Kadın Hastalar	p
Sayı	53	33	20	
Yaş	56,04 ± 13,88	56,67 ± 15,64	55,00 ± 10,67	AD
Üre (mg/dL)	104,12 ± 17,44	108,39 ± 17,71	101,65 ± 17,02	AD
Kreatinin (mg/dL)	8,72 ± 1,99	9,11 ± 1,9 9	8,07 ± 1,65	P=0,035
Albumin (gr/dL)	3,72 ± 0,30	3,76 ± 0,32	3,66 ± 0,26	AD
Arjinin (µM)	355,76 ± 207,90	405,34 ± 223,03	273,96 ± 152,62	P=0,030
ADMA (µM)	7,33 ± 4,79	7,31 ± 4,93	7,36 ± 4,69	AD
NO (µM)	4,892 ± 2,67	4,98 ± 2,77	4,76 ± 2,56	AD
Diyaliz süresi (ay)	40,09 ± 35,92	43,73 ± 38,33	34,10 ± 31,55	AD

AD: Anlamlı değil.

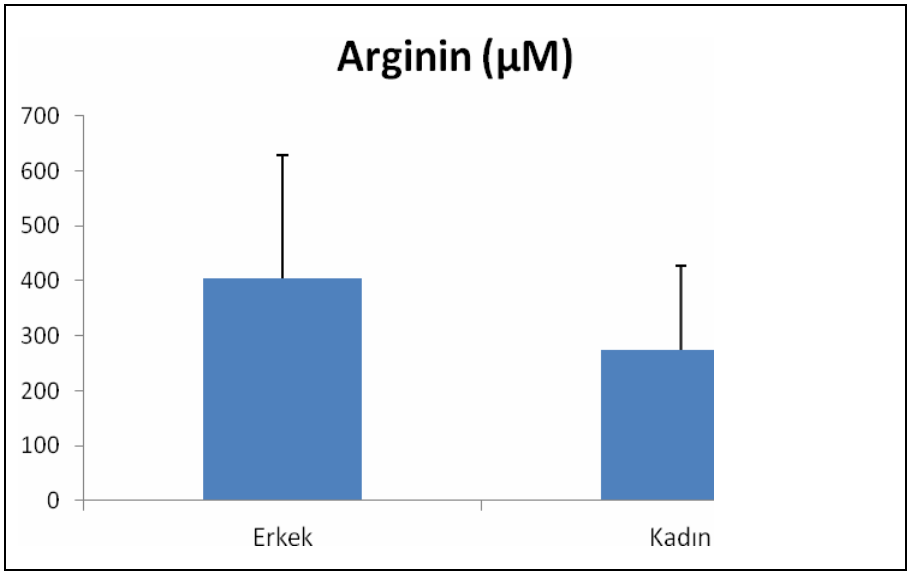
Diyaliz hastası erkek ve kadınların kreatin değerleri grafikte gösterilmiştir (Grafik 3.5).

Grafik 3.5: Diyaliz hastalarının cinsiyet yönünden kreatin düzeyleri



Erkek ve kadın hastalarının arjinin değerleri ise grafik 3.6'da gösterilmiştir.

Grafik 3.6 : Diyaliz hastalarının cinsiyet yönünden Arjinin düzeyleri grafiği.



3.4. Diyaliz Hastalarının Diyabet Yönünden Genel Analizi

Diyaliz hastaları, diyabetik ve non-diyabetik olarak gruplandırıldığında, yapılan istatistiksel değerler çizelge 9'da gösterilmiştir.

Diyaliz hastalarının diyabetik olup olmaması yönünden alt gruplara ayrıldığında diyabetik vakaların yaş ortalamaları 62,125 ± 9.818 bulundu.

Diyabetik olmayan diyaliz hastaların yaş ortalamaları ise 53.405 ± 14.652 olup, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.026).

Diyaliz hastalarının, diyabetik olan ve olmayan grupları karşılaştırıldığında; üre, kreatinin, arjinin, ADMA ve NO düzeyleri arasında istatistiksel yönden anlamlı fark yoktu.

Diyaliz hastalarının total albumin düzeyleri 3,72 ± 0,30 bulunmuştu. Diyabetik olan diyaliz hastalarının albumin düzeyleri 3,784 ± 0,286 iken, diyabetik olmayan diyaliz hastalarının albumin düzeyleri ise 3,581 ± 0,290 olarak ölçüldü. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlıydı (p=0,023).

Diyaliz hastalarının ortalama diyaliz programına girdiği süreler ay olarak değerlendirildiğinde 29,63 ± 29,96 olarak bulunmuştur. Diyabetik olmayan vakaların

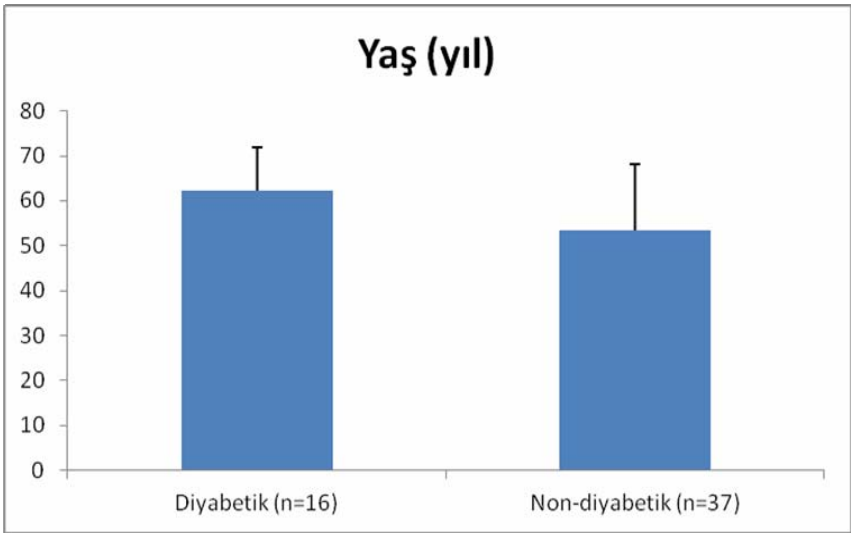
diyaliz programına alındığı süreler ise 44,62 ± 37,68 ay olarak bulunmuştur. Aradaki fark, istatistiksel yönden anlamlı idi (p=0.047).

Çizelge 3.4: Diyaliz hastalarının diyabetik olup olmamasına göre değerlendirmesi.

Parametreler	Diyabetik Vakalar	Nondiyabetik Vakalar	p
Sayı	16	37	
Yaş	62,125 ± 9,818	53,405 ± 14,652	p=0,026
Üre (mg/dL)	102,750 ± 18,578	107,189 ± 17,253	AD
Kreatinin (mg/dL)	8,206 ± 1,908	8,935 ± 1,906	AD
Albumin (gr/dL)	3,581 ± 0,290	3,784 ± 0,286	p=0,023
Arjinin (µM)	311,556 ± 238,38	331,638 ± 191,894	AD
ADMA (µM)	6,225 ± 5,253	7,800 ± 4,575	AD
NO (µM)	4,306 ± 2,231	5,146 ± 2,829	AD
Diyaliz süresi (ay)	29,63 ± 29,96	44,62 ± 37,68	p=0,047

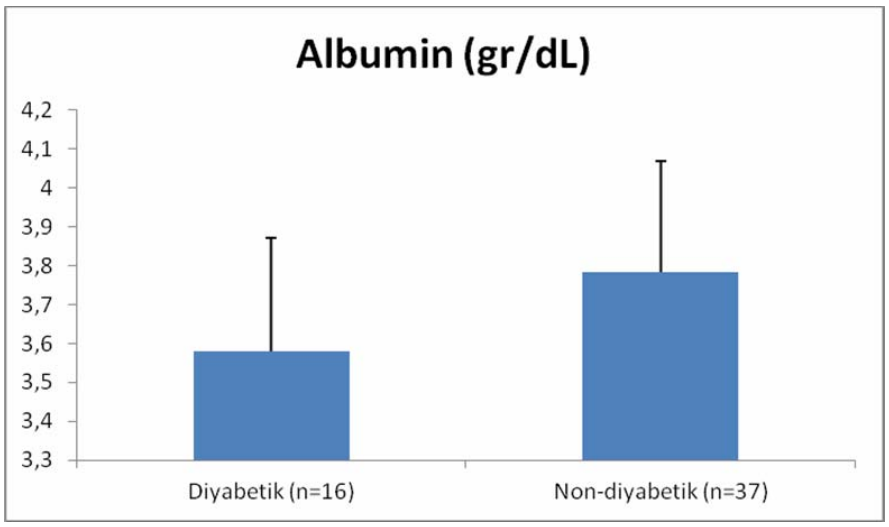
Diyabetik olup diyaliz programına dahil olan hastaların diyabetik olmayan grupla yaşları karşılaştırıldığında, diyabetik grubun anlamlı yüksek bulunduğu tespit edilmiştir (P=0,026). Bu durum grafik 3.7'de gösterilmiştir.

Grafik 3.7: Diyabetik olan ve olmayan diyaliz hastalarının yaş ortalamaları grafiği.



