

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TALASEMİ VE HEMOGLOBİNOPATİ HASTALARINDA
PLAZMA METİLARJİNİN DÜZEYLERİ**

Yaşar BİNGÖL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Sedat ABUŞOĞLU

KONYA – 2019

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TALASEMİ VE HEMOGLOBİNOPATİ HASTALARINDA
PLAZMA METİLARJİNİN DÜZEYLERİ**

Yaşar BİNGÖL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Sedat ABUŞOĞLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 18202038 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA – 2019

ONAY SAYFASI

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Yaşar BİNGÖL tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Doç.Dr.Sedat ABUŞOĞLU
Selçuk Üniversitesi



Danışman: Doç.Dr.Sedat ABUŞOĞLU
Selçuk Üniversitesi



Üye: Doç.Dr.Abdullah SİVRİKAYA
Selçuk Üniversitesi



Üye: Dr. Öğr.Üyesi Kamile YÜCEL
Karatay Üniversitesi



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

Prof.Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Talasemi ve Hemoglobinopati Hastalarında metilarjinin yükünü saptamaktır. Bu amaçla talasemi ve hemoglobinopati İstemi yapılan hastalar artan serumlarından bu metabolizma ürünleri çalışılacaktır. Çalışmamızda hastanemizin hematoloji polikliniğine başvuran hastaların kan örneklerinin serumlarında Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA) düzeylerinde herhangi bir değişiklik olup olmadığını belirleyebilmeyi ve metilarjinin ile olan ilişkisini açıklayabilmeyi amaçlamaktayız.

Tez çalışmamda planlanmasında, araştırılmasında ve yürütülmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi tecrübelerinden faydalandığım yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmalarımı şekillendiren sayın hocam Doç.Dr.Sedat ABUŞOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimime olan katkılarından dolayı ,Prof.Dr.Ali ÜNLÜ, Doç.Dr.Hüsamettn VATANSEV, Doç.Dr.Abdullah SİVRİKAYA, Doç.Dr.Bahadır ÖZTÜRK, Doç.Dr.Esma MENEVŞE hocalarıma teşekkür ederim.

İlgili numune örneklerinin toparlanmasında Sayın Müge Hanıma ve toplanan numunelerin çalışılmasında desteğini esirgemeyen Oğuzhan TOK ve Duygu ERYAVUZ'a teşekkür ederim.

Her zaman yardımlarını ve desteklerini eksik etmeyen aileme ve eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET.....	vii
SUMMARY	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Talasemi	1
1.1.1. Beta ve Alfa Genlerinin Bazı Özellikleri	1
1.1.2. Talasemi Taşıyıcılığının Hematolojik Özellikleri	3
1.1.3. Beta Talasemi Önleme Programları	4
1.2. Hemoglobinopatiler	5
1.2.1. Anormal Hemoglobinler	5
1.2.2. Anormal Hemoglobin Sendromları	5
1.3. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA)	6
1.3.1. ADMA Sentezi	6
1.3.2. ADMA'nın Metabolizması	9
1.3.3. ADMA Yüksekliği ile Seyreden Klinik Durumlar	9
2. GEREÇ VE YÖNTEM	12
2.1. Numune Toplanması ve Hasta Sınıflandırılması	12
2.2. Yöntem.....	15
2.3. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar	15
2.3.1. Cihazlar	15
2.3.2. Kimyasallar	15
2.4. ADMA Çalışma Prosedürü	16
2.4.1. Gerekli Reaktifler ve Reaktiflerin Hazırlanışı	16
2.4.2. Çalışma Prosedürü.....	16

2.5. Elde Edilen Pikler	20
3. BULGULAR	21
3.1. Parametrelerin Gruplara Göre Karşılaştırılması	21
3.1.1. Yaş	21
3.1.2. HGB	21
3.1.3. RBC.....	22
3.1.4. MCV	23
3.1.5. MCH	23
3.1.6. Ferritin.....	24
3.1.7. ADMA	24
3.1.8. Arjinin	26
3.1.9. Homoarjinin	26
3.1.10. L-NMMA.....	27
3.1.11. SDMA.....	27
3.1.12. Sitrülin.....	29
3.2. Gruplar Arası İkili Karşılaştırma	29
3.2.1. Pozitif ve Varyant Grup	29
3.2.2. Negatif ve Pozitif Grup.....	31
3.2.3. Varyant ve Pozitif Grup	32
3.3. Parametreler Arasındaki İlişkiler	34
4. TARTIŞMA	38
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
6. KAYNAKLAR	45
7. EKLER.....	48
8. KAYNAKLAR	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADMA	: Asimetrik Dimetil Arjinin
Hb / Hgb	: Hemoglobin
BTİ	: Beta Talesemi İntermedia
BTM	: Beta Talasemi Majör
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
eNOs	: Endoltelyal Nitrik Oksit
İnos	: İndüklenebilir Nitrik Oksit
RDW Değeri	: Kırmızı Kan Hücreleri Dağılım Geniřlięi
BTT	: Beta Talesemi Taşıyıcı
GAG	: Glikoz Adenin Glikon
GTG	: Glikoz Timin Glikon
PRMT Enzimleri	: Protein Arjinin Metil Transferaz
SAH	: S-Adenozil Homosistein
DDAH	: Dimetilarjinin Dimetil Amino Hidrolaz Enzimi
MI	: Miyokard Enfarktüs
MDA	: Malondialdehit
SICAM	: Çözünür Hücreler Adezyon Molekülü
SVCAM	: Çözünür Vasküler Adezyon Molekülü
CBC	: Tam Kan Sayımı
LDH	: Laktat Dehidrogenaz

AST	: Aspartat Aminotransferaz
ALT	: Alanin Transaminaz
PH / PHT	: Pulmoner Hipertansiyon
SDMA	: ADMA'nın Stereoizomeri
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
VKI	: Vücut Kitle Endeksi
L-NMA	: N-Monometil-L-Arjinin
NOHA	: N-Omega-Hydroxy-L-Arginine
RBC	: Kırmızı Kan Hücreleri
MCV	: Ortalama Hücre Hacmi
MCH	: Ortalama Karpüsküler Hemoglobin
SD	: Standart Sapma
LC-MS	: Sıvı Kromatografisi – Kütle Spektrofotometresi
ESI	: Elektro Sprey İyonizasyonu
SCD	: Orak Hücre Hastalığı
RUSF	: Günlük Kullanıma Hazır Ek Gıda

ÖZET
T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Talasemi Ve Hemoglobinopati Hastalarında Plazma Metalarjinin Düzeyleri

Yaşar BİNGÖL

Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-2019

Homozigot β -Talasemili hastalarda tedavisi gerçekleştirilmemiş ise, prognoz kötüdür. Transfüzyon ve şelasyon programlarında son 15 yıl içinde yaşanan gelişmeler hastalığın mortalitesini ve morbiditesini anlamlı bir şekilde farklılaştırmıştır.

Demir yükü, kronik transfüzyon tedavisinin en ciddi komplikasyonudur. Aritmiler, miyokard ve perikardit yetersizliği fazla miktarda demirin neden olduğu kardiyak komplikasyonlardır. Hemoglobin S Hemoglobin C hastalığı görülen çocuklarda anestezi sonrasında myokardiyal nekroz geliştiği belirtilmiştir. Ortaya çıkan problemlerin hipotansiyon, hipoksi ve asidoza sekonder olduğu tahmin edilmektedir.

Otosomal resesif geçişli hematolojik hastalıklar arasında Hemoglobinopatiler dünyada en sık görülen olup, taşıyıcı sıklığı Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünyada yaklaşık % 7 oranındadır ve her yıl 300.000-500.000 civarında hemoglobinopatili çocuk dünyaya gelmektedir. Ülkemizde anormal Hb'lerden en sık görüleni olan HbS orak hücreli anemi taşıyıcılığı ise % 0.6, ortalama β talasemi taşıyıcılığı ise % 2, civarındadır. Ülkemizde ve dünyada Anormal Hb'lerden en yaygın bir şekilde rastlanımı ise orak hücreli anemiye yol açan Hb S'dir.

Serum metalarjinin düzeyleri kardiyak patolojiler ortaya çıkmadan erken dönemde risk belirtici olarak değerlendirilmektedir. Dolayısıyla bu hasta gruplarında kardiyovasküler olası patolojilerin erken dönemde saptanabilmesi veya analiz edilecek moleküllerin düzeylerinin yüksek bulunması uzun dönem komplikasyonlara karşı tedbir alınmasını sağlayabilir.

Bu çalışmanın amacı özellikle talasemi veya hemoglobinopatisi bulunan hastalarda kardiyovasküler risk faktörlerinden olan serum metalarjinin düzeylerinin saptanmasıdır.

Anahtar Sözcükler: Hemoglobin; Metalarjinler; Talasemi

SUMMARY

REPUBLIC OF TURKEY
SELCUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Levels of Plasma Methylarginine in Patients With Thalassemia and Hemoglobinopathy

Yaşar BİNGÖL

Department of Biochemistry

MASTER THESIS / KONYA-2019

Prognosis is poor in untreated homozygous β -Thalassemia patients. Over the past 15 years, advances in transfusion and chelation programs have significantly altered the morbidity and mortality of the disease. The most important complication of chronic transfusion therapy is iron overload. Cardiac complications caused by iron overload are pericarditis, arrhythmia and myocardial insufficiency. Myocardial necrosis has been reported in children with Hemoglobin S and Hemoglobin C, after anesthesia. The problems that occur are thought to be secondary to hypoxia, hypotension and acidosis.

Hemoglobinopathies are among the most common autosomal recessive hematological diseases in the world, and the carrier frequency is around 7 % in the world according to World Health Organization data, and 300.000-500.000 hemoglobinopathic children are born every year.

In our country, average β thalassemia carrier ratio is 2 %, and the most common abnormal Hb deficiency is, HbS sickle cell anemia, which has a 0.6 % ratio. The most common cases of abnormal Hb in the world and in our country are sickle cell anemia.

Serum methylarginine levels are considered to be early risk factor indicator before cardiac pathologies occur. Therefore, early detection of possible cardiovascular pathologies or high levels of molecules to be analyzed in these patient groups may provide protection against long-term complications.

The aim of this study is to determine serum Methylarginine levels; especially in patients with thalassemia or hemoglobinopathy.

Keywords: Hemoglobin; Methylarginine; Thalassemia

1. GİRİŞ

1.1. Talasemi

Heterojen bir grup hastalık olan Talasemiler, otozomal resesif geçiş gösteren, hemoglobin (Hb) zincirlerinden birkaçının ya da birinin hasarlı sentezi neticesi oluşan, hipokrom mikrositer anemi ile karakterizedir

Yapısal olarak normal bir yetişkinde üç farklı hemoglobin vardır. Bunlar Hb A, Hb F ve Hb A₂'dir.

Talasemi, α , β , γ , δ olarak tanımlanan Hb zincirinin veya zincirlerinin hiç yapılamaması veya az sayıda yapılması ile oluşur. Bu tanımlamaya göre, beta zincir yapım azlığı beta talasemiye, alfa zincir yapımı azlığı alfa talasemiye, yol açmaktadır. beta zincir yapımı az da olsa yapılıyorsa β^+ Beta zincir yapımı hiç yoksa β^0 talasemi adı verilmektedir.

Normal yetişkinlerde majör hemoglobin, Hemoglobin A'dır. Bununla birlikte beta ve alfa zincirlerinin sentezindeki patolojiler ciddi hastalığa neden olabilirler.

Hb F yapısında bulunan gama zincirlerindeki ve Hb A₂'nin yapısında bulunan delta zincirindeki patolojiler erişkinde doğrudan belirgin bir hastalığa neden olmazlar. Bununla birlikte bazı durumlarda özellikle beta zincir geni ile ilgili olan bir patoloji bulunuyor ise gerek γ gerekse δ zincirindeki mutasyonlar beta talaseminin hematolojik ve klinik ekspresyonunu üzerinde tesirli olabilirler.

Dünya'da beta talasemi taşıyıcısı oranı toplam nüfusun % 3'ünü teşkil etmektedir. Alfa talasemi taşıyıcısı oranı Güneybatı Asya'da ise, nüfusun % 5-10'u kadardır.

Türkiye'de ise talasemi taşıyıcılığına Akdeniz kıyı şeridi, Çukurova, Marmara ve Ege bölgelerinde çok sık rastlanmaktadır.

1.1.1. Beta ve Alfa Genlerinin Bazı Özellikleri

Her iki homolog 11 nolu kromozom üzerinden bir tane olmak üzere Beta geni toplam iki tanedir. Beta talasemi intermedia (BTİ) veya beta talasemi majör (BTM)

şeklinde isimlendirilen hastalık her iki geninde talasemik olduğu durumlarda meydana gelir.

Talasemi mutasyonları ülkemizde çok heterojendir, Ülkemizde toplam mutasyon sayısının 35'in üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bölgeler arasında mutasyonların dağılımında önemli oranda farklılıklar bulunmamaktadır (Altay 2002).

$\delta\beta$ -Talasemide β -gen kompleksinde beta genlerinde birlikte delesyon vardır. Bu delesyonun gen üzerindeki yeri ve büyüklüğü değişiklik gösterebilir. Birbirinden farklı en az 4 delesyonun ülkemizdeki hastalarda olduğu bildirilmiştir (Altay 2002).

α genleri 16 numaralı kromozom üzerinde bir homolog kromozom üzerinde ikişer adet olmak üzere 4 adettir. Aynı kromozom üzerindeki α genlerine, 5'-3' doğrultusunda ve α -1 ve α -2 adları verilir. Yapısal olarak bu genler birbirinin kopyasıdır (dublikasyon). En sık karşılaşılan patoloji gen delesyonu, α talasemide(AT)'dir.

Dört α -geninden bir tanesi uğradığında α^+ -talasemi (sessiz talasemi veya alfa talasemi-2), iki α geni delesyona uğradığında α^0 -talasemi (α talasemi taşıyıcılığı veya α -talasemi-1) ve üç α geni delesyona maruz kaldığında ise Hb H hastalığı meydana gelir.

Dört α geni delesyona uğramış ise, Hb Bart's hidrops fetaliste ortaya çıkar. Böyle bir gelişmede intra uterin tedavisi uygulanmaz ise, doğumu takiben 1 – 2 dakika içerisinde bebek ölür veya fetal ölüm gerçekleşir. 5 kb'den daha küçük bir delesyon varlığı, Agenindeki delesyonun tek gene ait olduğunu gösterir. Genellikle en çok karşılaşılan 4.7 ve 3.7 kb delesyonlarıdır. Her iki delesyon da ülkemizde gözükmemektedir, ancak 3.7 daha yaygındır. Non delesyonel talasemi olarak ise, beş nükleotit delesyonuna bağlı α^+ talasemi kabul edilir. Bazı tek nokta mutasyonları da α^+ talasemiye yol açabilir. Taşıyıcılarda α^+ talasemi gibi bulgu verdiği halde Poli-A bölgesindeki tek nokta mutasyonları ise homozigot şekli Hb H hastalığına yol açar. İki α geni de, beş kb'den daha büyük delesyonlarda delesyona uğrar, bu tür delesyonların büyüklüğü oldukça heterojendir.

