

T.C.

**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**Prof. Dr. İdris MEHMETOĞLU
ANABİLİM DALI BAŞKANI**

**DİYABETİK HASTALARDA MASKELİ HİPERTANSİYONUN GELİŞİMİNDE
ASİMETRİK DİMETİL ARGİNİNİN ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Alpaslan TANER**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ali ÜNLÜ**

KONYA-2010

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Prof. Dr. İdris MEHMETOĞLU
ANABİLİM DALI BAŞKANI

DİYABETİK HASTALARDA MASKELİ HİPERTANSİYONUN GELİŞİMİNDE
ASİMETRİK DİMETİL ARGİNİNİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Alpaslan TANER

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ali ÜNLÜ

KONYA-2010

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	6
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. Metil Arjininler	8
2.1.1. Genel Bilgi	8
2.1.2. Metil Arjininlerin Oluşumu ve Çeşitleri	8
2.2. Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA)	9
2.2.1. ADMA ve Yapısal Özellikleri	9
2.2.2. L-Arginin Paradoksu	11
2.2.3. ADMA'nın Metabolizması	12
2.2.4. ADMA ile İlişkili Hastalıklar ve Patofizyolojik Olaylar	14
2.2.4.1. Renal Hastalıklar	15
2.2.4.2. Diyabet	16
2.2.4.3. Kardiyovasküler Hastalıklar	16
2.2.4.4. Homosistein ve ADMA	17
2.2.4.5. Alzheimer	18
2.2.4.6. Gebelik, Preeklampsi	18
2.2.4.7. Karaciğer Yetmezliği ve Siroz	18
2.2.4.8. Hemorajik Şok	19
2.2.4.9. Hipertansiyon	19
2.2.5. ADMA Düzeyini Azaltma Stratejileri ve Etkileri	19
2.3. Maskeli Hipertansiyon	24
2.3.1. Tanım	24
2.3.2. Alt tipleri	24
2.3.3. Epidemiyoloji ve Prevalans	27
2.3.4. Risk Faktörleri	28
2.3.5. Patogenez ve Hedef Organ Hasarı	28
2.3.6. Ambulatuvar Kan Basıncı Monitorizasyonu (AKBM)	28
2.3.6.1. Ambulatuvar Kan Basıncı Monitorizasyonu (AKBM) Endikasyonları	29
2.3.6.2. Kan Basıncının Diurnal Ritmi	30
2.4. Diyabet ve Maskeli Hipertansiyon	30
2.4.1. Diyabet ve AKBM	31

3. MATERYAL VE METOD	33
3.1. MATERYAL	33
3.1.1. Vakaların Oluşturulması ve Gruplandırma	33
3.1.2. Numunelerin Toplanması	33
3.1.3. Kullanılan Reaktif ve Çözeltiler	34
3.1.4. Kullanılan Cihazlar	34
3.2. METOD	35
3.2.1. ADMA ve Arjinin Analizi	35
3.2.1.1. Mobil Faz Solüsyonlarının Hazırlanması	35
3.2.1.2. Mobil Faz A'nın Hazırlanması	35
3.2.1.3. Mobil Faz B'nin Hazırlanması	35
3.2.1.4. Mobil Fazların Filtrasyonu ve Degaze Edilmesi	35
3.2.1.5. ADMA Standart Hazırlanması	35
3.2.1.6. Arjinin Standart Hazırlanması	35
3.2.1.7. Numune Hazırlanması	36
3.2.1.8. Derivatizasyon	36
3.2.1.9. Pompa	36
3.2.1.10. Deteksiyon	37
3.2.1.11. ADMA Standart Çalışmaları	37
3.2.1.12. Arjinin Standart Çalışmaları	38
3.2.1.13. Diğer L-Arjinin, ADMA, Ölçüm Yöntemleri	39
3.2.2. Diğer Biyokimyasal Ölçümler	40
3.3. İSTATİKSEL ANALİZ	40
4. BULGULAR	41
4.1. Hasta ve Kontrol Grubu Kan Basıncı Değerlerinin Karşılaştırılması	41
4.2. Hasta ve Kontrol Grubu Demografik Özelliklerinin Karşılaştırılması	42
4.3. Hasta ve Kontrol Grubu Biyokimyasal Parametrelerinin Karşılaştırılması	43
4.4. Hasta ve Kontrol Grubu ADMA, Arjinin ve Arjinin/ADMA Oranları	44
4.5. Korrelasyon Çalışmaları	45
4.5.1. ADMA düzeylerinin diğer kan parametreleri ile korrelasyonu.	47

5. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
6. ÖZET	55
7. SUMMARY	56
8. KAYNAKLAR	57
9. TEŞEKKÜR	69

KISALTMALAR

ADMA:	Asimetrik Dimetilarjinin
SDMA:	Simetrik Dimetilarjinin
AKBM:	Ambulatuvar Kan Basıncı Monitorizasyonu
KB:	Kan Basıncı
EKG:	Elektrokardiogram
HbA1c:	Glikolize hemoglobin
NO:	Nitrik Oksit
NOS:	Nitrik Oksit Sentaz
hCRP:	High Sensitif C Reaktif Protein
MHT:	Maskeli Hipertansiyon
BMI (VKİ):	Bazal Kütle İndeksi
PRMT:	Protein Arjinin Metil Transferaz
L-NMMA:	N-Monometil L-arjinin
DDAH:	Dimetil Arjinin Dimetil Amino Hidrolaz
eNOS:	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
SAM:	S-Adenozil Metionin
SAH:	S-Adenozil Homosistein
SKB:	Sistolik Kan Basıncı
DKB:	Diastolik Kan Basıncı
THF:	Tetrahidrofuran
ADA:	Amerikan Diyabet Birliği
ACE:	Anjiotensin Converting Enzim
NIDDM:	İnsülin Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus (Tip 2 Diyabet)
HPLC:	Yüksek Performans Likit Kromatografi
CE-LIF:	Floresansla İndüklenmiş Kapiller Elektroforez
LC-MS:	Likit Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
GC-MS:	Gaz kromatografi-Kütle Spektrometrisi
OPA:	o-Fitaldialdehid
M:	Molar
µmol/L:	Mikromol/Litre
Bknz:	Bakınız

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllardaki çalışmalar, endotelyal nitrik oksit (NO) üretim ve salınımının, fizyolojik vasküler yapı ve tonus açısından çok önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Endotelyal disfonksiyon gelişiminin altında, nedeni ne olursa olsun biyoaktif endotelyal NO kaybı yatmaktadır.

NO; vazodilatasyonu uyarmasının yanında trombositlerin adezyon ve agregasyonunu da inhibe eder. Bununla beraber monosit ve lökositlerin endotele adezyonunu ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder. NO ayrıca süperoksit radikalının vasküler üretimini de azaltarak LDL oksidasyonunun bir inhibitörü gibi davranmaktadır (1,2).

Kardiovasküler risk faktörleri arasında yer alan; hiperkolesterolemi (3), hipertansiyon (4), sigara (5), diabetes mellitus (6), hiperhomosisteinemi (7) ve vasküler inflamasyonun (8) zararlı etkilerine aracılık eden ortak mekanizma endotelyal L-arjinin/NO yolunun disfonksiyonudur. Asimetrik dimetilarjinin (ADMA) ise işte tam bu noktada devreye girer.

ADMA, metillenmiş bir arjinin analogu olup; NO sentezinin anahtar enzimi olan NO sentazın (NOS) endojen yarışmalı bir inhibitörüdür. Patofizyolojik durumlardaki ADMA konsantrasyonları, vasküler NO üretimini inhibe etmektedir ve intraarteriyel infüzyonlarında lokal vazokonstrüksiyona ve hipertansiyona neden olmaktadır (9).

Artmış ADMA düzeyleri, azalmış NO senteziyle ilişkilidir ve bu yüzden ADMA birçok bilinen ve gelişmekte olan kardiyovasküler risk faktörleri ve vasküler hastalıkların progresyonu arasında bir köprü vazifesi görebilmektedir (3,10,11).

İlk defa Vallance ve arkadaşları, 1992 yılında ADMA'nın NO sentazın endojen bir inhibitörü olduğunu belirtmişlerdir. Onların ilk yorumlarının ardından birçok çalışmada ADMA düzeyinin arttığı gösterilmiştir (10-12).

Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda (13), “Beyaz Önlük Hipertansiyonu” olan hastalarda ve gebeliğin indüklediği hipertansiyonu olan kadınlarda da artmış ADMA düzeyleri gözlenmiştir (14).

Günümüzde ADMA kardiyak olaylar için düzenlenmiş risk skorlamalarında da yer almaktadır. Birçok araştırmacı grubu tarafından da insanlarda *in vivo* patofizyolojik çalışmalar uygulanmaktadır. Bulunan veriler ADMA ve vasküler hastalık arasındaki ilişkiye ışık tutmaktadır.

Çalışmamızda son zamanlarda önem kazanan ve rutin muayene metodlarıyla gözden kaçabilen, aynı zamanda hipertansif hastalarinkine benzer hedef organ hasarına neden olan maskeli hipertansiyonu inceledik. Diğer hipertansiyon tiplerine benzer bir prognoz gösteren ‘’maskeli hipertansiyon’’a sahip şahıslarda serum ADMA düzeylerini araştırdık.

Bu çalışmayla hem belli bir hasta grubunda (diyabetiklerde) maskeli hipertansiyonlu hastaların serum ADMA seviyelerini, hem de maskeli hipertansiyonun gelişiminde varsa ADMA nın önemini değerlendirmeye çalıştık. Çalışma ayrıca incelediğimiz popülasyonda maskeli hipertansiyon sıklığını göstermesi açısından da önemlidir.

2. GENEL BİLGİLER

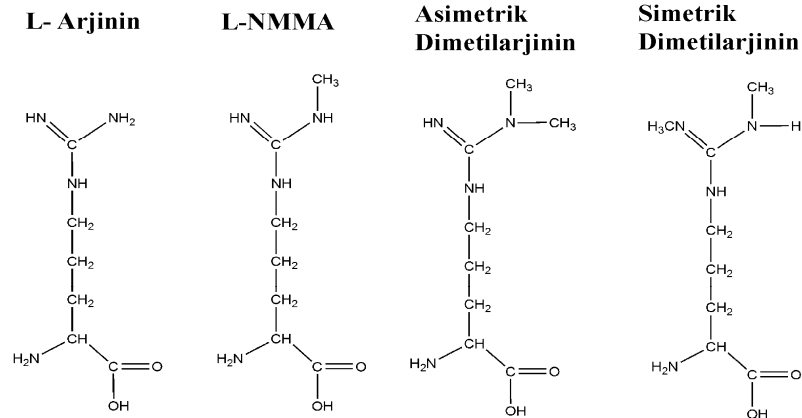
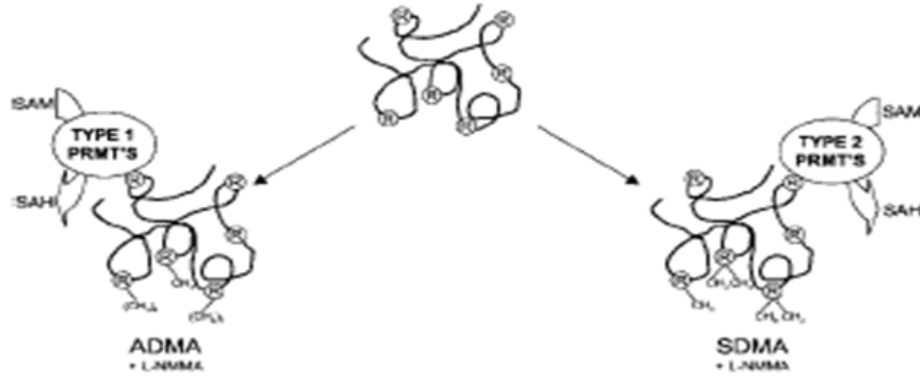
2.1. METİL ARJİNİNLER

2.1.1.Genel Bilgi

Biyokimyada metilasyon/metillenme spesifik olarak bir hidrojen atomunun bir metil grubuyla yer değiştirmesi anlamında kullanılır. Arjinin aminoasiti bir veya iki kez metillenebilmektedir.

2.1.2. Metil Arjininlerin Oluşumu ve Çeşitleri

Metil arjininler, proteinlerde bulunan bazı arjinin parçacıklarının metilasyonu sonucu oluşur. Bu olay proteinler içindeki arjininin guanidino azotlarına 1 veya 2 metil gruplarını aktaran posttranslasyonel bir modifikasyonla olur (15,16). İnsanlarda protein-arjinin metilasyonunu Protein Arjinin Metil Transferaz (PRMT) enzimleri gerçekleştirir. Oluşan ürünler; **ADMA**, N-monomethyl-L-arginine (L-NMMA), simetrik dimetil arjinin (SDMA)'dir.



Şekil 1: Arjinin, metil arjinin türevleri ve oluşumları (52).

PRMT'nin iki geniş tipi vardır. İnsanlarda PRMT aktivitesi gösteren 9 adet PRMT nin PRMT 5,7,9; PRMT II olarak, diğer PRMT'ler ise PRMT I olarak bilinir (17). PRMT-1 hücrede daha çok çekirdekte bulunurken (18), PRMT-2 daha çok sitozolde bulunmaktadır (19). PRMT-I enzimi başlıca histon ve histon-dışı nükleer proteinleri metillerken, PRMT-2 ise sadece miyelin bazik proteini metillemektedir (20). Tip1; guanidino grubundaki azotlardan sadece birini metillerken, tip 2 ise iki azotu da metillemektedir.

Sonuçta PRMT-I; ADMA ve L-NMMA'yı sentezlerken, PRMT-2 ise SDMA ve L-NMMA'nın sentezlenmesini sağlar (18).

PRMT'nin en sık karşılaşılan tipi Tip I dir ve çok sayıda proteine spesifik farklı tipleri vardır. Ekspresyon paterni hakkında ayrıntılı bilgi olmamakla birlikte PRMT-I'in bütün tipleri (1,3,4 ve 6) vasküler hücrelerde ekspresse edilir. Ürünleri olan ADMA ve L-NMMA'in NOS'u inhibe edebilme özelliği vardır.

Tip II PRMT ise SDMA (simetrik dimetilarjinin) oluşumunda rol oynar. SDMA'nın NOS'u inhibe etme özelliği yoktur.

Proteinler hidrolize uğradığında onların metillenmiş arjinin rezidüleri serbest kalır, sonrasında metillenmiş arjininler idrarla atılır. Renal yetmezlik hastalarında metillenmiş arjininler idrarla atılamaz ve seviyeleri yükselir. Metil arjininler böbrekte dimetilarjinin metil transferaz/hidrolazla, karaciğerde asetilasyonla metabolize edilebilir.

PRMT'ler protein metilasyonunda metil vericisi olarak S-Adenozil Metionini (SAM) kullandıkları için SAM artışı PRMT aktivasyonunu artırırken, S-Adenozil Homosistein (SAH) artışı PRMT'yi inhibe eder (21). Bknz. Homosistein ve ADMA.

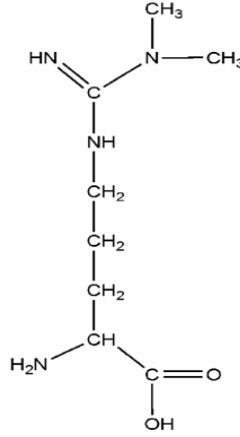
SDMA'nın NOS'u inhibe etme özelliği olmamasına rağmen ADMA, L-NMMA, SDMA'nın üçü de L-arjininle plazma membran katyonik aminoasit transporter (y^+) yoluyla hücrel uptake'i için yarışma halinde oldukları için, dolaylı yoldan SDMA da hücre içi arjinin miktarını azaltarak NO üretimini sınırlandırmış olurlar (22-24).

2.2. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA)

2.2.1. ADMA ve Yapısal Özellikleri

Asimetrik N_G, N_G dimetilarjinin ($C_8H_{18}N_4O_2$), L-Arjininin guanidino analogu; endojen olarak sentezlenen, proteinlerdeki arjinin rezidülerinin protein

arjinin metil transferazlarıyla (PRMT 1) metillenmesiyle meydana gelen bir türev aminoasittir (şekil 2).



Şekil 2: Asimetrik Dimetil Arjinin Yapısı (52)

ADMA oldukça stabil bir moleküldür. Hücreler arasında rahatça dolaşabilmekte ve etkisini serbest olarak gösterebilmektedir. Bir hücrede üretildikten sonra etkinliğini rahatlıkla başka bir hücre üzerinde gösterebilmektedir. Mesela damar düz kas hücresinde üretildikten sonra endotel hücresi üzerinde etkisini gösterebilir (25).

ADMA'nın hücre içi miktarları protein metilasyonu, protein yıkım hızı ve ADMA'nın dimetilarjinin dimetil aminohidrolaz (DDAH) tarafından yıkılma hızına bağlıdır. Hücre içerisinde oluşan ADMA daha sonra dolaşıma verilmektedir. Protein hidrolizi sonrası ADMA hücreler içine yapısal potent inhibitör (30) ve indüklenabilir NOS inhibitörü olarak salınır (31). Protein yıkımının arttığı iskemik kalp hastalığı, diyabet gibi bazı durumlarda hücre içerisinde fazlaca oluşan ADMA dolaşıma verilmekte ve dolaşımdaki düzeyi artmaktadır (26,27).

Salınan ADMA hem orijin yerinden dışarı çıkabilir hem de plazmadan uzak bölgelerden de alınabilmektedir. Bu olayı; arjinin ve diğer katyonik aminoasitler (CAAs) için değiş-tokuşla katyonik aminoasit taşıyıcılar (CATs) adı verilen taşıyıcılar gerçekleştirmektedir (28,29).

Ekstrasellüler sıvı ve sitozol arasında ADMA'nın ayırımını belirlemede kritik adım CATs lar yoluyla onların transmembran taşınımıdır. CATs lar yüksek

affiniteyle hücre zarı üzerine geniş şekilde dağılmıştır. CAT-1 ve CAT-2 yoluyla ADMA'nın hücresel dağılımı gerçekleştirilir. CAT-1 gibi düşük kapasite, yüksek affiniteyle kan damarlarında ve böbrek distal nefronunda, CAT-2A gibi yüksek kapasiteyle, düşük affiniteyle karaciğer hücrelerinin membranlarında ADMA ve arjininin taşınmasında görev alırlar (28).

Bu katyonik aminoasit taşıyıcı sistemlerden (y^+ , y^+L , $b^{0,+}$ ve B^{0+}) den y^+ sistemi; ADMA ve arjininin transmembran taşınımı için daha önemlidir (32).

Sağlıklı insanlarda ADMA'nın plazma seviyeleri literatür verilerine göre 0,35-0,70 $\mu\text{mol/L}$ arasındadır (30,33).

Metil arjininler birbirleriyle ve arjinin aminoasidi ile hücre içine giriş için yarışır. Yüksek konsantrasyondaki ADMA, L- Arjininin hücre içine transportunu engellediğinden NO sentezi bu mekanizma ile de azaltılmış olur (18).

ADMA kan basıncını yükseltir, vazokonstrüksiyona neden olur, endotel bağımlı relaksasyonu bozar, endotelial hücre adhezyonunu artırır. Kardiyak outputu azaltır. Uzun süreli NOS inhibisyonu sonucu olarak sol ventriküler hipertrofi gelişebilir. Böbrek yetmezliğinde ADMA birikimi olur. Plazma ADMA seviyeleri ile endotel disfonksiyonu arasında ilişki vardır. Hemodiyaliz hastalarında gelişen endotel disfonksiyonu, kardiyovasküler olaylar ve mortalitede ADMA sorumlu faktörlerden birisidir (18). Endotel kaynaklı NO endotel fonksiyonlarının sürdürülmesinde önemlidir. NO'nun vazodilatasyon, antitrombotik işlev ve inflamasyonun kontrolünde kritik rolleri vardır. NO biosentezinin bozulması endotel fonksiyonunun bozulmasıyla beraber çok sayıda vasküler olayla birliktedir. ADMA arjininden NO sentezini kompetitif olarak inhibe eder.

ADMA, NO'nun tübüler Na^+ reabsorpsiyonu üzerindeki inhibitör etkisini sınırlandırarak anormal renal sodyum tutulumuna da katkıda bulunabilir (34).

NOS ve CAT'ın inhibe edilmesiyle vasküler ve organ hastalıklarının orijini olan mikrovasküler oksidatif stresin oluşumu ve endotelial disfonksiyona iştirakçi olabilir (35,36).