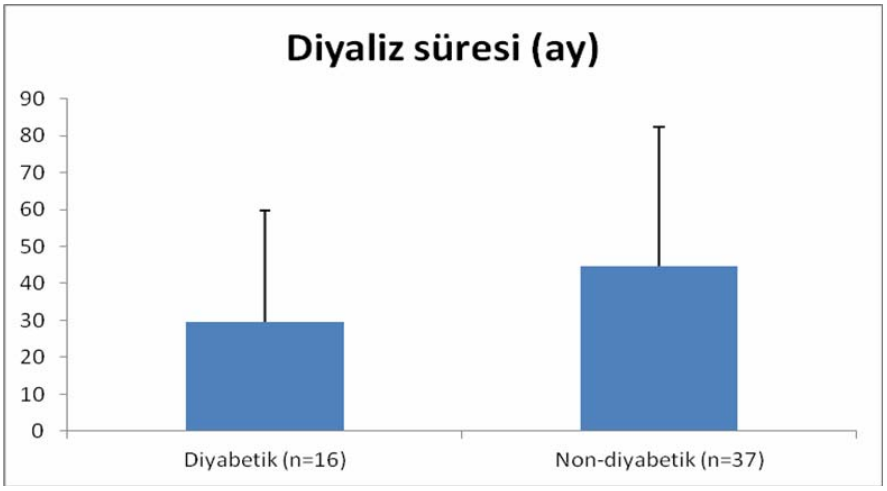
Grafik 3.8'de, diyabetik olup diyaliz programına dahil olan hastaların diyabetik olmayan grupla albumin düzeyleri karşılaştırıldığında, diyabetik olmayan grubun anlamlı yüksek bulunduğu tespit edilmiştir (P=0,023).

Grafik 3.8: Diyabetik olan olmayan diyaliz hastalarının Albümin düzeyleri grafiği.



Diyabetik olup diyaliz programına dahil olan hastaların diyaliz sürelerinin karşılaştırıldığı grafik 3.9'da de gözlendiği gibi, diyabetik olmayan grubun ay olarak diyaliz tedavi süreleri, diyabetik olan hastalara göre anlamlı yüksektir (P=0,047).

Grafik 3.9: Diyabetik olan olmayan diyaliz hastalarının diyaliz tedavi süreleri



3.5. Diyaliz Hastalarının Koroner Arter Hastalığı Yönünden Genel Analizi

Çalışmaya alınan 53 diyaliz hastasının kliniği, EKG ve diğer laboratuvar bulguları açısından yapılan incelemede, 13'ünün koroner arter hastalığı tanısı almış olduğu gözlenmişti. 40 diyaliz hastası ise koroner arter hastalığı tanısı almamış vakalardı. Tüm değerler Çizelge 3.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.5: Diyaliz hastalarının genel analitik değerleri ve koroner arter hastalığı (KAH) olup olmaması yönünden değerlendirmesi.

Parametreler	KAH olan Vakalar	KAH olmayan Vakalar	p
Sayı	13	40	
Yaş	65,15 ± 7,64	53,08 ± 14,23	p=0,002
Üre (mg/dL)	103,538 ± 18,875	106,600 ± 17,354	AD
Kreatinin (mg/dL)	8,292 ± 1,897	8,853 ± 1,929	AD
Albumin (gr/dL)	3,562 ± 0,253	3,775 ± 0,298	p=0,019
Arjinin (µM)	354,469 ± 199,9	356,185 ± 213,028	AD
ADMA (µM)	5,500 ± 3,547	7,917 ± 5,030	AD
NO (µM)	4,500 ± 2,418	5,020 ± 2,763	AD
Diyaliz süresi (ay)	22,62 ± 18,88	45,78 ± 38,41	p=0,035

AD: Anlamlı değil.

Koroner arter hastalığı olan ve olmayan hastalarda serum arjinin, ADMA ve NO düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Koroner arter hastalığı tanısı alan vakaların yaş ortalamaları 65,15 ± 7,64 koroner arter hastalığı tanısı almayan diyaliz hastalarını yaş ortalamaları 53,08 ± 14,23 bulundu. Aradaki fark istatistiksel yönden anlamlıydı (p=0,002).

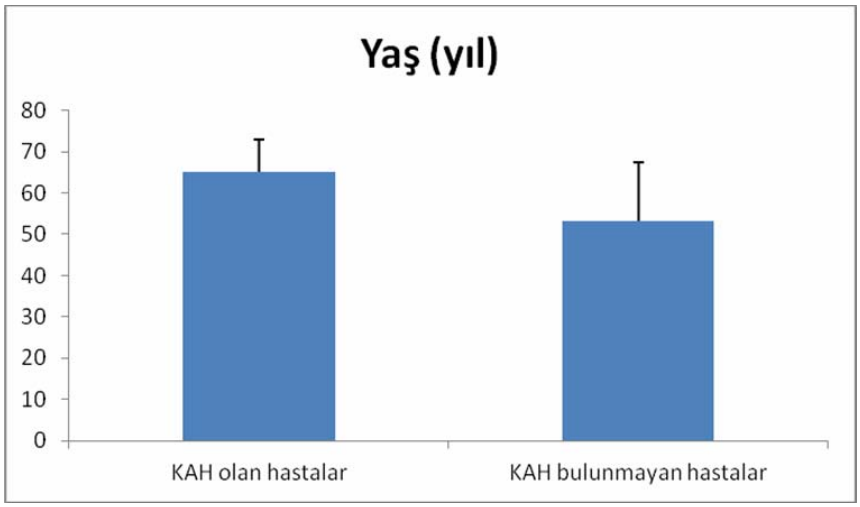
Koroner arter hastalığı tanısı almış diyaliz hastalarının albumin düzeyleri 3.562 ± 0.253 bulunurken, koroner arter hastalığı olmayan vakaların albumin düzeyleri ise 3.775 ± 0.298 bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değerlendirildi (p=0,019).

Diyaliz hastalarında diyaliz tedavi süresi ay olarak koroner arter hastalığı olan vakalarda 22.62 ± 18.88 iken, koroner arter hastalığı tanısı almayan diyaliz

hastalarının diyaliz tedavi süresi ortalaması ay olarak 45.78 ± 38.41 bulundu. Diyaliz tedavi süresi yönünden koroner arter hastalığı olan ve olmayan hastalarda aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,035).

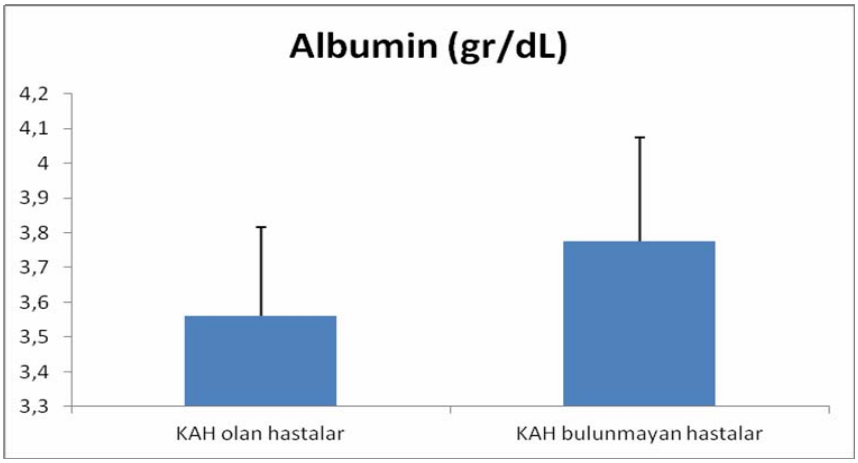
Diyaliz hastalarında yaşla birlikte koroner arter hastalığının da anlamlı olarak arttığı gözlemlenmektedir (p=0,002) (Grafik 3.10).

Grafik 3.10: Koroner Arter Hastalığı olan olmayan diyaliz hastalarının yaş ortalamaları grafiği.



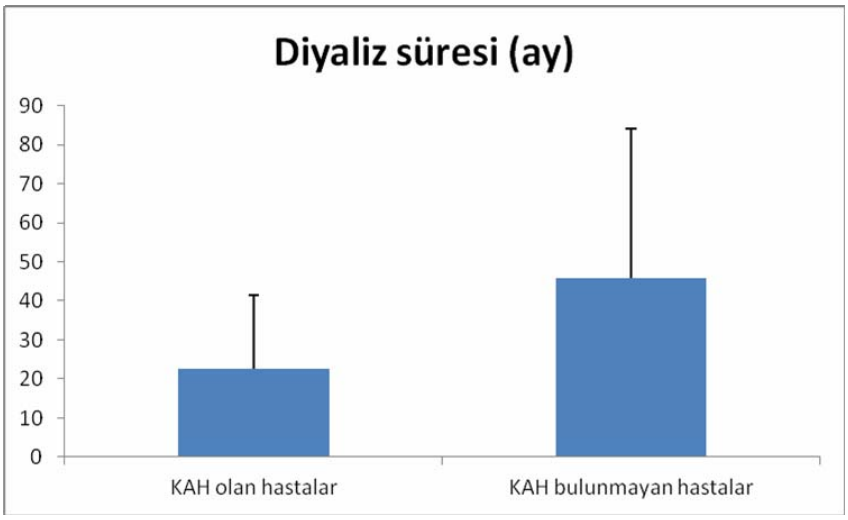
Koroner hastalığı teşhis edilen diyaliz hastalarında albumin düzeyleri koroner hastalığı bulumayan diyaliz hastalarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (p=0,019). Grafik 3.11'de şematize edilmiştir.

Grafik 3.11: Koroner Arter Hastalığı olan-olmayan diyaliz hastalarında albumin düzeyi grafiği.



Diyaliz tedavi süreleri ile koroner arter hastalığı bulunma durumları karşılaştırıldığında, koroner arter hastalığı bulunmayan hasta grubundaki kişilerin diyaliz süreleri ay olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0,035) (Grafik 3.12).