Ülkemizde birbirinden farklı 26, 20.5, 17.5 kb olmak üzere 3 büyük delesyon tarif edilmektedir (Weatherall ve Clegg 2001).

1.1.2. Talasemi Taşıyıcılığının Hematolojik Özellikleri

1.1.2.1. Kırmızı Küre Sayısında Artış, Hipokromi ve Mikrositoz

Beta ve alfa talasemi zincir yapımında azalma olduğu için globin yapımında azalma ve dolayısıyla hemoglobinin sentezinde azalma bulunur. Netice itibariyle talasemide gözlenen mikrositozun ve hipokrominin sebebi olarak hemoglobinin sentezindeki bu azalma çıkar. Talasemi taşıyıcılarında genetik patolojinin etkisi mevcut kırmızı kürelerin hepsinde aynı derecede ortaya çıkacağı için hipokromi ve mikrositoz her hücrede eşit ve ağır (+++) bir bulgu şeklinde müşahade edilir. Bunun neticesi şeklinde anizositoz ortaya çıkmaz ya da çıksa da (+)'dır, yani bu bulgu hipokromi ve mikrositoza oranla daha az belirgindir. RDW değeri normal ya da normal değerlerin sınırının üstündedir.

Hücre içi Hb seviyesine bağlı mikrositoz ve hipokromi hücreden hücreye farklılık arz edilebilir. Demir eksikliğinde bundan dolayı mikrositoz ve hipokrominin çok ağır (+++) olması ile birlikte hücreden hücreye mikrositozun ağırlığı farklı sonuçlar verebilir. Bu sebeple demir eksikliğinde ağır (++) ya da (+++) anizositoz bulunmaktadır, RDW yüksek orandadır, poikilositoz müşahade edilir. $\delta\beta$ -Talasemi taşıyıcılarında da RDW yüksekliği müşahade edilir (Aslan ve ark. 131-133). Bu durumun gerekçesi bütün hücrelerde değil yalnızca F hücrelerinde (F cell) Hb F'in artmış olmasıdır. TT ve demir eksikliğinde Target hücreleri de müşahade edilebilir.

1.1.2.2. Talasemi ve Hb A2 Düzeyi

Hemoglobinin A2 seviyesi β -Talasemi taşıyıcı (BTT)larında genel olarak (%95) yükselmiştir. Hb A2 BTT % 5 kadarında normalden düşük veya normal olabilir.

β -Talasemi taşıyıcıları Hb A2 seviyesi normal ise, Tip – 2 ve Tip– 1 olarak iki sınıfta ele alınır.

Tip – 1, sessiz talasemi şeklinde de isimlendirilir. Bu grupta hem eritrosit indeksleri hem de Hb A2 seviyesi normal sınırdadır. β -geninin bazı bölgelerdeki mutasyonlarında bu durum görülür. β -geninin promoter bölgesindeki 101 mutasyonu, bu tabloda en çok sorumlu olanıdır.

Tip – 2 normal talasemide Hb A2 ise Hb A2 ‘nin normal düzeyde olmasına karşılık eritrosit indekslerin basit TT’cılarındaki gibidir. δ -talasemi mutasyonu, β -talasemi mutasyonuna ilave olarak gerçekleştiği zaman bu durum ortaya çıkar. β -talasemi mutasyonu δ talasemi mutasyonu ile karşı kromozomda ya da aynı kromozomda olabilir. β -gen mutasyonu δ gen mutasyonu ile Hb Knossos’da aynı kromozom üzerindedir ve Türkiye’de bu durum Hb A2 normal tip-2’den en fazla sorumlu olan patolojidir.

1.1.2.3 Hb F ve BTT

BTT’a Hb F seviyesinde de artışa yol açabilir. Moleküler patolojiye bağlı bir şekilde Hb F’deki bu artış farklılık ortaya koyabilir.

Talasemi Hb F düzeyi, Delta ve Beta genlerinin birlikte delesyona maruz kaldığı gelişmelerde (db) yüksektir (% 5 – 15) alfa gen triplikasyonu olan gelişmelerde basit BTT’dan Hb F değeri daha yüksek çıkabilir (Weatherall ve Clegg 2001).

1.1.3. Beta Talasemi Önleme Programları

- Eğitim
- Tarama Programları
 - Okul
 - Evlilik
 - Erken Gebelik
 - Yenidoğan
- Genetik Danışma
- Prenatal Tanı
- PİGT (Preimplantasyon Genetik Tanı)

1.2. Hemoglobinopatiler

Polipeptid zincirlerindeki hemoglobin molekülünün sentez bozukluklarında veya yapısal değişikliklerde anormal bir yapıya yol açan genetik bozukluk, hemoglobinopati olarak isimlendirilmektedir.

1.2.1. Anormal Hemoglobinler

Hemoglobin molekülünün yapısında bulunan globin zincirleri üzerindeki aminoasit farklılaşması neticesinde ortaya çıkmaktadır. Bu genlerim ekzon bölgesindeki veya bu bölge dışındaki nokta mutasyonları, delesyonlar ya da insersiyonlar çeşitli hemoglobin varyantlarının meydana gelmesine neden olmaktadır (Bunn ve Forget 1986).

Nokta mutasyonları mutasyonların önemli bir bölümünü meydana getirmektedir. Bazı zamanlarda polipeptid zincirinde bu mutasyonlar tek bir aminoasit değişimine yol açmaktadır. İnsersiyonlar polipeptid zincirinin uzamasına delesyonlar ise kısalmasına yol açmaktadır (Jimenez 2001).

1.2.2. Anormal Hemoglobin Sendromları

1.2.2.1 Hb S

Hb S molekülü, glutamik asidi kodlayan GAG nükleotid dizisinde adenin yerine timinin (GTG)geçmesine diğer bir ifadeyle Hb A'nın β globin zincirindeki 6. aminoasidi olan glutamik asit yerine valinin geçmesine yol açan nokta mutasyonu neticesi meydana gelmektedir (Thomson ve ark. 1991).

Kırmızı hücrelerin orak şeklinde biçimlenmesine O_2 yetersizliği neticesinde Hb S içeren eritrositlerin polimerleşmesi yol açmaktadır. Meydana gelen hücreler uzun ömürlü değildir ve normal kan akışında bozulmaya sebep olacak şekilde kappiller damarları tıkar ve lokal hipoksiye yol açarlar (Weatherall ve ark. 2001).

1.2.2.2. Hb D Los Angeles

Glutamin, β globin zincirinin 121. pozisyonundaki glutamik asit yerine geçmektedir.

1.2.2.3. Hb O – Arab

Lizin β globin zincirinin 121. aminoasidi olan glutamik asit yerine geçmektedir.

1.2.2.4.Hb E

β globin zincirindeki 26. aminoasit olan glutamik asitin yerine lizinin geçmesidir.

1.2.2.5. Hb E Saskatoon

β globin zincirinin 22. aminoasit olan glutamik asitin yerine lizin geçmektedir.

1.2.2.6. Hb C

β globin zincirinin 6. aminoasidi olan glutamik asit yerine lizin geçmektedir.

Türkiye’de Görülen Anormal Hemoglobin Dağılımı

Anormal hemoglobin dağılımı coğrafik lokalizasyon ve ırksal gruplara göre farklılık gösterir.

En yaygın olanları ise Hb S, Hb D, Hb E ve Hb C’dir (Lukens ve Lee 1993).

Türk populasyonunda bugüne kadar 42 anormal hemoglobin tanımlanmıştır.

- 13 tanesi α zincir varyantı,
- 24 tanesi β zincir varyantı,
- 1 tanesi gama zincir varyantı,
- 2 tanesi ise hibrid hemoglobin; 1 uzamış α zinciri ve 1 delesyon/insersiyon sonucu uzamış β zincir varyantıdır (Altay 2002).

-

1.3. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA)

1970 yıllarında Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) İlk kez metillenmiş arjininler insan idrarında tespit edilmiş olup, endojen Nitrik Oksit Sentaz Enzimi (NOS) inhibitörüdür. Bununla birlikte 1992'de kronik böbrek yetmezliği bulunan hastalarda adma yönelik ilk araştırma gerçekleştirilmiştir. ADMA'nın Son dönemlerde gerçekleştirilen pek çok araştırmada aterosklerozda ve endotel disfonksiyonunda rol üstlendiği ve belirteç şeklinde kullanılabileceği açıklanmıştır.

Ateroskleroz, hiperglisemi, hiperhomosisteinemi ve böbrek yetmezliği durumlarında da ADMA'nın serumda yükseldiği orataya konulmuştur (Cekmen ve ark. 2001).

Endotel tarafından sentezlenen Nitrik oksit (NO), inflamatuvar sitokinlerin salınımından vazodilatasyona kadar pekçok önemli işleve sahip bir moleküldür. farklı dokularda NO karmaşık işlevleri bulunmaktadır. Transplant rejeksiyonunda nonspesifik immunité, viral replikasyonun inhibisyonu, immünitede, rol üstlenir (Raghavan ve Dikshit 2004).

Vazorelaksasyon, kardiyovasküler sistemde, kan hücreleri düzenlenmesi, mikrovasküler permeabilitede ve miyokard kasılmasında etkindir (Anggard 1994).

Sinir sisteminde ağrı hassasiyeti, hafıza, öğrenme nörodejenerasyon ve epilepsiden sorumludur. (Moncada ve ark. 1989).

Solunum sisteminde astma, bronkodilatasyon ve akut respiratuvar distres sendromu patogenezinde ortaya çıkar (Gritti ve 2013).

ADMA'nın kan düzeyi arttıkça, NO sentezi azalmaktadır.

1.3.1. ADMA Sentezi

Protein içeriğinde yer alan L-arjininin aminoasidinin hücre içi metiltransferaz enzimleri ile metillenmesiyle ADMA ortaya çıkmaktadır. Protein arjinin metil transferaz (PRMT) 1 ve 2 enzimleriyle Metillenme, gerçekleşmektedir. PRMT enzimleri metil grubunu, (SAM) L – arjinine S – Adenozil metioninden transferini gerçekleştirerek metil gruplarının proteinlerdeki arjinin rezidülerinin guanidin

gruplarına ilavesine neden olur. SAH'de homosisteine hidrolize, Metil gurubu vericisi SAM'ın, S-Adenozil homosisteine (SAH) dönüşmesiyle oluşur (Mittermayer ve 2005).

Serbest metilarjinin rezidüleri, metilenmiş proteinlerin proteolitik katabolizması ile salınır. ADMA, N-monometil-L-arjinin (L-NMMA) ve Simetrik dimetilarjinin (SDMA) sentezlenir (Hu ve ark. 2001).

SDMA ve L-NMMA ADMA'nın izomerleridir. NOS enziminin üç formunu da ADMA kompetitif bir şekilde inhibe eder. 'Arjinin paradoksu', bu inhibisyonun, L – Arjininin yüksek konsantrasyonları ile geriye döndürülebilmesine denir.

NOS aktivitesini azaltan L-NMMA, ADMA kadar güçlüdür. Bununla birlikte ADMA konsantrasyonundan 10 kat daha plazma konsantrasyonu düşüktür. SDMA, ADMA ile eşit konsantrasyonlarda üretilir ancak NOS aktivitesine etkisi yoktur (Beltowski ve Kedra 2009).

PRMT enzimleri, metil arjininlerin sentezinden sorumludur ve iki çeşittir;

- PRMT – 1 enzimiyle L-NMMA ve ADMA oluşur.
- PRMT – 2 enzimi ile L-NMMA ve SDMA oluşur.

Metillenen proteinler nükleusta bulunup, metillenme irreversibldır ve RNA'nın transkripsiyonel kontrolünde ve işlenmesinde görev üstlenir. endotel hücrelerine katyonik aminoasit taşıyıcı (y taşıyıcısı) ile ADMA, SDMA ve L-NMMA olmak üzere, üç metil arjinin de girer. Hücreye giriş için arjininle üç metilarjininden her biri yarışa girer (Valkonen ve Laaksonen 1990).

L – arjininin hücre içine taşınmasını ADMA'nın yüksek konsantrasyonu mani olur, NO sentezinde azalma ile neticelenir. Metil arjininlerin lokal konsantrasyonlarında Y taşıyıcı aktivitesi önem taşımaktadır. Sistem metilarjininleri endotel hücrelerinde bu taşıyıcı konsantre eder. Bundan dolayı sirkülasyondan hücre içi konsantrasyonu daha fazladır. Sirkülasyonda daha fazla ADMA konsantrasyonunun Y taşıyıcı sisteminde defekt olması neden olur. Azaltılmış NO biyosentezi ile neticelenir (Anderssohn 2010).

Metabolik aktivitesi ve hücrenin protein turnover hızı, serbest metilarjininlerin miktarı ile ilişkilidir.

Protein katabolizması, musküler distrofi, diabet, İskemik kalp gibi çok farklı hastalıklarda artmıştır. NOS'u artan metilarjininler inhibe eder. Neticede azalmış kan akımı, artmış kan basıncı oluşur. endotel disfonksiyonunu Artmış ADMA konsantrasyonları işaret eder ve uygun bir belirteç olarak kardiyovasküler morbidite ve mortalite tahmin etmede kullanılır (Böger ve ark. 2005).

1.3.2. ADMA'nın Metabolizması

L-NMMA ve ADMA'nın dimetilarjinin dimetil amino hidrolaz (DDAH)enzimi %90'ından fazlasını metabolize eder. DDAH metilarjininleri dimetilamine ve sitrülün ya da monometilamine parçalar. DDAH enzimi, iki izoforma sahiptir. Benzer enzim aktivitesine ve benzer gen yapısı sahip olan bu izoformlar bununla birlikte farklı dokularda bulunurlar. DDAH1 enzimine yüksek miktarda karaciğer, testis, beyin, böbrek ve adrenal bez gibi nNOS eksprese eden dokular, aorta, plasenta kalp, gibi Endotelial Nitrikoksit Sentaz(eNOS) ve İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)eksprese eden dokular ise DDAH 2 enzimine sahiptirler.

ADMA konsantrasyonunun artmasına DDAH enziminin farmakolojik inhibisyonu neden olur. NO üretimini azaltır. Oksidatif strese karşı DDAH aktivitesi aşırı duyarlıdır. DDAH aktivitesini oksidatif stres ve inflamasyon azaltır. TNF – α veya okside LDL ile indüklenen oksidatif stres ile de DDAH aktivitesi azalmaktadır. ADMA seviyelerinin artmasına ve ADMA eliminasyonu bozulmasına ve NO üretiminin azalmasına, DDAH enziminin inaktivasyonu yol açar (Wang ve 2006).