2.2.2. L-Arginin Paradoksu

ADMA; "arjinin paradoksu" adı verilen görüşten de sorumlu olabilir. Bu görüşe göre arjininin plazma ve dokulardaki fizyolojik düzeylerinin (milimolar seviyelerine yakındır) (37), NOS'un K_m değerinin (2,9 $\mu\text{mol/L}$) (38) çok üzerinde (yaklaşık 25 kat) olmasına rağmen, eksojen olarak verilen arjinin birçok deneysel sistemde NO üretimini arttırmaktadır. Yani hücre içinde eNOS'u maksimum aktif

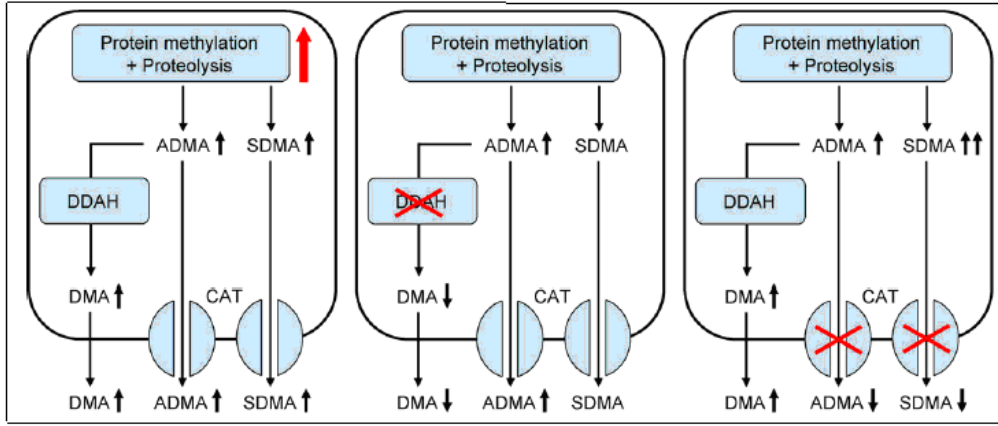
halde tutacak L-arjinin miktarı varolduğu halde dışardan verilen L-arjininin nasıl olupta eNOS aktivitesinde artışa neden olması “L-arjinin paradoksu” olarak tanımlanmıştır. NOS ‘un enzimatik aktivitesinin L-arginin konsantrasyonu (doğal substrat) ve ADMA nın konsantrasyonu (endojen inhibitör) arasındaki oran (L-Arginin/ADMA) tarafından düzenlendiği düşünülmektedir. Yani normal L-arginin seviyeleri mevcudiyetinde ADMA seviyelerindeki herhangi bir yükselme, optimal NO sentaz aktivitesi ile ilgili olarak göreceli L-arjinin yetmezliğine neden olabilir. ADMA NO sentazın yarışmalı bir inhibitörü olduğu için, inhibitör etkisi, enzimin substratı L-arjinin konsantrasyonundaki artıştan çok fazla etkilenebilir (39).

Aşırı substrattan dolayı artmış ekstraselüler L-arjinin/ADMA oranıyla NOS aktivite inhibisyonunun üstesinden gelinebilir ve bu durum, L-arjininin vasküler hastalıklı bireylerde endotelial fonksiyonu nasıl artırdığını açıklayabilir (40).

L-arjininin fizyolojik ekstraselüler düzeylerinde ve normal ADMA konsantrasyonları varlığında eNOS, L-arjinin substratıyla tam doyurulup fizyolojik NO üretimine öncülük eder. Bu gibi koşullar altında, eksojen L-arjinin eklenmesi enzim aktivitesine etki etmemektedir. Patofizyolojiye uyan ADMA konsantrasyonu ve fizyolojik düzeyde L-arjinin konsantrasyonları varlığında eNOS aktivitesi düşer ve fizyolojik düzeylerin altında NO formasyon oranlarıyla sonuçlanır. Bu koşullar altında, eksojen L-arjinin takviyesi, kompetitif inhibitör halini alacak ve fizyolojik L-arjinin/ADMA oranını, eNOS aktivitesini yeterli kılacak düzeye getirecektir. Bu bulgunun bir başka açıklaması da, L-arjinin varlığının ADMA’nın eNOS’a uptake’ini aşırı şekilde inhibe etmesi olabilir (41). Gilinski ve ark.nın yaptığı çalışmalar, bu paradoks için aydınlatıcı konumdadır (42).

Sonuç itibariyle ADMA seviyeleri kadar Arjinin/ADMA oranı da çok önem arz etmektedir.

2.2.3. ADMA'nın Metabolizması

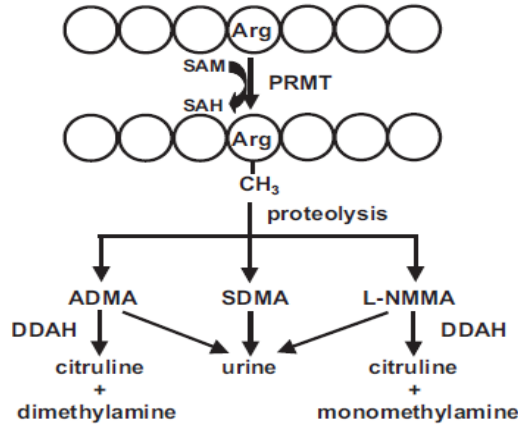


Şekil 3: ADMA'nın Metabolizması (43)

Şekil 3 (43) de gösterildiği gibi ADMA ve SDMA metilenmiş proteinlerin proteolizisi sonucu oluşturulur ve katyonik aminoasit taşıyıcılarıyla hücreyi terk edebilir. Ayrıca ADMA, DDAH enzimi tarafından hidrolize edilebilir. DDAH faaliyeti azaldığında ya da CAT aktivitesi azaldığında ADMA düzeyleri artar.

Enzimatik metabolizması, (DDAH) enzimi tarafından düzenlenir ve bugün için artmış plazma ADMA konsantrasyonunun azalmış DDAH aktivitesinden kaynaklandığını söyleyebiliriz. En önemli metabolik yol olan DDAH enzimiyle ADMA, sitrülün ve dimetilamine yıkılır (44,45). İnsanların yaklaşık günde 300 μmol (60mg/gün) ADMA ürettiği hesaplanmıştır. Bunun %80 i DDAH tarafından metabolize edilmektedir (9).

Böbrekler ADMA yı hem üretir hem metabolize ederler. Sağlıklı böbrek ADMA temizleme organıdır, günlük üretilen ADMA'nın 10 mg'ı böbrekten ekskrete edilir. Böbrekler üriner boşaltım yoluyla ve DDAH aracılı ayrışım yoluyla ADMA'nın temizlenmesine katkıda bulunur.



Şekil 4 : Metil arjininlerin oluşumları ve yıkım ürünleri (46).

SDMA, DDAH tarafından ayrıştırılamaz. Bu yüzden SDMA için major eliminasyon yolu renal yollardır (47).

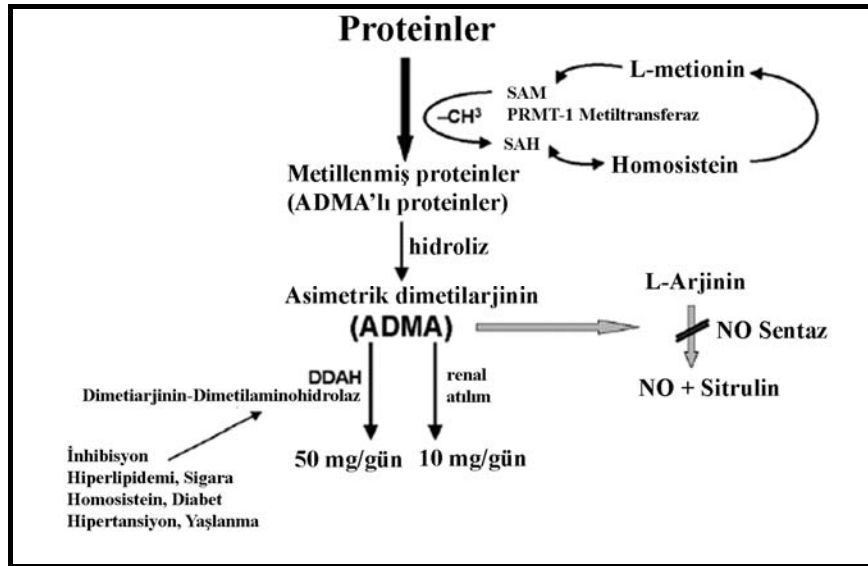
Okside LDL kolesterol, inflamatuvar sitokinler, hiperhomosisteinemi, enfeksiyöz ajanlar ve yüksek doz eritropoietin gibi birçok faktörün, ADMA'nın birikmesine ve NO sentezini bloke etmesine izin vererek, DDAH aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (48).

ADMA'nın hızlı bir klirensi vardır. Bu insanlara infüze edilen deneylerle Keilstein ve ark. tarafından gösterilmiştir (49). Onlar plazma ADMA azalan eğrilerinden yola çıkarak ortalama plazma yarı ömrünü 24 ± 7 dakika olarak hesaplamışlardır.

DDAH metabolizmasından kaçan hücre içi ADMA, CAT' ı inhibe edebilir ve böylece sadece NOS aktivitesini bloke etmez aynı zamanda L-arjininin hücre alınımlarını da sınırlar (36).

SDMA intravenöz olarak enjekte edilirse %60 oranında idrara çıkar, fakat ADMA intravenöz olarak enjekte edildikten sonra %5 oranında idrara çıkar. Bu nedenle renal yetmezlikte SDMA ADMA' ya göre plazmada çok daha yüksek seviyelerde bulunur. Yapılan araştırmalar ADMA'nın DDAH için substrat olduğunu, SDMA'nın olmadığını göstermiştir. ADMA'nın SDMA'ya göre yaygın bir metabolizmasının olduğu gösterilmiştir (50).

Endotelial hücre kültürlerinde DDAH'ın selektif inhibisyonu nitrik oksit sentezinde azalmaya yol açar. Ortamın arjinin muhtevasının artırılması bu durumu tersine çevirebilir (51). PRMT'ler yoluyla ADMA oluşumu ve atılım yolları (52, 95) şekil 5'te gösterilmektedir.



Şekil 5: ADMA metabolizması (95)

2.2.4. ADMA İle İlişkili Hastalıklar ve Patofizyolojik Olaylar

Teorik olarak dört mekanizma ADMA birikimine öncülük edebilir:

- (1) PRMT ile proteinlerin artmış metilasyonu,
- (2) Preform metilarjininlerin artmış proteolizisi ve salınımı,
- (3) Bozulmuş renal ekskresyon ve
- (4) DDAH tarafından bozulmuş metabolizma.

Birçok deneysel sistemde ADMA birikimi, normal DDAH protein düzeyine rağmen azalmış DDAH aktivitesine eşlik etmektedir ve bu da enzimin spesifik aktivitesinin (enzim kütlesinin her bir ünitesinin aktivitesi) azaldığını akla getirmektedir. Sisteinin azalmış sülfhidril grubu (-SH) DDAH aktivitesi için esansiyeldir ve bu nedenle bu enzim, oksidatif strese karşı son derece hassastır (53). Aslında DDAH aktivitesindeki azalma sıklıkla reaktif oksijen türlerinin birikimine eşlik eder ve antioksidanlar enzimi korur.

DDAH, -SH grubunun nitrozotiyole (-S-NO) nitrozilasyonu ile da inaktive edilebilir. Nitrozotiyol, iNOS tarafından aşırı miktarda NO üretildiğinde oluşur. Bu mekanizma ADMA birikimine öncülük edebilir ve bu nedenle proinflatuar sitokinler tarafından iNOS indüklendiğinde NO üretimini sınırlandırabilir (54). Yine de sitokinlerin DDAH üzerine etkileri değişkendir.

DDAH'ın spesifik inhibitörü olan 4124W, ADMA miktarını artırır ve bu sitokinin stimüle ettiği hücrelerde NO sentezini azaltır (55). Böylece, inflamatuvar durum sırasında NO üretiminin düzenlenmesinde DDAH-ADMA yolu, iNOS'u ya

engelleyecek ya da ona eşlik edecektir. Bozulmuş DDAH metabolizması, karaciğer disfonksiyonlu hastalarda ADMA aşırı birikimine katkı da sağlayabilmektedir (56).

Aşağıda bazı hastalıklar ve ilişkili ADMA seviyelerinden bahsedilecektir.

2.2.4.1. Renal Hastalıklar

Son dönem böbrek hastalığı olan bireylerde plazma ADMA düzeyi, diğer hastalıklara göre çok daha yüksektir. SDMA idrarla ekskrete edilemediğinden ADMA yüksekliğine bu izoformun artışı da, eşlik eder. Aslında diğer hastalıkların çoğunda SDMA değil, ADMA'nın yükselmesi; bozulmuş DDAH metabolizmasının ne kadar önemli bir rol oynadığını akla getirir (57). Bknz. Gebelik ve Preeklampsi.

Hemodiyaliz hastalarında gelişen endotel disfonksiyonu, kardiyovasküler olaylar ve mortalitede ADMA sorumlu faktörlerden birisi olabilir. Hemodiyaliz ile ADMA vücuttan uzaklaştırılabilir fakat hemodiyaliz sonrası hemen yüksek değerlere geri döner (18).

Hemodiyalizin yetersiz kalmasının bir nedeni de plazma proteinlerine kuvvetli bağlanmalarından dolayı metilargininlerin diyalizle yeterince uzaklaştırılamamasıdır. Renal yetmezlikli hastalarda ADMA önemli bir üremik toksindir. Farklı NOS izoformlarını baskılayarak hipertansiyon, sol ventrikül hipertrofisi, ateroskleroz, immun yetmezlik ve osteodistrofi gibi çeşitli komplikasyonlara katkıda bulunabilir (57).

Sistemik Lupus Eritematosus (SLE) da artmış olan otoantikörler ve özellikle de Anti-dsDNA antikorları PRMT1 aktivitesini arttırarak ADMA üretiminde artışa yol açmaktadır (58).

2.2.4.2. Diyabet

İnsülin rezistans sendromunda, Tip 1 diyabette, Tip 2 diyabette, gestasyonel diyabette, insülin rezistansında ve insülinopenik diyabetik rat modellerinde artmış plazma ADMA seviyeleri rapor edilmiştir (59-67).

Stühlinger ve ark. nın yaptığı bir çalışmada, insülin direnci ve ADMA arasında yakın ilişki belirlenmiştir. Bu araştırmacılar, insülin-glukoz klamp tekniği kullanan 64 kişilik nondiyabetik bir grupta insülin hassasiyetini değerlendirdiler. Kararlı durum plazma glukozu (insülin direncinin bir ölçümüdür) ve plazma ADMA düzeyi arasında sıkı bir lineer ilişki olduğunu buldular. Bu veriler, ADMA'daki yükselişin bariz diabetes mellitusun belirgin hale gelmesinden

önce oluştuğunu ve DM'un da artmış plazma ADMA düzeyiyle ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (59).

Tip 1 ve Tip 2 diyabette yapılan hayvan çalışmalarında ve aşikar Tip 2 diyabetli veya insulin rezistansı olan hastalarda yükselmiş ADMA seviyeleri bulunmuştur (68,69).

Kronik vasküler komplikasyonlar diyabetli hastalarda ana morbidite ve mortalite sebeplerindendir. Artan kanıtlar göstermiştir ki NOS inhibitörü ADMA diyabetle yakından ilişkilidir. Ayrıca serum ADMA düzeyi yükselişi makroanjyopatisi olan hastalarda olmayanlara göre çok daha belirgin olarak bulunmuştur (70).Yine yapılan çalışmalarda glukozun kendisinin DDAH aktivitesini baskılayabileceği sonucuna varılmıştır (71).

2.2.4.3. Kardiyovasküler Hastalıklar

Akut koroner sendromlu olgularda yapılan çalışmalarda ADMA seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur, bu hastaların medikal tedavi sonrası ADMA seviyelerinin azaldığı gözlemlenmiştir (72).

Azuma ve arkadaşları karotid arterlerine balon uygulanan tavşanların rejenere endotelyumunda sağlıklı olanlara göre düşük intrasellüler arjinin ve yüksek ADMA seviyeleri bulmuşlardır. Bu bulgular rejenere endotelyumda DDAH aktivitesinin düşük olduğunu ve arjinin seviyesinin yetersiz olduğunu düşündürmektedir (73).

ADMA seviyeleri kalp yetmezliği olan hastalarda da artar. ADMA'nın ventrikül kontraksiyonu ve kalp hızını azaltma kapasitesi vardır. ADMA'nın kardiyak fonksiyondaki rolü ve kalp yetmezliğindeki endotel fonksiyonundaki rolü tam aydınlatılamamıştır (18).

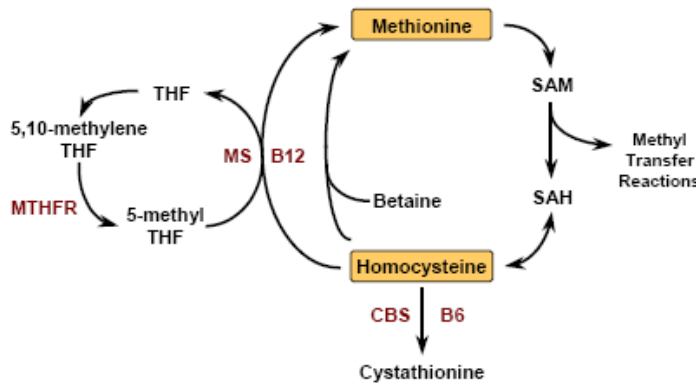
Yüksek ADMA düzeylerinin kardiyovasküler olay insidansının artması yanında konsantrik sol ventriküler hipertrofi ve karotid arter intima media kalınlığının artması ile de kuvvetli bir ilişki gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (74). Karotid intima media kalınlığı güçlü kardiyovasküler risk markırıdır (75). Plazma ADMA konsantrasyonları klinik aşikar ateroskleroza olanlarda olmayanlara göre yüksek olarak bulunmuştur (76).

Kardiyovasküler patoloji için tedavinin amacı artmış ADMA'nın etkilerini ortadan kaldırmak veya ADMA seviyelerini azaltmaktır. Teorik olarak arjinin ADMA'nın yerini alabilir, NOS aktivitesini tamir edebilir.

Arjininin tedavide kullanımı ile hiperkolesterolemili hastalarda endotel disfonksiyonunu ve periferel vasküler hastalığı olan hastalarda yürüme zorluğunu düzelttiği gözlenmiştir. Bu hastalarda ADMA düzeylerini azaltmada diğer bir alternatif yol DDAH ekspresyonunu veya aktivitesini artırmaktır (77).

2.2.4.4. Homosistein yüksekliği ve ADMA

ADMA ve homosistein arasındaki ilişki aralarında çok etkileşim olduğundan dolayı ilginçtir. Homosistein DDAH aktivitesini inhibe edebilir. Bu, enzimin aktif bölgesindeki sistein rezidüsüyle etkileşimi yoluyla olabilir. Homosistein metilasyonda anahtar rolü oynar. S-Adenozilmetiyonin arjinin metilasyonunda metil vericisidir. Ürünü S-adenozil homosisteindir bu da homosisteine çevrilir. Metiyonin döngüsünün yüksek olması homosistein seviyelerini artırır bu da endotelyal disfonksiyonla beraber seyreder. Sistein gibi sülfhidril bloke edici ajanlar DDAH enzimini inhibe ederler (78). Dithiothreitol (glikoproteinlerin disülfid bağlarını koparabilir bir madde) gibi dithiol redükthanları bu inhibisyonu engelleyebilir veya tersine çevirebilir.



Şekil 6: Homosistein metabolizması (21).

Dayal ve Cooke ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda homosisteinin doku ve endotelyal hücre kültürlerinde DDAH aktivitesini inhibe ederek ADMA düzeylerini yükselttiğini gözlemlemişlerdir (78,95).

Kalp hastalığı için homosistein yüksekliği önemli bir risk faktörüdür. Homosistein konsantrasyonunu 3 µmol/L düşürmek; iskemik kalp hastalığı riskini %16, derin ven trombozunu %25, stroke riskini %24 azalttığı gösterilmiştir (21).

2.2.4.5. Alzheimer veADMA

Bu hastalarda homosistein ve ADMA'nın arttığı NO'nun azaldığı bulunmuştur. NO' nun ADMA etkisiyle düzeyi azaldığı için serebral kan akımı

bozulur. NO sitoprotektif genlerin ekspresyonunu artırdığı için nöroprotektiftir, öğrenme ve ezberlemede etkilidir. L-Arjininin oral yolla alımı ile serebrovasküler hasarlı yaşlı hastaların kognitif fonksiyonlarında düzelme olabilir (60).

2.2.4.6. Gebelik, Preeklampsi ve ADMA

Gebelikte ADMA seviyesindeki düşüklük, normotansif gebelerdeki anne vasküler dilatasyonundan ve kan basıncı değişikliklerinden özellikle sorumludur. ADMA konsantrasyonları normal gebelik sırasında düşer ve birinci trimestrin sonunda minimuma ulaşır, sonra gebelik yaşıyla birlikte düzeyleri artar (14). Ancak gebelikte düşük olduğu fakat gebelik haftaları arasında fark olmadığı yönünde yayınlar da vardır (79). ADMA'nın ana eliminasyon yolu DDAH tarafından yıkılmasıdır ancak renal hiperfiltrasyon gebelik sırasındaki düşük ADMA konsantrasyonlarından sorumlu olabilir. Çünkü DDAH enzimi böbrek glomerüllerinde ve tubuluslarında oldukça yüksek düzeylerde bulunur ve bu da renal hiperfiltrasyonla böbreklere gelen ADMA düzeylerinde azalmaya neden olabilir (80).

ADMA seviyeleri normal gebelik esnasında azalmaktadır, fakat preeklampsili gebelerde yükselmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda preeklampsi gelişiminden önce ADMA seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir. Yüksek risk altındaki kadınların erken dönemde belirlenmesinde ADMA yeni bir risk markırı olarak ortaya çıkabilir. Gebelikte erken dönemde ADMA düzeyi yüksek olan kadınlarda ADMA seviyesi ile endotelyal disfonksiyon arasında ilişki vardır ama bu, kadınlarda sadece preeklampsi gelişimi olarak görülür (18).