Grafik 3.12: Koroner Arter Hastalığı olan olmayan diyaliz hastalarında ortalama diyaliz tedavi süresi.



3.6. Diyaliz Tedavisi Alan Hastalarda Korelasyon Analizleri

Daha uzun süreli diyaliz tedavi programında olan diyaliz tedavi programındaki hasta grubundaki arjinin, NO, ADMA ve Arjinin/ADMA oranı düzeyleri arasında yapılan Pearson Korelasyon analizi Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

Diyaliz süresi uzunluğu değişkeni yönünden Arjinin ile NO arasında istatistiksel değerlendirmede pozitif ve anlamlı korelasyon bulunmuştur.

Diyaliz süresi uzunluğu değişkeni yönünden Arjinin ile Arjinin/ADMA oranı arasında istatistiği yönden anlamlı pozitif ilişki vardır.

Diyaliz süresi uzunluğu değişkeni ADMA ile Arjinin/ADMA oranı kıyaslandığında arasında ise anlamlı negatif bir korelasyon saptanmıştır.

Diyaliz süresi uzunluğu değişkeni yönünden NO ile arjinin, ADMA ve Arjinin/ADMA oranı arasında herhangi bir anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Çizelge 3.6: Diyaliz tedavisi alan hastalarda arjinin, NO, ADMA ve arjinin/ADMA arasında Pearson Korelasyon analizi.

Parametreler (n=53)	**NO**	**ADMA**	**Arg/ADMA**
Arjinin	P=0,012 r=0,34*	p=0,171; r= 0,203	p=0,010; r = 0,374*
NO	-	p=0,875; r= -0,024	p=0,838; r= 0,031
ADMA	-	-	p=0,0001; r = - 0,583***

*: P<0,05 seviyesinde anlamlı korelasyon,
***; p<0,0001 seviyesinde anlamlı korelasyon

Diyaliz hastalarında yaş, diyaliz süresi, üre, kreatinin, arjinin ve NO değerleri arasında Pearson korelasyon istatistik analizi Çizelge 3.6'da gösterilmiştir.

Araştırmaya dahil edilen 53 diyaliz hastasında hasta yaşıyla albümin düzeyleri arasında negatif ve anlamlı ilişki vardı (p=0,001; r= -0,43).

Diyaliz tedavi süresi (ay olarak) ile albümin düzeyi arasında anlamlı istatistiksel pozitif ilişki vardı (p=0,014 r=0,34).

Araştırmadaki diyaliz hastalarının üre düzeyi ile albümin düzeyleri arasında anlamlı istatistiksel pozitif ilişki bulundu (p=0,001; r=0,45). Ayrıca üre düzeyleri ile kreatinin düzeyleri arasında da anlamlı pozitif korelasyon saptandı (p=0,0001; r=0,81).

Araştırmadaki diyaliz hastalarının kreatin düzeyi ile albumin düzeyleri arasında anlamlı istatistiksel pozitif korelasyon bulundu (p=0,0001; r=0,50).

Arjinin ve nitrik oksit arasında istatistiksel açıdan pozitif anlamlı ilişki bulundu (p=0,012; r=0,34).

Diyaliz tedavisi alan hastalarının Pearson korelasyon istatistiksel değerlendirilmesinde NO ile kreatin arasında anlamlı pozitif ilişki bulundu (p=0,006; r=0,37).

Çizelge 3.7: Diyaliz hastalarında yaş, diyaliz süresi, üre, kreatinin, arjinin ve NO parametreleri arasında Pearson korelasyon istatistik değerlendirmesi.

Diyaliz hastaları (n=53)	**Albumin**	**Kreatinin**	**NO**
Yaş	p=0,001; r= - 0,43 **	-	-
Diyaliz süresi (ay)	p=0,014; r= 0,34 *	-	-
Üre (mg/dL)	P=0,001; r= 0,45 **	p=0,0001; r=0,81 ***	-
Kreatinin (mg/dL)	p=0,0001; r= 0,50 ***	-	-
Arjinin (µM)	-	-	p=0,012 r=0,34 *
NO (µM)	-	p=0,006 r=0,37 **	-

Diyaliz tedavisi gören erkek hastalar arasında yaş, diyaliz süresi, üre, albumin, kreatinin, arjinin ve NO paremetreleri arasında yapılan korelasyon analizi Çizelge 3.8'de gösterilmiştir.

Erkek hastalarında yaşla birlikte albumin değerleri arasında negatif korelasyon vardır (p=0,001; r= - 0,55).

Üre ile kreatinin arasında çok kuvvetli pozitif korelasyon tespit edilmiştir (p=0,0001; r=0,77).

Kreatin değerleri ile albumin ve NO değerleri arasında pozitif korelasyon mevcuttur (sırasıyla; p=0,02; r=0,40 ve p=0,03; r=0,38).

Bu çalışmada arjinin ile NO arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (p=0,04; r=0,35).

Diyaliz tedavi programında olan kronik böbrek hastalarının nitrik oksit ile kreatinin değerleri arasında da pozitif bir korelasyon vardır (p=0,006; r=0,37).

Çizelge 3.8: Diyaliz tedavisi gören erkek hastalar arasında yaş, diyaliz süresi, üre, albumin, kreatinin, arjinin ve NO paremetreleri arasında yapılan korelasyon analizi

Erkek hastalar (n=33)	**Albumin**	**Kreatinin**	**NO**
Yaş	p=0,001; r= - 0,55 **	-	-
Diyaliz süresi (ay)	-	-	-
Üre (mg/dL)	-	p=0,0001; r=0,77 ***	
Kreatinin (mg/dL)	p=0,02; r=0,40 *	-	p=0,03; r=0,38 *
Arjinin (µM)	-	-	P=0,04; r=0,35 *
NO (µM)	-	p=0,006; r=0,37 **	-

Diyaliz tedavi programındaki kadın hasta alt grubu arasında yaş, diyaliz tedavi süresi, üre, albumin, kreatinin, arjinin, NO ve ADMA paremetreleri arasında yapılan Pearson korelasyon analizi istatiksel değerlendirilmesi Çizelge 3.9'da gösterilmiştir.

Kadın hasta grubunda diyaliz tedavi süresiyle ADMA seviyeleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur. (p=0,001; r= - 0,55).

Diyaliz süresi ile albumin arasında pozitif (p=0,031; r=0,48), üre ile albumin arasında (p=0,003; r=0,62) ve kreatin arasında (p=0,0001; r=0,88) pozitif korelasyon tespit edilmiştir.

Kreatin ile albumin arasında (p=0,002; r=0,66) ve nitrik oksit ile kreatinin arasında da pozitif korelasyon (p=0,002; r=0,66) bulunmuştur.

Çizelge 3.9: Diyaliz tedavisi alan kadın hastalarında yaş, diyaliz süresi, üre, albumin, kreatinin, arjinin, NO ve ADMA paremetreleri arasında Pearson korelasyon istatistik değerlendirmesi.

Kadın hastalar (n=20)	**Albumin**	**Kreatinin**	**NO (µM)**	**ADMA (µM)**
Yaş	-	-	-	p=0,024 r= - 0,50 *
Diyaliz süresi (ay)	p=0,031 r=0,48 *	-	-	-
Üre (mg/dL)	p=0,003 r=0,62 **	p=0,0001 r=0,88 ***	-	-
Kreatinin (mg/dL)	p=0,002 r=0,66 **	-	-	-
Arjinin (µM)	-	-	-	-
NO (µM)	-	p=0,006 r=0,37 **	-	-

4. TARTIŞMA

Günümüzde KBH'larının kardiyovasküler morbidite ve mortalitesinin çok yüksek olması toplumumuzun en önemli sağlık sorunlarındandır. Hemodiyaliz tedavisindeki teknolojik gelişmelere rağmen diyaliz hastalarında kardiyovasküler mortalite seviyeleri hala yüksek oranda seyretmektedir.

Bu çalışmada diyaliz tedavi programındaki KBH Evre V hastalarında serum ADMA seviyelerinin yüksek bulundu. Ortalama ADMA düzeyi kontrol grubunda 2,7±1,4 µmol/L iken hasta grubunda 7.3±4.8 µmol/L ölçüldü. ADMA düzeyi diyaliz hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel yönden anlamlı yüksek bulundu ($p<0,005$). Bu bulgu yayınlanmış çalışmalarla uyumlu bulundu (Luis ve Fernandez 2012).

Yapılan yayınlar ADMA kardiyovasküler hastalık için bir risk faktörü adayı olmasına karşın henüz ADMA ve kardiyovasküler risk ilişkisi hakkında yapılan randomize kontrollü çalışmaların meta analizi bulunmamaktadır. Kardiyovasküler hastalık patofizyolojisi ADMA yanı sıra muhtemelen protein metilasyonu, DDAH ve NO yollarının karşılıklı etkileşimlerinin katkısı vardır (Erbil ve ark 2012).

Diyaliz hastalarındaki azalmış glomerüler filtrasyon oranı ADMA molekülünün eliminasyonunu azaltmaktadır. Diyaliz hastalarında, sağlıklı kontrol grubuna göre ADMA seviyeleri yüksek olarak bulunması hem bozulmuş böbrek fonksiyonları hem de ADMA katabolizmasında etkili olan DDAH enziminin azalmış aktivitesi nedeniyle oluşmuş olabilir. Yapılan çalışmalarda ADMA düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur (Luis ve Fernandez 2012).