1.3.3. ADMA Yüksekliği ile Seyreden Klinik Durumlar

ADMA metabolizmasındaki basamaklardan herhangi birinde oluşan defekt, serum seviyesi üzerinde tesirli olur. En önemli nedenleri; metilenmiş proteinlerin yıkımının artması, PRMT enzimi aktivitesindeki artış, DDAH enzim aktivitesindeki azalma ve böbrek yetmezliği neticesinde atılımın azalmasıdır. Organ yaralanmaları ve şiddetli inflamasyon gibi dejeneratif hastalıkların çoğunda proteolizde artış gözlemlenmiştir. Artan proteoliz, azalan eliminasyon ADMA birikimine yol açar. Plazma ADMA konsantrasyonu, önemli karaciğer yetmezliği bulunan hastalarda

artmaktadır. Bu durum karaciğerin önemli rolü ADMA metabolizmasında etkin olmaktadır (Wang ve ark. 2006).

ADMA'nın konsantrasyonu kronik böbrek yetmezliğinde fazlalaşmaktadır. Hemodiyaliz sonrası böbrek yetmezliği bulunan hastalarda ADMA seviyesinin düştüğü gözlemlenmiştir (Kielstein J.T., Böger R.H., Bode-Böger S.M., 594-600). Yüksek ADMA düzeyinin bu hastalarda endotelial yetmezlik neticesinde meydana geldiği fikri yaygındır (Cooke ve 2000).

Artmış ADMA seviyeleri renal yetmezlikli hastalarda artmış kardiyovasküler riski temsil eder ki bu da böbrek yetmezliğindeki mortalitenin en önemli nedenidir.(Beltowski ve Kedra 2006).

Aterosklerozun endotel disfonksiyonu erken dönemine işaret eder.ADMA endotel disfonksiyon belirteci olması kardiyovasküler hastalık riskini anlamada önemlidir (Wang ve ark 2006).

ADMA düzeyi Behçet hastalığı benzeri endotel hasarı ile devam eden dejeneratif hastalıklarda yüksek tespit edilmiştir.

Hiperlipidemi ve hiperinsülinemi ADMA üretimini stimüle etmekte, ADMA'nın üretimi ve ya yıkımından mesul enzimlerin düzeyinde ya da aktivitesinde farklılıklar meydana getirmektedir.

Yakın zamanda hipergliseminin, ADMA yıkımını katalizleyen DDAH seviyelerini azaltarak ADMA seviyelerinde artışa sebep olduğu gösterilmiştir (Tarnow ve ark. 2004).

Yüksek glikoz konsantrasyonu ADMA'yı yükseltir, hiperglisemik, insülin eksikliği olan ratlarda insülin tedavisi glukozu düşürmüş ve yüksek düzeylerdeki ADMA seviyelerini normal düzeye çekmiştir (Chan ve Chan 2002).

ADMA düzeyi endotel disfonksiyonu kardiyovasküler hastalık açısından riskli bulunan veya kronik aterosklerozu olan hasta grubunda bulunmaktadır.

Stroke pulmoner hipertansiyonda, koroner arter hastalığında, konjestif kalp yetmezliğinde, hiperhomosisteinemi, hiperlipidemide, hipertansiyonda, periferik

arter darlıklarında, ADMA düzeyleri yükselmiştir. Vasküler süperoksit seviyelerinin yükselmesi, vasküler NO elde edilebilirliğinin azalması ile ADMA ile oluşan endotel disfonksiyonu mekanizması gelişmektedir (Sydow ve ark. 2003).

Vasküler demans, Alzheimer ve demansta artmış serum ADMA seviyesi etkisiyle NO seviyesinin azalmasının bilişsel fonksiyon kaybına yol açtığı düşünülmektedir (Arlt ve ark. 2012).

ADMA katabolizmasından mesul bulunan n DDAH enziminin aktif bölümünde oksidatif stres sistein aminoasitine zarar vererek enzim aktivitesini düşürmektedir. Bu şekilde ADMA'nın yıkımı düşerken kan seviyesi de yükselmektedir (Batista ve ark. 2009). Bunlardan dolayı, ADMA düzeyi oksidatif stresin artmasına neden olan çok sayıdaki dejeneratif hastalıkta yüksek çıkmaktadır. L-arjinin, ADMA konsantrasyonu artmış hastalara verilmesi NOS enzim aktivitesinde yükselişe yol açar. Gerçekleştirilen bazı araştırmalarda dışarıdan L-arjinin verilerek ADMA'nın zararlı etkilerinin ters çevrildiği ve endotel işlevinin mühim bir seviyede düzeldiği ortaya konulmuştur.

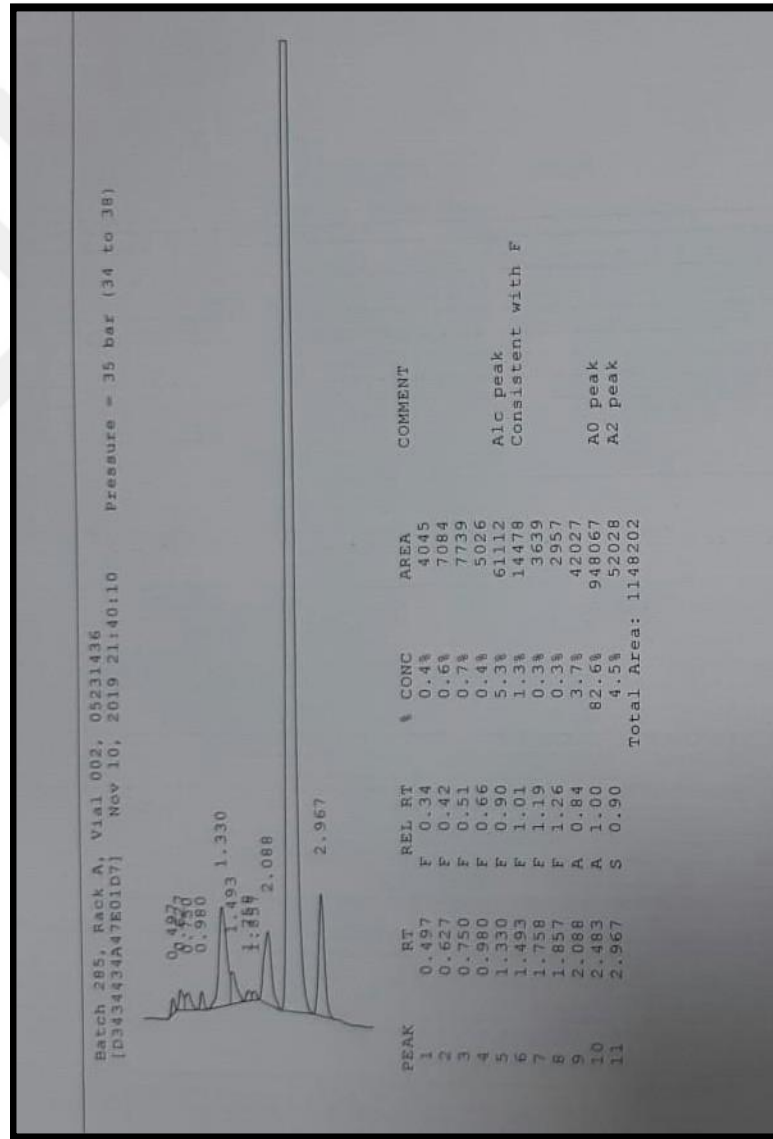
L-arjinin suplementasyonu, L-arjinin / ADMA oranı, yüksek ADMA konsantrasyonu bulunan kalp yetmezliği olan hastalarda iki kat yükseltmiş ve endotele bağlı vazodilatasyon düzelmiştir.

L-arjinin sağlığı yerinde olan kişilere dışarıdan verilmesi endotelde vazodilatasyonu etkilememiştir (Scalera ve ark. 2004).

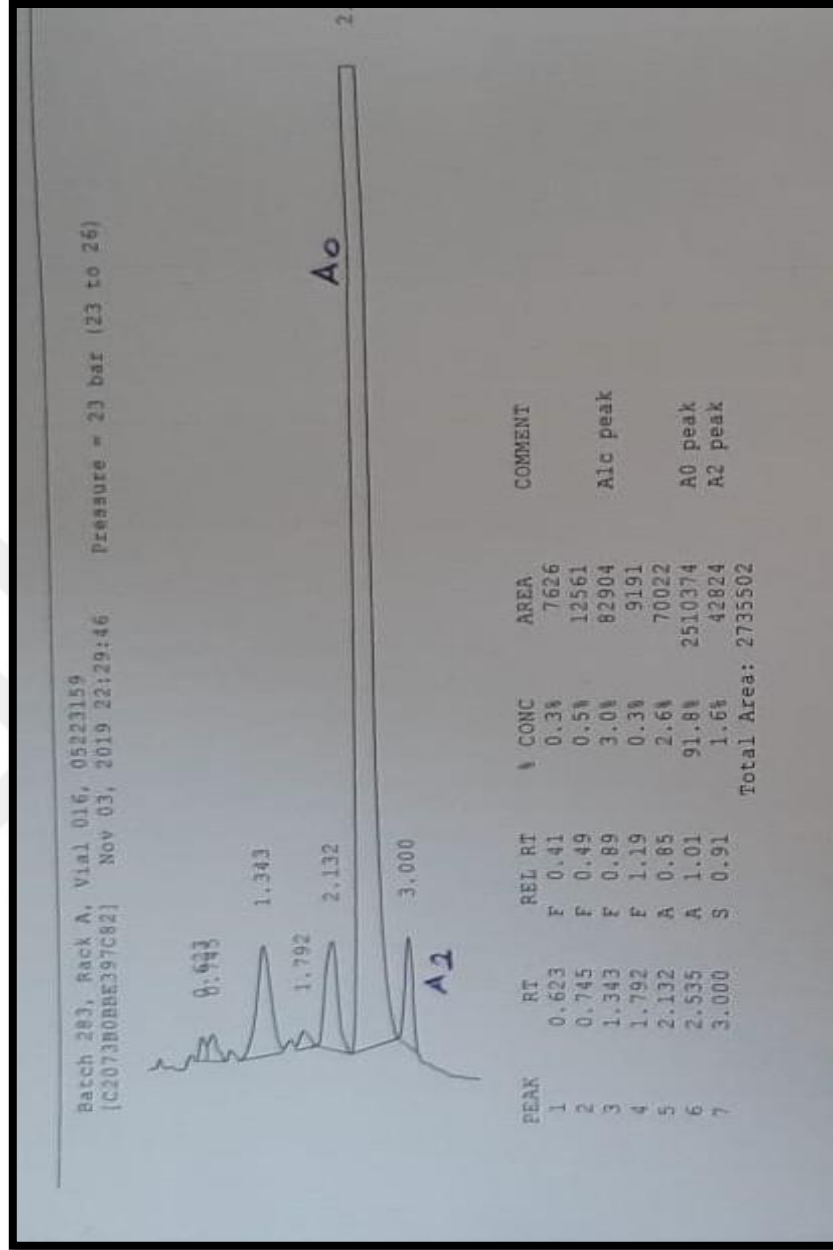
2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Numune Toplanması ve Hasta Sınıflandırması

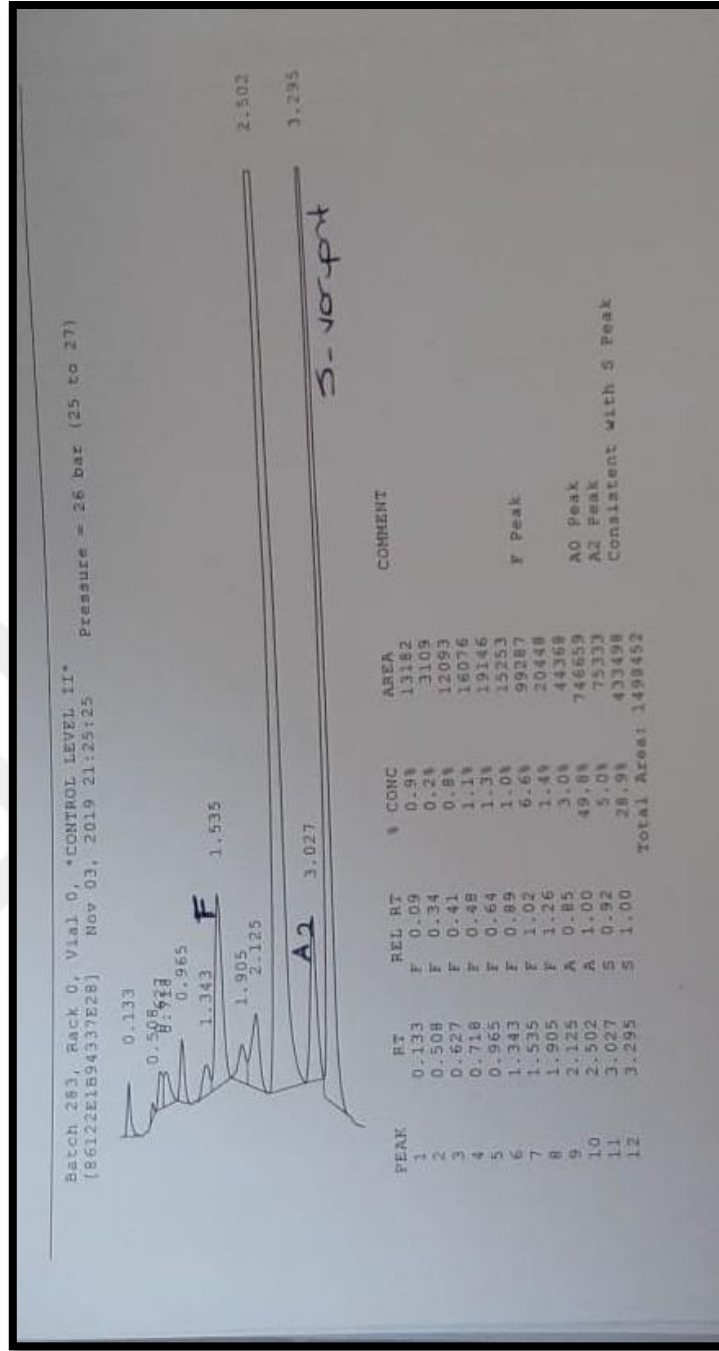
Talasemi ve hemoglobinopati hastalarında plazma metilarjinin düzeylerini belirlemek amacıyla toplamda 120 hastadan kan numunesi toplanmış HPLC cihazında hemoglobin türlerine bakılarak numuneler üç gruba ayrılmıştır. Tüm çalışmalar tamamlandıktan sonra toplam 120 hastadan 50 tanesi pozitif grup, 50 tanesi negatif grup ve 20 tanesi varyant grup olarak belirlenmiştir.



Şekil 2.1. Pozitif Grup: HbA2 değeri 3,5'un üzerinde olan hasta grubudur.



Şekil 2.3. Negatif Grup: HbA2 değeri 3.5'un altında ve HbF değeri 2'nin altında olan hasta grubudur.