2.2.4.7. Karaciğer Yetmezliği, Siroz ve ADMA

Multiple organ yetmezliği olan hastalarda ve son dönem karaciğer hastalarında bozulmuş karaciğer fonksiyonları ADMA seviyelerinin yükselmesine neden olabilir (74). Dekompanse dönemdeki hastalarda artmış ADMA konsantrasyonları hepatosellüler hasara cevabı yansıtabilir. DDAH'lar karaciğer dahil çok sayıda dokuda yaygın olarak dağılmıştır. ADMA dekompanse sirozlu hastalarda yükselirken SDMA için gruplar arasında farklılık bulunmamıştır. Mevcut sonuçlarda ADMA/SDMA oranının yükselmesinin gözlenmesi DDAH aktivitesinin azalmasına işaret eder (81).

2.2.4.8. Hemorajik Şok ve ADMA

ADMA üretiminin hipoksi gibi hücresel stres durumlarında arttığı düşünülmektedir (73). Doku hipoksisi ve oligüri şiddetli hemorajik şokun iki

karakteristik bulgusudur ADMA düzeylerinin hemorajik şokta yükseldiği görülmüştür. Şiddetli hemoraji durumunda oluşan oligüriden dolayı azalmış üriner atılım nedeniyle ADMA seviyeleri artar. ADMA birikimi nedeniyle Arjinin-NO yolağının bozulmasından dolayı akut hipovolemide sistemik kan basıncının sürdürülmesinde ADMA etkili olabilir (82).

2.2.4.9. Hipertansiyon ve ADMA

Achan ve ark. gönüllülerde ADMA nın akut infüzyonu ile artan vasküler dirence bağlı olarak kan basıncında artış gözlemlemişlerdir (9).

Arteriel basınç ve plazma ADMA seviyeleri arasındaki ilişki olduğu; erken hipertansiyonlu ve bilinen vasküler hastalığı olmayan kişilerde bildirilmiştir (83,84).

ADMA nın artmış seviyeleri hipertansiyonun gelişiminde rol oynayabilir. Bu Surdacki ve ark. (85) ve Wang ve ark. (83)'nın yeni teşhis edilmiş ve hipertansif tedavi alan hastalarda yaptıkları çalışmada artmış plazma ADMA seviyelerini, sistemik NO oluşumunda azalmayı ve azalan üriner nitrik oksit metabolitlerinin (Nox) eksekresyonunu rapor etmişlerdir.

Yaşlı (86) ve çocuk (13) hipertansiflerde ADMA' nın artmış plazma seviyeleri bildirilmiştir. Kielstein ve ark. hipertansiflerde normotansiflere göre artmış plazma ADMA ve benzer plazma SDMA seviyeleri tespit etmişlerdir.

Çoğu mevcut bilgi artmış dolaşım ADMA seviyelerinin hipertansiyon ve kötü kardiovasküler sonlanım riskini artırabileceğini öne sürmektedir (43).

2.2.5. ADMA DÜZEYİNİ AZALTMA STRATEJİLERİ

Arjinin Suplementasyonu

ACE İnhibitörleri

Hormon Replasman Tedavisi

Metformin ve Tiazolidinedionlar

Vitamin D ve A

Homosistein Düşürücü Vitaminler

Fenofibratlar ve Niasin

Statinler

Omega-3 Poliansatüre Yağ Asitleri

Eritropoetin (EPO):

Aspirin

L-Arjinin

L- Arjinin takviyesi ADMA seviyesi ne olursa olsun endotel fonksiyonu, miyokard perfüzyonu, anjina, erektil disfonksiyon ve egzersiz toleransında düzelmeye neden olabilir. Kardiyovasküler disfonksiyonun tedavisinde arjinin suplementasyonu faydalı bulunmuştur. L-Arjininin deneysel olarak hipertansiyonun bazı tiplerinde sistemik kan basıncını düşürdüğü görülmüştür (76).

ACE inhibitörleri (ACEI)

ACE inhibitörleriyle tedavi edilen aterosklerozlu ve NIDDM'li hastalarda ADMA seviyeleri azalmıştır (76). Ancak renin anjiotensin aldesteron sistemi (RAAS) inhibitörlerinin ADMA metabolizmasını direkt olarak düzenlediği mekanizmanın ayrıntıları bilinmemektedir. DDAH'ın reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından inaktivasyonundan dolayı, ACEI ve angiotensin AT1 reseptör blokörleri (ARB) oksidatif stresi düzelterek ADMA metabolizmasını hızlandırabilirler. Zofenopril'in ADMA konsantrasyonunu düşürmede enalapril'e göre çok daha efektif olduğu gösterilmiştir (87).

Bununla birlikte maalesef RAAS inhibitörlerinin ADMA metabolizması üzerindeki etkisi hala yeterince anlaşılamamıştır.

Hormon Replasman tedavisi (HRT)

Östrojenlerin kardiyovasküler sisteme birçok faydalı etkisi vardır ki menopoz öncesi kadınlarda iskemik kalp hastalığı insidansı erkeklerden daha düşüktür.

In vitro bir çalışmada, 17 β -östrodiol, kültüre endotelial hücreler aracılığıyla ADMA konsantrasyonunu ciddi ölçüde azaltmış ve buna DDAH aktivite artışı eşlik etmiştir (88).

HRT'nin ADMA üzerine *in vivo* etkilerini gösteren hayvan ve insan çalışmaları tutarsızlık göstermektedir. Mutlak ADMA düzeyini azaltmasına rağmen, HRT'nin kardiyovasküler morbidite ve mortalite üzerine net etkisi etkisi nötr (89), hatta negatif yönde (90) olabilir.

Metformin ve tiazolidinedionlar

Asagami ve ark.nın (62), Tip II diyabet hastalarında metforminin plazma ADMA üzerine etkisini araştırdığı çalışmada; Metforminin tek başına veya sülfanilüre derivativesıyla kombine uygulanmasında plazma ADMA düzeyini %30 oranında düşürdüğünü gördüler. Metformin, hem SDMA hem de L-arjinin

üzerinde, L-arjinin/ADMA oranında anlamlı bir yükseliş sağlayacak kadar etki göstermemiştir. Yine de metforminin ADMA'yı düşürmesinin glisemik kontrolün düzenlenmesine sekonder olarak mı yoksa glukoz homeostazından alakasız bir mekanizmayla mı oluştuğu bilinmemektedir çünkü, insanlarda diğer hipoglisemik ilaçların etkisi değerlendirilmemiştir.

İlginç şekilde metformin (N,N-dimetilbiguanid) yapısal olarak ADMA'ya benzerlik gösterir ve hücrelere y^+ sistem aracılığıyla taşınıyor olabilir (91). Üstelik ADMA, metforminin hücrelere transportunu inhibe etmektedir ancak, mevcutsa bile bu etkinin mekanizması bilinmemektedir.

Tiazolidinedionlar, adiposit farklılaşmasını ve karbohidrat metabolizmasını kontrol eden PPAR- γ 'nın(peroksizom proliferator aktivated receptor- γ) sentetik agonistleridir. PPAR- γ agonistleri insülin sensitivitesini artırır ve Tip II Diyabetli hastalarda oral antidiyabetik ajan olarak kullanılır (92). Eldeki bilgilere göre, thiazolidinedionların plazma ADMA'ya etkisi üzerine sadece tek bir klinik çalışma yapılmıştır. Stuhlinger, 7 insülin dirençli nondiyabetik hipertansif hastada rosiglitazonun (4 mg/gün, 4 hafta + 8 mg/gün, 8 hafta) plazma ADMA düzeyini %30 düşürdüğünü göstermiştir (59,62).

Wakino ve ark'nın PPAR- γ aktivatörü olan pioglitazonun (160 mg/kg/gün, 4 hafta) spontan hipertansif farelerde ve normotansif kontrol Wistar-Kyoto(WKY) farelerinde, plazma ADMA konsantrasyonunu yaklaşık %20 azalttığını göstermiştir (93).

Vitamin D ve A

Vitamin D; DDAH ekspresyonunu artırarak ADMA düzeyini azaltabilir.

Bir A vitamini derivatifi olan all-trans-retinoic acid(ATRA), retinoid A reseptörün (RAR) bir agonistidir. Mevcut deneysel çalışmalar ATRA'nın, sentetik RXR agonisti olarak kardiovasküler sistem üzerine pozitif etkilerinin (vasküler düz kas hücre proliferasyonunun inhibisyonu, endotelial fonksiyonun artırılması ve ateroskleroz gelişimini azaltmak gibi) olduğunu göstermektedir.

Achan ve ark. çalışmalarında fare ve domuz endotel hücre kültürlerinde ATRA ve 9-cisRA'nın DDAH-2 gen ekspresyonunu ve enzimatik aktiviteyi artırdığını rapor etmişlerdir. Ek olarak muhtemelen artmış protein turnoverına bağlı olarak ATRA besiyerinde ADMA birikiminde azalma SDMA'nin birikiminde artma olmuştur (94).

Homosistein düşürücü vitaminler

Homosistein, metionin metabolizmasının ara ürünü olan nonprotein bir aminoasittir. Artmış homosistein konsantrasyonu, ateroskleroz, alzheimer hastalığı, intrauterin gelişme geriliği ve konjenital nöral tüp defekti gibi çeşitli hastalıklarla birliktelik gösterir. Birçok çalışma homosisteinin, kültüre hücreler aracılığıyla ADMA formasyonunu stimüle ettiğini (95) ve hiperhomosisteineminin hayvan ve insanlarda plazma ADMA düzeyini artırdığını göstermektedir (96). Plazma homosistein konsantrasyonu, homosistein metabolizan enzimlerin kofaktörleri (folik asit, vitamin B6, vitamin B12) kullanılarak düşürülebilir. Yine de mevcut randomize çalışmalar bu vitaminlerin, homosistein düzeyini düşürmesine rağmen, akut kardiovasküler olayları önlemede yetersiz kaldığını göstermektedir (97).

Fenofibratlar ve niasin

Yang ve arkadaşlarının hipertrigliseridemik hastalar üzerinde yaptığı çalışmada fenofibrat tedavisinin ADMA ve malondialdehit (MDA) düzeylerini azalttığı görülmüştür. ADMA düzeylerinin azalması DDAH aktivitesinin düzelmesiyle oluşmuş olabilir (98). Niasin diğer ilaçlardan farklı bir mekanizma izleyerek, ADMA metabolizmasını artırmaktan ziyade sentezini azaltmaktadır (99).

Statinler

Kolesterol biyosentezinde hız sınırlayıcı bir enzim olan 3-hidroksi-3-metilgluterilkoenzim A redüktazın kompetitif inhibitörüdür.

Statinler, plazma kolesterolünü azaltmaktan başka, eNOS ekspresyonunu artırır, lökositlerin ve plateletlerin endotelyuma adherensini inhibe eder, vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu bloke eder ve oksidatif stresi düzeltir.

Hiperlipidemi ve oksidatif stresin DDAH aktivitesi üzerine zararlı etkileri ele alındığında, statinlerin potent antioksidan ve lipid düşürücü etkileri aracılığıyla ADMA metabolizmasını normalize etmesi beklenmelidir. Ek olarak statinler, insülin sensitivitesini bozabilir ve insülin direnci, yüksek ADMA'yla birliktelik gösterir (62,98).

Omega-3 (ω -3) poliansatüre yağ asitleri

Deniz kaynaklı ω -3 poliansatüre yağ asitlerinin(n-3 PUFA) klinik faydalarının olduğu kabul edilmektedir fakat direkt mekanizma açısından nasıl bir kardioprotektif etki uyguladığı bilinmemektedir (100). ADMA'nın uygulandığı şimdiye kadarki en büyük müdahalesel çalışmada, 3 yıl boyunca günde 2,4 gr n-3

PUFA [eicosapentaenoic acid (EPA) / docosahexaenoic acid (DHA) = 2/1], uygulanması 487 hiperkolesterolemik erkek hastada plazma ADMA veya SDMA düzeyine etki etmemiştir. Yine de, plasebo grubunda hafif bir artış olsa da, n-3 PUFA plazma arjininini artırmıştır (101).

Eritropoetin (EPO)

EPO'nun ADMA birikimini artırdığı ve kültüre endotelial hücrelerde DDAH aktivitesini düşürdüğü gösterilmiştir (50). EPO'nun ADMA ve DDAH üzerine etkileri, reaktif oksijen türlerinin oluşumunun artışına eşlik etmiş ve antioksidanlar tarafından bu etkiler engellenmiştir. Bu bilgilerin ışığında, eritropoietinin renal yetmezlik hastalarında ADMA metabolizmasını bozabileceğini söyleyebiliriz.

Aspirin

Aspirin, en sık reçete edilen nonsteroid antienflamatuar ilaçtır ve antioksidan ve antiplatelet etkilerinden dolayı önemli antiaterosklerotik özellik gösterir (102). Kültüre hücrelerin yaşlanmasıyla birlikte ADMA birikimi artmakta, DDAH aktivitesi azalmaktadır fakat aspirin bu süreci yavaşlatmaktadır. İlginç şekilde aspirin dışındaki ibuprofen ve asetaminofen içeren diğer NSAID'ler hücre yaşlanmasının ADMA metabolizması üzerine zararlı etkisini ağırlaştırmaktadır. Aspirinin faydalı etkisi siklooksijenaz inhibisyonu ile alakalı değildir, aksine antioksidan özelliğinden kaynaklanır (103).

2.3. MASKELİ HİPERTANSİYON

2.3.1. Tanım

Muayenehanede (ofis) ölçülen kan basıncı normal olan (<140/90mmHg) bireylerde, yapılan 24 saatlik ambulator kan basıncı ölçümleriyle yükselmiş kan basıncı değerleri olabilir. Bu duruma “psödonormotansiyon” , “izole ambulator hipertansiyon” veya “**maskeli hipertansiyon**” adı verilir (104,105).

Maskeli hipertansiyonun yaygınlığı normotansif hastalarda %10 civarındadır. Tedavi olan hipertansif hastalarda yaklaşık %20 civarında olduğunu rapor eden yayınlar mevcuttur (106-109). Bu hastalarda prognoz klinik basınçla tahmin edilenden daha da kötüdür.

Maskeli hipertansiyona sahip kişiler hipertansif kişilerle kıyaslandığında kardiovasküler olaylar açısından benzer riske sahiptirler (105,110).

Maskeli hipertansiyon sürekli hipertansiyonun habercisi olabilir. Maskeli hipertansiyonlu bireylerin olası özellikleri ise; nispeten genç yaş, erkek cinsiyet, gün boyunca stres veya artmış fiziksel aktivite ve sigara veya içki alışkanlıklarının olmasıdır (106). Böyle kişileri tanımlamak muayenede normal kan basıncı gösteren fakat ara sıra yüksek kan basıncı okumaları gösteren bireylerden şüphelenilerek olur. Önemli bir nokta bu tür hastaları normotansif olarak dışlamadan önce klinik dışında kan basıncı ölçümleri için teşvik edilmeleri gerekmesidir. Bu, özellikle sigara içenler için ve prehipertansif kan basıncı aralığında olanlarda önemlidir.

Maskeli hipertansiyonun potansiyel etkileri çok büyüktür, ancak genel nüfus durumunun tespiti için en iyi strateji henüz açık değildir (106).

2.3.2. Maskeli Hipertansiyon (MHT) Alt Tipleri

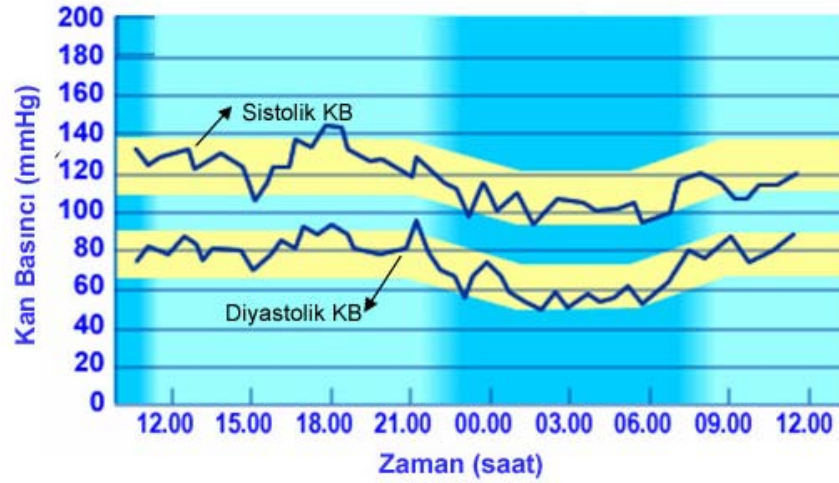
Ambulator kan basıncı türü ve altında yatan mekanizmaya göre MHT bazı subtiplere sınıflandırılabilir. Bu subtipler sabah, gündüz ve gece HT unu kapsar (111).

Sabah Hipertansiyonu

Sabah Hipertansiyonu, maskeli hipertansiyonun en çok karşılaşılan tipidir. Doğal sirkadien varyasyon nedeniyle olabildiği gibi, akşamdan alkol tüketimi ve kısa etkili antihipertansif ilaçların kullanımı sebebiyle de olabilir (106).

Kan basıncının sirkadien ritmi iyi bilinir. Genellikle, kan basıncı (KB) sabahları erken kalkmakla keskin bir şekilde yüksektir, sabahın geç vakitlerinden erken öğleden sonraya hafifçe azalır, erken akşam saatlerinde tekrar yükselir ve

sonra uyumakla büyük ölçüde düşer. Bu göstermiştir ki, sabahın erken saatlerindeki evde ölçülen KB, akşam geç saatlerdekinden biraz daha yüksektir (112,124).



Şekil 7: AKBM ile normal bir hastanın monitorizasyonu

Sabah hipertansiyonu, alışlagelmiş alkol alımı gibi bazı yaşam biçimi ile ilgili faktörler nedeniyle de olur. Hipertansif hastalarda, akşam alkol tüketimi gece KB'sini düşürürken, gündüz KB'sini artırmaktadır (112,113).

KB hızla yükseldiğinde, erken sabah saatlerinde kardiyovasküler olayların sıklıkla meydana geldiği iyi bilinir. Kario ve arkadaşları, KB'deki sabah kabarmasının (artışının) sessiz ve klinik serebrovasküler hastalıkla bağımsız bir şekilde bağlantılı olduğunu, ve sabah hipertansiyonunun daha yaşlı (veya yaşlı) hipertansiflerde felç için en kuvvetli bağımsız risk faktörü olduğunu göstermiştir (114,115). KB'deki sabah artışı ile sol ventriküler kütle indeksi veya hipertansif hastalardaki hipertrofi arasında ilişki olduğu (116,117), ve yüksek sabah KB'nin daha yaşlı deneklerde fonksiyonel bağımsızlık kaybıyla bağlantılı olduğu (118) da rapor edilmiştir. Bu nedenle, sabah hipertansiyonunun hedef organ hasarı ve kardiyovasküler olaylarda bir rol oynadığı görülür.

Gece kan basıncında meydana gelen düşme oranı kişiden kişiye değişkenlik gösterebilmekle birlikte popülasyonun büyük çoğunluğunda bu düşüş %10-20 arasında gerçekleşmektedir. Gece düşüşün bu değerler arasında izlendiği kişilerden "gece düşüşü olanlar" (dipper), düşüşün <%10 olduğu kişiler ise "gece düşüşü olmayanlar" (non dipper) olarak adlandırılmaktadır (119).

Gündüz hipertansiyonu

Gündüz hipertansiyonu, sigara içme alışkanlığı ve günlük stres gibi yaşam biçimiyle alakalı faktörler nedeniyle olur. Sigara içmek KB'yi şiddetli bir şekilde yükseltir,

ve sigara içen biri, içmeyen biriyle veya sigara içmediği bir gün ile kıyaslandığında, içtiği günlerde daha yüksek bir gündüz KB gösterir (120). Zihinsel veya fiziksel stres de gündüz KB'sinin yükselmesinde rol oynar, özellikle de çalışma esnasındadır (121). Hipertansif hastalarda gündüz KB'sinin (Gece KB'si hariç) olağan günlük hayatta iken, bir hastanede yatar haline göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (122). Sigara içme alışkanlığı olanlar veya stres altında olanlar kliniklere geldiklerinde, bekleme odasında sigara içmeden dinlenebildikleri için KB leri normal çıkabilir. Gündüz hipertansiyonlu deneklere sigara içmenin kesilmesi ve günlük stresin kontrolü tavsiye edilir. Beta blokör kullanımı stresle ilişkili hipertansiyonun kontrolünde etkili olabilir.

Gündüz KB'si, ortalama 24 saatlik KB'nin ana belirleyicisi olmasına rağmen, gündüz KB'si ile organ hasarı ve prognoz arasındaki ilişki daha az tanınır. PAMELA çalışmasında, gündüz KB'sinin kardiyovasküler ölüm oranına katkısı, gece KB'sine oranla nispeten zayıftır (123).

Gece Hipertansiyonu: :

KB geceleri genellikle %10-20 oranında düşüş göstermesine (*dipper* durum) rağmen, normotansif ve hipertansif deneklerin önemli bir bölümünde gece KB'sinin inişi kesilir veya tamamen yok olur (*non-dipper* durum) (119).