Diyaliz hastalarda ADMA artışı ile endotel fonksiyon bozukluğu arasında ilişki bulunabilir. (Jacobi ve ark 2008). Hemodiyaliz hastalarında gelişen endotel disfonksiyonu, kardiyovaskuler hastalık ve mortalitede ADMA sorumlu faktörlerden birisi olabilir. Diyaliz tedavisi ile ADMA elimine edilir ancak hemodiyaliz tedavisi sonrasında tekrar yükselir (Taçyıldız 2009).

Yükselmiş ADMA seviyeleri KBY hastalarında endotelyal disfonksiyonla beraberdir. Bu hastalarda yüksek ADMA seviyesinin mortaliteyi arttırmada önemli rolü olabilir. Abedini ve arkadaşlarının çalışması yüksek ADMA seviyelerinin KBY

hastalarında artmış morbidite, mortalite ve renal transplant alıcılarında greft fonksiyon bozulmasıyla beraber olduğunu göstermiştir (Abedeni Ark 2010).

Zoccali ve arkadaşları ADMA seviyelerinin KBY hastalarında GFR ile ters orantılı olduğunu ve bu hastalarda kardiyovasküler olaylar ve mortalitede yükselmiş ADMA seviyelerinin önemli olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Zoccali ve ark 2002).

Çalışmalarında artmış ADMA ve azalmış arjinin seviyelerinin sistemik hemodinamikte bozulmayla birlikte karaciğer, böbrek ve dalakta kan akımının azaldığını göstermişlerdir. Bu çalışma azalmış nitrik oksit üretiminin organ yetmezliğinin başlangıç aşamasında önemli bir sebep olabileceğini göstermektedir (Glassock ve Rule 2012).

Diyaliz hasta grubunda serum nitrik oksit düzey ortalaması 4,6±2,9 µmol/l iken kontrol grubunda 4,9±3,1 µmol/L olarak bulundu. Diyaliz hastalarında serum nitrik oksit düzeyi kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen bu değer istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0,05$). Bu durum NO molekülünün labil bir molekül olmasından kaynaklanmış olabileceği gibi kompansatuar bazı mekanizmaların etki etmesi ya da analiz metodu süreci ile ilgili oluşmuş olabilir.

Arjinin düzeyi kontrol grubunda 399,25±19,3 µmol/L olarak bulunurken diyaliz hastalarında arginin düzeyi 355,764±207.9 µmol/L bulundu. İki grup arasında arjinin değerleri açısından farklılık tesbit edilmedi.

Bu çalışmada ve yayınlanan çalışmalarda ADMA'nın özellikle son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda önemli oranlarda yükseldiğini göstermiştir. Kronik böbrek yetmezliği olan olan hastaların en önemli ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklar yer almaktadır.

Bilinen klasik risk faktörleri yanısıra ADMA gibi kardiyovasküler risk ile ilgili moleküllerin varlığı da unutulmamalıdır. Bu molekülün kronik böbrek yetmezliği hastalarının prognozu açısından klinik önemi vardır. ADMA düzeylerinin düşürülmesiyle kardiyovasküler olay insidansı bu hasta grubunda azaltılabilir. ADMA düzeylerinin düşürülmesiyle ilgili daha fazla çalışma yapılmalıdır.

Yüksek kardiyak mortalitenin önemli sebeplerinden birisi diyaliz endikasyonu olan hastalarda kardiyak hastalık prevalansının yüksek olmasıdır.

HEMO çalışmasında incelenen 1846 diyaliz hastasının % 80'inde henüz diyaliz başlangıcında iken kardiyak hastalıklar tespit edilmiştir. Yüksek kardiyak mortalitenin bilinen klasik koroner hastalık risk faktörlerinin yanı sıra metabolik değişiklikler, üremik sendromla ilgili faktörler, anemi, hiperhomosisteinemi, endokrin bozukluklar, oksidan stres, volüm yüklenmesi, hipoalbuminemi ve trombotik faktörlerin olduğu bildirilmiştir (Cheung ve ark 2004).

Çalışmamızda yer alan diyaliz hastalarında ay olarak diyaliz tedavi süreleri koroner arter hastalığı olan koroner arter hastalığı tanısı almayan diyaliz hastalarının ortalaması ay olarak diyaliz tedavi süresi daha uzun bulundu. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Koroner arter hastalığı olan diyaliz hastalarının ay olarak tedavi sürelerinin daha kısa olması, yaşam sürelerinin kısa olmasından kaynaklanabilir. Koroner arter hastalığı olmayan bireylerin ay olarak diyaliz tedavi sürelerinin daha uzun olması, bu hastaların daha uzun süreli diyaliz ömürlerinin olabileceğini düşündürür.

Çalışmaya alınan diyaliz hastalarında KAH varlığı yönünden yaş ortalamalarına bakıldığında, KAH olan vakaların daha ileri yaşta olduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak da anlamlı bulunduğu görülmektedir. Albumin düzeyleri ise KAH olmayan gruba göre daha düşük bulunmuştur. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Yaş ilerledikçe albumin düzeyleri daha düşük olmaktadır. Bu hastaların KAH görülme sıklığı artabilmektedir.

Hemodiyaliz hastalarında serum albumin seviyesi ile morbidite ve mortalite ilişkisi literatürlerde açıkça ortaya konmuştur. Serum albumin düzeyi 2,5 mg/dL altında olan diyaliz hastalarındaki ölüm riski, 4 gr/dL'nin üzerinde olanlara göre yirmi kat arttığı bildirilmiştir (Arık ve ark 2009).

Çalışmamızda koroner arter hastalığı tanısı alan diyaliz hasta grubunda üre, kreatinin, arjinin, ADMA ve NO değerleri arasında fark bulunamamıştır. Her iki grupta kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek bulunan ADMA düzeyleri koroner arter hastalığı bulunup bulunmamasına göre ayrılan her iki alt grub arasında değişkenlik göstermemektedir.

Yeterli hemodiyaliz tedavisi uygulanan hastaların serum kreatinin düzeylerinin yüksek seyretmesi ile beklenen yaşam süreleri arasındaki doğrudan pozitif korelasyonun olması bir paradoks olarak görülmektedir. Ancak yeterli diyaliz

tedavisi alan hastaların kreatinin seviyelerinin yüksekliği ile prognozun iyi olması arasındaki ilişki arjinin amino asiti ve protein metabolizması ile ilgili çalışmaların ilerletilmesi ve kapsamının genişletilmesi ile aydınlatıcı ipuçlarına ulaşmayı sağlayabilir.

Kronik böbrek hastalığının tanısı ve tedavi takibinde serum kreatinin seviyesi ile glomerüler filtrasyonun ölçümü ve kreatinin klirensi sıklıkla kullanılmaktadır. Genellikle yapım ve böbreklerden atılım hızı oldukça sabit olduğundan daha çok çizgili kaslarda bulunan kreatin ve fosfokreatininden gelen kreatinin yapım hızı kişinin kas kitlesi ile doğrudan ilişkilidir. Diyaliz hastalarında serum kreatinin'in yüksekliği mortalite riskini paradoks olarak düşürmektedir (Theodore ve Burton 2007). Bu durum protein metabolizmasının ve amino asitlerin metabolizmasındaki fizyopatolojik değişikliklerin daha detaylı araştırılarak incelenmesini gerektirir.

Protein metabolizmasının son ürünlerinden olan üre, karaciğerde sentezlenir. Üre yapım hızı da doğrudan protein alımı ve katabolizması ile ilişkilidir. Üremideki toksinler genellikle protein ve nükleik asit metabolizmasındaki son ürünlerindendir. Üremik toksinler olarak ifade edilen bu metabolitlerin KBH'larında meydana getirdiği patofizyolojik mekanizmaların anlaşılması için bu alanda daha çok araştırma yapılmasını gerektirmektedir.

Serum kreatinin, albumin, protein ve üre azot düzeyleri birlikte değerlendirilmelidir. Serum kreatinin düzeyi ve serum üre azotundaki değişiklikler protein alımını veya endojen vücut proteinlerinin anabolizmasında ve katabolizmasındaki değişiklikleri yansıtmaktadır. Giderek azalan serum üre azotu değerleri beslenme durumunun da kötü olabileceğini düşündürmelidir. Özellikle düşük serum albumin düzeyleriyle birlikte düşük üre ve kreatinin değerleri olan hastalara uygulanan diyaliz tedavi dozunun yetersizliği söz konusu değilse kötü prognozun olduğunu gösteren diagnostik bir belirteç olarak kabul edilebilir (Gotch 2000).

Glomerüler filtrasyon hızı düştükçe, protein sentez hızının da azalmasıyla serum aminoasit konsantrasyonlarında da belirgin değişiklikler gözlenmiştir (Daugirdas ve ark 2010). Çalışmamızda hemodiyaliz hastalarında üre ve kreatinin değerleri istatistiksel olarak anlamlı yükselirken (her ikisi için $p<0,05$) albumin seviyesi ise diyaliz hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Protein ve özellikle albumin metabolizması bu hastalıkta

prognozun seyrini etkilemektedir. Albuminin yarılanma ömrü 14-20 gündür. Serum albumin düzeyi 2,5 mg/dL olunca yani yaklaşık yarıya inince mortalite riski yaklaşık 20 kat artmaktadır (Cheung ve ark 2004). Albumin zincirinin yapısında triptofan ve methionin oranı düşük, lizin, arjinin, glutamik asit ve aspartik asit gibi negatif yüklü aminoasit oranı ise yüksektir (Soni ve Margarson 2004). Diyetle protein ve enerji alımı azaldığında, özellikle lösin, arjinin, izolösin ve valin gibi aminoasitlerin eksikliğinde albumin sentez hızı azalır. Albumin sentez hızının azalması da kardiyovasküler hastalık riskini ve mortaliteyi artırmaktadır (Nicholson ve ark 2000).