Şekil 2.3. Varyant Grup: HbF ve HbA0 hemoglobinleri dışında anormal bir hemoglobinin tespit edildiği hasta grubudur.

2.2. Yöntem

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Metabolizma Laboratuvarında bulunan Sıvı Kromatografi-Tandem Kütle Spektrometre (LC-MS/MS) Elektrosprey iyonizasyon (ESI 3200) cihazıyla Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji polikliniğine başvuran talasemi hastaların istenen test istemi yapıldıktan sonra artan kan örneklerinden elde edilen serumlarda ticari kit kullanılarak kit prospektüsüne göre ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin, sitrülün, ornitin, homoarjinin ve metilarjininlerin düzeyleri ölçülecektir. Çalışmamızda, hastalardan hekimlerin istediği testler için alınan kan örneklerinden başka kan alınmayacaktır.

2.3. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

2.3.1. Cihazlar

- Sıvı Kromatografi-Tandem Kütle Spektrometre (LC-MS/MS) Elektrosprey iyonizasyon (ESI 3200)
- Santrifüj (Beckman Coulter Allegratm X-2212)
- Vorteks (Dragon Lab, Almanya)
- Ayarlanabilir Otomatik Pipetler (Brand, Almanya)

2.3.2. Kimyasallar

- Bütanol
- Asetilklorid
- HPLC Grade Su
- Metanol
- Formik Asit

2.4. ADMA Çalışma Prosedürü

2.4.1. Gerekli Reaktifler ve Reaktiflerin Hazırlanışı

2.4.1.1. Türevleştirici Reaktif

Bir cam veya behere 19 ml bütanol koyulur. Üzerine 1 ml asetilklorid eklenir.

Türevleştirici reaktif taze hazırlanır ve her örnek için 200 mikrolitre kullanılır.

2.4.1.2. Çözdürücü Reaktif

18 ml HPLC grade distile su cam beher veya erlene koyulur. Üzerine 2 ml metanol eklenir. Bu karışım 90:10 oranında su:metanoldür. Çözdürücü reaktiften 20 mikrolitre çekip atılır. Üzerine 20 mikrolite formik asit eklenir.

Çözdürücü reaktif taze olarak hazırlanır, her örnek için 200 mikrolitre kullanılır.

2.4.1.3. Mobil Faz A

1 litre HPLC grade su içerisinde 1 ml çekilip atılır. Üzerine 1 ml formik asit ilave edilir.

2.4.1.4. Mobil Faz B

1 litre metanol içerisinde 1 ml çekilip atılır. Üzerine 1 ml formik asit ilave edilir.

2.4.2. Çalışma Prosedürü

- Ependorflar sıralanıp hasta listesine göre numaralandırılır.
- Örnekten 200 mikrolitre ependorflara sırasına uygun olarak koyulur.
- Üzerine 1 ml metanol eklenir. Hafifçe vortekslendikten sonra 13000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatant, alttaki partiküllerden çekmemeye dikkat edilerek cam tüpe alınır ve 60 °C'de azot gazı altında uçurulur.

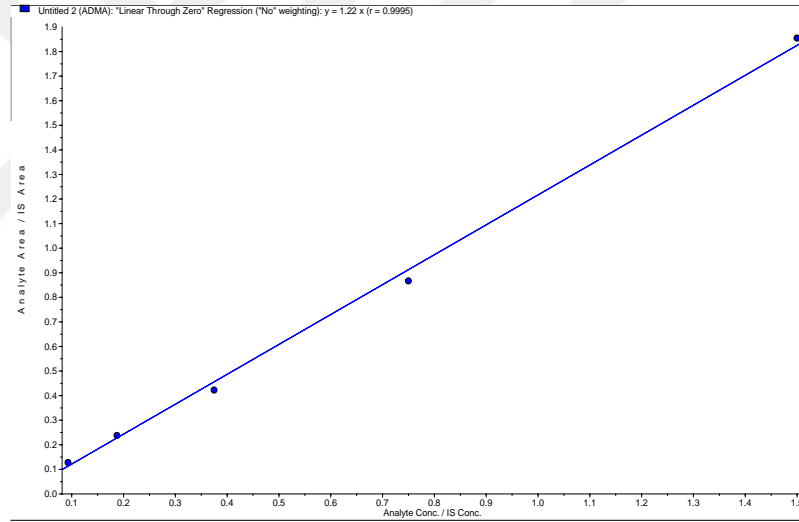
- 200 mikrolitre türevleştirici reaktif eklenir ve 60 °C’de 20 dakika inkübasyona bırakılır. 20 dakikadan sonra tekrar azot gazı altında uçurma işlemi yapılır.

- 200 mikrolitre çözdürücü reaktif ile çözdürülerek viallere alınır.

- Cihaza numuneler verilmeden önce 5 noktalı kalibrasyon eğrisi çizilir. Kalibrasyon eğrisi şekil 1’de verilmiştir.

- Kalibrasyon eğrisinden sonra cihaz şartları ayarlanır. Cihaz şartları şekil 2’de verilmiştir.

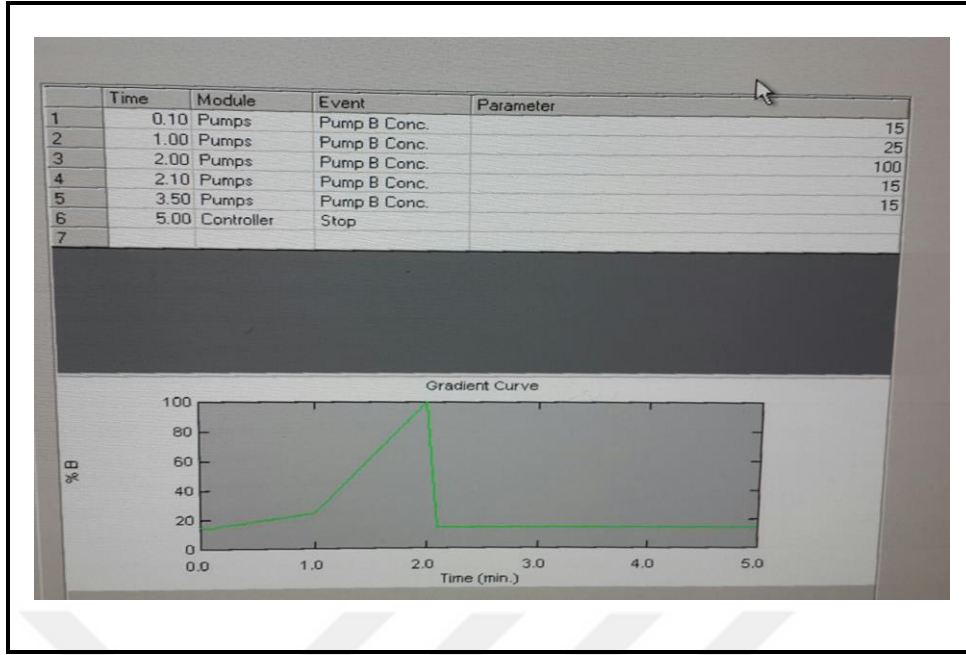
- Cihaz şartları ayarlandıktan sonra viallerdeki hazır numuneler cihaza (LC-MS-MS) verilir.



Şekil 2.1. ADMA Kalibrasyon Eğrisi.

Declustering Potential (DP)	: 40.000
Entrance Potential (EP)	: 7.500
Collision Energy (CE)	: 24.000
Collision Cell Exit Potential (CXP)	: 4.000
Pumping Mode	: Binary Flow
Total Flow	: 0.8000 mL/min
Pressure Range (Pump A/B)	: 0 - 400 bar
Oven	: Disabled
Ion Source	: Turbo Sprey
Curtain Gas (CUR)	: 10.0
Collision Gas (CAD)	: 5.0
IonSprey Voltage (IS)	: 5500.0
Temperature (TEM)	: 600.0
Ion Source Gas 1 (GS1)	: 40.0
Ion Source Gas 2 (GS2)	: 60.0
Interface Heater (ihe)	: On
İnjection Volume	: 40 µl
Analiz Süresi	: 5 Dk
Kolon	: Phenomenex C18 kromatografi kolonu
Mobil Faz A	: %100HPLC Grade su + %0.1 Formik Asit
Mobil Faz B	: %100 Metanol + %0.1 Formik Asit

Şekil 2.2. Cihaz Şartları.



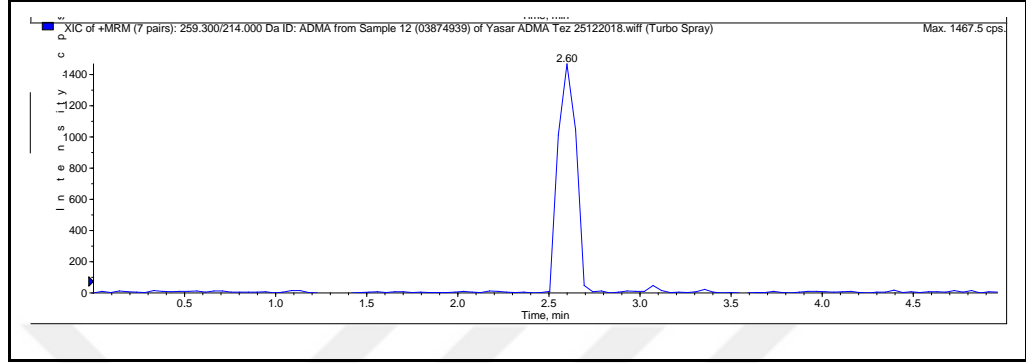
Şekil 2.3. Akış Gradienti.

Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (Volts)	EP (Volts)	CEP (Volts)	CE (Volts)	CXP (Volts)
259.300	214.000	400.0	ADMA	40.000	7.500	17.267	24.000	4.000
231.300	70.000	400.0	ARGININE	40.000	7.500	16.343	24.000	4.000
232.300	113.000	400.0	SITRULIN	40.000	7.500	16.376	24.000	4.000
359.300	228.000	400.0	SDMA	40.000	7.500	17.267	24.000	4.000
366.610	221.000	400.0	D7-ADMA	40.000	7.500	17.508	24.000	4.000
245.300	70.200	400.0	NMMA	40.000	7.500	16.805	24.000	4.000
245.200	84.200	400.0	HOMOARGININE	40.000	7.500	16.802	24.000	4.000

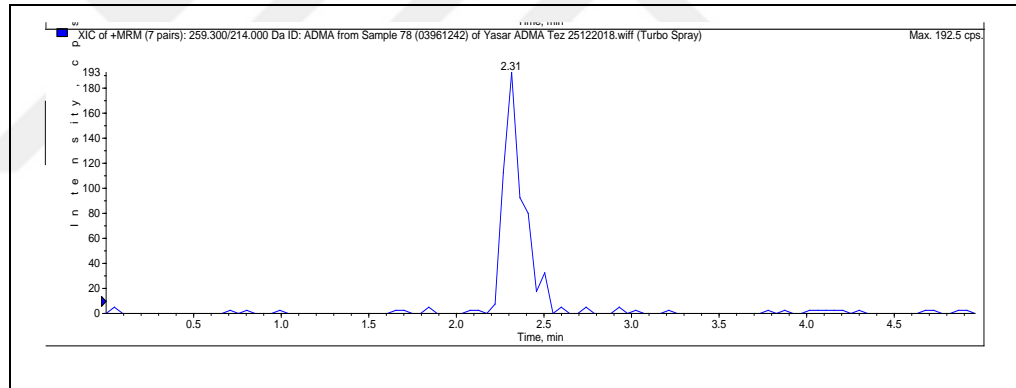
Şekil 2.4. Multiple Reaction Monitoring Tablosu.

2.5. Elde Edilen Pikler

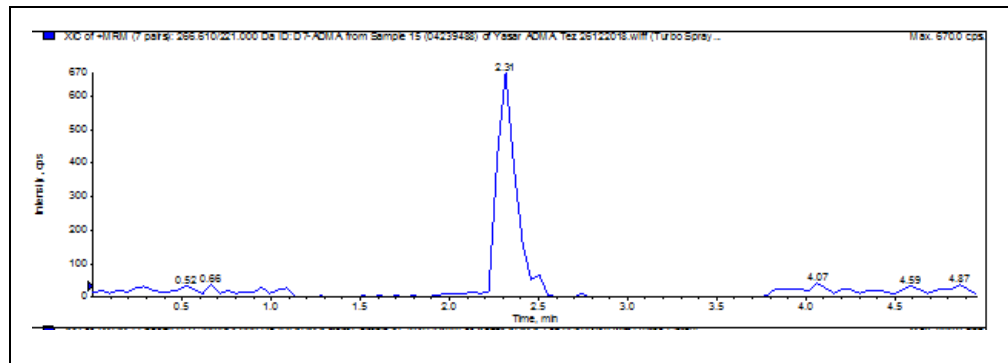
Çalışmamız pozitif, negatif ve varyant grup olmak üzere üç grupta tamamlanmıştır. LC-MS/MS cihazında çalışılan gruplara ait pikler aşağıdaki şekil 2.5, şekil 2.6 ve şekil 2.7'deki tablolarda gösterilmiştir.



Şekil 2.5..Pozitif Grup ADMA Piki.



Şekil 2.6. Negatif Grup ADMA Piki.



Şekil 2.7. Varyant Grup ADMA Piki.

3. BULGULAR

3.1. Parametrelerin Gruplara Göre Karşılaştırılması

Yaş, HGB, RBC, MCV, MCH, ferritin, ADMA, arjinin, homoarjinin, L-NMMA, SDMA ve sitrülün parametrelerinin pozitif grup, negatif grup ve varyant grupları arasında anlamlı farklılık gösterip göstermediği “Varyans Analizi” (ANOVA) ve fark varsa “Çoklu Karşılaştırma Testi” (post-hoc) yapılarak karşılaştırılmış ve elde edilen bulgular alt başlıklar halinde sunulmuştur.

3.1.1. Yaş

Yaşa göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Para-Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p	Post-Hoc	
	NG	PG	VG							
	(1)	(2)	(3)							
				Gruplar Arası	690.50	2	345.25			
YAŞ	33.2	35.1	28.2	Gruplar İçi	42602.17	117	364.12	0.948	0.39	-
				Toplam	43292.67	119				

* (1) PG: Pozitif Grup, (2) NG: Negatif Grup, (3) VG: Varyant Grup

Çizelge 3.1. Yaşın Gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; pozitif, negatif ve varyant grupları arasında yaşa göre anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (F=0.948; p=0.39>0.05).