Bazı bireyler uyku esnasında KB'de bir yükseliş gösterir. Bu inici olmayan (*non-dipper*) durum yüksek tuz diyetindeki tuz hassasiyetli deneklerde, böbrek yetmezliği olan hastalarda, obezlerde, özellikle uyku apnesi olanlarda, ve otonom disfonksiyonu olan hastalarda sıklıkla görülür ve maskeli hipertansiyona neden olabilir. Şundan da söz etmelidir ki, inici olmayan (*non-dipper*) ların çoğu, gece boyunca uyanıncaya kadar KB'lerinin artmaya devam etmesi yüzünden sabah hipertansiyonu da gösterirler. Yapılan çalışmalar, bir düşük-tuz diyeti veya bir diüretik ile yapılan tedavinin, hipertansif hastalarda gece KB'sini etkin bir şekilde düşürdüğünü göstermiştir (124,125). Gece KB'sini kontrol etmede uzun etkili (*long-acting*) antihipertansif hapların kullanılması da önemlidir.

Belli bir sayıdaki çalışmalar göstermiştir ki, inici olmayan patern veya gece KB'sinin seviyesi, ileri düzeydeki organ hasarıyla ve zayıf bir prognoz ile bağlantılıdır (123). PAMELA çalışmasında, gece KB'sinin, ofis KB'si, ev KB'si ve ambulatory KB parametreleri arasında kıyaslandığında; gece KB'sinin gelecek kardiyovasküler ölümü tahmin etmede en önemli belirteç olduğu görülmüştür (123). Bu nedenle, gece hipertansiyonunun, sol ventriküler hipertrofi, karotid ateroskleroz ve zayıflatılmış renal fonksiyon gibi organ hasarlarının gelişmesine yatkın olması muhtemeldir.

Maskeli Hipertansiyonun Subtipleri

<u>Subtip</u>	<u>Nedenleri</u>	<u>Nasıl Yönetilmeli</u>
Sabah Hipertansiyonu	Doğal sirkadien ritm Alkol Antihipertansif ilaç(kısa etkili)	Alkol kısıtlama
Gündüz Hipertansiyonu	Sigara kullanımı Stres (fiziksel,mental)	Sigara bırakma Stres yönetimi Beta blokörler
Gece Hipertansiyonu	Tuz, renal fonksiyon kaybı, Obezite, uyku apnesi, Otonom kaybı	Tuz kısıtlaması Kilo vermek Diüretik, Uyku apne tedavisi

Tablo 1: Maskeli Hipertansiyon Subtipleri

Liu Je ve ark. ile Lurbe E. ve ark.ın yaptıkları çalışmalar göstermiştir ki; sol ventriküler kütlede, karotid arter intima-media kalınlığında, üriner albumin atılımında artışlar gibi ileri organ hasarlarını gösteren belirteçler tedavi olmuş yada olmamış MHT hastalarında sıkça bulunur (126,127).

Maskeli HT. hastalarını tanımak; subtiplerini araştırmak değerlendirmek ve her bir hastanın durumunun nedenine göre uygun bir şekilde tedavi edilebilmesi için önemlidir.

2.3.3. Epidemiyoloji ve Prevalans

Hipertansiyon, tüm dünya ülkelerinde önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Önemli oranda üretim kaybına ve yaşam kalitesinde azalmaya neden olur.

Türk Hipertansiyon ve Böbrek Hastalıkları Derneği'nin Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması, ülkemizde erişkin nüfusta yaklaşık 15 milyon hipertansif birey olduğunu, bunların yalnız % 40'ının kan basıncı yüksekliğinin farkında olduğunu ve yalnız % 31'inin antihipertansif tedavi aldığını göstermiştir. Kan basıncı kontrolü, tüm hipertansiflerde % 8, kan basıncı yüksekliğinin farkında olan ve tedavi alanlarda ise % 20 olarak bulunmuştur. Hipertansiyonun bu denli yüksek prevalansı, düşük farkında olma ve kontrol edilme oranları yanında normotansif bireylerin % 63'ü de (yaklaşık 21 milyon kişi) prehipertansif aralıktadır (128).

Maskeli hipertansiyon prevalansı %10 ile %40 düzeylerine kadar ulaşmaktadır. Özellikle SHEAF çalışması bu durumun kardiyovasküler kötü prognozla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada 1150 tedavi alan 60 yaş üzeri hipertansif bireylerin klinik ortamında doktor tarafından ev ortamında ise hastanın kendisi tarafından yapılan kan basınçları değerlendirilmiştir. Sonuçta klinik kan basıncı normal olduğu halde evdeki kan basınçları 135/85 mmHg üzeri olan %40 vaka olduğu ve bunun için erkek cinsiyet, klinikte ölçülen sistolik kan basıncı ve yaşın önemli risk oluşturduğu saptanmıştır (129).

2.3.4. Risk Faktörleri

Maskeli hipertansiyonlu bireylerin benzer özellikleri; nispeten genç yaş, erkek cinsiyet, gün boyunca stres veya artmış fiziksel aktivite ve sigara veya içki alışkanlıklarının olması gibi özelliklerdir. Ayrıntılı bilgi için Bkz. MHT ve Subtipler.

2.3.5. Patogenez ve Hedef Organ Hasarı

1999'dan beri yapılan birçok çapraz çalışmada maskeli hipertansiyonlu hastalarda sol ventrikül hipertrofisi (LVH) olma ihtimali normotansiflere göre çok yüksek olduğu şeklinde, sol ventrikül kitlesi (130), komşu arka duvar kalınlığı (131) yada LVH prevalansına (120) göre değerlendirilmiştir. Benzer şekilde maskeli hipertansiyonlu hastalarda karotid duvar kalınlığı (142) yada intima media'da kalınlaşma olma ihtimali yüksektir. PAMELA çalışmasında; maskeli hipertansiyonlu grupta uzun dönemde kardiyovasküler olay riskindeki anlamlı artışın kanıtlanmasına rağmen, LVH ve maskeli hipertansiyon arasındaki ilişkiye dair kanıt yoktur (123,132).

Son olarak 80 hasta ile yapılan İtalyan çalışması (133), 30 ay boyunca takip edilen klinik ölçüme göre kontrollü iyi kan basıncı tedavisi edilmiş hipertansif bireylerde LVH ve mikroalbuminürinin azaldığını göstermektedir ama maskeli hipertansiyonlu hastalarda azalmamıştır.

2.3.6. Ambulatuvar Kan Basıncı Monitorizasyonu (AKBM)

Ambulatuvar kan basıncı ilk olarak 1960 larda hasta günlük aktivitelerini yaparken 24 saatlik kan basıncını non invaziv olarak ölçmek amaçlı kullanılmıştır (134).

Cıvalı sfingomanometrelere göre AKBM' da ölçümler daha düşük olarak saptanmaktadır (135).

Günümüzde kullanılmakta olan AKBM cihazları kolayca taşınabilen, hafif, pille çalışan, programlanabilen ve bilgisayar programları vasıtasıyla çeşitli hesaplamaları verebilen cihazlar haline gelmişlerdir (136). Elde edilen bilgi, hastanın günlük aktivitesini devam ettirirken elde edilen yirmi dört saatlik periyottaki kan basıncı profilini verir .

Ambulatuvar ölçümle elde edilen kan basıncı değerleri, klinikte klasik yöntemle elde edilen kan basıncı değerleriyle karşılaştırıldığında, ambulatuvar yöntemin hipertansiyon komplikasyonlarını ve kardiyovasküler morbiditeyi öngörmede çok daha değerli olduğu saptanmıştır (104).

Genel popülasyonda normal ambulatuvar kan basıncı değerlerini belirlemeye yönelik PAMELA (123) çalışmasında normal gündüz ortalama sistolik kan basıncı üst sınırı erkekler için 129-132 mmHg, kadınlar için 125-129 mmHg, ortalama diyastolik kan basıncı üst sınırı erkekler için 80-85mmHg, kadınlar için 80-82 mmHg olarak belirlenmiş ve bu değerlerin klinikte ölçülen 140/90 mmHg değerine karşılık geldiği iddia edilmiştir. ESH/ ESC 2007 arteriyel hipertansiyon tedavi klavuzunda ambulatuvar ölçümler için kabul edilen normal değerler Tablo 2 de gösterilmiştir.

Farklı tipte ölçümlerle hipertansiyon tanımı için kan basıncı eşik değerleri (mmHg)		
	Sistolik KB	Diastolik KB
Muayenehanede veya klinikte	140	90
24 saatlik	125-130	80
Gündüz	130-135	85
Gece	120	70
Ev	130-135	85

Tablo 2: Farklı tipte ölçümlerle hipertansiyon tanımı için kan basıncı eşik değerleri(mmHg)

Hedef kan basıncı, diyabet hastalarında ve ilişkili klinik durumların (inme, miyokard infarktüsü, böbrek işlev bozukluğu, proteinüri) bulunduğu hastalar gibi yüksek veya çok yüksek risk taşıyan hastalarda en az <130/80 mmHg olmalıdır.

2.3.6.1. Ambulatuvar Kan Basıncı Monitorizasyonu (AKBM) Endikasyonları

AKBM' nun birçok değişik endikasyonları bulunmaktadır (136,137). Bunlar;
Yeni tanı almış hipertansif hastaların hedef organ hasarlarının değerlendirilmesi
Sınırdaki hipertansif değeri olan hastaların değerlendirilmesi.

Beyaz gömlek hipertansiyonu.

İlaç direncinin veya dirençli hipertansiyonun değerlendirilmesi.

Gebelikle ortaya çıkan hipertansiyonun değerlendirilmesi.

Hipertansiyon tedavisinde tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesi.

Semptomlu episodik hipertansiyon.

Otonomik nöropati.

Ortostatik hipotansiyon.

2.3.6.2. Kan basıncının diurnal ritmi

AKBM sayesinde kan basıncının diurnal seyrinin non-invazif olarak takibi mümkün hale gelmiş ve gerek normal gerekse hipertansif hastalarda kan basıncının gece değerlerini belirlemeye yönelik birçok çalışma yapılmıştır. (138). Normal popülasyon çalışmaları erişkinlerde kan basıncının nokturnal düşüş gösterdiğini ortaya çıkartmıştır. Gece kan basıncında meydana gelen düşme oranı kişiden kişiye değişkenlik gösterebilmekle birlikte popülasyonun büyük çoğunluğunda %10-20 oranında gerçekleşmektedir.

Hipertansif hastalarda yapılan vaka kontrol çalışmalarında (139) gece düşüşü olmayanlarda (non-dipper) hedef organ hasarının anlamlı derecede fazla olduğu gösterilmiştir. Prospektif çalışmalarda ise gece düşüşü olmaması veya gece kan basıncının gündüzden yüksek olması kardiyovasküler hastalık için bağımsız risk faktörleri olarak tespit edilmiştir (140).

Gece düşüşünün olmaması diyabetle alakalıdır ve diyabet kliniği olmayan şüpheli kişilerde bile görülür. Tip1 diyabetlilerde (%78) gece basıncındaki düşüşün olmaması Tip 2 diyabetlilerle (%30) kıyaslandığında daha sık olarak görülür (141,142). Tip 1 diyabette görülen bu durum bozulmuş diyabetik kompensasyon mekanizmalarıyla alakalı olabilir. Hiperglisemi dolaşan plazma hacmini düzenler, renal hemodinami ile interferasyon oluşturabilir, kanın akış dağılımını etkileyebilir ve normalde olması gereken gece basınç düşüşünü önleyebilir. Ayrıca insülin otonom sinir sisteminin düzenlenmesinde anahtar rol oynar. Tip 1 diyabetiklerde bir haftalık glisemik kontroldeki ilerleme hem ABPM ölçümlerini azaltıp hem de geceleyin basınç düşüşünü arttırmıştır.

2.3.7. Diyabet ve Maskeli Hipertansiyon

Diyabetes mellitus glukoz ve diğer enerji veren moleküllerin bozulmuş metabolizması ile uzun dönemde vasküler ve nöropatik komplikasyonların oluşumuyla karakterize kronik bir hastalıktır. Diyabet, ortak tetikleyici faktörün hiperglisemi olduğu değişik patolojik mekanizmalarla oluşan bir grup bozukluğun birleşiminden meydana gelmektedir (143).

Günümüzde tüm dünyada yaklaşık 200 milyon (yetişkin nüfusun yaklaşık %5 i) DM hastası olup kontrol altına alınmazsa 2025 yılında tüm dünyadaki diyabetik hasta popülasyonunun 333 milyon kişiye (yetişkin nüfusun yaklaşık % 6.3 ü) ulaşacağı tahmin edilmektedir (144).

Her yıl tüm dünyada 3.2 milyon kişi diyabet komplikasyonlarına bağlı olarak hayatını kaybetmektedir. Diyabetik hasta popülasyonunun %90 ını Tip 2 DM'ye sahip hastalar oluşturmakta olup bu bireylerin %80 nin kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle hayatını kaybedeceği öngörülmektedir (145).

Hipertansiyon Tip 2 diyabetli hastalarda yaygındır ve %30 vakada diyabetin teşhisi sırasında halihazırda vardır ve %73 e kadar klinik süreçte oluşur (146,147).

Kronik diyabet komplikasyonlarının gelişiminde genetik faktörlerin yanı sıra, klasik ve en fazla analiz edilen risk faktörleri; diyabet süresi, hiperglisemi, arteriyel hipertansiyon, dislipidemi, sigaradır (148,149).

Gerçekleştirilmiş en büyük prospektif diyabet çalışması olan UKPDS çalışmasında (United Kingdom Prospective Diabetes Study), 5000'den fazla hasta ortalama 10 yıl boyunca izlenmiş ve yoğun hiperglisemi ve hipertansiyon tedavisinin (arteriel basıncın 154/87 mmHg'dan 144/82 mmHg'ya düşürülmesinin) aşırı veya normal kilolu Tip 2 diyabetiklerde diyabet komplikasyonu riskini önemli oranda azalttığı ve komplikasyonsuz geçen süreyi uzattığı belirlenmiştir (150).

Tip 2 diyabetlilerdeki maskeli HT prevalansı (%30), literatürdeki diyabetli olmayanlara göre daha fazladır (151).

Maskeli hipertansiyonun diyabetin kronik komplikasyonlarına etkisi Brezilyalı Tip 2 diyabetli hastalarda yapılan bir çalışmayla gösterilmiştir. Bu çalışmada artmış üriner albumin ekstraksiyonu, artmış normal yüksek albuminüri, mikroalbuminüri, makro albuminüri ve daha fazla artmış sol ventrikül kalınlığı izlenmiştir (151).

Tip 2 diyabette, maskeli hipertansiyon artmış retinopati prevalansı, nefropati ve koroner kalp hastalığı (152), hedef organ hasarı ile ilişkilidir (147).

2.3.7.1. Diyabet ve Ambulatuvar Kan Basıncı Monitorizasyonu(AKBM)

Tip 1 ve Tip 2 diyabetlilerde AKBM endikasyonları diyabetik olmayanlarla aynıdır (104).

Tip 2 diyabetli normotansif hastaların %30 unda kalp boşluğu kalınlığı, artmış üriner albumin ekstraksiyonu ve nokturnal basınç değeri diyabetik retinopati ile ilişkili olduğu için bütün diyabetli hastaların AKBM yaptırmaları tavsiye edilebilir.

Tip 2 diyabet yüksek mortalite ve morbiditelere sebep olan kronik mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonların gelişimiyle ilişkilidir (153).

Tip 1 diyabetli hastalar, diyabetik olmayanlara göre daha yüksek 24 saatlik basınç ortalamalarına sahiptir (141).

Diyabetik nefropati ve AKBM değerlerinde mutlak yükseklik ilişkisi renal hasarın erken safhalarında bile gösterilmiştir (154). Bu ilişki; mikroalbuminuriye ilerleyen diyabetik hastalarda, başlangıça göre gündüz (daytime) diastolik basıncı artışlarını gösteren prospektif çalışmalarla da gösterilmiştir (155).

Yine benzer şekilde artmış 24 saatlik ortalama kan basıncıları (hem gece hem gündüz), yüksek nabız basıncıları, ve basıncı yüklenmeleri nefropatinin ilerleyen safhalarında tarif edilmiştir (156).

Danimarkalı Tip 1 diyabetli hastalarda yapılan kesitsel çalışmada artmış gece diastolik basıncı ile diyabetik retinopatinin varlığı arasında ilişki saptanmıştır (157). Aynı şekilde Brezilyalı tip 1 diyabetlilerdeki kohort çalışmasında diastolik gün içi ve 24 saatlik kan basıncılarının diyabetik retinopatinin gelişmesini ve ilerlemesini öngördüğünü bulmuşlardır (158).

Tip 2 diyabetlilerde makrovasküler hastalık ile AKBM ile ölçülen basıncı ortalamaları arasında ilişki olup olmadığının incelendiği bir çalışmada; makrovasküler hastalığı olanlarda sistolik ve diastolik gündüz ve gece basıncı ortalamaları ile nabız basıncılarının daha yüksek olduğu bulunmuştur (156).

AKBM ile yapılan basıncı ölçümleri diyabetin kronik komplikasyonları için riskli hastalarda vazgeçilmez bir basıncı ölçüm yöntemidir. Diyabetli hastalarda AKBM ölçümlerine göre tedavinin kardiovasküler, göz, renal sistem üzerine faydalarının olacağı için tedavi stratejilerinin oluşturulmasında önemlidir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 MATERYAL

3.1.1. Vakaların Oluşturulması ve Gruplandırma

Çalışmamız Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Etik Kurul Komisyonun 26.12.2008 tarih ve 2008/358 numaralı etik kurul kararı ile tez projesi olarak onaylanmış; sonrasında Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Koordinatörlüğü tarafından 09102016 numaralı proje ile desteklenmesine karar verilmesiyle vaka oluşturulmaya başlanmıştır.

Çalışmaya Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kardiyoloji polikliniğine başvuran, daha önce ADA kriterlerine göre diyabet tanısı almış normotansif 112 hasta katılmıştır. Bu hastalardan 24 saatlik ambulator kan basıncı monitörizasyonunu müteakip maskeli hipertansiyon teşhisi konulanlar hasta grubunu ve AKBM ile hala normotansif bulunan hastalar ise kontrol grubunu oluşturmuştur.

Aşkar hipertansiyonu olan, ACE inhibitörü veya anjiyotensin reseptör blokörü kullananlar, diğer antihipertansif ilaçlardan veya antihiperlipidemik ajanlardan kullanmış olanlar, bilinen koroner kalp hastalığı olan ve serebrovasküler hastalık geçirmiş olanlarla, bu çalışmaya katılmak istemeyen gönüllüler çalışmaya alınmamıştır.

İlk başvuru esnasında hastaların aile hikayeleri, kendilerinin demografik özellikleri (yaş, cinsiyet, ağırlık, bel çevresi v.b), varsa eşlik eden hastalıkları, biyokimyasal parametreleri, kardiyolojik açıdan elektrokardiografi (EKG), ekokardiografi (EKO), değerlendirmeleri kaydedilmiştir. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan bireylere projenin amacı ve kapsamını açıklayıcı bilgiler verildikten sonra kendilerinden yazılı aydınlatılmış onam belgesi alınmıştır.

3.1.2. Numunelerin Toplanması

ADMA, Arjinin Arjinin/ADMA oranlarının tespiti için Meram Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında hastalardan oturur pozisyonda iken iki ayrı düz tüpe venöz kan örnekleri alındı. ADMA ve arjinin örnekleri hemen soğuk zincire riayet edilerek soğutmalı santrifüj ile +4 °C de 2000 x g devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar sülfosalisilik asit ile uygulanan deproteinizasyon işleminden sonra ADMA ve arjinin çalışmaları için ependorf tüplere aktarılıp – 80 °C de çalışma gününe kadar muhafaza edildi.

3.1.3. Kullanılan Reaktif ve Çözeltiler

- 1- ADMA Standart (Sigma-Aldrich, Lot: D4268, US)
- 2- Arjinin Standart (Merck, 519- K 538944, Darmstadt Germany)
- 3- HCL (Merck, K 25039614-814 Darmstadt Germany)
- 4- Metanol (Merck, K 26301108-914 Darmstadt Germany)
- 5- Sodyum Asetat ($\text{CH}_3\text{COONa}(\text{H}_2\text{O})_3$, Merck, 9023840A Darmstadt Germany)
- 6- Tetrahidrofuran (Merck, K 34870914 529 Darmstadt Germany)
- 7- Sülfosalisilik Asit (Merck 53656684 Darmstadt Germany)
- 8- O-Fitaldialdehit (Merck S 30064448 Darmstadt Germany)
- 9- Borik Asit (Sigma, B 7660)
- 10- 2-Merkaptoetanol (Merck, Schuchardt)
- 11- Asetik asit (Sigma, Lot 91190)

3.1.4. Kullanılan Cihazlar

- 1- Santrifüj (Hettich Rotina 46R- Beckman Coulter Microfuge 22R Centrifuge)
- 2- PH Metre
- 3- Nuçe Erlenii
- 4- Magnetik karıştırıcı, magnetik bar
- 5- Su trombu / Degazır Cihazı
- 6- Filtre (Millex Millipore GP 0.22 μ , 25mm diameter Z35, 990-4)
- 7- Agilent 1200 serisi HPLC cihazı Floresans dedektör
- 8- Analitik Kolon; 150mm x 4,6mm x 5 μ m ODS Hypersil kolon
- 9- Hassas Terazı
- 10- Vorteks
- 11- Otomatik Pipetler

3.2. METOD

3.2.1. ADMA, Arjinin Analizi

Adma, Arjinin ölçümleri Chen ve ark.nın (159) yaptıkları ölçüm referans alınmış, çeşitli yeni düzenlemelerle modifiye edilmiş ölçüm süresi kısaltılmıştır.