Son dönem böbrek hastalarının (kronik böbrek hastalığı evre V) etyolojisinde en yaygın sebeplerden birisi de diyabetes mellitus tablosudur. Protein malnutrisyonunun belirteci olarak kabul edilebilecek albumin düzeylerindeki düşüklük, diyaliz hastalarında artmış mortalite göstergesi olabilir. Serum albumin düzeylerinin 4 gr/dL'nin altında oluşu, protein yıkımının artışı, üre ve kreatinin düzeylerinin düşüklüğü hastada protein malnütrisyonu geliştiğini gösterebilir.

Çalışmamızdaki albumin düzeyi diyabetik olan diyaliz hastalarında diyabetik olmayanlara göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu durum literatürdeki diğer bulgularla paraleldir. Ayrıca yine diyabetik hemodiyaliz hastalarında diyabetik olmayanlara göre ileri yaş ve kısa diyaliz süreleri olarak KAH grubuna benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak üre, kreatinin, arjinin, ADMA ve NO seviyelerinde de benzer şekilde istatistiksel anlamlılık tespit edilememiştir.

Diyaliz hastalarının cinsiyet dağılımı yönünden incelendiğinde özellikle kadın hastalarda diyaliz tedavi süresi ile albumin seviyeleri arasında pozitif korelasyonun olması hemodiyalize giren hastaların albumin düzeyi yüksekliğinin yaşam süresinin uzun olduğunu göstermektedir. Ayrıca albumin yüksekliği tespit edilen bayan hastalarda üre ve kreatinin düzeyleri de pozitif korelasyon göstermiştir. Bu durum çizgili kas dokusundaki proteinin iyi korunduğunu, visseral protein depolarının düzeyini yansıttığını düşünebileceğimiz albumin ile olan bu korelasyonun amino asit ve protein metabolizmasında malnütrisyondan korunduklarının kanıtı olabilir. Bu hasta grubunda kreatinin düzeyi ile NO düzeylerinin pozitif korelasyonu kardiyovasküler morbite ve mortali riskinin düşük seyretmesinde etkili olabileceği kabul edilebilir. Bu durum kadın hastalarda albumin düzeyinin yüksek olması hemodiyaliz tedavi programındaki yaşam sürelerini uzattığı düşünülebilir. Yaşlı erkek hastalarımızda yaşla birlikte albumin değerleri arasında negatif korelasyonun

olması da, bu hasta grubunda kardiyovasküler hastalık riskinin ve mortalitenin yüksek olabileceğini gösterebilir.

Kronik hemodiyaliz hastalarında arjinin ve analoglarının seviyelerinin ve bu durumu etkileyen değişkenlerin belirlenmesi de önem arz etmektedir. Arjinin, çeşitli dokularda önemli bileşiklerin yapılarında yer alır. Protein sentezi, glukoz ve glikojen oluşumu, ornitin, üre, NO, kreatin, agmatin, prolin ve glutamat sentezi, poliaminlerin biyosentezinin yanısıra tuftsin ve ADH yapısına katılması gibi birçok metabolik yolda yer almaktadır (Visek 1986, Soeters ve ark 2002, Foye ve ark 1995).

Çalışmamızda plazma arjinin seviyeleri diyaliz hastalarında sağlıklı bireylerle kıyaslandığında düşük olarak bulunmuştur. Fakat bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına karşın bu durumu etkileyen diğer değişkenlerin incelenmesi uygun olacaktır.

Diyaliz hastalarının her iki cinsiyet arasında arjinin ve kreatinin düzeyleri karşılaştırıldığında erkek hastalarda kadın hastalara göre istatistiksel olarak da anlamlı yüksek bulunmuştur. Erkek hastalarda kreatin ile arjininin kadın hastalara göre anlamlı yüksek bulunması dikkat çekicidir. Her ne kadar erkeklerin kas kitlesinin fazla olduğu düşünülse de bu farkın klinik açıdan detaylı incelenmesi uygun olabilir.

Arjinin eksikliğinde son dönem böbrek yetmezliği olan hastaların plazma değerlerinin fazla düşmemesinin sebebi olarak arjininin taşınmasında ve metabolizmasında bir bozukluğun olabileceğini düşündürmektedir. Plazma arjininin intrasellüler havuzunu açık olarak yansıtamamaktadır. Yapılan çalışmaların bir çoğunda diyaliz programındaki hastalarda amino asit metabolizmasındaki anormal durumlardan bahsedilmiştir (Bergstrom ve ark 1990).

L-arjininden sentezlenen NO'nun, endotel hücrelerinde vazokonstriksiyonu, trombotik aktiviteyi, damar düz kas hücre proliferasyonunu, enflamasyonu, intimal lezyon oluşumunu engelleyerek kardiyovasküler lezyonların önüne geçtiği bilinmektedir (Maxwell ve Cooke 1998, Tapiero ve ark 2002). Çalışmamızda diyaliz hastalarında NO seviyelerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik tespit edilemese de düşme eğilimi göstermektedir. Nitrik oksitin substratı olan arjinin miktarının yetersiz olması, inhibitörlerinin kanda

artması veya hastalardan hemodiyaliz sonunda kanda yarı ömrü çok kısa olan bu molekülün diyalizat solüsyonuna geçmesiyle ilgili olabilir.

Bu çalışmada diyabetik hastalarda NO'nun, substratı olan arjinin ile aynı şekilde düşüklüğünün pozitif korelasyonu sonuçlarımızın uyumlu olduğunu göstermektedir.

Asimetrik dimetilarjinin, NOS'un endojen inhibitörüdür. L-arjininden NO sentezinin reversibl olarak bloke edince endotel disfonsiyonuna yol açmakta, bunun sonucu olarak da aterosklerotik damar hastalığının başlaması ve ilerlemesine yol açabilir (Fliser ve ark 2003).

Yaptığımız çalışmada diyaliz hastaların ADMA seviyeleri kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir. Asimetrik dimetilarjinin'in prospektif klinik çalışmalarında plazma ADMA konsantrasyonunun kardiyovasküler riskin arttığı pek çok durumlarda ve kardiyovasküler hastalığı olanlarda arttığını desteklemektedir. Yüksek ADMA ile kardiyovasküler riskin NOS yetmezliğinin doğrudan bir sonucu olup olmadığı ve ADMA'nın NOS bağımlı NO üretimi üzerine katkısı da ayrıca bir tartışma konusudur (Kielstein ve ark 2001).

İn-vivo DDAH-1 geninin küçük inhibitör RNA (siRNA) tekniği ile susturulduğu bir çalışmada plazma ADMA seviyelerinin % 50 oranında artmasına rağmen endotel bağımlı vazodilatasyon üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca DDAH-2 geninin susturulması ile de plazma ADMA üzerinde herhangi bir etkisi oluşmazken endotel bağımlı vazodilatasyonun % 40 azaldığı bildirilmiştir (Wang ve ark 2007). Bu durum plazma ADMA konsantrasyonunun yüksek seyretmesi endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasına neden olmazken DDAH-2 aktivite kaybının plazma ADMA seviyesini artırmaksızın endotel bağımlı vazodilatasyonun engellenmesine neden olduğunu gösterebilir.

Çalışmamızda arjinin ile ADMA oranının daha anlamlı olarak hemodiyaliz hastalarında yüksek bulunması, böbrek hasarının şiddetinin değerlendirilmesi açısından özellikle arjinin/ADMA oranının kullanılması önemli olabilir. Diyalize alınan kadın hastalarında yaşla birlikte ADMA değerleri arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir. Yaşla birlikte kardiyovasküler hastalık riski artmakta fakat plazmada tespit edilen düşük ADMA diyalize alınma sürelerinin uzun olması bu hasta grubunun daha uzun yaşam sürecinde olabileceği anlamına gelebilir.

Kronik böbrek hastalığı Evre V tanısı ile renal replasman adı verilen böbrek fonksiyonlarının yerine geçebilen hemodiyaliz tedavisi ve böbrek nakli yapılan hastalarda azalmış yaşam kalitesi yanı sıra yüksek kardiyovasküler morbite ve yaklaşık % 22'ye varan mortalite oranı bildirilmektedir. Amerika'daki Renal Data Sistemi üzerine yapılan araştırmalarda bu hastaların yaşam süreçlerinin kolon ve prostat kanseri olan hastalarla kıyaslandığında daha kötü olduğu anlaşılmıştır (Collins ve ark 2010).

Bazı kanser tiplerinden bile daha ağır bir prognoza sahip olan evre V tanısı almış son dönem böbrek hastalarında maalesef günümüzde halen daha yüksek mortalite görülmektedir. Diyaliz tedavisi endikasyonu ile hemodiyaliz sürecine giren hastaların serum albumin ve arjinin seviyeleri normal değerlere ne kadar yakın seyrederse, yaşam süreleri de o kadar fazla olmaktadır. Diyaliz tedavisi görme sürecindeki hastaların serum üre ve kreatinin seviyelerinin yüksek olması genelde hatalı yorumlanabilmektedir. Hâlbuki bu hastalardaki üre ve kreatin seviyelerinin yüksek olması, hastalar beslenmeyle kaliteli protein alımına dikkat edebildiği ölçüde daha uzun yaşayabilecekleri ileri sürülmüştür (Ignarro 2005).