3.1.2. HGB

HGB parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Para-Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p	Post-Hoc	
	NG	PG	VG							
	(1)	(2)	(3)							
				Gruplar Arası	58.58	2	29.29			
HGB	12.6	11.8	13.9	Gruplar İçi	265.41	102	2.60	11.256	0.00	3>1 3>2
				Toplam	323.98	104				

Çizelge 3.2. HGB'nin Gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; HGB'nin pozitif, negatif ve varyant grupları arasında anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (F=11.256; p=0.00<0.05). Yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda varyant grubun HGB ortalamasının hem pozitif hem de negatif gruptan anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

3.1.3. RBC

RBC parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Para-Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p	Post-Hoc	
	NG	PG	VG							
	(1)	(2)	(3)							
				Gruplar Arası	7.95	2	3.98			
RBC	5.00	5.58	5.04	Gruplar İçi	66.89	102	0.66	6.062	0.00	2>1 2>3
				Toplam	74.84	104				

Çizelge 3.3. RBC'nin Gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; RBC'nin pozitif, negatif ve varyant grupları arasında anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (F=6.062; p=0.00<0.05). Yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda negatif grubun RBC ortalamasının hem negatif hem de varyant gruptan anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

3.1.4. MCV

MCV parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Para-Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p	Post-Hoc	
	NG	PG	VG							
	(1)	(2)	(3)							
				Gruplar Arası	4261.35	2	2130.67			
MCV	78.6	67.4	83.5	Gruplar İçi	9373.55	102	91.90	23.185	0.00	1>2 3>2
				Toplam	13634.90	104				

Çizelge 3.4. MCV'nin gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; MCV'nin pozitif, negatif ve varyant grupları arasında anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (F=23.185; p=0.00<0.05). Yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda negatif ve varyant grupların MCV ortalamasının pozitif gruptan anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

3.1.5. MCH

MCH parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Para-Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p	Post-Hoc	
	NG	PG	VG							
	(1)	(2)	(3)							
				Gruplar Arası	592.89	2	296.45			
MCH	25.6	21.6	27.9	Gruplar İçi	1519.07	102	14.89	19.905	0.00	1>2 3>2
				Toplam	2111.96	104				

Çizelge 3.5. MCH'nin Gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; MCH'nin pozitif, negatif ve varyant grupları arasında anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (F=19.905; p=0.00<0.05). Yapılan çoklu

karşılaştırma sonucunda negatif ve varyant grupların MCH ortalamasının pozitif gruptan anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

3.1.6. Ferritin

Ferritin parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.6'da verilmiştir.

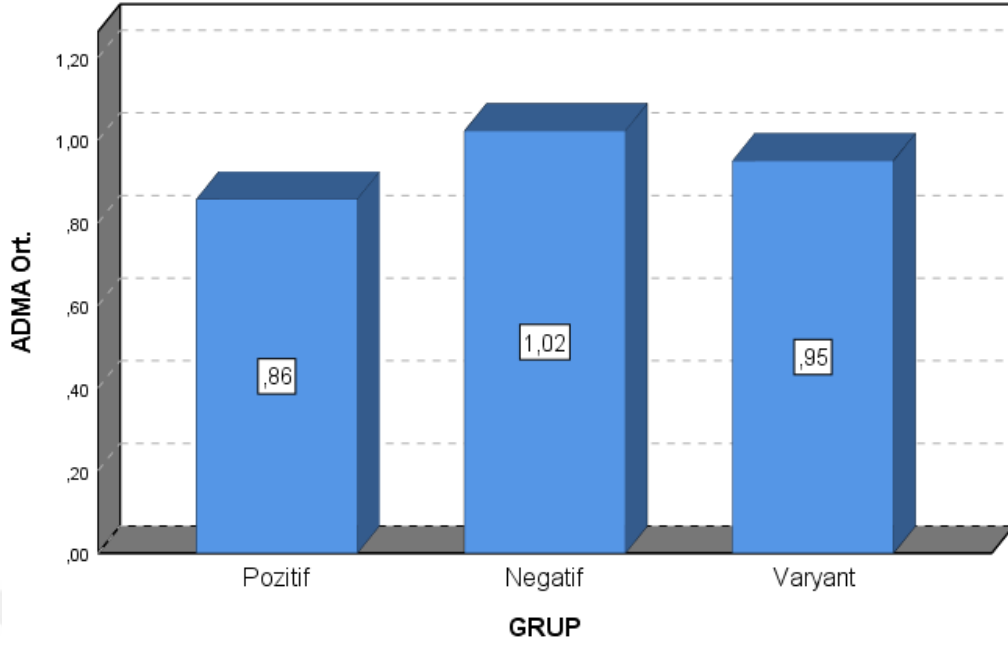
Para-Metre	Grup* Ortalamaları			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortalaması	F	p	Post-Hoc	
	NG (1)	PG (2)	VG (3)							
				Gruplar Arası	7104.53	2	3552.26			
FER-RİTİN	44.3	64.1	62.2	Gruplar İçi	210202.8	75	2802.70	1.267	0.29	-
				Toplam	217307.4	77				

Çizelge 3.6. Ferritin'in Gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; pozitif, negatif ve varyant grupları arasında ferritin parametresine göre anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (F=1.267; p=0.29>0.05).

3.1.7. ADMA

Şekil 3.1'de pozitif, negatif ve varyant gruplara ait ADMA ortalamaları verilmiştir.



Şekil 3.1. Grupların ADMA Ortalamaları.

ADMA parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.7’de verilmiştir.

Buna göre; ADMA’nın pozitif, negatif ve varyant grupları arasında anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($F=5.699$; $p=0.00<0.05$). Yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda pozitif grubun ADMA ortalamasının negatif gruptan anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.7).

Para- Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortala- ması	F	P	Post- Hoc	
	NG (1)	PG (2)	VG (3)							
			Grupla r Arası	0.67	2	0.33				
ADM A	0.86	1.02	0.95	Grupla r İçi	6.69	114	0.06	5.699	0.00	2>1
			Topla m	7.36	116					

Çizelge 3.7. ADMA’nın Gruplara Göre Karşılaştırılması.

3.1.8. Arjinin

Arjinin parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.8’de verilmiştir.

Para- Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortala- ması	F	p	Post- Hoc	
	NG (1)	PG (2)	VG (3)							
ARJİ- NİN				Grupla r Arası	169766.7	2	84883.3			
	177	117	77.4	Grupla r İçi	681756.7	114	5980.32	14.194	0.00	1>2 1>3
				Topla m	851523.4	116				

Çizelge 3.8. Arjinin’in Gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; arjinin’in pozitif, negatif ve varyant grupları arasında anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (F=14.194; p=0.00<0.05).

Yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda negatif grubun arjinin ortalamasının hem pozitif hem de varyant gruptan anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir

3.1.9. Homoarjinin

Homoarjinin parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.9’da verilmiştir.

Para- Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortala- ması	F	p	Post- Hoc	
	NG (1)	PG (2)	VG (3)							
HOM OARJİ -NİN				Grupla r Arası	10.25	2	5.12			
	7.91	8.42	8.64	Grupla r İçi	473.45	117	4.05	1.266	0.29	-
				Topla m	483.69	119				

Çizelge 3.9. Homoarjinin’in Gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; pozitif, negatif ve varyant grupları arasında homoarjinin parametresine göre anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (F=1.266; p=0.29>0.05).

3.1.10. L-NMMA

L-NMMA parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.10'da verilmiştir.

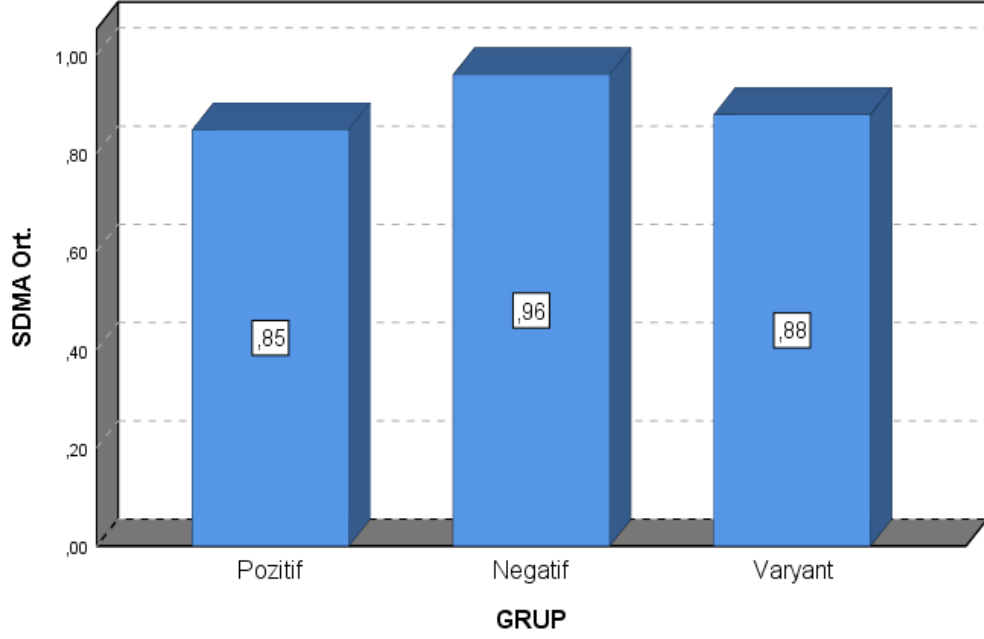
Para- Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortala- ması	F	p	Post- Hoc
	NG (1)	PG (2)	VG (3)						
L- NMM A			Grupla r Arası	0.27	2	0.13			
	0.13	0.23	0.18	Grupla r İçi	0.56	114	0.00	27.209	0.00
			Topla m	0.83	116				2>1 2>3 3>1

Çizelge 3.10. L-NMMA'nın Gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; L-NMMA'nın pozitif, negatif ve varyant grupları arasında anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (F=27.209; p=0.00<0.05). Yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda pozitif grubun L-NMMA ortalamasının hem negatif hem de varyant gruptan, ayrıca varyant grubun L-NMMA ortalamasının negatif gruptan anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

3.1.11. SDMA

Şekil 3.2'de pozitif, negatif ve varyant gruplara ait SDMA ortalamaları verilmiştir.



Şekil 3.2. Grupların SDMA Ortalamaları.

SDMA parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.11’de verilmiştir.

Para- Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortala- ması	F	p	Post- Hoc
	NG (1)	PG (2)	VG (3)						
				Grupla r Arası	0.29	2	0.15		
SDMA	0.85	0.96	0.88	Grupla r İçi	4.34	107	0.04	3.589	0.03 2>1
				Topla m	4.63	109			

Çizelge 3.11. SDMA’nın Gruplara Göre Karşılaştırılması.

Buna göre; SDMA’nın pozitif, negatif ve varyant grupları arasında anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (F=3.589; p=0.03<0.05). Yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda pozitif grubun SDMA ortalamasının negatif gruptan anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

3.1.12. Sitrülin

Sitrülin parametresine göre yapılan karşılaştırma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.12’de verilmiştir.

Buna göre; sitrülinin pozitif, negatif ve varyant grupları arasında anlamlı bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($F=21,857$; $p=0,00<0,05$). Yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda negatif ve varyant grupların sitrülin ortalamasının pozitif gruptan anlamlı olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.12).

Para- Metre	Grup*			Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ortala- ması	F	p	Post- Hoc	
	NG (1)	PG (2)	VG (3)							
SIT- RU- LIN			Grupla r Arası	14783.18	2	7391.59				
	39.1	15.6	35.6	Grupla r İçi	38891.13	115	338.18	21.857	0.00	1>2 3>2
			Topla m	53674.31	117	345.25				

Çizelge 3.12. Sitrülin’in Gruplara Göre Karşılaştırılması.

3.2. Gruplar Arası İkili Karşılaştırmalar

Önceki başlık altında verilen üçlü karşılaştırmalardan sonra bu bölümde yaş, HGB, RBC, MCV, MCH, ferritin, ADMA, arjinin, homoarjinin, L-NMMA, SDMA ve sitrülin parametreleri pozitif grup, negatif grup ve varyant grupları arasında t-testi kullanılarak ikili gruplar halinde karşılaştırılmıştır.

3.2.1. Pozitif ve Varyant Grup

Pozitif ve varyant grupların karşılaştırılması sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.13’te verilmiştir.

Parametre	Grup	N	\bar{x}	Ss	t	Sd	P																																																																																																																																
Yaş	Negatif	50	33.24	16.51	1.649	61	0.104																																																																																																																																
	Varyant	20	28.15	9.03				HGB	Negatif	46	12.61	1.68	-2.690	63	0.009	Varyant	19	13.94	2.13	RBC	Negatif	46	5.00	0.75	-0.159	63	0.874	Varyant	19	5.04	0.72	MCV	Negatif	46	78.58	9.99	-1.911	63	0.061	Varyant	19	83.47	7.62	MCH	Negatif	46	25.56	4.15	-2.158	63	0.035	Varyant	19	27.85	3.17	Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.248	50	0.218	Varyant	16	62.24	42.17	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-1.792	68	0.078	Varyant	20	0.95	0.23	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	4.628	67	0.000	Varyant	20	77.40	62.95	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.277	68	0.206	Varyant	20	8.64	2.08	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000	Varyant	20	0.18	0.06	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410
HGB	Negatif	46	12.61	1.68	-2.690	63	0.009																																																																																																																																
	Varyant	19	13.94	2.13				RBC	Negatif	46	5.00	0.75	-0.159	63	0.874	Varyant	19	5.04	0.72	MCV	Negatif	46	78.58	9.99	-1.911	63	0.061	Varyant	19	83.47	7.62	MCH	Negatif	46	25.56	4.15	-2.158	63	0.035	Varyant	19	27.85	3.17	Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.248	50	0.218	Varyant	16	62.24	42.17	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-1.792	68	0.078	Varyant	20	0.95	0.23	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	4.628	67	0.000	Varyant	20	77.40	62.95	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.277	68	0.206	Varyant	20	8.64	2.08	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000	Varyant	20	0.18	0.06	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64								
RBC	Negatif	46	5.00	0.75	-0.159	63	0.874																																																																																																																																
	Varyant	19	5.04	0.72				MCV	Negatif	46	78.58	9.99	-1.911	63	0.061	Varyant	19	83.47	7.62	MCH	Negatif	46	25.56	4.15	-2.158	63	0.035	Varyant	19	27.85	3.17	Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.248	50	0.218	Varyant	16	62.24	42.17	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-1.792	68	0.078	Varyant	20	0.95	0.23	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	4.628	67	0.000	Varyant	20	77.40	62.95	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.277	68	0.206	Varyant	20	8.64	2.08	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000	Varyant	20	0.18	0.06	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64																				
MCV	Negatif	46	78.58	9.99	-1.911	63	0.061																																																																																																																																
	Varyant	19	83.47	7.62				MCH	Negatif	46	25.56	4.15	-2.158	63	0.035	Varyant	19	27.85	3.17	Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.248	50	0.218	Varyant	16	62.24	42.17	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-1.792	68	0.078	Varyant	20	0.95	0.23	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	4.628	67	0.000	Varyant	20	77.40	62.95	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.277	68	0.206	Varyant	20	8.64	2.08	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000	Varyant	20	0.18	0.06	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64																																
MCH	Negatif	46	25.56	4.15	-2.158	63	0.035																																																																																																																																
	Varyant	19	27.85	3.17				Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.248	50	0.218	Varyant	16	62.24	42.17	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-1.792	68	0.078	Varyant	20	0.95	0.23	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	4.628	67	0.000	Varyant	20	77.40	62.95	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.277	68	0.206	Varyant	20	8.64	2.08	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000	Varyant	20	0.18	0.06	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64																																												
Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.248	50	0.218																																																																																																																																
	Varyant	16	62.24	42.17				ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-1.792	68	0.078	Varyant	20	0.95	0.23	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	4.628	67	0.000	Varyant	20	77.40	62.95	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.277	68	0.206	Varyant	20	8.64	2.08	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000	Varyant	20	0.18	0.06	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64																																																								
ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-1.792	68	0.078																																																																																																																																
	Varyant	20	0.95	0.23				Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	4.628	67	0.000	Varyant	20	77.40	62.95	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.277	68	0.206	Varyant	20	8.64	2.08	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000	Varyant	20	0.18	0.06	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64																																																																				
Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	4.628	67	0.000																																																																																																																																
	Varyant	20	77.40	62.95				Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.277	68	0.206	Varyant	20	8.64	2.08	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000	Varyant	20	0.18	0.06	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64																																																																																
Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.277	68	0.206																																																																																																																																
	Varyant	20	8.64	2.08				L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000	Varyant	20	0.18	0.06	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64																																																																																												
L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-3.889	67	0.000																																																																																																																																
	Varyant	20	0.18	0.06				SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510	Varyant	19	0.88	0.20	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64																																																																																																								
SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-0.663	65	0.510																																																																																																																																
	Varyant	19	0.88	0.20				Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410	Varyant	20	35.62	9.64																																																																																																																				
Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	0.829	65	0.410																																																																																																																																
	Varyant	20	35.62	9.64																																																																																																																																			

Çizelge 3.13. Negatif ve Varyant Grup Parametrelerinin Karşılaştırılması.