3.2.1.1. Mobil Faz Solüsyonlarının Hazırlanması

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

3.2.1.2. Mobil Faz A'nın Hazırlanması (82:1)

1- 5,57 gr sodyum asetat ($\text{CH}_3\text{COONa} (\text{H}_2\text{O})_3$) bir miktar distile su içinde çözülerek pH 6,8'e ayarlandıktan sonra distile su ile son hacim 820ml'ye tamamlandı.

2- 10 ml THF eklenerek son hacim 830 mlt'ye tamamlanmış oldu.

3.2.1.3. Mobil Faz B'nin Hazırlanması (77:1)

1- 770 ml metanol ilave edildi.

2- 10ml THF eklenerek son hacim 780 mlt'ye tamamlanmış oldu.

3.2.1.4. Mobil Fazların Filtrasyonu ve Degaze Edilmesi

Hazırlanan mobil faz 0.45 μ filtreler kullanılarak filtre edildi. Degaze işlemi ultrasonik su banyosu ile sağlandı.

3.2.1.5. ADMA Standart Hazırlanması

ADMA stok standart solüsyonu (0.5mM) 0.1 M HCl içinde hazırlanıp buzdolabında saklandı. Stok solüsyonunun 0.1 M HCl ile dilüsyonuyla standart solüsyonu (50 μ M) hazırlandı. Hazırlanan 50 μ M standart solüsyondan 0,1M HCl ile dilüsyonlarla sırasıyla 25 μ M, 12.5 μ M, 6.25 μ M, 3.1 μ M, 1.56 μ M, 0.78 μ M olmak üzere standart çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan standartlar derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak cihaza enjekte edildi. Alınan pik alanlarıyla ADMA standart grafiği oluşturuldu.

3.2.1.6. Arjinin Standart Hazırlanması

Arjinin stok standart solüsyonu (1 mM) 0.1 M HCl içinde hazırlanıp buzdolabında saklandı. Stok solüsyonunun 0.1 M HCl ile dilüsyonuyla standart solüsyonu (500 μ M) hazırlandı. Hazırlanan 500 μ M standart solusyondan 0,1M HCl ile dilüsyonla sırasıyla 250 μ M, 125 μ M, 62.5 μ M, 31.25 μ M, olmak üzere standart çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan standartlar derivatizasyon işleminden sonra otomatik örnekleme cihazına konularak enjekte edildi. Alınan pik alanlarıyla arjinin standart grafiği oluşturuldu.

3.2.1.7. Numune Hazırlanması

Hastalardan düz tüplere alınan kanlar bekletilmeden 2000 x g devirde 4 $^{\circ}$ C'de 10 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serumdan 1 ml alınıp 20 mg sülfosalisilik asit ilave edilip 10 dakika buz banyosunda bekletildi. Tekrar 2000 x g devirde 4 $^{\circ}$ C'de 10 dakika santrifüj edildi. Deproteinizasyon işleminden sonra üstte kalan süpernatanttan ADMA ve arjinin analizi yapıldı. Süpernatantlar 0.22 μ çaplı enjektör filtrelerden süzülerek sisteme verildi.

3.2.1.8. Derivatizasyon

Standart ve numuneler O-fitaldialdehid (OPA) kullanılarak derivatize edildi. Derivatizasyon için 10 mg OPA, 0.5 ml metanol ve 2 ml 0.4 M borat tamponunda (pH=10) çözüldü. Hazırlanan solüsyona 30 µL merkaptotanol eklendi. Hazırlanan derivatizasyon çözeltisinin stabilitesi 2 gün olduğundan her analiz öncesi taze olarak hazırlandı. Cihaz üzerinde yapılan bir enjeksiyon programı yardımıyla 1.3 µL örnek süpernatantı ile 8.7 µL derivatizasyon solüsyonu ile karıştırılıp 3 dk sonrasında cihaza verildi.

Analiz süresinin sonunda bulunan piklerin alanları yardımıyla standart grafiğinden faydalanılarak örneklerin ADMA ve arjinin değerleri hesaplandı.

3.2.1.9. Pompa

Gradyent mobil faz kullanıldı. Mobil faz A ve B aşağıda gösterildiği şekilde dakikada 0.85 ml olacak şekilde sistemde pompalandı.

ZAMAN (dk)	A (%)	B (%)
0,0	79,9	20,1
3,96	75,7	24,3
10,56	58,6	41,4
18,48	37,2	62,8
21,12	22,2	77,8
22,44	22,2	77,8
23,10	79,9	20,1
26,00	79,9	20,1

Tablo 3: Mobil fazların akış şeması. (Akış hızı 0.85 ml/dk)

3.2.1.10. Deteksiyon

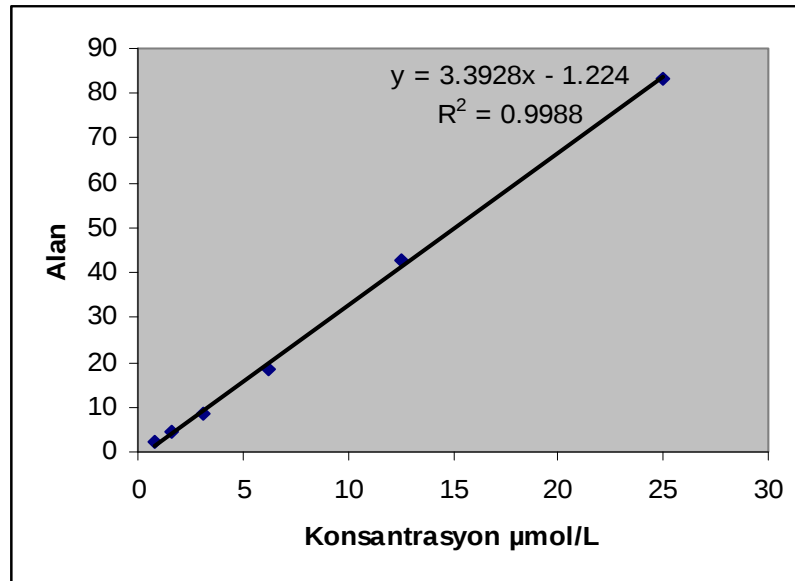
Floresans dedektör eksitasyon için 338 nm. ve emisyon için 425 nm'ye ayarlandı. Agilent 1200 serisi HPLC cihazı, 150mm x 4.6 mm x 5µm Thermo ODS Hypersil kolon ve floresans dedektör kullanıldı. Toplam analiz süresi 26 dk. olacak şekilde ayarlandı.

3.2.1.11.ADMA Standart Çalışmaları

ADMA için retansiyon süresi 12,638 dakika olarak belirlendi. ADMA standart kromatogram örneği şekil 9’da gösterilmiştir. Konsantrasyon ve bu konsantrasyonlara ait alanlar ve standart grafiği aşağıdaki gibidir.

KONSANTRASYON (μM)	ALAN
0,78 μM	2,23
1,56 μM	4,41
3,1 μM	8,40
6,25 μM	18,56
12,5 μM	42,68
25 μM	83,27

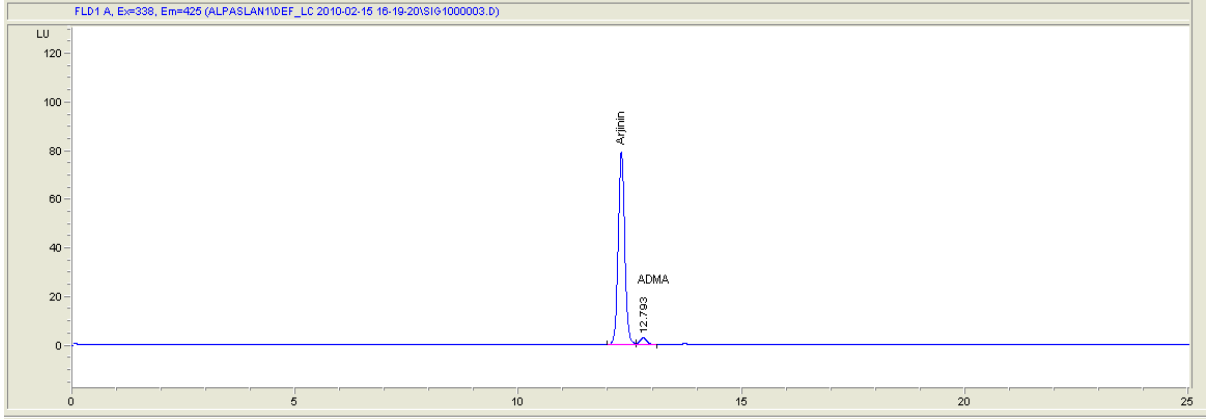
Tablo 4: ADMA konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar.



Şekil 8: ADMA standart eğrisi.

3.2.1.12. Arjinin Standart Çalışmaları

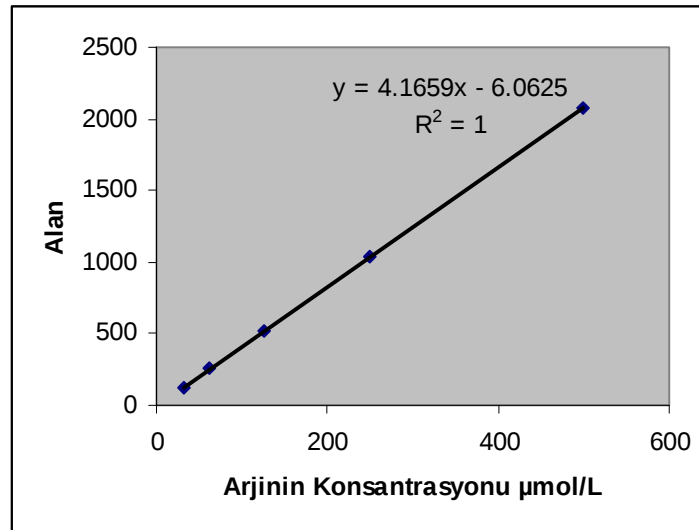
Arjinin için retansiyon süresi 12,166 dakika olarak belirlendi. Arjinin ve ADMA için standart bir kromatogram örneği şekil 9’de gösterilmiştir.



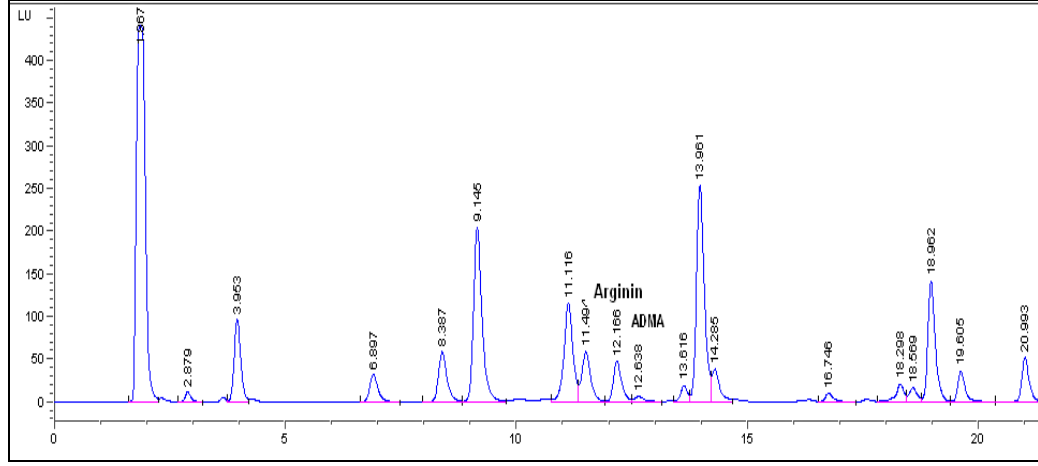
Şekil 9: 50 µM Arjinin ve 12.5 µM ADMA standardına ait örnek kromatogram

KONSANTRASYON (µM)	ALAN
31.25 µM	124,3
62.5 µM	253,1
125 µM	515
250 µM	1036,7
500 µM	2076,3

Tablo 5: Arjinin konsantrasyonlarına karşılık bulunan alanlar.



Şekil 10: Arjinin standart grafiği.



Şekil 11: Bir hastada ADMA ve Arjinin piklerini gösteren örnek kromatogram

3.2.1.13. Diğer L-Arjinin, ADMA, Ölçüm Yöntemleri

- CE-LIF (Floresansla indüklenmiş Kapiller elektroforez- Laser)
- LC-MS: Likit Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
- GC-MS: Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
- ELISA

3.2.2. Diğer Biyokimyasal Ölçümler

Glukoz, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol konsantrasyonları enzimatik kolorimetrik yöntemlerle Beckman Coulter test kitleri (sırasıyla lot=004108, 001155, 912051, 910061) kullanılarak LX-20 Beckman Coulter otoanalizöründe ölçüldü. LDL-kolesterol düzeyleri Friedewald formülü ile aşağıdaki şekilde hesaplandı.

Total kolesterol (mg/dl) = HDL-kolesterol + VLDL ([Trig]/5) + LDL-kolesterol.

HbA1c analizi

HbA1c analizi HPLC tekniği ile Primus PDQ plus cihazında gerçekleştirildi.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler bilgisayar ortamına aktarılarak “SPSS 16,0 for Windows” programı yardımıyla istatistiksel analizler yapıldı. Öncelikle hastaların ve kontrol gruplarına ait demografik ve analitik verilerin dağılım analizleri Shapiro Wilk dağılım analizi ile yapıldı. Hastaların analizinde normal dağılım gösteren parametreler (gündüz diastolik KB, gece sistolik, diastolik ve ortalama KB total kolesterol, yaş, BMI) için bağımsız T testi yapıldı. Normal dağılım göstermeyen diğer parametreler için ise nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon için Pearson ve Spearman’s korelasyon testleri ile yapıldı. Anlamlılık seviyesi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR:

Çalışmamıza katılan 112 diabetes mellituslu hastanın 24 saatlik ambulator kan basıncı monitörizasyonu sonucu 28 hastada ortalama gündüz sistolik kan basıncı 135 mmHg'dan veya diastolik 85 mmHg'dan yüksek saptandı. Bu hastalar maskeli hipertansiyon grubumuzu oluşturdu. Çalışmamızda Diabetes Mellituslu hastalarda %25 oranında maskeli hipertansiyon saptandı.

4.1. Hasta ve Kontrol Grubu Kan Basıncı Değerlerinin Karşılaştırılması

Maskeli hipertansiyonu olan hasta ve normotansif diyabetik hastalardaki 24 saatlik kan basıncı monitörizasyon sonuçları tablo 6. da verilmiştir.

	Kontrol (n=84) (Ortalama $\pm$ SD) veya Median (min.-max.)	Maskeli HT (n=28) (Ortalama $\pm$ SD) veya Median (min.-max.)	P değeri
Gündüz sistolik	122 (99-134)	136 (133-156)	0.000
Gündüz diastolik	73.26 $\pm$ 83.6	83.6 $\pm$ 3.97	0.000
Gündüz ortalama	84.5 (68-94)	96.5 (89-104)	0.000
Gece sistolik	113.53 $\pm$ 9.88	125 $\pm$ 10.61	0.000
Gece diastolik	64.35 $\pm$ 7.03	72.75 $\pm$ 5.35	0.000
Gece ortalama	76.15 $\pm$ 7.71	84.96 $\pm$ 6.19	0.000
Ortalama sistolik	120.5 (96-131)	132 (122-149)	0.000
Ortalama diastolik	71 (55-82)	79 (73-87)	0.000
Ort.nabız basıncı	80.5 (44-91)	91 (53-98)	0.000
Ofis sistolik	120 (100-139)	120 (90-139)	0.948
Ofis diastolik	80 (60-90)	80 (60-85)	0.525
Ofis ortalama	100 (80-110)	100 (75-112,5)	0.692
Erken sabah sistolik	120 (92-160)	131.5 (109-163)	0.000
Erkensabah diastolik	75 (50-95)	82 (56-136)	0.004
Dipper/ Non dipper	33 / 51	12 / 16	0.740

Tablo 6. Hasta ve Kontrol Grubu Kan Basıncı Değerlerinin Karşılaştırılması (mmHg)

4.2. Hasta ve Kontrol Grubu Demografik Özelliklerinin Karşılaştırılması

24 saatlik ambulator kan basıncı takibi sonucu oluşan maskeli hipertansiyonu olan diyabetik hasta grubuna ait ve normotansif diyabetik hasta grubuna ait demografik bulgular tablo 7’de verilmiştir. Normotansif diyabetik hastalar maskeli hipertansiyonu olan diyabetik hastalarla kıyaslandığında yaş, VKİ, bel, kalça çevresi, diyabet süresi, hipertansiyon ve diyabet aile öyküsü arasında her iki grup arasında önemli bir farka rastlanmadı.

	Kontrol (n= 84) (Ortalama $\pm$ SD) veya Median (min.-max.)	Maskeli HT (n=28) (Ortalama $\pm$ SD) veya Median (min.-max.)	P değeri
Yaş	49.66 $\pm$ 9.12	50.17 $\pm$ 7.97	0.778
Cinsiyet (E/K)	35 / 47	7 / 21	0.116
Kalça Çevresi	106.5 (92-130)	107 (93-141)	0.157
Bel Çevresi	102 (69-132)	100.5 (86-135)	0.514
VKİ (kg/m ²)	29.08 $\pm$ 3.54	30.83 $\pm$ 4.84	0.086
DM süresi (yıl)	5 (1-24)	5 (1-17)	0.712
Ailede HT varlığı (yok/var)	61/23	16/12	0.128
Ailede DM varlığı (yok/var)	31/53	11/17	0.822

Tablo 7. Hasta ve Kontrol Grubu’nun Demografik ve Ailesel Özelliklerin Karşılaştırılması

4.3. Hasta ve Kontrol Grubu Biyokimyasal Parametrelerinin Karşılaştırılması

Maskeli hipertansif diyabetik grup normotansif grupla açlık kan şekeri ve HbA1c seviyeleri kıyaslandığında her iki grup arasında önemi bir farka rastlanmadı (tablo 8). Her iki grup kan lipid parametreleri açısından değerlendirildiğinde de benzer bulgular gözlemlendi. Lipid parametreleri arasında her iki grup arasında istatistiksel açıdan önemli bir farka rastlanmadı.

	Kontrol (n: 84) (Ortalama $\pm$ SD) veya Median (min.-max.)	Maskeli HT (n: 28) (Ortalama $\pm$ SD) veya Median (min.-max.)	P değeri
Açlık Kan Şekeri (mg/dl)	136 (53-374)	149.5 (93-315)	0.58
			2
HbA1c	6.95 (5.2-10.2)	7.4 (4.8-12.6)	0.61
			2
T.Kolesterol(mg/dl)	197.7 $\pm$ 41.45	192.2 $\pm$ 30.23	0.44
			7
HDL(mg/dl)	41,1 (20-93)	38 (28.9-59)	0.09
			1
LDL(mg/dl)	127.95 (49.3-214)	120.7 (63.9-175)	0.78
			3
Trigliserit (mg/dl)	168 (52-389)	156.5 (69-322)	0.23
			6

Tablo 8. Hasta ve Kontrol Grubu Biyokimyasal Parametrelerinin Karşılaştırılması

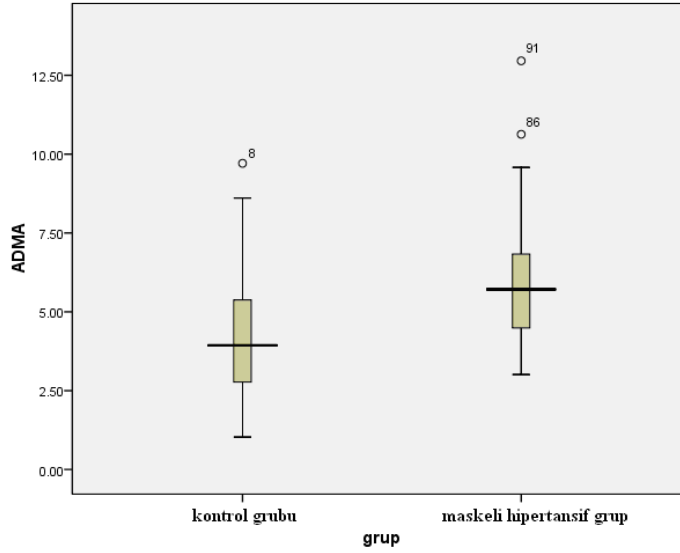
4.4. Hasta ve Kontrol Grubu ADMA, Arjinin Sonuçları

Serum ADMA, arjinin ve Arjinin/ADMA median (min.-max.) değerleri tablo 9’da gösterilmektedir.