Son dönem böbrek yetmezliği ile diyaliz tedavisi alması gereken hastalar anlaşıldığı gibi ciddi problemler söz konusudur. Hem diyaliz tedavilerinin etkinliğinin artışını sağlayacak yöntemlerin geliştirilmesi hem de kalp damar sağlığını koruyucu tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi yönünden araştırmaların derinleştirilmesi gerekmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, arjinin düzeyi kontrol grubunda 399,25±19,3 µmol/L olarak bulunurken diyaliz hastalarında arginin düzeyi 355,764±207.9 µmol/L bulundu. İki grup arasında arjinin değerleri açısından istatksel farklılık tesbit edilmedi.

Diyaliz hasta grubunda serum nitrik oksit düzey ortalaması 4,6±2,9 µmol/L iken kontrol grubunda 4,9±3,1 µmol/L olarak bulundu. Diyaliz hastalarında NO düzeyi kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen bu değer istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0,05$).

Diyaliz tedavi programındaki KBH Evre V hastalarında serum ADMA seviyeleri yüksek bulundu. Ortalama ADMA düzeyi kontrol grubunda 2,7±1,4 µmol/L iken hasta grubunda 7.3±4.8 µmol/L ölçüldü. ADMA düzeyi diyaliz hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel yönden anlamlı bulundu ($p<0,005$).

Diyaliz hastalarında kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinin anlaşılması için bilinen klasik risk faktörleri yanı sıra protein ve özellikle arjinin aminoasitinin metabolizmasında meydana gelen değişikler daha kapsamlı incelenmelidir. Diyaliz hastalarında arjinin ve ürünlerinin farklı hasta gruplarındaki durumu ve seyri prospektif olarak incelenebilir. Farklı değişkenlerin süreç içinde izlenmesi faydalı olacaktır.

Kronik böbrek hastağının bütün evrelerinde özellikle arjinin ve metabolitlerinin kalp ve damar hastalığı morbidite ve mortalitesi yönünden değerlendirilmesi uygun olacaktır.

Özellikle ADMA seviyesinin neden olabileceği vazokonstriksiyon bağımlı endotel disfonksiyonu, artan kan basıncı ve ateroskleroz sonucu gerçekleşebilecek komplikasyonlarda ADMA önemli rol oynayabilecek bir parametre olarak görülmektedir. kronik böbrek yetmezliği hastalarının prognozu açısından klinik önemi vardır. ADMA düzeylerinin düşürülmesiyle kardiyovasküler olay insidansı bu hasta grubunda azaltılabilir. ADMA düzeylerinin düşürülmesiyle ilgili daha fazla çalışma yapılmalıdır.

Arjinin ve arjinin ürünleri yanısıra diğer amino asitlerle protein metabolizmasının için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Diyaliz Hastalarında Arjinin ve Arjinin Ürünlerinin Düzeyleri

Veli UĞURCU
Biyokimya (TIP) Anabilim Dalı
Doktora Tezi / KONYA - 2013

Kronik böbrek yetmezliği bütün dünyada karşılaşılan önemli toplum sağlığı sorunlarındandır. Kronik böbrek yetmezliği sebebi ile diyaliz hastalarının tanı ve tedavideki ilerlemelere rağmen kardiyovasküler morbidite ve mortalitesi yüksek olmasının nedeni ile halen önemini korumaktadır.

Bu çalışmada, diyaliz tedavi programındaki hastalar kardiyovasküler morbidite ve mortalite fizyopatolojisinde gittikçe önemi anlaşılan Arjinin, ADMA ve NO düzeyleri incelenmiştir.

Çalışmamıza 53 hemodiyaliz tedavisi gören kronik böbrek yetmezliği hastası ile görünürde sağlıklı ve bilinen herhangi bir kronik hastalığı bulunmayan 34 kişi kontrol grubu olarak alındı. Arjinin ve ADMA değerleri HPLC yöntemi ile floresans detektörde ölçüldü. Nitrik oksit, nitrit-nitrat seviyelerine üzerinden kolorimetrik yöntemle değerlendirildi. Albumin, üre, kreatinin düzeyleri, spektrofotometrik yöntem kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen tüm veriler "SPSS 16.0 for Window's" paket programı kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı. Veriler normal dağılıma uymadığı için nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi kullanıldı. Parametrelerin ilişki analizinde Pearson korelasyon testleri kullanıldı. Anlamlılık seviyesi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

Arjinin düzeyi, diyaliz hastalarında kontrol grubu ile kıyaslandığında düşük bulundu ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. NO düzeyi hasta grubunda kontrol grubundan daha düşük bulundu ancak istatistiksel olarak aradaki fark anlamlı değildi. ADMA düzeyleri diyaliz hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel yönden anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,005$). Arjinin/ADMA oranları kıyaslandığında hasta grubunda düşük bulunurken kontrol grubunda yüksek bulundu. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$).

Koroner arter hastalığı tanısı almış diyaliz hastalarının albümin ve kreatinin düzeyleri düşük olması istatiksel olarak anlamlıydı. Her iki cinsiyet arasında arjinin düzeyleri cinsiyetler arasında karşılaştırıldığında, erkeklerde kadınlara göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Diyaliz hasta grubundaki arjinin, NO, ADMA ve Arjinin/ADMA oranı düzeyleri arasında yapılan Pearson Korelasyon analizinde Arjinin ile NO arasında pozitif ve istatiksel anlamlı korelasyon bulunduğu saptanmıştır. Arjinin ile Arjinin/ADMA oranı arasında istatistikî anlamlı pozitif ilişki vardır. ADMA ile Arjinin/ADMA oranı arasında ise istatiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon bulunmuştur. Çalışmamız ADMA klirensinin hemodiyaliz hastalarında önemli oranda bozulduğu ve arterioskleroz kaynaklı morbidie ve mortalite ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Arjinin, asimetrik dimetilarjinin, ateroskleroz, hemodiyaliz, nitrik oksit

7. SUMMARY

Arginine and Products of Arginine Levels in Dialysis Patients.

Chronic renal failure encountered significant public health problems all over the world. Despite advances in diagnosis and treatment of cardiovascular morbidity and mortality is still in chronic renal failure patients on dialysis. The aim this study is to investigate the importance of Arginine, ADMA and NO levels in the pathophysiology of cardiovascular morbidity and mortality in patients with dialysis treatment program.

53 patients with chronic renal failure receiving hemodialysis treatment and 34 healthy persons were participated to the study. Arginine and ADMA levels were measured by HPLC fluorescence detector. Nitrite, nitrate levels were assessed by a colorimetric method. Albumin, urea, creatinine levels was performed using the spectrophotometric method. Aproppriate statistical analysis tests were performed by using the SSPS program package. Mann-Whitney U test was used for nonparametric distributed values, student t tsets were used for parametric values. Pearson's correlation tests were used to analyze the relationship of parameters. Significance level $p < 0.05$ was considered significant.

Arginine levels were similar in dialysis patients when compared to the control group. Similarly NO levels did not show any differene between patient group and the control group. ADMA levels were found to be significantly high in dialysis patients compared to the control group ($p < 0.005$). Arginine / ADMA ratio was lower in the patient group compared to the control group ($p < 0.001$).

Dialysis patients who have diagnosed coronary artery disease had low levels of albumin and creatinine. ADMA levels did not show any difference in the patients having coronary artery disease or not. Arginine levels between the sexes of both sexes compared were significantly higher in men than in women.

Pearson correlation analysis showed that there was a correlation between NO and arginin levels. Arginine and Arginine/ADMA showed a positive correlation while ADMA and arginine/ADMA levels showed a negative correlation. As a result, our data showed that ADMA clerance was imparied in hemodialysis patients. Increase in ADMA levels may play a role in atherosclerosis dependent morbidity and mortality.

Keywords: Arginine, asymmetric dimethylarginine, atherosclerosis, hemodialysis, nitric oxide

8. KAYNAKLAR

Abedini S Asymmetrical dimethylarginine is associated with renal and cardiovascular outcomes and all-cause mortality in renal transplant recipients Kidney International 2009: 77, 44–50 2012http://www.kidney-international.org,

Adam B, Yiğitoğlu R. Tıbbi Biyokimya. Nobel Tıp Kitabevleri.2012.

Akoğlu E, Süleymanlar G. Kronik böbrek yetmezliği, In: İliçin G, Ünal S, Biberoğlu K, Akalın S, Süleymanlar G (eds). Temel İç Hastalıkları. Güneş Yayınevi, Ankara 1996; 769-802.

Akpolat T, Ulaş C, Süleymanlar G. Nefroloji El Kitabı, In: Yalçın AU, Akpolat T. Kronik Böbrek Yetmezliği, 4. baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007;283-323.

Akpolat T, Ulaş C, Süleymanlar G. Nefroloji El Kitabı. 4. baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007;1-15.

Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G: Nefroloji El Kitabı. 3. Basım;2002; 328-329, NobelTıp Kitabevi, İstanbul.

Arık N, Ateş K, Süleymanlar G, Tonbul HZ, Türk S, Yıldız A. Hekimler için hemodiyaliz kaynak kitabı in: Altıparmak MZ. Hemodiyaliz hastalarında beslenme ve malnütrisyon.249-279. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2009.

Barbul A. Arginine: biochemistry, physiology, and therapeutic implications. Journal of Parenteral Enteral Nutrition 1986;10:227-38.

Barbul A. Arginine: biochemistry, physiology, and therapeutic implications. Journal of Parenteral Enteral Nutrition 1986;10:227-38.

Bergstrom J, Alvestrand A, Furst P. Plasma and muscle free amino acids in maintenance hemodialysis patients without protein malnutrition. Kidney International 1990; 38:108-114.