Buna göre, negatif ve varyant grup parametrelerinin karşılaştırılması sonucunda negatif ve varyant gruplara ait HGB, MCH, arjinin ve L-NMMA parametrelerinin birbirinden anlamlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Varyant grubun HGB, MCH ve L-NMMA ortalamaları negatif gruptan anlamlı olarak daha fazladır. Negatif grubun ise arjinin ortalaması varyant gruptan anlamlı olarak daha fazladır.

3.2.2. Negatif ve Pozitif Grup

Pozitif ve negatif grupların karşılaştırılması sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 3.14'te verilmiştir.

Parametre	Grup	N	\bar{x}	Ss	t	Sd	P																																																																																																																																
Yaş	Negatif	50	33.24	16.51	-0.454	87	0.651																																																																																																																																
	Pozitif	50	35.10	23.77				HGB	Negatif	46	12.61	1.68	2.478	84	0.015	Pozitif	40	11.82	1.21	RBC	Negatif	46	5.00	0.75	-3.215	84	0.002	Pozitif	40	5.58	0.91	MCV	Negatif	46	78.58	9.99	5.196	84	0.000	Pozitif	40	67.40	9.91	MCH	Negatif	46	25.56	4.15	4.545	84	0.000	Pozitif	40	21.64	3.80	Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.392	60	0.169	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-3.297	75	0.001	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	3.716	95	0.000	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.278	98	0.204	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000
HGB	Negatif	46	12.61	1.68	2.478	84	0.015																																																																																																																																
	Pozitif	40	11.82	1.21				RBC	Negatif	46	5.00	0.75	-3.215	84	0.002	Pozitif	40	5.58	0.91	MCV	Negatif	46	78.58	9.99	5.196	84	0.000	Pozitif	40	67.40	9.91	MCH	Negatif	46	25.56	4.15	4.545	84	0.000	Pozitif	40	21.64	3.80	Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.392	60	0.169	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-3.297	75	0.001	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	3.716	95	0.000	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.278	98	0.204	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36								
RBC	Negatif	46	5.00	0.75	-3.215	84	0.002																																																																																																																																
	Pozitif	40	5.58	0.91				MCV	Negatif	46	78.58	9.99	5.196	84	0.000	Pozitif	40	67.40	9.91	MCH	Negatif	46	25.56	4.15	4.545	84	0.000	Pozitif	40	21.64	3.80	Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.392	60	0.169	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-3.297	75	0.001	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	3.716	95	0.000	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.278	98	0.204	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																				
MCV	Negatif	46	78.58	9.99	5.196	84	0.000																																																																																																																																
	Pozitif	40	67.40	9.91				MCH	Negatif	46	25.56	4.15	4.545	84	0.000	Pozitif	40	21.64	3.80	Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.392	60	0.169	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-3.297	75	0.001	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	3.716	95	0.000	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.278	98	0.204	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																
MCH	Negatif	46	25.56	4.15	4.545	84	0.000																																																																																																																																
	Pozitif	40	21.64	3.80				Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.392	60	0.169	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-3.297	75	0.001	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	3.716	95	0.000	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.278	98	0.204	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																												
Ferritin	Negatif	36	44.32	50.01	-1.392	60	0.169																																																																																																																																
	Pozitif	26	64.14	61.97				ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-3.297	75	0.001	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	3.716	95	0.000	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.278	98	0.204	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																								
ADMA	Negatif	50	0.86	0.18	-3.297	75	0.001																																																																																																																																
	Pozitif	47	1.02	0.30				Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	3.716	95	0.000	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.278	98	0.204	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																				
Arjinin	Negatif	49	177.40	87.68	3.716	95	0.000																																																																																																																																
	Pozitif	48	117.11	71.08				Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.278	98	0.204	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																
Homoarjinin	Negatif	50	7.91	2.18	-1.278	98	0.204																																																																																																																																
	Pozitif	50	8.42	1.79				L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																												
L-NMMA	Negatif	49	0.13	0.05	-7.118	69	0.000																																																																																																																																
	Pozitif	48	0.23	0.09				SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																																								
SDMA	Negatif	48	0.85	0.16	-2.576	71	0.012																																																																																																																																
	Pozitif	43	0.96	0.24				Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																																																				
Sitrülin	Negatif	48	39.12	25.11	5.851	67	0.000																																																																																																																																
	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																																																																			

Çizelge 3.14. Pozitif ve Negatif Grup Parametrelerinin Karşılaştırılması.

Buna göre, negatif ve pozitif grup parametrelerinin karşılaştırılması sonucunda pozitif ve negatif gruplara ait HGB, RBC, MCV, MCH, ADMA, arjinin, L-NMMA, SDMA ve sitr lin parametrelerinin birbirinden anlamlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Pozitif grubun RBC, ADMA, L-NMMA ve SDMA ortalamaları negatif gruptan anlamlı olarak daha fazladır. Negatif grubun ise HGB, MCV, MCH, arjinin ve sitr lin ortalamaları pozitif gruptan anlamlı olarak daha fazladır.

3.2.3. Varyant ve Pozitif Grup

Varyant ve pozitif grupların karşılaştırılması sonucunda elde edilen bulgular  izelge 3.15'te verilmiştir.

Buna göre, varyant ve pozitif grup parametrelerinin karşılaştırılması sonucunda varyant ve pozitif gruplara ait HGB, RBC, MCV, MCH, arjinin, L-NMMA ve sitr lin parametrelerinin birbirinden anlamlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Pozitif grubun RBC, arjinin ve L-NMMA ortalamaları varyant gruptan anlamlı olarak daha fazladır. Varyant grubun ise HGB, MCV, MCH ve sitr lin ortalamaları pozitif gruptan anlamlı olarak daha fazladır.

Parametre	Grup	N	\bar{x}	Ss	t	Sd	P																																																																																																																																
Yaş	Varyant	20	28.15	9.03	-1.772	67	0.081																																																																																																																																
	Pozitif	50	35.10	23.77				HGB	Varyant	19	13.94	2.13	4.049	23	0.000	Pozitif	40	11.82	1.21	RBC	Varyant	19	5.04	0.72	-2.281	57	0.026	Pozitif	40	5.58	0.91	MCV	Varyant	19	83.47	7.62	6.236	57	0.000	Pozitif	40	67.40	9.91	MCH	Varyant	19	27.85	3.17	6.177	57	0.000	Pozitif	40	21.64	3.80	Ferritin	Varyant	16	62.24	42.17	-0.108	40	0.914	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Varyant	20	0.95	0.23	-1.069	45	0.291	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Varyant	20	77.40	62.95	-2.167	66	0.034	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Varyant	20	8.64	2.08	0.438	68	0.663	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000
HGB	Varyant	19	13.94	2.13	4.049	23	0.000																																																																																																																																
	Pozitif	40	11.82	1.21				RBC	Varyant	19	5.04	0.72	-2.281	57	0.026	Pozitif	40	5.58	0.91	MCV	Varyant	19	83.47	7.62	6.236	57	0.000	Pozitif	40	67.40	9.91	MCH	Varyant	19	27.85	3.17	6.177	57	0.000	Pozitif	40	21.64	3.80	Ferritin	Varyant	16	62.24	42.17	-0.108	40	0.914	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Varyant	20	0.95	0.23	-1.069	45	0.291	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Varyant	20	77.40	62.95	-2.167	66	0.034	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Varyant	20	8.64	2.08	0.438	68	0.663	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36								
RBC	Varyant	19	5.04	0.72	-2.281	57	0.026																																																																																																																																
	Pozitif	40	5.58	0.91				MCV	Varyant	19	83.47	7.62	6.236	57	0.000	Pozitif	40	67.40	9.91	MCH	Varyant	19	27.85	3.17	6.177	57	0.000	Pozitif	40	21.64	3.80	Ferritin	Varyant	16	62.24	42.17	-0.108	40	0.914	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Varyant	20	0.95	0.23	-1.069	45	0.291	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Varyant	20	77.40	62.95	-2.167	66	0.034	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Varyant	20	8.64	2.08	0.438	68	0.663	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																				
MCV	Varyant	19	83.47	7.62	6.236	57	0.000																																																																																																																																
	Pozitif	40	67.40	9.91				MCH	Varyant	19	27.85	3.17	6.177	57	0.000	Pozitif	40	21.64	3.80	Ferritin	Varyant	16	62.24	42.17	-0.108	40	0.914	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Varyant	20	0.95	0.23	-1.069	45	0.291	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Varyant	20	77.40	62.95	-2.167	66	0.034	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Varyant	20	8.64	2.08	0.438	68	0.663	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																
MCH	Varyant	19	27.85	3.17	6.177	57	0.000																																																																																																																																
	Pozitif	40	21.64	3.80				Ferritin	Varyant	16	62.24	42.17	-0.108	40	0.914	Pozitif	26	64.14	61.97	ADMA	Varyant	20	0.95	0.23	-1.069	45	0.291	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Varyant	20	77.40	62.95	-2.167	66	0.034	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Varyant	20	8.64	2.08	0.438	68	0.663	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																												
Ferritin	Varyant	16	62.24	42.17	-0.108	40	0.914																																																																																																																																
	Pozitif	26	64.14	61.97				ADMA	Varyant	20	0.95	0.23	-1.069	45	0.291	Pozitif	47	1.02	0.30	Arjinin	Varyant	20	77.40	62.95	-2.167	66	0.034	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Varyant	20	8.64	2.08	0.438	68	0.663	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																								
ADMA	Varyant	20	0.95	0.23	-1.069	45	0.291																																																																																																																																
	Pozitif	47	1.02	0.30				Arjinin	Varyant	20	77.40	62.95	-2.167	66	0.034	Pozitif	48	117.11	71.08	Homoarjinin	Varyant	20	8.64	2.08	0.438	68	0.663	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																				
Arjinin	Varyant	20	77.40	62.95	-2.167	66	0.034																																																																																																																																
	Pozitif	48	117.11	71.08				Homoarjinin	Varyant	20	8.64	2.08	0.438	68	0.663	Pozitif	50	8.42	1.79	L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																
Homoarjinin	Varyant	20	8.64	2.08	0.438	68	0.663																																																																																																																																
	Pozitif	50	8.42	1.79				L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006	Pozitif	48	0.23	0.09	SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																												
L-NMMA	Varyant	20	0.18	0.06	-2.878	54	0.006																																																																																																																																
	Pozitif	48	0.23	0.09				SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204	Pozitif	43	0.96	0.24	Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																																								
SDMA	Varyant	19	0.88	0.20	-1.284	60	0.204																																																																																																																																
	Pozitif	43	0.96	0.24				Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																																																				
Sitrülin	Varyant	20	35.62	9.64	6.496	68	0.000																																																																																																																																
	Pozitif	50	15.57	12.36																																																																																																																																			

Çizelge 3.15. Varyant ve Pozitif Grup Parametrelerinin Karşılaştırılması.

3.3. Parametreler Arasındaki İlişkiler

Yaş, HGB, RBC, MCV, MCH, ferritin, ADMA, arjinin, homoarjinin, L-NMMA, SDMA ve sitrölin parametreleri arasında herhangi bir ilişki olup olmadığı Pearson korelasyon analizi yapılarak test edilmiş, elde edilen bulgular Çizelge 3.16'te sunulmuştur.

Çizelge 3.16'te verilen korelasyon bulguları içerisinde anlamlı ($p < 0.05$) olan ilişkiler şunlardır:

- Yaş ile MCV ve MCH arasında zayıf düzeyde negatif ve anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Yani yaş arttıkça MCV ve MCH zayıf bir ilişki ile ancak anlamlı olarak azalmaktadır.
- Yaş ile SDMA arasında yine zayıf düzeyde ancak pozitif ve anlamlı, yaş ile ferritin arasında ise orta düzeyde pozitif ve anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Yani yaş arttıkça SDMA zayıf ancak anlamlı bir ilişki ile artmakta, ferritin ise orta düzeyde ve anlamlı bir ilişki ile artmaktadır.
- HGB ile arjinin, L-NMMA, SDMA ve sitrölin arasında zayıf düzeyde negatif ve anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Yani HGB arttıkça arjinin, L-NMMA, SDMA ve sitrölin zayıf bir ilişki ile ancak anlamlı olarak azalmaktadır.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1-YAŞ	R	1	-.101	.183	-.220	-.256	.414	.152	.037	-.081	.045	.203	.108
	P		.306	.062	.024	.008	.000	.101	.692	.377	.628	.033	.244
2-HGB	R		1	.262	.432	.499	.208	-.306	-.242	.164	-.276	-.229	.243
	P			.007	.000	.000	.068	.002	.014	.095	.005	.024	.013
3-RBC	R			1	-.731	-.691	.257	.031	-.314	.028	.004	.012	-.055
	P				.000	.000	.023	.761	.001	.780	.969	.905	.578
4-MCV	R				1	.981	-.053	-.260	.130	.047	-.202	-.109	.234
	P					.000	.647	.008	.190	.631	.041	.286	.017
5-MCH	R					1	-.059	-.243	.073	.103	-.189	-.122	.208
	P						.610	.014	.463	.296	.057	.235	.035
6-FER- RİTİN	R						1	.120	-.183	-.031	.086	.154	-.057
	P							.297	.109	.788	.455	.189	.623
7- ADMA	R							1	-.130	.186	.302	.493	.004
	P								.168	.044	.001	.000	.963
8-ARJİ- NİN	R								1	-.122	-.091	-.044	-.095
	P									.191	.336	.651	.312
9- HOMO- ARJİ- NİN	R									1	.164	.199	.085
	P										.078	.037	.359
10-L- NMMA	R										1	.280	-.328
	P											.003	.000
11- SDMA	R											1	-.086
	P												.374
12-SIT- RULİN	R												1
	P												

Çizelge 3.16. Parametreler Arasındaki Korelasyon Bulguları.