	Kontrol (n: 84) Median (min.-max.)	Maskeli HT (n: 28) Median (min.-max.)	P değeri
ADMA (μ M)	3.93 (1.03 - 9.71)	5.71 (3.01-12.96)	0.000
ARJİNİN (μ M)	165.2 (97.1- 465.9)	168.48 (91.47 – 234.74)	0.657
ARJİNİN/ADMA	43.13 (18.4- 150.25)	29.03 (10.72 – 65.14)	0.000

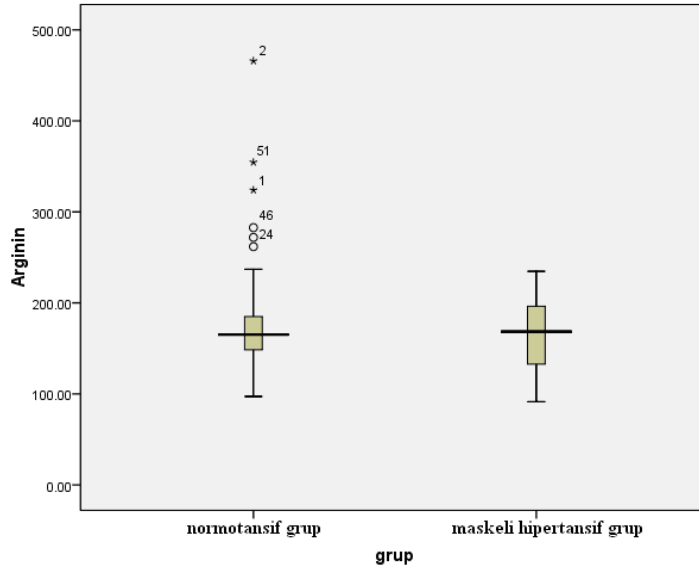
Tablo 9: Maskeli hipertansiyon ve kontrol gruplarında ADMA, Arjinin ve Arjinin/ADMA parametrelerinin median (min-max). değerleri

ADMA düzeyleri maskeli hipertansiyonu olan diyabetik hasta grubunda normotansif diyabetik gruba göre önemli derecede yüksek çıktı (p:0.000, grafik 1). Maskeli hipertansiyonu olan hastalarda %45 oranında yüksek ADMA düzeyleri saptandı.



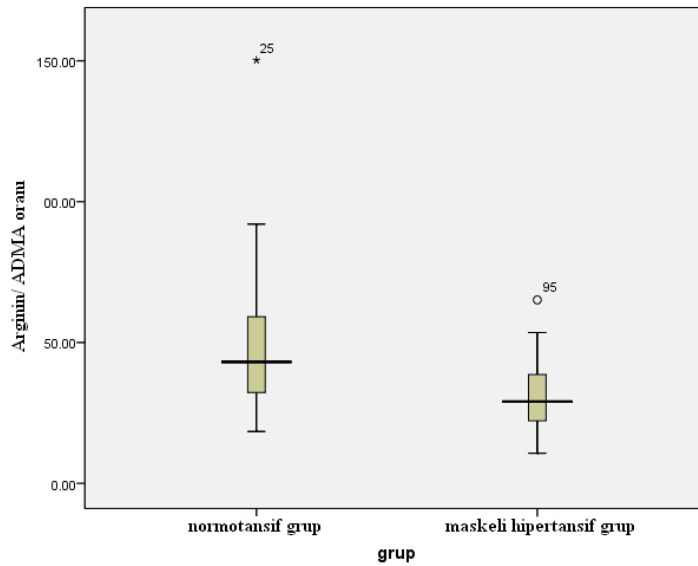
Grafik 1: Normotansif diyabetik hasta (grup 1) ve maskeli hipertansif diyabetik hastalarda (grup 2) ADMA düzeyleri

ADMA düzeylerinin aksine arjinin düzeylerinde her 2 grup arasında arasında önemli bir farka rastlanmadı (grafik 2).



Grafik 2: Normotansif diyabetik hasta (grup 1) ve maskeli hipertansif diyabetik hastalarda (grup 2) Arjinin düzeyleri

Arjinin/ADMA oranlarında ise maskeli hipertansif grupta önemli derecede azalma saptandı ($p:0.000$). Maskeli hipertansif grupta arjinin/ADMA oranı %33 oranında azaldığı gözlemlendi (grafik 3).



Grafik 3: Normotansif diyabetik hasta (grup 1) ve maskeli hipertansif diyabetik hastalarda (grup 2) Arjinin/ADMA düzeyleri

4.5. Korelasyon Çalışmaları:

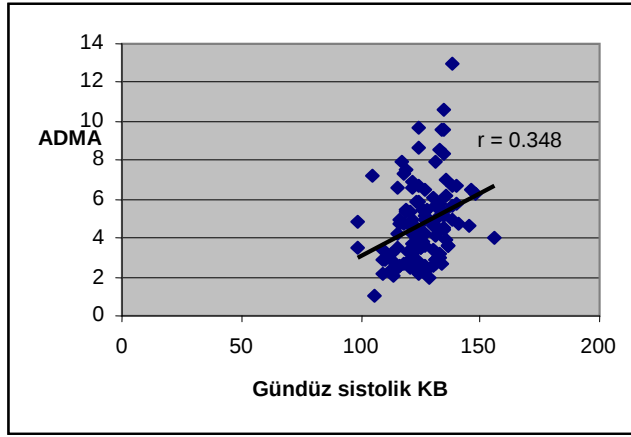
Serum ADMA düzeylerinin çeşitli parametreler ile korelasyon analiz sonuçları tablo 10'da verilmektedir. ADMA düzeyleri korelasyon analizleri tüm hasta grubu kullanılarak yapılmıştır. Serum ADMA düzeyleri gündüz sistolik KB, gündüz ortalama KB, ortalama sistolik, ortalama diastolik, erken sabah sistolik, erken sabah diastolik kan basıncı ile pozitif anlamlı korelasyon gösterdi. İstatistiksel anlamlılık değerleri ise gündüz sistolik KB, ortalama diastolik, ortalama diastolik parametreleri için $p=0.000$ düzeyinde, Gündüz ortalama KB için $p=0.001$, Erken sabah sistolik için $p=0.004$, erken sabah diastolik için $p=0.015$ düzeyindeydi. ADMA düzeyleri diğer kan basıncı ölçüm parametreleri ile anlamlı bir farklılık göstermedi.

	Arginin	ADMA	Arginin/ADMA
Gündüz sistolik KB	$r = 0.006$ $p=0.949$	$r = 0.348$ $p=0.000$	$r = -0,385$ $p=0.000$
Gündüz ortalama KB.	$r = -0.017$ $p=0.862$	$r = 0.305$ $p=0.001$	$r = -0.330$ $p=0.000$
Ortalama sistolik	$r = 0.077$ $p=0.42$	$r = 0.330$ $p=0.000$	$r = -0.319$ $p=0.000$
Ortalama diastolik	$r = 0.41$ $p=0.668$	$r = 0.339$ $p=0.000$	$r = -0.303$ $p=0.001$
Ort.nabız basıncı	$r = 0.039$ $p=0.680$	$r = 0.165$ $p=0.082$	$r = -0.146$ $p=0.125$
Ofis sistolik	$r = 0.027$ $p=0.774$	$r = -0.088$ $p=0.356$	$r = 0.068$ $p=0.476$
Ofis diastolik	$r = -0.112$ $p=0.238$	$r = -0.162$ $p=0.088$	$r = 0.070$ $p=0.462$
Ofis ortalama KB	$r = 0.009$ $p=0.924$	$r = -0.130$ $p=0.171$	$r = 0.101$ $p=0.287$
Erken sabah sistolik	$r = 0.172$ $p=0.070$	$r = 0.272$ $p=0.004$	$r = -0.207$ $p=0.029$
Erken sabah diastolik	$r = 0.103$	$r = 0.230$	$r = -0.176$

	p=0.280	p= 0.015	p=0.064
--	---------	----------	---------

Tablo 10. Arjinin , ADMA, arjinin/ADMA , ile çeşitli parametreler arasındaki korelasyonlar

ADMA düzeyleri gündüz sistolik KB ile en güçlü korelasyonu gösterdi ($p=0.000$, $r: 0.348$). ADMA ile gündüz sistolik KB arasındaki pozitif korelasyon grafik 4’de gösterilmiştir. Tüm hasta grubunun ADMA düzeyleri arttıkça Gündüz sistolik KB’da da artış gözlemlendi.



Grafik 4: ADMA ile gündüz kan basıncı değerleri arasında korelasyon ($r=0.348$, $p:0.000$).

4.5.1. ADMA düzeylerinin diğer kan parametreleri ile korelasyonu

Tüm hasta gruplarında ADMA düzeyleri sadece açlık kan glukozu değeri ile pozitif anlamlı korelasyon gösterdi ($p:0.029$). Açlık kan glukozu ile ADMA düzeyleri arasında %20 oranında bir pozitif korelasyon gözlemlendi ($r:0.207$). HbA1c, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserit düzeyleri ADMA düzeyleri ile herhangi bir anlamlı korelasyon göstermedi. Yine ADMA düzeyleri ile kalça çevresi, bel çevresi, yaş, vücut kütle indeksi ve DM süresi arasında önemli bir korelasyona rastlanmadı.

ADMA düzeyleri serbest arjinin düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterirken, Arjinin/ADMA oranı arasında güçlü negatif korelasyon gözlemlendi ($r = -0.787$, $p=0.000$).

	Arginin	ADMA	Arginin/ADMA
Açlık Kan Şekeri (mg/dl)	r = 0.175 p=0.065	r = 0.207 p=0.029	r = -0.133 p=0.163
HbA1c	r = 0.028 p=0.767	r = 0.002 p=0.987	r = 0.001 p=0.995
T.Kolesterol(mg/dl)	r = -0.056 p= 0.56	r = -0.026 p= 0.783	r = 0.000 p=0.997
HDL(mg/dl)	r = 0.032 p=0.736	r = -0.076 p=0.425	r = 0.118 p=0.217
LDL(mg/dl)	r = -0.137 p=0.151	r = -0.075 p=0.429	r = -0.006 p=0.949
Trigliserit (mg/dl)	r = 0.072 p=0.449	r = 0.147 p=0.121	r = -0.092 p= 0.333
Kalça Çevresi	r = -0.064 p=0.501	r = -0.099 p=0.297	r = 0.063 p=0.506
Bel Çevresi	r = -0.066 p=0.487	r = -0.073 p=0.446	r = 0.052 p=0.589
Yaş	r = 0.060 p=0.53	r = 0.020 p=0.832	r = 0.015 p=0.873
VKİ (kg/m ²)	r = -0.126 p=0.187	r = -0.035 p=0.714	r = -0.041 p=0.666
DM süresi (yıl)	r = -0.006 p=0.949	r = 0.043 p=0.656	r = 0.005 p=0.961

ADMA (μM)	$r = 0.312$ $p=0.001$	-	$r = -0.787$ $p=0.000$
ARJİNİN (μM)	-	$r = 0.312$ $p=0.001$	$r = 0.269$ $p=0.004$
ARJİNİN/ADMA	$r = 0.269$ $p=0.004$	$r = -0.787$ $p=0.000$	-

Tablo 11: Arjinin , ADMA, arjinin/ADMA ile çeşitli parametreler arasındaki korelasyonlar

5. TARTIŞMA ve SONUÇ:

Günümüze kadar yapılmış çalışmalar; damar endotelinden salınan NO damar düz kas genişlemesine yol açarak vazodilatasyona neden olduğu, damar tonusunu ayarladığı, kan akımı regülasyonu ve kan basıncının düzenlenmesi gibi önemli olaylarda yer aldığını göstermektedir. NOS'un endojen yarışmalı bir inhibitörü olan Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), NO sentezini engellemektedir. Patofizyolojik durumlardaki ADMA konsantrasyonları, vasküler NO üretimini inhibe etmekte olup ve intraarteryel infüzyonlarında lokal vazokonstrüksiyona ve hipertansiyona neden olmaktadır (9). L-argininden sentezlenen ADMA'nın kan serum seviyelerinin izlenmesiyle bir çok kardiovasküler hastalıklarda yükselmiş olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (3,4,7).

Newsholme ve ark. (160) insulin rezistansının HT ve endotel disfonksiyonuyla birlikte olduğunu ve tip 2 diyabet gelişiminde hedef hücrelerde insuline olan duyarsızlığın ön planda olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar NO serbest radikalının hücre metabolizmasını regüle ettiğini, vasküler tonus üzerinde etkili olduğunu ve insulin sekresyonu ve sinyalinde rolü olduğunu savunmuşlardır. NO sentezi vazodilatasyon, glukoz alımı ve kan basıncının devamı için esastır. NO seviyeleri azaldığında sonuç olarak insulin rezistansı ve HT oluşacaktır. Azalmış kan insulini, artmış Anjiotensin II, hiperhomosisteinemi, artmış ADMA düzeyleri ve azalmış arjinin seviyeleri NO üretimini azaltan ve diyabet ve kardiyovasküler hastalık oluşumuna neden olabilecek durumlardır. Aynı araştırmacılar egzersizin kas ve böbrek kaynaklı aminoasitlerin pankreas ve endotel hücrelerine taşınmasıyla NO'nun intrasellüler üretimine katkıda bulunarak insulin sekresyonu ve vasküler tonusta düzelmelere neden olacağını savunmuşlardır.

Hipertansiyon günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılması (sodyum

yükü, santral sinir sistemi ve renin-anjiyotensin sistemi, endotel disfonksiyonu vb.) ile tedavi prensipleri uluslararası kılavuzlarda genel hatlarıyla belirlenmiştir. Özellikle diyabetik ve renal yetersizlik durumlarında hedeflenen basınç değeri klasik 140/90 mmHg sınırından daha aşağılara 130/85 hatta 125/80 mmHg gibi değerlere çekilmiştir. Bu şekilde sağlanan yararın tüm yaş ve risk grupları için geçerli olduğu da gösterilmiştir. Ancak yapılan çalışmalar kan basıncı normale indirildiğinde bile kardiyovasküler olayların hipertansif hastalarda en önemli mortalite ve morbitide nedeni olmaya devam ettiğini işaret etmektedir (161).

Diyabet mikrovasküler ve makrovasküler yapıları etkileyen komplikasyonlara sahip yaygın görülen bir hastalıktır. Tip II diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalık ve ölüm yönünden 2-6 kat artmış riske sahiptir (162). Tip II diyabetik hastaların yüksek mortalite ve morbiditeye sahip olmasının ana nedeni aterosklerozdur. Ateroskleroz ise hipertansiyonun major risk faktörlerinin başında gelmektedir. Diyabetik hastalarda kardiyovasküler hastalık gelişim patogenezi multifaktöriyeldir ve metabolik faktörlerden etkilenir. Hatta diyabet gelişiminden önce bu kişilerde ateroskleroz gelişiminin başlamış olabileceği öne sürülmektedir. Bu nedenle ateroskleroz ve diyabet için ortak etyolojik nedenler öne sürülmektedir. İnsulin rezistansı varlığı, enflamasyon süreci, endotel disfonksiyonu hem ateroskleroz hem de diyabet için paylaşılan ortak etyolojik nedenler olarak suçlanmaktadır. Özellikle bu kişilerde endotel disfonksiyonu ve enflamasyon belirteçlerinin değerlendirilmesi kişinin kardiyovasküler risk değerlendirmesinde ek bilgi sağladığı düşünülmektedir.

Yukarıdaki bilgilerin ışığında bizde çalışmamızı diyabetik ve henüz normotansif kabul edilen hastalarda yaptık. Görünürde normotansif olan 112 hastaya ambulatuvar kan basıncı takibi (Reynolds Medical's Tracker NIBP2, Del Mar Reynolds Medical, Hertford, İngiltere) uyguladık.

Çalışmamızı gerçekleştirdiğimiz normotansif ve diyabetik hasta grubunda yaptığımız AKBM ölçümleri bir gün içinde (gündüz ve gece) çok sayıda kan basıncı ölçümüne imkan tanınması ve rutin ölçümlerle kıyaslandığında kardiyovasküler prognozu belirlemede daha duyarlı olması sebebiyle önemlidir. Maskeli hipertansiyon ve beyaz önlük etkisi gibi hipertansiyon tiplerinin belirlenmesinde yine AKBM çok önemli bir yer almıştır. Hastaların kan basıncının günlük ortalaması, diurnal ritmi, gece düşüşü ve derecesi gibi birçok faktör değerlendirilmiştir. Maskeli hipertansif olgular literatüre göre esansiyel hipertansiyondakine benzer bir prognoz ve benzer organ hasarı göstermekte olup

bu durum maskeli hipertansiyonun ne kadar erken tanı ve tedavisinin yapılması gerektiğinin önemini akla getirmektedir.

Yapılmış önceki çalışmalar incelendi. Benzer grup ve uygulamalar değerlendirildi.

Diyabetik hasta gruplarında yapılmış çalışmalar AKBM nin organ hasarını öngörmedeki değerini ortaya koymaktadır. Bizden önce yapılmış çalışmalar diyabetik hastalarda maskeli hipertansiyon sıklığının hastaların yaklaşık %10-40'ı arasında olduğunu göstermektedir (106-109, 151).

Ng CM. ve ark. nın (163) 133 diyabetik hasta üzerinde yaptıkları çalışmada bu hastaların 82 si ofiste normotansif olup, ambulator ölçümle bu hastaların %18 de maskeli hipertansif olduğunu tespit etmişlerdir. Maskeli hipertansif hastalarda sol ventrikül hipertrofi sıklığını da daha yüksek bulmuşlardır. Maskeli hipertansif hastalarda sol ventrikül diastolik disfonksiyonu daha yaygındır. Bu araştırmacılar da Tip2 diyabet hastalarında AKBM nin öneminden bahsetmişlerdir.

Llisterri JL. ve ark. nın (164) yaşlı hasta grubunda yaptıkları bir çalışmada maskeli hipertansiyon sıklığını %7, beyaz önlük etkisini (muayene kan basınçları yüksek, AKBM kan basıncı değerleri normal) %27. 6 olarak bulmuşlardır. Bu araştırmacılar yaşlı hastalarda AKBM ölçümünün hipertansif hastaları tanımlamak açısından daha sık kullanılması gerektiği sonucuna varmışlardır.

M.Wijkman ve ark. (165) 414 tip 2 diyabet hastasında yaptıkları çalışmada maskeli hipertansiyon sıklığı ve bunun arteriel sertleşme ve santral kan basıncına etkilerini araştırmışlardır. Klinik olarak normotansif olan hastaların %30 unda Maskeli Hipertansiyon (MHT) tespit etmişlerdir. Bunun santral yüksek kan basıncına ve arteriel sertleşmeye eşlik ettiğini tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar da AKBM nin bu hastalarda KVS açısından riski belirlemedeki öneminden bahsetmişlerdir.

Rodrigues ve ark. (166) tip 1 diyabet hastalarında MHT ve diyabetik retinopati sıklığını araştırdıkları çalışmalarında ilk muayenelerinde normotansif olan hastaların %23 ünde MHT varlığını AKBM ile tesbit etmişlerdir. Nokturnal gece kan basıncı yüksek olanlarda diyabetik retinopati sıklığını yüksek olarak bulmuşlardır. Çalışmamızdaki MHT sahip 28 hastanın hasta gruplarının tedavisinde bu durumun göz önüne alınmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da çalıştığımız 112 normotansif hastanın 84 ünü normal, 28 inde ise yani % 25'inde maskeli hipertansiyon tespit ettik. Bu veriler bu güne kadar ülkemizde bu hasta grubunda maskeli hipertansiyon sıklığını gösteren ilk çalışmadır.

Lajer M. ve ark. (167) ADMA seviyesinin tip 1 diyabetli hastalarda kardiyovasküler olayların gelişiminde prediktör faktör olabileceğini ve bu hastalarda progresif böbrek yetmezliği gelişiminde ADMA seviyesindeki yükselmelerin önemli olabileceğini tesbit etmişlerdir.

Böger ve ark. (168) 3320 bireyi takip ettikleri uzun dönem çalışmalarında diyabeti olmayan kişilerde bile ADMA yüksekliğinin kardiyovasküler ölüm nedenlerine eşlik ettiğini göstermişlerdir.

Konukoğlu ve ark.(169) aşikar diyabet, glukoz intoleransı ve sağlıklı kontrol grubu üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında diyabet ve glukoz intoleransı grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olarak bulmuşlardır. diyabet grubunda glukoz intoleransı grubuna göre ADMA, ICAM-1 ve CRP seviyelerini yüksek olarak bulmuşlardır. Her üç grupta glukoz yüklemesi sonrası ADMA, ICAM-1 ve CRP seviyelerini ilk değerlerine göre yüksek olarak tesbit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar diyabette ve diyabet öncesi dönemde ADMA yükselmesi ve inflamasyon ve endotel disfonksiyonu arasında kompleks multifaktöryel etkileşim olduğunu savunmuşlardır.

Jeffrey L. Anderson ve ark. nin (170) yaptıkları çalışmada ADMA, kortizol/kortizon oranı ve C-peptit seviyeleri; glisemik durum, koroner arter hastalığı, ölüm veya miyokard enfarktüsü (MI) durumlarında prediktör faktör olarak kullanımları yüksek sensitif C reaktif Protein (hCRP) ile kontrol edilmiştir. ADMA'nın koroner arter hastalığı açısından kuvvetli bir prediktör olduğu sonucuna varmışlardır. ADMA ve kortizol/kortizon oranının disglisemi ve ilişkili olan kardiyovasküler risk faktörlerini belirlemek açısından hCRP den daha faydalı olduğu sonucuna varmışlardır.

Bizim verilerimize göre maskeli hipertansif olarak tespit edilen diyabetik grubunda ADMA değerleri 6.16 ± 2.35 $\mu\text{mol/L}$ iken normotansif diyabetik hasta grubunda bu değerler 4.24 ± 1.76 $\mu\text{mol/L}$ seviyelerindeydi. Belirgin olarak iki grup arasında ADMA seviyelerinde farklılıklar olup istatistiksel açıdan önemli derecede anlamlıdır ($p:0.000$). Daha önceki literatür verileri incelendiğinde diyabetik hastalarda ADMA düzeylerinin maskeli hipertansiyonla ilişkisi hiç irdelenmediğinden biz de bu konuda herhangi bir kıyaslama yapamadık.