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

Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tangphao O, Tsao PS, Chan JR, Blaschke TF, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine: a novel risk factor for endothelial dysfunction. Its role in hypercholesterolemia. Circulation. 1998; 98: 1842–1847.

Böger RH, Ron ES. L-arginine improves vascular function by overcoming the deleterious effects of adma, a novel cardiovascular risk factor. Alternative Medicine Review 2005;10:14-23.

Böger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. Cardiovasc. Res. 2003; 34: 14781-14787.

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

Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? J Am Cardiol. 1997;30:325-333.

Champe PC, Harvey RA. (1994) Biochemistry, J.B. Lippincott Company: Philadelphia.

Chan LN. Nutritional support in acute renal failure. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2004; 7: 207-12.

Charra B, Calemard E, Ruffet M, Chazot C, Terrat JC, Vanel T, Laurent G. Survival as an index of adequacy of dialysis. Kidney Int 1992;41:286-1291.

Chen BM, Xia LW, Zhao RQ. Determination of N(G),N(G)-dimethylarginine in human plasma by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 1997; 692: 467–71.

Chen J, Wollman Y, Chernichovsky T, et al. Effect of oral administration of high-dose nitric oxide donor L-arginine in men with organic erectile dysfunction: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled study. BJU International 1999; 83: 269-73.

Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Berkoben M, Heyka R, Kaufman A, Lewis J, Rocco M, Toto R, Windus D, Ornt D, Levey AS; HEMO Study Group. Cardiac diseases in maintenance hemodialysis patients: results of the HEMO Study. Kidney Int. 2004;65:2380-9.

Cillari E,Arcoleo F,Dieli M et al. The macrophage-activating tetrapeptide tuftsin induces nitric oxide synthesis and stimulates murine macrophages to kill leishmania parasites in vitro. Infection and Immunity 1994;62: 2649-2652.

Collins AJ et al. Excerpts From the US Renal Data System 2009 Annual Data Report Am J Kidney Dis. 2010; 55: S1–A7.

Cooke JP. A novel mechanism for pulmonary arterial hypertension? Circulation 2003;108:1420-1.

Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? Arteriosc. Thromb. Vasc. Biol. 2000;20: 2032.-2037.

Corea A, Ohanian N, Anderson M, Holloway M. The hemodialysis procedure. Clinical Dialysis. Nissenson AR, Fine RN, Gentile DE (eds). Appleton & Lange, Connecticut 1994: 69-96.

Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. Clin Chem 1990; 36: 1440-3.

Covic A, Goldsmith DJA, Hill K, Venning MC, Ackrill P: Urea kinetic modelling-Are any of the "bedside" Kt/V formulae reliable enough? Nephrol Dial Transplant 1998;13:31-38.

Çakir E, Özcan O, Yaman H, Akgul EO, Bilgi C, Erbil ME, Yesilova Z. elevated plasma concentration of asymmetric dimethylarginine that is reduced by single dose testosterone administration in idiopathic hypogonadotropic hypogonadism patients. J. Clinical Endocrinology & Metabolism, 2004;90:1651–1654.

Daugirdas JT, Blake PG, Ing TS. Handbook of Dialysis. In: Daugirdas JT. 25-58. Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins, Chicago, USA, 2010.

Daugirdas JT, Depner TA. A nomogram approach to hemodialysis urea modeling. Am J Kid Dis 1994;23:33-40.

Daugirdas JT. Chronic hemodialysis Prescription: A urea kinetic approach. . Handbook of Dialysis. Daugirdas JT, Ing TS (eds). Little, Brown and Company, Boston 1994: 92-120.

Daugirdas JT. Chronic hemodialysis Prescription: A urea kinetic approach. Handbook of Dialysis. Daugirdas JT, Ing TS (eds). Little, Brown and Company, Boston 1994: 92-120.

Davison AM, Cameron JS, Grunfeld JP et al. The patient with failing renal function. In: Oxford Textbook Of Clinical Nephrology, Second Edition, Vol. III Davison AM, Cameron JS, Grunfeld JP (eds). New York, Oxford Medical Publications, 1998, 1843.

Depner T, Beck G,Daugirdas J, Kusek J, Eknoyan G: Lessons from the hemodialysis (HEMO) Study: An improved measure of the actual hemodialysis dose.AJKD 1999;33:142-149.

Efron DT, Barbul A. (1998) Modulation of inflammation and immunity by arginine supplements. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care, 6, 531.

Eid HM, Arnesen H, Hjerkinn EM, Lyberg T, Seljeflat I: Relationship between obesity, smoking and the endogen ntric oxide synthase inhibitor, ADMA. Metabolism. 2004;53 :1574-9.

Erdem SS, Kanat F, Ünlü A. Serum ADMA and NO Levels in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients Türk Klinik Biyokimya Derg 2008;6: 87-93.

Erdem SS. Kronik obstrüktif akciğer hastalarında serum ADMA ve NO düzeyleri. Selçuk Üniversitesi, Doktora tezi. Konya, 2006.

Field CJ, Johnson I, Pratt VC. Glutamine and arginine: immunonutrients for improved health. Medicine & Science in Sports & Exercise 2000; 7:377-88.

Fliser D, Kielstein JT, Haller H, Bode-Böer SM. Asymmetric dimethylarginine: A cardiovascular risk factor in renal disease? Kidney International 2003;63:37–40

Foye WO, Lemke TL, Williams DA. Principles of Medicinal Chemistry, New York, Williams &Wilkins, Fourth Edition, 1995.

Garcia X, Stein F. Nitric oxide. Semin. Pediatr. Infect. Dis. 2006;17: 55- 57.

Giulivi C. Characterization and function of mitochondrial nitric-oxide synthase. Free Radical Biology and Medicine 2003;35:397–408.

Gotch FA. Kt/V Is the Best Dialysis Dose Parameter. Blood Purif 2000;18:276–285

Gottschalk CW, Feliner SK. History of the science of dialysis. Am J Nephrol 1997;17:289-98.

Green SJ, Mellouk S, Hoffman SL, Meltzer MS, Nacy CA. Cellular mechanisms of nonspecific immunity to intracellular infection: cytokineinduced synthesis of toxic nitrogen oxides from L-arginine by macrophages and hepatocytes. Immunol Lett 1990;25:15-9.

Grisham MB. Reactive metabolites of oxygen and nitrogen in biology and medicine. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997;169: 70-5.

Hakim RM, Breyer J, Nuhad I, Schulman G: Effects of dose of dialysis on morbidity and mortality. AJKD 1994;23:661-669.

Halliwell B, Zhao K, Whiteman M. Nitric oxide and peroxynitrite. The ugly, the uglier and the not so good: a personal view of recent controversies", Free Radic. Res. 1999;31:651-669.

Herce-Pagliai C, Kotecha S, Shuker DE. Analytical methods for 3- nitrotyrosine as a marker of exposure to reactive nitrogen species: a review. Nitric Oxide 1998;2:324-336.

Herrmann J, Lerman L, Lerman A. Simply say yes to NO? Nitric oxide (NO) sensor-based assessment of coronary endothelial function. Eur Heart J 2010;31:2834-2836.

Hewson S, Clarke JT, Cederbaum S: Prenatal diagnosis for arginase deficiency: a case study. J Inherit Metab Dis 2003; 26: 607-10.

Hibbs JB, Taintor RR, Vavrin Z. Macrophage cytotoxicity: Role for L-arginine deiminase and immino nitrogen oxidation to nitrite. Science 1987:235: 473-476.

Holven KB, Haugstad TS, Holm T, Aurust P, Ose L, Nenseter MS. Folic acid treatment reduces elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in hyperhomocysteinaemic subjects. Br J Nutr. 2003;89:359-63.

http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---A/L-Arginine.htm

http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c1/Asymmetric_dimethylarginine.svg

http://www.kidney.org/professionals/KDOQI/guidelines_ckd/p4_class_g1.htm.

http://www.lcresources.com/resources/getstart/1c01.htm

http://www.le.ac.uk/pa/teach/va/ anatomy/case4/4_1.html

http://www.sagliksifa.com/544-Diyaliz.html

http://www.tsn.org.tr/folders/file/2010_registry.pdf

http://www.tsn.org.tr/formul.php

http://www.tsn.org.tr/formul.php

Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrus RE, Chaudhuri G. Endothelium derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1987:84;9265-9269.

Ignarro LJ. NO more heart disease. St. Martin's Press-New York, 2005;90-101.

Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction. Dysregulation of dimethilarginin dimethylaminohydrolase. Circulation 1999; 99:3092–5.

Jacobi J, Tsao P. Asymmetrical dimethylarginine in renal disease: limits of variation or variation limits? A systematic review. Am J Nephrol; 2008: 28:224–37

Jiang J, Tang Y, Li N, Deng H, Li Y. Effect of simvastatin on endothelium-dependent vasorelaxation and endogenous nitric oxide synthase inhibitor. Acta Pharmacol. 2004;25: 893-901.

Kılınç A, Kılınç K. Nitrik oksitin fonksiyonları ve toksik etkileri. Palme Yayınevi, Ankara, 2003;1-56.

Kielstein JT, Frölich JC, Haller H and Fliser D. ADMA (asymmetric dimethylarginine): an atherosclerotic disease mediating agent in patients with renal disease? Nephrol. Dial. Transplant. 2001;16:1742-1745.

Kirk SJ, Hurson M, Regan MC, Holt DR, Wasserkrug HL, Barbul A. Arginine stimulates wound healing and immune function in elderly human beings. Surgery 1993:114;155-9

Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. Biochemistry. Journal. 1994;298: 249-258.