* Sarı renk, zayıf düzeyde ($r < 0.30$) anlamlı korelasyonları; açık yeşil renk, orta düzeyde ($0.30 \leq r < 0.70$) anlamlı korelasyonları; koyu yeşil renk, güçlü düzeyde ($0.70 \leq r$) anlamlı korelasyonları göstermektedir.

- Ayrıca HGB ile ADMA arasında orta düzeyde negatif ve anlamlı, HGB ile MCV ve MCH arasında ise yine orta düzeyde ancak pozitif ve anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Yani HGB arttıkça; orta düzeyde ve anlamlı bir ilişki ile ADMA azalmakta, MCV ve MCH ise artmaktadır.
- RBC ile; ferritin arasında zayıf düzeyde pozitif ve anlamlı, MCH ve arjinin arasında orta düzeyde negatif ve anlamlı, MCV arasında ise güçlü düzeyde negatif ve anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Buna göre RBC arttıkça; ferritin düşük ve anlamlı bir ilişki ile artmaktadır ancak MCH ve arjinin orta düzeyde ve anlamlı bir ilişki ile, MCV ise güçlü düzeyde ve anlamlı bir ilişki ile azalmaktadır.
- MCV ile sitrülün arasında zayıf düzeyde pozitif ve anlamlı, yine MCV ile ADMA ve L-NMMA arasında ise zayıf düzeyde negatif ve anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Ayrıca MCV ile MCH arasında çok güçlü düzeyde pozitif ve anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Bu bulgulara göre; tüm ilişkiler zayıf ve anlamlı olmak üzere MCV arttıkça sitrülün artmakta, ADMA ve L-NMMA azalmaktadır. MCH ise MCV'nin artışı ile birlikte çok güçlü ve anlamlı olarak artmaktadır.
- MCH ile ADMA ve sitrülün arasında zayıf düzeyde ve anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Ancak bu ilişkilerden ADMA ile olan negatif, sitrülün ile olan ise pozitiftir. Yani MCH arttıkça; zayıf ve anlamlı bir ilişki ile ADMA azalmakta ancak sitrülün artmaktadır.
- ADMA ile homoarjinin, L-NMMA ve SDMA arasında anlamlı ve pozitif ilişkiler bulunmaktadır. Ancak bunlardan homoarjinin ile olan zayıf düzeyde, L-NMMA ve SDMA ile olanlar ise orta düzeydedir. Buna göre ADMA arttıkça homoarjinin zayıf bir ilişki ile L-NMMA ve SDMA ise orta düzeyde bir ilişki ile anlamlı olarak artmaktadır.
- Homoarjinin ile SDMA arasında zayıf düzeyde pozitif ancak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Yani homoarjinin artış gösterdiğinde SDMA zayıf bir ilişki ile ancak anlamlı olarak artmaktadır.

4. TARTIŞMA

Helmi N., Choudhry H., Al-Malki AL., Moselhy SS., Kumosani AT. yaptıkları çalışmada miyokard infarktüsünde erken anormallik tanısı için talasemi hastalarında serum ADMA ve talasemi hastalarında kardiyak biyobelirteç ilişkisini değerlendirmiştir. Çalışmada 80 denek üzerinden yürütülmüş ve 20 kişiden oluşan dört gruba bölünmüştür. Grup1 kontrol grubu, Grup 2 miyokard enfarktüs: MI (Miyokard Enfarktüs) serum Troponin T Seviyesi yüksek olan hastalar, Grup 3 talasemi hastalar, grup 4 miyokard enfarktüslü hastalarda talasemi olarak ayrılmıştır. Serum örnekleri kreatinin kinaz, laktat dehidrojenaz, troponin T, ADMA ve serum MDA düzeyine tabi tutuldu. Elde edilen verilerde serum kreatinin kinaz, laktat dehidrojenaz troponin T ve ADMA düzeyleri, MI (Miyokard Enfarktüs)'da talasemi olan veya olmayan kontrol gruplarında anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. Serum MDA , MI gurubunda talasemi olan veya olmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak serum ADMA miyokard enfarktüslü talasemi hastalarında önemli bir belirteçtir.

Gursel O. ve ark. yaptıkları çalışmada beta talasemi majörlü çocuklarda dolaşımdaki ADMA konsantrasyonları araştırılmıştır. Beta talasemi majör, kardiyovaküler morbidite ve mortalite riskinde artış ile ilişkili olup, ADMA endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz patogenezinde rol almaktadır. Çalışmaya yaşları 4 – 16 arasında değişen yaş ve cinsiyetleri eşleştirilmiş 36 kontrol grubu ve beta talasemi majör çocuk dahil etmişlerdir. Plazma ADMA, çözümlü vasküler adezyon molekülü – 1(SVCAM – 1), çözümlü hücreler arası adezyon molekülü – 1(SICAM – 1), P – selektin ve Pentraxin – 3 ile birlikte incelemişlerdir. Yapılan inceleme sonucunda yaş, cinsiyet ve vücut kitle indeksi benzer olan gruplarda plazma ADMA, SVCAM – 1 ve SICAM – 1 ölçümleri beta talasemi majör hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Sonuç olarak çalışma bulgularında beta talasemi majörlü çocuklarda artmış plazma ADMA seviyelerinin endotel disfonksiyonu için erken bir belirteç olabileceği ve beta talasemi majör hastalarında erken ateroskleroz gelişiminde rol oynayabileceğini göstermiştir.

Mohamed el-S. Ve ark. yaptıkları çalışmada beta talasemili çocuklarda ADMA düzeylerini ve trisküspid regürjitant jet hızıyla ilişkilerinin değerlendirilmesidir. Araştırma kontrol grubu olarak 30 sağlıklı çocuk ve 30 beta

talasemi majörlü çocuk üzerinde gerçekleştirilmiştir. ADMA'nın plazma seviyelerine ek olarak CBC, LDH, serum ferritin, retikülositik sayım, serum bilirubin, AST, ALT çalışılmışlardır.. Talasemik grup için Doppler ekokardiyografi yapılmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda plazma ADMA düzeyleri beta talasemi hastalarında kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek belirlenmiştir. Plazma ADMA düzeyleri ile triküspid regürjitant jet hızı arasında anlamlı pozitif korelasyon görülmüş olup talasemili hastalarda yüksek triküspid regürjitant jet hızının prevalansı, splenektomili talasemi hastalarda splenektomili hastalarınkine kıyasla anlamlı derece arttığı görülmüştür. Sonuç olarak yüksek plazma ADMA seviyeleri beta talasemili çocuklarda pulmoner hipertansiyon (PHT) patogenezinde rol oynayabilmektedir.

Morris C. yaptığı çalışmada orak hücre hastalığının spesifik olarak NO sentazının çözülmemesi, yükseltilmiş arginaz aktivitesi, süperoksit üretimi, oksidatif stres, ADMA, iskemi-reperfüzyon hasarı, inflamasyon, apolipoprotein A-1 tükenmesi ve hiper pıhtılaşabilir bir durum endotel disfonksiyonuna katkıda bulunan önemli mekanizmalardır. Genetik polimorfizmler ayrıca hastalık şiddetini de etkiler. Açıkça hastalığın değişken spektrumu hemoglobinin beta globin zincirinde tek bir amino asit süstitüsyonunun oluşmasının ötesine geçen olayların ve genetik duyarlılığın sonucudur. Bozulmuş NO biyoyararlanımı, endotel disfonksiyonunun merkezi özelliğini temsil eder ve orak hücre hastalığında vaskülopati patogenezinde ortak bir paydadır. Azalmış NO biyoyararlanımının sonuçları endotel hücre aktivasyonu, potansiyel vazokonstriktör endotelin regülasyonu, vazokonstriksiyon, trombosit aktivasyonu, artan doku faktörü ve pıhtılaşmanın aktivasyonu sonucunda orak hücre hastalığının klinik belirtilerine dönüşür. Yapılan çalışma sonucunda orak hücre hastalığı değişken klinik spektrumu , hemoglobinin beta globin zincirinde tek bir amino asit substitüsyonunun oluşmasının ötesine geçen çoklu olayların ve genetik duyarlılığın sonucudur. Bozulmuş NO biyoyararlanımı endotel disfonksiyonunun temel özelliğini temsil eder ve orak hücre hastalığında vaskülopati örtüşen mekanizmalarına yaygın olarak katkıda bulunur.

Lanburg PP., Teerlink T., Muskiet FA., Duits AJ., Schong JJç, Curama study Group. tarafından yapılan çalışmada bir endojen nitrik oksit sentaz inhibitörü olan ADMA plazma konsantrasyonları orak hücre hastalığının klinik olarak asemptomik durumunda yükselir. Bununla birlikte ADMA'nın vazo – tıkaçıcı komplikasyonlar içindeki rolü tanımlanmamıştır. ADMA konsantrasyonları HbSS ve HbSC'den sağlıklı kan donörü olan hastalar kontrol olarak belirlendi. Klinik olarak

asemptomatik durumunda ADMA konsantrasyonları orak hücre hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında yüksek bulundu. Çalışmanın sonucunda plazma ADMA ve SDMA konsantrasyonları sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında hem HbSS hem de HbSC hastalarında klinik olarak asemptomatik durumda belirgin şekilde yükselmiştir. Acı verici bir krizle başvurulduğunda plazma ADMA konsantrasyonları HbSS veya HbSC hastalarında daha da artmamış ancak HbSS hastalarında arginin / ADMA oranları önemli ölçüde azalmıştır.

Xu JZ., Garrett ME., Soldano KL., Chen ST., Clish CB., Ashley Koch AE., Telen MJ. tarafından yapılan çalışmada orak hücre hastalığı nefropatisi ve düşük tahmini glomerüler filtrasyon hızı (eGFR) erken mortalite için risk faktörleridir. Ayrıca eGFR düşüşünün hızı birçok klinik ortamda son dönem böbrek hastalığına ilerlemeyi öngörmektedir. Bununla birlikte orak hücre hastalığında böbrek fonksiyonlarının azaldığını öngören faktörler kötü belgelenmiştir. Klinik, laboratuvar, genetik ve metabolik veriler kullanılarak 288 erişkin kohortunda (ortalama yaş 33) böbrek fonksiyon düşüşünün tahminlerini değerlendirmişlerdir. Beş yıllık takip verisi olan 193 denekte ortalama eGFR düşüş oranı toplamda Afrika kökenli yetişkinlerin iki katıydı. Hiperfiltrasyon başlangıçta yaygındı ve deneklerin %36,8'i hızlı eGFR düşüşü yaşadı. Şiddetli Hb genotipi; proteinüri; yüksek trombosit ve retikülosit sayısı ve düşük Hb düzeyi ve VKİ hızlı düşüşle ilişkilidir. Bu altı değişken kullanılarak bir risk skorlama sistemi oluşturuldu ve hızlı eGFR düşüşünün yüksek oranda tahmin ediciydi. Hızlı düşüşün her puan artışı için 1,635 kat arttığı görülmüştür. Hızlı eGFR düşüşü, daha yüksek organ sistemi şiddet skoru ve pik kreatinin ile de ilişkilidir. Ek olarak ADMA ve kinolinik asit hızlı düşüşle ilişkilendirilmiştir.

Marealle Al., Siervo M., Wassel S., Bluck L., Prentice AM., Minzi O., Sasi P., Kamuhabwa A., Soka D., Makani J., Cox SE. tarafından yapılan çalışmada NO düşük biyoyararlanımı orak hücre hastalığının patofizyolojisinde yer almaktadır. Orak hücre hastalıklı çocuklarda arginin ve sitrülünün ile takviye edilmiş günlük kullanıma hazır ek gıdaları etkilerini test eden klinik bir pilot çalışma tasarlanmıştır. Tüm vücut NO üretimini ölçmek için non – invaziv bir izotop yönteminin uygulanabilirliği ve Arginin ve Sitrülin takviyesinin tüm vücut nitrik oksik üretiminin artmasıyla ilişkisi değerlendirildi. Çalışma için orak hücreli %70'i erkek, 9 – 10 yaşlarında ve ağırlıkları 16,3 – 31, 3 kg arasında değişen yirmi dokuz çocuk

seçildi. Yapılan çalışma sonucunda günlük kullanıma hazır ek gıda, arginin ve sitrülün mücadelesi, bazik günlük kullanıma hazır ek gıda ile karşılaştırıldığında plazma arginini ve ornitini arttırdı ve ADMA oranına düştü. Yapılan çalışma sonucunda günlük kullanıma hazır ek gıda, Arginin ve Sitrülün grubunda tüm vücut nitrik oksit üretiminde bazal değere göre anlamlı bir artış gözlenmiş olup, baz günlük kullanıma hazır ek gıda grubunda anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Non – invaziv stabil izotopik yöntem kabul edildi ve sonuçlar Arginin ve Sitrülün desteğinin orak hücre hastalığı olan çocuklarda sistemik olarak NO sentezini artırabileceği görülmüştür.

Kato GJ., Wang Z., Machado RF., Blackwelder WC., Taylor JG 6th., Hazen SL. tarafından yapılan çalışmada orak hücre hastalığı olan hastalarda pulmoner hipertansiyon intravasküler hemoliz bozulmuş NO biyoyararlanımı, böbrek fonksiyon bozukluğu ve erken mortalite ile bağlantılıdır. NO sentazlarının endojen bir inhibitörü olan ADMA, diğer popülasyonlarda vasküler hastalıklarla ilişkilidir. Orak hücre hastalığı olan 29 hasta ve kontrol grubundaki 177 hastanın çeşitli arginin metabolitleri için plazma konsantrasyonları ve bunların klinik değişkenlerle olan ilişkileri belirlendi. ADMA, NG-monometil L-arginine(L-NMMA),N-omega-hidroksi-L-arginine, NOHA, arginin ve sitrülün . orta değerdeki ADMA orak hücre hastalarında anlamlı olarak yüksek olup, homozigot SCD hastalarında ise belirgin bir şekilde arginin oranının ADMA olduğu görülmüştür. ADMA, hemoliz belirteçleri düşük oksijen saturasyonu ve çözülebilir yapışma molekülleri ile koreledir. pH yüksek ADMA düzeyleri ve ilişkili metabolitlerle ilişkilendirilmiştir. Homozigot SCD’li denekler, pH ve erken ölümle ilişkili yüksek ADMA seviyelerine sahiptirler ve ADMA bu hastalarda fonksiyonel bir NOS inhibitörü olarak gösterir. Bu bozukluklar ve diğerleri vaskülopatili homozigoz SCD’deki nitrik oksit yolu üzerinde birleşirler. SCD’li hastalarda sabit durumda SCD’li hastalarda arginin metabolit seviyeleri, sağlıklı kontrol grubuna kıyasla ADMA, SDMA ve L-NMMA olmak üzere metillenmiş argininlerin anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür.