Eleonora D. ve ark. (171) sağlıklı kontrol grubuna göre ADMA düzeylerini yüksek buldukları 86 hastanın insülinle tedavi sonrasında ADMA düzeylerinde, oksidatif stres markırlarında düzelmeler olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da yüksek bulunan ADMA değerli hastaların sıkı bir glisemik kontrolle bu değerlerin daha düşük seyredeceğini öngörmekteyiz. Yaptığımız korrelasyon çalışmalarında açlık kan glikoz

düzeyleriyle ADMA arasında zayıf ancak pozitif bir korelasyon mevcut ($r=0.207$, $p=0.029$) olup bu düşünceyle paralellik göstermektedir. Ayrıca çalıştığımız grupta Arjinin ve Arjinin/ADMA oranlarını değerlendirdik. İki grup arasında arjinin seviyelerin anlamlılık yoktu, fakat Arjinin/ADMA oranlarında anlamlılık vardı ($p:0.000$). Bu durum arjinin serum seviyelerinde kritik olmayan değişimler olduğunu, ancak asıl kritik değişimin ADMA yüksekliği kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz. Artan ADMA oranları ile bariz oranda Arjinin/ADMA oranında azalma gözlemlendi ($r = -0.787$, $p=0.000$).

Çalışmaya katılan hastalar gece kan basıncındaki normal olan %10 luk düşüşün olup olmaması yani; dipper ve non dipper olarak ayrıldığında 45 kişilik dipper hasta grubu ile non dipper 67 hasta grubu arasında ADMA ve ADMA/Arginin oranları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Yeni kanıtlar kronik hipergliseminin, yüksek kardiyovasküler hastalık oranları ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu epidemiyolojik çalışmalardan Norfolk England çalışmasında 10.232 kişi kardiyovasküler risk faktörleri, HbA1c açısından değerlendirilmiş ve 5 yıllık kardiyovasküler olay ve mortalite yönünden takip edilmişlerdir. HbA1c değerlerinin, hem kardiyovasküler hem de bütün nedenlere bağlı mortalite ile devamlı ilişkide olduğu saptanmıştır. Ancak bu gözlemsel bir çalışmadır (172). Finlandiya’da yapılan prospektif bir çalışmada ise Tip II diyabetik yaşlılarda, özellikle kadınlarda, HbA1c değerinin kardiyovasküler ölümler için güçlü öngördürücü özelliğe sahip olduğu saptanmıştır (173).

Çalışmamızda HbA1c değerleri iki grup arasında incelendiğinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p= 0.612$). Yine çalışmamızda ADMA değerlerinin diabetes mellitus belirteçleri olabilecek HbA1c, Diyabetin süresi gibi parametrelerle korelasyonu incelenmiştir. Ancak anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir ($r = 0.043$, $p=0.656$).

Kei Asayama ve ark. (174) 395 kişiden oluşan hasta grubunda ortalama bel çevresinin erkek maskeli hipertansiyona sahip kişilerde normotansif veya beyaz önlük etkisi görülen hastalara göre daha geniş olduğunu bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar kadınlarda hipertansif grupta normotansif gruba göre bel çevresini daha geniş olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar evde kan basıncı ölçümünün obez bireylerde maskeli hipertansiyonun erken teşhisinde özellikle önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Yapmış olduğumuz çalışmada iki grup arasında bel çevresi ($p=0.514$) ve kalça çevresi ($p=0.157$) değerleri arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir.

Bai Y. ve ark. (175) sol ventriküler hipertrofinin arteriel hipertansiyon hastalarında görülen kardiyovasküler sistem organ hasarının erken bir manifestasyonu olduğunu, bunun

da multifaktoriyel bir çok sebebinin olduğunu; bu nedenler arasında bir faktörün de ADMA ve bunu metabolize eden DDAH enziminin olduğunu savunmuşlardır. DDAH aktivitesindeki değişikliklerin ADMA-NO yolağında aksaklıklara sebep olarak hipertansif sol ventriküler hipertrofisine neden olabileceğini savunmuşlardır. Çavuşoğlu E.ve ark.nın (176) koroner arter hastalığı koroner anjiyografi ile belirlenmiş 170 yüksek riskli diyabet hastasında yaptıkları takiplerde bazal ADMA seviyelerindeki yüksekliğin güçlü ve bağımsız KVS (Kardiyovasküler) risk faktörü olduğu sonucuna varmışlardır.

Çalışma grubumuzun tüm hastaları kardiyolojik açıdan önceden hikaye, EKO, EKG ve efor testleri ile tamamen normal olmalarına rağmen yukarıda bahsedilen KVS kötü sonlanım riskleri açısından muhtemelen ileride sol ventrikül hipertrofisi gelişme riski nedeniyle kardiyolojik takiplerinin yapılmasının uygun olacağı kanısındayız. Hastaların lipit parametreleri de değerlendirilmiş ancak iki grup arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenememiştir.

Gündüz ortalama KB, gece sistolik, gece diastolik, gece ortalama KB, ve ortalama kan basıncı değerleri iki grup arasında anlamlı farklılıklar vardı. Zaten literatürde de maskeli hipertansif hastaların yükselmiş ambulatuar kan basınçlarının olması nedeniyle bu durum olağandır. Ancak bütün bu kan basıncı yüksekliklerinden habersiz muayenehane (ofis) KB ile normotansif sanılan kişilerin gerçekte maskeli hipertansiyon olup kardiyovasküler açıdan sonlarının tıpkı hipertansif hastalar gibi kötü prognoz riski taşımaları (105,110) ise olağanüstü bir durumdur. Korelasyon çalışmalarında yine gündüz sistolik, gündüz ortalama, ortalama sistolik ve ortalama diastolik KB ile erken sabah sistolik ve erken sabah diastolik ortalama KB ları ve ADMA yükseklikleri arasında orta düzeyde ($r = 0.348$, $p=0.000$) pozitif, Arjinin/ADMA oranlarında ise ($r= -0.385$, $p= 0.000$) negatif yönde korelasyonlar belirlenmiştir.

Ambulatuar bir KB ölçümü yapmadan normotansif olan ve maskeli hipertansiyon olma riski taşıyan kişileri tanımak mümkün değildir. Yaptığımız çalışmada maskeli hipertansif hastaların 24 saat ambulatuar ölçüme destek niteliğindeki serum ADMA yüksekliği bizim için yeni bir bulgudur. Yüksek ADMA düzeylerinin diyabetik vakalarda artmış kan basıncı ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu da NO yararlanımını engelleyerek endotel disfonksiyona yol açmakta ve hastalarda artmış kan basıncı ve sonuç olarakta artmış kardiyovasküler rahatsızlıklara yol açmaktadır. Çalışmamız sonucunda ADMA'nın neden diyabetik hastalarda arttığından ziyade artışının devamının diyabetik hastaların kaçınılmaz sonucu olarak görülen endotel disfonksiyon gelişiminin önemli bir göstergesi olabileceğini işaret etmektedir. Çalışmamız ışığında ADMA düzeylerinin

takibinin diyabetik hastaların tedavi ve takiplerinde önemli olabileceğini ve komplikasyon gelişimlerini göstermede yararlı bir belirteç olabileceğini söyleyebiliriz.

6. ÖZET

Hipertansiyon ve diyabet, toplumda sık karşılaşılan mortalite ve morbiditelerinin sıklığı ve komplikasyonlarına bağlı ciddi ekonomik ve toplumsal etkileri olan önemli bir hastalıktır. Asimetrik dimetilarjinin (ADMA), metillenmiş bir arjinin analogu olup; NO sentezinin anahtar enzimi olan NO sentazın (NOS) endojen yarışmalı bir inhibitörüdür. Diyabet ve hipertansiyonda kan serum seviyeleri artmıştır. Çalışmamızda, henüz aşikar olarak hipertansiyon gelişmemiş diyabetik hastaların 24 saatlik kan basıncı takiplerini yaptık ve bu hastaların kan basıncı değerleriyle maskeli hipertansiyona sahip kişileri belirledik. Maskeli hipertansiyona sahip hastalarla normotansif hastaların serum ADMA, Arjinin seviyelerini ölçmeyi ve kan basıncı değerleriyle ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Diyabetik ve normotansif 112 hastaya 24 saatlik ambulatuar kan basıncı takibi uyguladık. Bu ölçümler yardımıyla hastalardan maskeli hipertansif olanlarla, normotansif olanları ayırarak bu kişilerin serum ADMA, Arjinin seviyelerini HPLC tekniği kullanarak ölçtük.

24 saatlik kan basıncı ölçümünde %25 oranında diyabetik hastada maskeli hipertansiyona rastladık. Maskeli hipertansif grupta ADMA ve Arjinin/ADMA oranları normotansif olanlardan anlamlı olarak yüksek bulunurken ($p:0.000$); Arjinin düzeyleri açısından böyle bir fark bulunmadı. Yüksek ADMA seviyeleriyle kan basıncı parametreleri arasında anlamlı pozitif korelasyonlar gözlemlendi. Artmış ADMA düzeyleri artmış kan basıncı değerleri ile birlikte gözlemlendi. Açlık kan glikozuyla ADMA yüksekliği arasında da pozitif ama zayıf bir korelasyon görüldü.

Diyabetik maskeli hipertansif hastaların serum ADMA seviyeleri artan kan basıncı ile ilişkilidir. Normotansif hastaların ambulatuar kan basıncı takibi ve serum ADMA

seviyeleri ölçümleri maskeli hipertansiyon ve aşikar hipertansiyon gelişimi için anlamlı bilgiler vermektedir. ADMA düzeylerinin monitorizasyonu hipertansiyonun muhtemel komplikasyonlarını önlemede önemli bir parametre olabilir.

Anahtar Kelimeler: Diabetes Mellitus, ADMA, Arjinin, arjinin/ADMA oranı.

7. SUMMARY

High blood pressure and diabetes mellitus are frequently seen in the adult population with high mortality and morbidity rates. These disease and their complications have important economical and social consequence.

Asymmetric Dimethylarginine (ADMA), an arginine analogue, is an endogeneous competitive inhibitor of Nitric Oxide Synthase enzyme which results with the inhibition of NO synthesis. ADMA has been shown increased in the patients with diabetes mellitus and high blood pressure.

The aim of this study is to evaluate serum ADMA and arginine levels with blood pressure parameters in diabetic patients with normal blood pressure and masked high blood pressure.

Therefore 112 diabetic patients with normal office blood pressure were followed up with 24 hours of ambulatory blood pressure monitorisation. At the same time blood specimens were taken to measure serum ADMA and arginine levels. Serum ADMA and arginine levels were measured by fluorescence detector using high performance liquid chromatography.

After 24 hours of monitorisation, 25 % of the patients were diagnosed as masked high blood pressure. High ADMA therefore low arginine/ADMA levels were observed in patients with masked high blood pressure when compared to the patients with normal blood pressure (p: 0.000). Arginine levels did not differ among the groups. In addition to that, high ADMA values positively correlated with increased blood pressure parameters. High ADMA levels also showed weak but significant positive correlation with fasting blood glucose.

Our study demonstrates that increased blood pressure is associated with higher ADMA levels in diabetic patients. Monitoring of both ADMA levels and 24 hours of blood pressure can give important information about the development of the masked high blood pressure in diabetic patients with normal blood pressure in office. ADMA also can be used as an biomarker for the prevent possible complications of the disease.

Key Words: Diabetes Mellitus, ADMA, Arginine, arginine/ADMA ratio.

8. KAYNAKLAR:

- 1- RH Böger. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovascular Research* 2003; 59: 824-33.
- 2- Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: Interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987;92:639-46.
- 3- Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A et al. ADMA: a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842-47.
- 4- Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22-27.
- 5- Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88: 2149-55.
- 6- Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1993; 88: 2510-16.
- 7- Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium- dependent vasodilation in humans. *Circulation* 1997; 95:1119-21.
- 8- Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK et al. Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation* 2000; 102: 994-99.
- 9- Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, Vallance P: Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23, 1455-1459.
- 10- Zoccali C. Traditional and emerging cardiovascular and renal risk factors: an epidemiologic perspective. *Kidney Int* 2006;70:26-33.
- 11- Zoccali C. ADMA: a critical cardio-renal link in heart failure? *Eur J Clin Invest* 2003;33:361-2.

- 12- Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of NO synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572–75.
- 13- Goonasekera CD, Rees DD, Woolard P, Frend A, Shah V, Dillon MJ: Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J Hypertens*, 1997, 15, 901–909.
- 14- Pettersson A, Hedner T, Milsom I: Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1998, 77, 808–813.
- 15- Clarke S. Protein methylation. *Curr Opin Cell Biol*. 1993;5:977–983.
- 16- McBride AE, Silver PA. State of the Arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell*. 2001;106:5–8.
- 17- Krause CD, Yang ZH, Kim YS, Lee JH, Cook JR, Pestka S. Protein arginine methyltransferases: evolution and assessment of their pharmacological and therapeutic potential. *Pharmacol Ther*. 2007 Jan;113(1):50-87.
- 18- Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:1023-1030.
- 19- Yildirim AO, Bulau P, Zakrzewicz D et al. Increased protein arginine methylation in chronic hypoxia. Role of protein arginine methyltransferases. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006;35:436-443.
- 20- Ghosh SK, Woon KP, Kim S. Purification and molecular identification of two protein methylases I from calf brain. myelin basic protein and histon specific enzymes. *J Biol Chem*. 1988;263:19024-19033.
- 21- Lentz SR, Rodionov RN, Dayal S. Hyperhomocysteinemia, endothelial dysfunction and cardiovascular risk: the potential role of ADMA. *Atherosclerosis Supplements* 2003; 4: 61–65.
- 22- Bogle RG, MacAllister RJ, Whitley GS, Vallance P: Induction of N-monomethyl-L-arginine uptake: a mechanism for differential inhibition of NO synthases? *Am J Physiol*, 1995, 269, C750–C756.
- 23- Brunini T, Moss M, Siqueira M, Meirelles L, Rozentul A, Mann G, Ellory J et al.: Inhibition of L-arginine transport in platelets by asymmetric dimethylarginine and N-monomethyl-L-arginine: effects of arterial hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2004, 31, 738–740.
- 24- Closs EI; Basha FZ; Habermeier A, Förstermann U: Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y⁺ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide*, 1997, 1, 65–73.
- 25- Fickling SA, Holden DP, Cartwright JE, Nussey SS, Vallance P, Whitley G. Regulation of macrophage nitric oxide synthesis by endothelial cells: a role for NG,NG dimethylarginine. *Acta Physiol Scand*.1999;167:145-150.
- 26- Goldberg AL, St John AC. Intracellular protein degradation in mammalian and bacterial cells:part 2. *Annu Rev Biochem*. 1976;45:747-803.
- 27- Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GS, Vallance P. Identification of two dimethylarginine dimethylamino hydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deaminases. *Biochem J*. 1999;343:209-214.

- 28- Baylis C. Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006;2:209–20.
- 29- Welch WJ, Wilcox CS. Macula densa arginine delivery and uptake in the rat regulates glomerular capillary pressure: effects of salt intake. *J Clin Invest* 1997;100:2235–42.
- 30- Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20:S60–2.
- 31- Ueda S, Kato S, Matsuoka H, Kimoto M, Okuda S, Morimatsu M, et al. Regulation of cytokine induced nitric oxide synthase by asymmetric dimethylarginine. *Circ Res* 2003;92:226–33.
- 32- Deves R, Boyd CAR. Transporters for cationic amino acids in animal cells: discovery, structure, and function. *Physiol Rev* 1998;78:487–545.
- 33- Teerlink T. HPLC analysis of ADMA and other methylated L-arginine analogs in biological fluids. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007;851:21–9.
- 34- Kielstein JT, Simmel S, Bode-Böger SM, Roth HJ, Schmidt-Gayk H, Haller H, Fliser D: Subpressor dose of asymmetric dimethylarginine modulates renal function in humans through nitric oxide synthase inhibition. *Kidney Blood Press Res*, 2004, 27, 143–147.
- 35- Palm F, Onozato ML, Luo Z, Wilcox CS. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH): expression, regulation, and function in the cardiovascular and renal systems. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:H3227–45.
- 36- Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide deficiency in the kidney: a critical link to hypertension? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;289:R913–35.
- 37- Gold, M. E., Bush, P. A., & Ignarro, L. J.. Depletion of arterial L-arginine causes reversible tolerance to endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* (1989)164, 714–721.
- 38- Bode-Böger SM, Scalera F, Ignarro LJ. The L-arginine paradox: Importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio. *Pharmacol Ther.* 2007 Jun;114(3):295-306.
- 39- Böger RH. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the "L-arginine paradox" and acts as a novel cardiovascular risk factor. *J Nutr* 2004; 134: 2842-7.
- 40- Böger, R. H., & Bode-Böger, S.M. (2001). The clinical pharmacology of L-arginine. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41, 79–99.
- 41- Cardounel, A. J., Cui, H., Samouilov, A., Johnson, W., Kearns, P., Tsai, A. L., et al. (2007). Evidence for the pathophysiological role of endogenous methylarginines in regulation of endothelial NO production and vascular function. *J Biol Chem* 282, 879–887.
- 42- Gilinski MA. Asymmetric dimethylarginine: metabolism, arginine paradox, pathophysiology. *Usp Fiziol Nauk.* 2007 Jul-Sep;38(3):21-39.
- 43- Teerlink T, et al. Cellular ADMA: Regulation and action. *Pharmacol Res*(2009);60(6):448-60.
- 44- Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Purification and properties of a new enzyme. NG,NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase from rat kidney. *J Biol Chem.* 1989;264:10205–10209.

- 45- Kimoto M, Whitley GS, Tsuji H, Ogawa T. Detection of NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase in human tissues using a monoclonal antibody. *J Biochem.* 1995;117:237–238.
- 46- Beltowski J, Kêdra A. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a target for pharmacotherapy, 2006 *Pharmacological Reports*, 58:160.)
- 47- Brosnan ME, Brosnan JT. Renal arginine metabolism. *J Nutr* 2004;134:2791S–5S.
- 48- Scalera, F., Kielstein, J., Martens-Lobenhoffer, J., Postel, S., Täger, M., & Bode-Böger, S. M. (2005). Erythropoietin increases asymmetric dimethylarginine in endothelial cells—role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *J Am Soc Nephrol* 16, 892–898.
- 49- Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Böger SM, Tsikas D, Frölich JC, et al. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* 2004;109:172–7.
- 50- Cooke JP. Does ADMA Cause Endothelial Dysfunction? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:2032-2037.
- 51- MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russell RJ, Hodson H, et al. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996;119:1533–40.
- 52- Ueda S, Yamagishi S, Kaida Y, Okuda S. Asymmetric dimethylarginine may be a missing link between cardiovascular disease and chronic kidney disease. *Nephrology* (Carlton). 2007 Dec;12(6):582-90.
- 53- Jia SJ, Jiang DJ, Hu CP, Zhang XH, Deng HW, Li YJ. Lysophosphatidylcholine-induced elevation of asymmetric dimethylarginine level by the NADPH oxidase pathway in endothelial cells. *Vascul Pharmacol.* 2006 Mar;44(3):143-8.
- 54- Knipp M, Braun O, Gehrig PM, Sack R, Vasak M: Zn(II)-free dimethylargininase-1 (DDAH-1) is inhibited upon specific Cys-S-nitrosylation. *J Biol Chem*, 2003, 278, 3410–3416.
- 55- Ueda S, Kato S, Matsuoka H, Kimoto M, Okuda S, Morimatsu M, Imaizumi T: Regulation of cytokine-induced nitric oxide synthesis by asymmetric dimethylarginine: role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ Res*, 2003, 92, 226–233.
- 56- Nijveldt RJ, Teerlink T, Van Der Hoven B, Siroen MP, Kuik DJ, Rauwerda JA, van Leeuwen PA: Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin Nutr*, 2003, 22, 23–30.
- 57- Kielstein JT, Zoccali C: Asymmetric dimethylarginine: a cardiovascular risk factor and a uremic toxin coming of age? *Am J Kidney Dis*, 2005, 46, 186–202.
- 58- Teerlink T. ADMA metabolism and clearance. *Vasc Med.* 2005;10:S73-81.
- 59- Stühlinger MC, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL et al. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA.* 2002;287:1420-1426.
- 60- Arlt S, Schulze F, Eichenlaub M, Maas R, Lehmbeck JT, Schwedhelm E, Jahn H, Böger RH. Asymmetrical dimethylarginine is increased in plasma and decreased in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008;26(1):58-64.