Koc F, Tokac M, Erdem S, Kaya C, Unlu A, Karabag T, Vatankulu MA, Demir K, Ayhan S, Kaya A. Serum asymmetric dimethylarginine levels in normotensive obese individuals. Med Sci Monit. 2010 Nov;16(11):CR536-9.

Kryzuzanowska K, Mittermayer F, KoppHP, Wolzt M, Schernthaner G. Weight loss reduces circulating asymmetrical dimethylarginine concentrations in morbidly obese women. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:277-81.

Krzyzanowskaa K, Mittermayerb F, Wolztb M, Schernthanera G. ADMA, cardiovascular disease and diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice 2008;82:122–6.

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

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.

Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Malotino LS, Zoccali C. Prognostic value of combined use of biomarkers of inflammation, endothelial dysfunction, and myocardiopathy in patients with ESRD. Kidney Int. 2005;67:2330-7.

Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. The J.Biol. Chem. 1993;268:12231-4.

Marliss EB, Chevalier S, Gougeon R, Morais JA, Lamarche M, Adegoke OA, Wu G. Elevations of plasma methylarginines in obesity and ageing are related to insulin ensitivity and rates of protein turnover. Diabetologia 2005;21:1-9.

Martens-Lobenhoffer J, Bode-Böger SM. Chromatographic-mass spectrometric methods for the quantification of L-arginine and its methylated metabolites in biological fluids Journal of Chromatography B 2007;851:30–41.

Meijer AJ, Lamers WH, Chamuleau RAFM. Nitrogen metabolism and ornithine cycle function. Physioogy. Reviews. 1990;70:701-748

Milner JA. Metabolic aberrations associated with arginine deficiency. J Nutr 1985;15:516-23.

Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. N.Engl. J. Med. 1993;329:2002-11.

Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: A pathway for the regülation of cell functýon and communication. Biochem. Pharmacol. 1989;38:1709-15.

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

Mühling J, Fuchs M, Fleck C, Sablotzki A, Krüll M, Dehne MG et al. Effects of arginine, L-alanyl-L-glutamine or taurine on neutrophil (PMN) free amino acid profiles and immune functions in vitro. Amino Acids 2002;22:39-53.

Nagase S, Takemura K, Ueda A, et al. A novel nonenzymatic patway for the generation of nitric oxide by the reaction of hydrogen peroxide and D or L-arginine. Biochem Biophys Res Commun 1997; 233: 150-153.

National Kidney Foundation (NKF) K/DOQI Guidelines 2000 Updates.

National Kidney Foundation: K/DOQI kidney disease outcome quality initiative. Am J Kidney Dis 2002; 39 (Suppl 1): S1-266.

Nicholson JP, Wolmarans MR, Park GR. The role of albumin in critical illness. Br J Anaesth. 2000;85:599-610.

Nijveldt RJ, Teerlink T, van der Hoven B, Siroen MP, Kuik DJ et al. (Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. Clin Nutr; 2003: 22:23–30

Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan biyokimyası, Ankara, Palme yayıncılık, 2002; s100-117.

Özkan M, Dweik R. Nitric oxide and airway reactivity. Clin. Pulm.Med. 2001;8:199-206.

Paiva H, Lehimaki T, Laakso J, Ruokonen I, Tervanen R, Metio S: Dieary composition as a determinant of plasma asymmetrical dimethylarginne in subjects with mild hypercholesteremia. Metabolism. 2004;53: 1072-5.

Ravani P, Tripepi G, Malberti F, Testa S. Mallamaci F et alAsymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patients with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. J. Am. Soc. Nephrol.; . 2005:16:2449–55

Remuzzi G, Benigni A, Remuzzi A. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes. J Clin Invest. 2006;116:288-96.

Reyes AA, Karl IE, Klahr S. Role of arginine in health and in renal disease. American Journal of Physiology 1994;267:331–346.

Richard J Glassock and Andrew D RuleThe implications of anatomical and functional changes of the aging kidney: with an emphasis on the glomeruli Kidney International 82,2012: 270-277

Robert K, Murray Darly K, Granner Peter A. Mayes Victor Rodwell W. Harper's Biochemistry, Londra, Appleton&Lange, 1990;385-391

Schachter A, Goldman JA, Zuckerman Z. Treatment of oligospermia with the aminoacid arginine. J Urology 1973; 110: 311-313

Sela BA. ADMA (Asymmetric dimethylarginine) the inhibitor of nitric oxide (NO) Snythesis: a new marker for vascular pathology. Harefuah. 2005;144:655-9.

Serdengeçti K. Kronik Böbrek Yetmezliği (fizyopatoloji ve klinik bulgular). Aktüel Tıp Dergisi, 1997;2:190-197.

Sidney M, Morris JR. Enzymes of arginine metabolism. Am. Soc.Nutr. Sci. J. Nut. 2004;134:2743 - 2747.

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.

Soni N, Margarson M. Albumin. Where are we now? Current Anaesthesia and Critical Care. 2004;15:61-68.

Stein A, and Wild J. (edit.) Kidney Failure Explained, Class Pub., London, UK. 2002.

Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. Circulation. 2000;101: 948–954.

Sydow K, Hornig B, Arakawa N, Bode-Boger SM, Tsikas D, Munzel T, Boger RH. Endothelial dysfunction in patients with peripheral arterial disease and chronic hyperhomocysteinemia: potential role of ADMA. Vasc Med. 2004;9:93-101.

Tachibana K, Mukai K, Hiraoka I, Moriguchi S, Takama S, Kishino Y. Evaluation of the effect of arginine-enriched amino acid solution on tumor growth. Journal of Parentereral Enteral Nutrition. 1985:9;428-34.

Tacyıldız H , Diyabetik hemodiyaliz hastalarında ADMA düzeylerinin Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tez. İstanbul: 2009

Tapiero H, Mathe G, Couvreur GP, Tew KD. Dossier: Free amino acids in human health and pathologies. I. 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, Nijveldt RJ, de Jong S, van Leeuwen PA. Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine, and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high-performance liquid chromatography. Anal Biochem 2002; 303: 131–37.

Theodore WP, Burton DR. Overview of the management of chronic kidney disease in adults. UpToDate 2007;15.3

Tong B, Barbul A. Cellular and physiological effects of arginine. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 2004:4;823-832.

Tsikas D, Böger RH, Sandmann J, Bode-Böger SF, Frölich JC. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors are responsible for the L-arginine paradox. 2000;478:1-3.

Vergnani L, Hatrik S, Ricci F, et al. Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production: key role of L-arginine availability. Circulation 2000; 101: 1261-6.

Visek WJ. Arginine needs, physiological state and usual diets: a reevaluation. Journal of Nutrition 1986:116;36-46.

Visser M, Paulus WJ, Vermeulen MAR, Richir MC, Davids M, Wisselink W, de Mol BAJM, van Leeuwen PAM.The role of asymmetric dimethylarginine and arginine in the failing heart and its vasculature. Eur J Heart Fail. 2010:12;1274-1281.

Wang D, Gill PS, Chabrashvili T, Onozato ML, Raggio J et al. Isoform-specific regulation by N (G), N (G) -dimethylarginine dimethylaminohydrolase of rat serum asymmetric dimethylarginine and vascular endothelium-derived relaxing factor/NO. Circ Res 2007;101:627–635.

Williams K. Interactions of polyamines with ion channels. Biochemistry Journal.1997;325:289-297.

Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. Free Radic. Biol. Med. 1998;25:434-456.

Wu G, Morris SM. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. Biochemistry Journal 1998;336:1-17.

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 rats with diabetes. Life Sci. 2005;77:149-59.

Yalçın AU, Akpolat T. Kronik Böbrek Yetmezliği, In:Llach F, Bover J. Renal osteodystrophy. The Kidney. Brenner BM (ed). 5. edition, W.B. Saunders Company, Philadephia 1996: 2187-2274.

Yılmaz MI, Saglam M, Caglar K, Cakır E, Ozgurtas T, Sonmez A, Eyileten T, Yenicesu M, Acikel C, Oguz Y, Ozcan O, Bozlar U, Erbil K, Aslan I, Vural A. Endothelial functions improve with decrease in asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels after renal transplantation. Transplantation. 2005;80:1660-66.

Yılmaz MI, Saglam M, Caglar K, Cakir E, Ozgurtas T et al. Endothelial functions improve with decrease in asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels after renal transplantation. Transplantation. Dec 2005:27;80 (12):1660–6.

Yılmaz MI, Sağlam M, Çağlar K, Çakır E, Sönmez A et al. The determinants of endothelial dysfunction in CKD:oxidative stress and asymmetric dimethylarginine. Am J Kidney Dis; 2005:47:42–50

Yılmaz MI, Sağlam M, Sönmez A, Çağlar K, Çakır E. Improving proteinuria, endothelial functions and asymmetric dimethylarginine levels in chronic kidney disease: ramipril versus valsartan. Blood Purif.; 2007: 25 (4):327–35.

Zoccali C, Benedetto FA, Maas R, Mallamaci F. Tripepi G. et al. Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein,and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. J. Am. Soc. Nephrol.; 2002: 13:490–96Dis;47:42–50

9. ÖZGEÇMİŞ

1964 tarihinde Antalya'da doğdu.

İlköğrenimini ve lise tahsilini Antalya'da tamamladı. Fatih İlkokulu, Antalya Merkez Ortaokulu ve Antalya Lisesi mezunudur.

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi'nden mezun olmuştur.

Yabancı dili İngilizce'dir.

Evli ve üç çocuk babasıdır.