Morris CR. yaptığı çalışmada düşük global biyoyararlanımı erken mortalite de dahil olmak üzere bir çok orak hücre hastalığı komplikasyonu ile ilişkilidir. Arginin düzensizliği mekanizmaları arginin tüketen enzim arginaz, ADMA seviyeleri değişmiş hücre içi arginin taşınımı ve nitrik oksit sentaz fonksiyon bozukluğunun karmaşık paradigmasını içerir. Buna bağlı olarak eksojen takviye yoluyla global

arginin biyoyararlanımı restorasyonu terapötik bir hedeftir. Arginin tedavisi çalışmaları bacak ülseri, pulmoner hipertansiyon riski ve ağrı ile hastaların tedavisinde etkinlik göstermektedir. Hidroksiüre ile birlikte uygulanması nitrit ve fetal hemoglobin seviyesini yükseltir. Yapılan araştırmalar sonucunda arginin metabolomundaki değişiklikleri ele almak orak hücre hastalığı tedavisinde yeni stratejilere yol açabileceği kanısına ulaşılmıştır.

El-Shanshory M., Badraia I., Donia A., Abd El-Hameed F., Mabrouk M. orak hücre hastalığı olan çocuklarda ADMA plazma düzeylerini ve bunun yüksek triküspid regürjitant jet hızı ve diğer hemolitik belirteçlerle ilişkisini değerlendirmek için çalışma yapmışlardır. Çalışma için kontrol grubu olarak 30 sağlıklı çocuk ve 30 orak hücre hastalığına sahip çocuk seçilmiştir. Tüm denekler için tam kan sayımı, laktat dehidrojenenaz, ferritin, retikülositik sayım, bilirubin, AST, ALT ve ADMA plazma seviyeleri testleri yapıldı. Ayrıca tüm denekler için Doppler ekokardiyografi yapıldı. Yapılan testler sonucunda orak hücre hastalığına sahip hastalarda yüksek triküspit yetmezliği hızının prevalansı %30 idi. ADMA ortalama plazma seviyesi hastalarda kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti. ADMA, yüksek triküspit yetmezliği hastalarda normal yüksek triküspit yetmezliğine göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. ADMA plazma seviyeleri ile yüksek triküspit yetmezliği hastaları arasında anlamlı pozitif korelasyon vardır. Sonuç olarak yüksek plazma ADMA seviyeleri, orak hücre hastalığına sahip çocuklarda artmış triküspit yetersizliği jet hızının patogenezinde rol oynayabilir.

Schnog JB., Teerlink T., van der Dijs FP., Duits AJ., Muskiet FA., curama Study Group., tarafından son yıllarda orak hücre hastalığının patofizyolojisinde düşük nitrik oksit mevcudiyetinde önemli bir rol atfedildiğini fark etmişlerdir. Üretilen nitrik oksit sentazının endojen olarak üretilen inhibitörleri özellikle ADMA, hali hazırda azaltılmış nitrik oksit mevcudiyeti ile karakterize çeşitli hastalık durumlarında önemi düşünülmektedir. On iki yetişkin orak hücre hastasının (sekiz HbSS ve dört HbSC) plazmasındaki ADMA düzeyleri belirlendi ve bunları ırk ve yaş uyumlu kontrollerde plazma seviyeleri ile karşılaştırıldı. Orak hücre hastaları kuvvetli bir şekilde ADMA ile karakterize edildi. ADMA düzeyleri en düşük hemoglobin düzeyi ve en yüksek lökosit sayısı olan HbSS hastalarında, HbSS hastalarında ise ADMA düzeyleri, çözünen vasküler hücre adezyon molekülü-1'in serum düzeyleri ile pozitif ilişkiliydi. Tüm bu sonuçlar doğrultusunda ADMA'nın orak hücre

hastalarında NO kullanılabilirliğini sınırlamada önemli bir rolü olduğu orak hücre hastalığına sahip hastaların patofizyolojisindeki rolünün daha fazla araştırılması gerektiğini göstermektedir.

Yapılan çalışmalar sonucunda ADMA miyokard enfarktüs, trisküspid regürjitant jet hızı, orak hücre hastalarında nitrik oksit sentazı, glomerüler filtrasyon hızı, arginin ve sitrölin takviyeleri,pulmoner hiper tansiyon, introvasküler hemoliz ve nitrik oksit biyoyararlanımı ve bir çok hastalığın erken teşhisinde ve tedavisinde rol oynadığı görölmüştür. Bizim tez çalışmasında özellikle hematolojik hastalıkların uzun dönem vasküler komplikasyonlarını öngörmeye metilarjinin düzeyleri araştırılmış olup, bu moleküllerin kronik zeminde etkilenen mekanizmalar öncülüğünde vasküler hastalıkları çok erken dönemde bu hasta grupları için gösteremeyeceği fikrine ulaşılmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak;

- Pozitif, negatif ve varyant grupları arasında HGB, RBC, MCV, MCH, ADMA, arjinin, L-NMMA, SDMA ve sitrülün parametrelerinin anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

- Negatif grubun MCV, MCH ve sitrülün ortalaması pozitif gruptan; arjinin ortalaması ise hem pozitif hem de varyant gruptan anlamlı olarak daha fazladır.

- Pozitif grubun ADMA ve SDMA ortalaması negatif gruptan; RBC ve L-NMMA ortalaması ise hem negatif hem de varyant gruptan anlamlı olarak daha fazladır.

- Varyant grubun L-NMMA ortalaması negatif gruptan; MCV, MCH ve sitrülün ortalaması pozitif gruptan; HGB ortalaması ise hem pozitif hem de negatif gruptan anlamlı olarak daha fazladır.

- MCV- MCH arasında negatif, MCV- RBC arasında ise pozitif olmak üzere güçlü ve anlamlı ilişki bulunmaktadır. MCV arttığında MCH güçlü bir ilişki ile artarken, RBC düşmektedir.

- Yaş-Ferritin, HGB-MCV, HGB-MCH, ADMA-LNMMA ve ADMA-SDMA ikilileri arasında orta düzeyde pozitif ve anlamlı; HGB-ADMA, RBC-MCH, RBC-arjinin ve L-NMMA-sitrülün ikilileri arasında orta düzeyde negatif ve anlamlı ilişki bulunmaktadır. İlk gruptakiler orta düzeyde bir ilişki ile birlikte artmakta veya azalmakta; ikinci gruptakilerde ise ikililerden biri arttığında diğeri azalmaktadır.

- SDMA-Yaş, SDMA-LNMMA, Sitrülün-MCV, Sitrülün-MCH, Sitrülün-HGB, Homoarjinin- ADMA, Homoarjinin-SDMA ve RBC-Ferritin ikilileri arasında zayıf düzeyde pozitif ve anlamlı; HGB-Arjinin, HGB-LNMMA, HGB-SDMA, MCV-ADMA, MCV-LNMMA, MCV-Yaş, MCH-ADMA ve MCH-Yaş ikilileri arasında zayıf düzeyde negatif ve anlamlı ilişki bulunmaktadır. İlk gruptakiler zayıf düzeyde bir ilişki ile birlikte artmakta veya azalmakta; ikinci gruptakilerde ise ikililerden biri arttığında diğeri azalmaktadır

6. KAYNAKLAR

- ADMA as a marker of cardiovascular morbidity in early diabetic nephropathy in Type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(3):765-9.
- Altay Ç: Anormal hemoglobins in Turkey. *Turk J Hea* 2002;19(1): 63–74.
- Anggard E. Nitric Oxide: Mediator, murderer and medicine. *The Lancet* 1994; 343(8907):1199-206).
- Arlt S, Schwedhelm E, Kölsch H, Linnebank M, Smulders Y, Jessen F, Böger RH, Popp J, Dimethylarginines, homocysteine metabolism, and cerebrospinal fluid markers for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2012;31(4):751-8.
- Aslan D, Gümrtük F, Gürgey A, Altay C. Importance of RDW value in differential diagnosis of hypochrome anemias. *Am J Hematol* 2002; 69, 31-33.
- Batista M, Landim P, Filho AC, Chagas ACP. Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Endothelial Dysfunction: Implications for Atherogenesis. *Clinics*. 2009;64(5):471–8.
- Beltowski J, Kedra A. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy. *Pharmacol Rep*. 2006;58(2):159-78.
- Bithell CT, Foester J, Athens JW, Lukens JN. *Lea and Febiger Com*, Pennsylvania 1993.
- Böger RH, Maas R, Schulze F, Schwedhelm E. Elevated levels of ADMA as a marker of cardiovascular disease and mortality. *Clin Chem Lab Med*. 2005;43(10):1124-9
- Cekmen MB, Turgut M, Turkoz Y, Denizmen A, Gözükar EM. Nitric Oxide and Nitric Oxide Synthase Physiologic and Pathologic Characteristics. *T Klin J Ped*. 2001;10(4):226-35
- Chan NN, Chan JCN. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a potential link between endothelial dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome? *Diabetologia*. 2002;45(12):1609–16.
- Characteristics. *T Klin J Ped*. 2001;10(4):226-35.
- Cooke JP. Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler Thromb. Vasc Biol* 2000;20(9):2032-7.
- Gritti P, Lanterna LA, Re M, The use of inhaled nitric oxide and prone position in an ARDS patient with severe traumatic brain injury during spine stabilization. *J Anesth* 2012; DOI: 10.1007/s00540-012-1495-2.
- Hu T, Chouinard M, Amy L. Cox, Sipes P, Marcelo MM, Ficorilli J, Li S, Gao H, Ryan PT, Michael D and Michael LF, X receptor agonist reduces serum asymmetric dimethylarginine levels through hepatic dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 gene regulation. 2006;281(52):39831-8.
- Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, et al. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 1999;10(3):594-600.
- Lukens JN, Lee GR: *The Abnormal Hemoglobins*. In: *Wintrobe's Clinical Hematology*, Eds Lee GR, 1993.
- Mittermayer F, Pleiner J, Krzyzanowska K, Wiesinger GF, Francesconi M Regular physical exercise normalizes elevated ADMA concentrations in patients with Type 1 Diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr*. 2005;117(23-24):816-20.

- Molecular Bases of Inherited Disease Eds: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Vale D 8th ed U.S.A:International Edition 2001.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginin: A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem Pharmacol* 1989;38(11):1709-15.
- Nijveldt JR, Leeuwen VP, Van Coen G. Net renal extraction of ADMA and SDMA in fasting humans. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(11):1999-2002.
- Nijveldt RJ, Siroen MPC, Teerlink T, Leeuwen MV. Elimination of Asymmetric Dimethylarginine by the Kidney and the Liver: A Link to the development of multiple organ failure. 2004;134 (Supl.10):2848S-52S.
- Raghavan SA, Dikshit M. Vascular regulation by the Largininemetabolites, nitric oxide and agmatine. *Pharmacol Res.* 2004;49(5):397-414.
- Richter B, Niessner A, Penka M, Gredic M, Strasser B, Ziegler S, Zorn G, Maurer G, Simeon-Rudolf V, Wojta J, Huber K, Endurance training reduces circulating ADMA and MPO levels in persons at risk of coronary events. *Thromb Haemost.* 2005;94(6):1306-11.
- Scalera F, Borlak J, Beckmann B, Martens-Lobenhoffer J., Thum T., Tager M. Bode-Böger SM. Endogenous nitric oxide synthesis inhibitor asymmetric dimethyl Larginine accelerates endothelial cell senescence. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24(10):1816-22.
- Selcoki Y, Aydın M, İkizek M, Armutcu F, Eryonucu B, Kanbay M, Association Between Asymmetric Dimethylarginine and the Severity of Coronary Artery Disease in Patients with Chronic Kidney Disease. *Turk Neph Dial Transpl* 2011;20(1):58-64
- Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Böger SM, Tsikas D, Hornig B, Frölich JC, Böger RH, ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocysteinemia: effects of Larginine and B vitamins. *Cardiovasc Res.* 2003;57(1):244-52
- Tarnow L, Hovind P, Teerlink T, Stehouwer CD, Parving HH, Elevated plasma ADMA as a marker of cardiovascular morbidity in early diabetic nephropathy in Type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(3):765-9.
- Thomson M, McInnes RR, Willard HF *Genetics in Medicine*. 5th ed, Philadelphia, B.Saunders Company 1991.
- Valkonen VP, Laaksonen R, Asymmetricdimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. *Clin Chim Acta:* 2004;348(1-2):9-17.
- Wang J, Sim AS, Wang XL, C. Salonikas, D. Naidoo, Relations between plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and risk factors for coronary disease. *Atherosclerosis.* 2006;184(2):383-8.
- Wang J, Sim AS, Wang XL, C. Salonikas, D. Naidoo, Wileken Relations between plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and risk factors for coronary disease. *Atherosclerosis.* 2006;184(2):383-8.
- Weatherall D.J and Clegg JB: *The Thalaasemia Syndromes*, 4th edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 2001. Oner C, Gurgey A, Oner R, Balkan HGumruk F, Baysal E, Altay Ç. The molecular basis of Hb H disease in Turkey. *Hemoglobin* 1997; 21, 41-51.
- Weatherall D.J and Clegg JB: *The Thalaasemia Syndromes*, 4th edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 2001.

Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG: The Hemoglobinopathies. In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease Eds: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Vale D, 8th ed U.S.A: International Edition, 2001



7.EKLER

EK A.Etik Kurul Kararı



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Sayısı: 2016/18

Toplantı Tarihi : 30.11.2016

Karar Sayısı 2016/279 S.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Sedat ABUŞOĞLU'nun, "Talasemi ve Hemoglobinopati Hastalarında Plazma Metilarjinin Düzeyleri" başlıklı araştırmasının değerlendirilme talebi ile ilgili 11.11.2016 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü.

Yapılan inceleme ve görüşmelerden sonra; Yrd.Doç.Dr. Sedat ABUŞOĞLU'nun, "Talasemi ve Hemoglobinopati Hastalarında Plazma Metilarjinin Düzeyleri" adlı araştırmanın kabulüne oy birliği ile karar verildi.



8. ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Konya’da doğdum ve halen bu şehirde yaşamaktayım.1998 tarihinde 23 Nisan Egemenlik İlköğretim okuluna başladım ve 2006 yılında mezun oldum.2006 yılında Muhittin Güzelkılınç lisesinde Fen Bilimleri alanında okudum ve 2010 yılında mezun oldum.2011 yılında eğitime başladığım Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünü 2015 yılında bitirdim. Son olarak 2015 yılında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya anabilim dalında yüksek lisan eğitimime başladım.