- 61- Altinova AE, Arslan M, Sepici-Dincel A, Akturk M, Altan N, Toruner FB. Uncomplicated type 1 diabetes is associated with increased asymmetric dimethylarginine concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1881–5.
- 62- Asagami T, Abbasi F, Stuelinger M, Lamendola C, McLaughlin T, Cooke JP, et al. Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism* 2003;51:843–6.
- 63- Abbasi F, Asagami T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, et al. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2001;88:1201–3.
- 64- Hanai K, Babazono T, Nyumura I, Toya K, Tanaka N, Tanaka M, et al. Asymmetric dimethylarginine is closely associated with the development and progression of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1884–8.
- 65- Mittermayer F, Mayer BX, Meyer A, Winzer C, Pacini G, Wagner OF, et al. Circulating concentrations of asymmetrical dimethyl-L-arginine are increased in women with previous gestational diabetes. *Diabetologia* 2002;45:1372–8.
- 66- Sydow K, Mondon CE, Cooke JP. Insulin resistance: potential role of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor ADMA. *Vasc Med.* 2005 Jul;10 Suppl 1:S35-43
- 67- Onozato ML, Tojo A, Leiper J, Fujita T, Palm F, Wilcox CS. Expression of DDAH and PRMT isoforms in the diabetic rat kidney; effects of angiotensin II receptor blockers. *Diabetes* 2008;57:172–80.
- 68- Xiong Y, Fu YF, Fu SH, Zhou HH. Elevated levels of the serum endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and metabolic control in rats with streptozotocin induced diabetes. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003;42:191–196.
- 69- Paiva H, Lehtimäki T, Laakso J, Ruukonen I, Rantalaiho V, Wirta O, Pasternack A, Laaksonen R. Plasma concentrations of asymmetric-dimethylarginine in type 2 diabetes associate with glycemic control and glomerular filtration rate but not with risk factors of vasculopathy. *Metabolism.* 2003; 52:303–307.
- 70- Yan Xiong T, Leib M, Fua S, Fua Y. Effect of diabetic duration on serum concentrations of endogenous inhibitor of nitric oxide synthase in patients and rats with diabetes. *Life Sciences* 2005; 77: 149–159.
- 71- Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Tsuji H, Reaven GM, Cooke JP. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation.* 2002;106:987–992.
- 72- Won Bae S, Stühlinger MC, Yoo HS, Hyun KY, Park HK et al. Plasma Asymmetric Dimethylarginine Concentrations in Newly Diagnosed Patients With Acute Myocardial Infarction or Unstable Angina Pectoris During Two Weeks of Medical Treatment *Am J Cardiol* 2005; 95: 729–733.
- 73- McCarty MF, Vascular endothelium is the organ chiefly responsible for the catabolism of plasma asymmetric dimethylarginine--an explanation for the elevation of plasma ADMA in disorders characterized by endothelial dysfunction. *Medical Hypotheses* 2004; 63: 699–708.
- 74- Zoccali C, Mallamaci F, and Tripepi G. Novel Cardiovascular Risk Factors in End-Stage Renal Disease *Journal of the American Society of Nephrology* 2004; 15: 77–80.

- 75- Hodis HN, Mack WJ, Labree L et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med* 1998;128: 262–269,.
- 76- 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: 594–600,
- 77- Böger RH, Bode-Böger SM, Heistad DD, Lentz SR. Elevated plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, in monkeys with hyperhomocysteinemia. *Circulation* 1998;98:I-733.
- 78- Dayal S, Rodionov RN, Arning E, Bottiglieri T, Kimoto M, Murry DJ, Cooke JP, Faraci FM, Lentz SR. Tissue-specific downregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase in hyperhomocysteinemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008 Aug;295(2):H816-25.
- 79- Maeda T, Yoshimura T, Okamura H. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, in maternal and fetal circulation. *J Soc Gynecol Investig*. 2003;10:2-4.
- 80- Fliser D. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): the silent transition from an "uraemic toxin" to a global cardiovascular risk molecule. *Eur J Clin Invest*. 2005;35: 71-79.
- 81- Paloma L, Torondel B, Medina P, Segarra G, Olmo JA, Serra MA., Rodrigo JM. Plasma concentrations of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in human alcoholic cirrhosis. *Journal of Hepatology* 2004; 41.
- 82- Anemon A, Backman V, Snygg J, Von Bothmer C, Fandriks L, Petterson A. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase during graded hemorrhagic shock. *Circ Shock* 1994;44(3):111-4.
- 83- Wang D, Strandgaard S, Iversen J, Wilcox CS. Asymmetric dimethylarginine, oxidative stress, and vascular nitric oxide synthase in essential hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;296:R195–200.
- 84- Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, et al. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1141–6.
- 85- Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Böger RH, Bode-Böger SM, et al. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999;33:652–8.
- 86- Kielstein JT, Bode-Böger SM, Frölich JC, Ritz E, Haller H, Fliser D. Asymmetric dimethylarginine, blood pressure and renal perfusion in elderly subjects. *Circulation* 2003;107:1891–5.
- 87- Napoli C, Sica V, de Nigris F, Pignatelli O, Condorelli M, Ignarro LJ, Liguori A: Sulfhydryl angiotensin-converting enzyme inhibition induces sustained reduction of systemic oxidative stress and improves the nitric oxide pathway in patients with essential hypertension. *Am Heart J*, 2004, 148, e5.
- 88- Holden DP, Cartwright JE, Nussey SS, Whitley GS: Estrogen stimulates dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and the metabolism of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 2003, 108, 1575–1580.
- 89- Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M, Hsia J et al.: HERS Research Group. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and Estrogen/progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA*, 2002, 288,

- 90-** Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD et al.: Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*, 2002, 288, 321–333.
- 91-** Khan NA, Wiernsperger N, Quemener V, Havouis R, Moulinoux JP: Characterization of metformin transport system in NIH 3T3 cells. *J Cell Physiol*, 1992, 152, 310–316.
- 92-** Beltowski J, Wójcicka G, Jamroz A: Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in pathophysiology of the circulatory system and perspectives of application of their agonists in therapy (Polish). *Post Hig*, 2003, 57, 199–217.
- 93-** Wakino S, Hayashi K, Tatematsu S, Hasegawa K, Takamatsu I, Kanda T, Homma K et al.: Pioglitazone lowers systemic asymmetric dimethylarginine by inducing dimethylarginine dimethylaminohydrolase in rats. *Hypertens Res*, 2005, 28, 255–262.
- 94-** Achan V, Tran CT, Arrigoni F, Whitley GS, Leiper JM, Vallance P: all-*trans*-Retinoic acid increases nitric oxide synthesis by endothelial cells: a role for the induction of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ Res*, 2002, 90, 764–769.
- 95-** Stuhlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP: Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 2001, 104, 2569–2575.
- 96-** Stuhlinger MC, Oka RK, Graf EE, Schmolzer I, Upson BM, Kapoor O, Szuba A et al.: Endothelial dysfunction induced by hyperhomocyst(e)inemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 2003, 108, 933–938.
- 97-** Davey Smith G, Ebrahim S: Folate supplementation and cardiovascular disease. *Lancet*, 2005, 366, 1679–1681.
- 98-** Yang TL, Chen MF et al. Effect of fenofibrate on the level of asymmetric dimethylarginine in individuals with hypertriglyceridemia. *Eur J Clin Pharmacol*. 2006;62:179-84
- 99-** Westphal S, Borucki K, Luley C, Martens-Lobenhoffer J, Bode-Böger SM: Treatment with niacin lowers ADMA. *Atherosclerosis*, 2006, 184, 448–450.
- 100-** Cybulska B, Klosiewicz-Latoszek L: Effectiveness of omega-3 fatty acids in ischaemic heart disease prevention (Polish). *Kard Pol*, 2005, 62, 625–630.
- 101-** Eid HM, Arnesen H, Hjerkin EM, Lyberg T, Ellingsen I, Seljeflot I: Effect of diet and omega-3 fatty acid intervention on asymmetric dimethylarginine. A randomized controlled trial. *Nutr Metab*, 2006, 3, 4.
- 102-** Czyz M, Watala C: Aspirin – the prodigious panacea? Molecular mechanisms of the action of acetylsalicylic acid in the organism (Polish). *Post Hig (Online)*, 2005, 59, 105–115.
- 103-** Bode-Böger SM, Martens-Lobenhoffer J, Tager M, Schröder H, Scalera F: Aspirin reduces endothelial cell senescence. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334, 1226–1232.
- 104-** Pickering TG, Shimbo D, Haas D. Ambulatory blood pressure monitoring. *New Engl J Med* 2006;354:2368–2374. RV.
- 105-** Sega R, Trocino G, Lanzarotti A, Carugo S, Cesana G, Schiavina R, Valagussa F, Bombelli M, Giannattasio C, Zanchetti A, Mancia G. Alterations of cardiac structure in patients with isolated

office, ambulatory or home hypertension. Data from the general PAMELA population. *Circulation* 2001;104:1385–1392. OS.

106- Pickering TG, Davidson K, Gerin W, et al. Masked hypertension. *Hypertension*. 2002; 40:795–796.

107- Hozawa A, Ohkubo T, Kikuya M, et al. Blood pressure control assessed by home, ambulatory and conventional blood pressure measurements in the Japanese general population: The Ohasama study. *Hypertens Res*. 2002;25:57–63.

108- Obara T, Ohkubo T, Funahashi J, et al. Isolated uncontrolled hypertension at home and in the office among treated hypertensive patients from the J-HOME study. *J Hypertens*. 2005;23:1653–1660.

109- Kawabe H, Saito I, Saruta T. Status of home blood pressure measured in morning and evening: Evaluation in normotensives and hypertensives in Japanese urban population. *Hypertens Res*. 2005;28:491–498.

110- Mancia G, Facchetti R, Bombelli M, Grassi G, Sega R. Long-term risk of mortality associated with selective and combined elevation in office, home, and ambulatory blood pressure. *Hypertension* 2006;47: 846–853. OS.

111- Kawano Y. Masked hypertension: Diagnosis and treatment. *EBM J*. 2005;6:226–228 [in Japanese].

112- Kawano Y, Pontes CS, Abe H, et al. Effects of alcohol consumption and restriction on home blood pressure in hypertensive patients: Serial changes in the morning and evening records. *Clin Exp Hypertens*. 2002;24:33–39.

113- Kawano Y, Abe H, Takishita S, et al. Effects of alcohol restriction on 24-hour ambulatory blood pressure in Japanese men with hypertension. *Am J Med*. 1998;105:307–311.

114- Kario K, Pickering TG, Umeda Y, et al. Morning surge in blood pressure as a predictor of silent and clinical cerebrovascular disease in elderly hypertensives: A prospective study. *Circulation*. 2003;107:1401–1406.

115- Kario K, Ishikawa J, Pickering TG, et al. Morning hypertension: The strongest independent risk factor for stroke in elderly hypertensive patients. *Hypertens Res*. 2006;29:581–587.

116- Kuwajima I, Mitani K, Miyao Y, et al. Cardiac implications of the morning surge in blood pressure in elderly hypertensive patients: Relation to arising time. *Am J Hypertens*. 1995;8:29–33.

117- Ikeda T, Gomi T, Shibuya Y, et al. Morning rise in blood pressure is a predictor of left ventricular hypertrophy in treated hypertensive patients. *Hypertens Res*. 2004;27:939–946.

118- Nishinaga M, Takata J, Okumiya K, et al. High morning home blood pressure is associated with a loss of functional independence in the community-dwelling elderly aged 75 years or older. *Hypertens Res*. 2005;28:657–663.

119- O'Brien E, Sheridan J, O'Malley K. Dippers and non-dippers. *Lancet*. 1988; 2: 397.

120- Verdecchia P, Schilatti G, Borgioni C, et al. Cigarette smoking, ambulatory blood pressure and cardiac hypertrophy in essential hypertension. *J Hypertens*. 1995;13:1209–1215.

121- Baba S, Ozawa H, Nakamoto Y, et al. Enhanced blood pressure response to regular daily stress in urban hypertensive men. *J Hypertens*. 1990;8:647–655.

- 122-** Okuda N, Kawano Y, Horio T, et al. The effect of hospitalization on circadian rhythm of blood pressure: A comparison between inpatient and outpatient period. *Ther Res.* 1998;19:2699–2701.
- 123-** Sega R, Facchetti R, Bonbelli M, et al. Prognostic value of ambulatory and home blood pressures compared with office blood pressure in the general population: Follow-up results from the Pressioni Arteriose Monitorale e Loro Associazioni (PAMELA) study. *Circulation.* 2005;111:1777–1783.
- 124-** Uzu T, Ishikawa K, Fujii K, et al. Sodium restriction shifts circadian rhythm of blood pressure from nondipper to dipper in essential hypertension. *Circulation.* 1997;96:1859–1862.
- 125-** Uzu T, Kimura G. Diuretics shift circadian rhythm of blood pressure from non-dipper to dipper in essential hypertension. *Circulation.* 1999;100:1635–1638.
- 126-** Liu JE, Roman MJ, Pini R, et al. Cardiac and arterial target organ damage in adults with elevated ambulatory and normal office blood pressure. *Ann Intern Med.* 1999;131:564–572.
- 127-** Lurbe E, Torro I, Alvarez V, et al. Prevalence, persistence, and clinical significance of masked hypertension in youth. *Hypertension.* 2005;45:493–498.
- 128-** Altun B, Arici M, Nergizoglu G, et al. for the Turkish Society of Hypertension and Renal Diseases. *J Hypertens.* 2005; 23; 1817-23.
- 129-** Predictive factors for masked hypertension within a population of controlled hypertensives. *Journal of Hypertension.* 24(12):2365-2370, December 2006)
- 130-** Hernandez del-Rey R, Armario P, Martin-Baranera M, Sanchez P, Almendros MC, Coca A, Pardell H. Cardiac damage in hypertensive patients with inverse white coat hypertension. Hospitalet study. *Blood Press* 2003; 12:89–96.
- 131-** Sakaguchi K, Horimatsu T, Kishi A, Ohnishi Y, Koike T, Fujisawa T, Maeda M. Isolated home hypertension in the morning is associated with target organ damage in patients with type 2 diabetes. *J Atheroscler Thromb* 2005; 12:225–231.
- 132-** Bombelli M, Sega R, Facchetti R, Corrao G, Friz HP, Vertelati AM, et al. Prevalence and clinical significance of a greater ambulatory versus Office blood pressure (reversed white coat condition) in a general population. *J Hypertens* 2005; 23:513–520.
- 133-** Hansen TW, Jeppesen J, Rasmussen S, Ibsen H, Torp-Pedersen C. Ambulatory blood pressure monitoring and risk of cardiovascular disease: a population based study. *Am J Hypertens* 2006; 19:243–250.
- 134-** Hinman AT, Engel BT, Bickford AF. Portable blood pressure recorder. Accuracy and preliminary use in evaluating intradaily variations in pressure. *Am Heart J.* 1962; 63: 663-8.
- 135-** Rod J. Marchiando, Pharm.D., And Michael P. Elston, M.D. Automated Ambulatory Blood Pressure Monitoring: Clinical Utility in the Family Practice Setting. *American Family Physician* June 1, 2003; 67: 11
- 136-** Pickering TG, Harshfield GA, Kleinert HD, et al. Blood pressure during normal daily activities, sleep and exercise. *JAMA* 1982; 247: 992–996.
- 137-** Myers MG. Ambulatory blood pressure monitoring for routine clinical practice. *Hypertension* 2005; 45:483–484.

- 138-** Pickering T. Recommendations for the use of home (self) and ambulatory blood pressure monitoring. American Society of Hypertension Ad Hoc Panel. *Am J Hypertens*. 1996; 9: 1-11.
- 139-** Kobrin I, Oigman W, Kumar A, et al. Diurnal variation of blood pressure in elderly patients with essential hypertension. *J Am Geriatr Soc*. 1984; 32: 896-9.
- 140-** Verdecchia P, Porcellati C, Schillaci G, et al. Ambulatory blood pressure. An independent predictor of prognosis in essential hypertension. *Hypertension*. 1994; 24: 793-801.
- 141-** Holl RW, Pavlovic M, Heinze E, Thon A. Circadian blood pressure during the early course of type 1 diabetes: analysis of 1,011 ambulatory blood pressure recordings in 354 adolescents and young adults. *Diabetes Care*. 1999; 22: 1151-7.
- 142-** Cohen CN, Filho FM, de Fatima Goncalves M, de Brito Gomes M. Early alterations of blood pressure in normotensive and normoalbuminuric Type 1 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract*. 2001; 53: 85-90.
- 143-** Lee Coldman, Dennis Ausiello. *Cecil Textbook of Medicine* ,22nd Edition, 2006.
- 144-** Wild S, Roglic G, Green A et al. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-53.
- 145-** World Health Organization. Prevention of diabetes mellitus. Technical Report Series no. 844. WHO, Geneva, 1994.
- 146-** Scheffel RS, Bortolanza D, Weber CS, Costa LA, Canani LH, Santos KG, et al. Prevalence of micro and macroangiopathic chronic complications and their risk factors in the care of out patients with type 2 diabetes mellitus. *Rev Assoc Med Bras*.2004; 50: 263-7.
- 147-** Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenenti P. Clinical practice: nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*.2002; 346: 1145-51.
- 148-** Matthews DR, Stratton IM, Aldington SJ, Holman RR, Kohner EM. Risks of progression of retinopathy and vision loss related to tight blood pressure control in type 2 diabetes mellitus: UKPDS 69. *Arch Ophthalmol*.2004; 122: 1631-40.
- 149-** Stratton IM, Cull CA, Adler AI, Matthews DR, Neil HA, Holman RR. Additive effects of glycaemia and blood pressure exposure on risk of complications in type 2 diabetes: a prospective observational study (UKPDS 75). *Diabetologia*.2006; 49: 1761-9.
- 150-** UKPDS Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ*, 1998; 317: 703-13
- 151-** Leitão CB, Canani LH, Kramer CK, Boza JC, Pinotti AF, Gross JL. Masked hypertension, urinary albumin excretion rate and echocardiographic parameters in putatively normotensive type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Care*. 2007; 30:1255-60.
- 152-** Kamoi K, Miyakoshi M, Soda S, Kaneko S, Nakagawa O (2002) Usefulness of home blood pressure measurement in the morning in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 25:2218–2223
- 153-** Bruno RM, Gross JL. Prognostic factors in Brazilian diabetic patients starting dialysis: a 3.6-year follow-up study. *J Diabet Complications*.2000; 14: 266-71.
- 154-** Poulsen PL, Ebbelohj E, Hansen KW, Mogensen CE. 24-h blood pressure and autonomic function is related to albumin excretion within the normoalbuminuric range in IDDM patients. *Diabetologia*. 1997; 40: 718-25.

- 155-** Lurbe E, Redon J, Kesani A, Pascual JM, Tacons J, Alvarez V, et al. Increase in nocturnal blood pressure and progression to microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2002; 347: 797-805.
- 156-** Knudsen ST, Poulsen PL, Hansen KW, Ebbeløj E, Bek T, Mogensen CE. Pulse pressure and diurnal blood pressure variation: association with micro- and macrovascular complications in type 2 diabetes. *Am J Hypertens*. 2002; 15: 244-50.
- 157-** Poulsen PL, Bek T, Ebbeløj E, Hansen KW, Mogensen CE. 24-h ambulatory blood pressure and retinopathy in normoalbuminuric IDDM patients. *Diabetologia*. 1998; 41: 105-10.
- 158-** Rodrigues TC, Pecis M, Azevedo MJ, Esteves JF, Gross JL. Ambulatory blood pressure monitoring and progression of retinopathy in normotensive, normoalbuminuric type 1 diabetic patients: a 6-year follow-up study. *Diabetes Res Clin Pract*. 2006; 74: 135-40.
- 159-** Chen BM, Xia LW, Zhao RQ. Determination of NG,NG dimethylarginine in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B*. 1997;692:467-471.
- 160-** Newsholme P, Homem De Bittencourt PI, O' Hagan C, De Vito G, Murphy C, Krause MS. Exercise and possible molecular mechanisms of protection from vascular disease and diabetes: the central role of ROS and nitric oxide. *Clin Sci (Lond)*. 2009 Nov 23;118(5):341-9.
- 161-** Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure:the JNC 7 report. *JAMA*. 2003; 289: 2560-72.
- 162-** Ziegler D., Type 2 diabetes as an inflammatory cardiovascular disorder. *Curr Mol Med*. 2005 May;5(3):309-22.
- 163-** Ng CM, Yiu SF, Choi KL, Choi CH, Ng YW, Tiu SC. Prevalence and significance of white-coat hypertension and masked hypertension in type 2 diabetics. *Hong Kong Med J*. 2008 Dec;14(6):437-43.
- 164-** Llisterri JL, Alonso FJ, Gorostidi M, Sierra C, de La Sierra A, Banegas JR, Segura J, Sobrino J, De La Cruz JJ, Madruga F, Aranda P, Redon J, Ruilope LM; Differences between office and ambulatory control of hypertension in very elderly patients. The CARDIORISC - MAPAPRES project] *Med Clin (Barc)*. 2009 Nov 28;133(20):769-76.
- 165-** Wijkman M, Länne T, Engvall J, Lindström T, Ostgren CJ, Nystrom FH. Masked nocturnal hypertension--a novel marker of risk in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2009 Jul;52(7):1258-64.
- 166-** Rodrigues TC, Canani LH, Viatroski RS, Hoffmann LH, Esteves JF, Gross JL. Masked hypertension, nocturnal blood pressure and retinopathy in normotensive patients with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010 Feb;87(2):240-5.
- 167-** Lajer M, Tarnow L, Jorsal A, Teerlink T, Parving HH, Rossing P. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 2008 Apr;31(4):747-52.
- 168-** Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, Schulze F, Xanthakis V, Benndorf RA, Vasan RS. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation*. 2009 Mar 31;119(12):1592-600.

- 169-** Konukoglu D, Firtina S, Serin O. The relationship between plasma asymmetrical dimethyl-L-arginine and inflammation and adhesion molecule levels in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Metabolism*. 2008 Jan;57(1):110-5.
- 170-** Anderson JL, Carlquist JF, Roberts WL, Horne BD, May HT, Schwarz EL, Pasquali M, Nielson R, Kushnir MM, Rockwood AL, Bair TL, Muhlestein JB; Intermountain Heart Collaborative Study Group. Asymmetric dimethylarginine, cortisol/cortisone ratio, and C-peptide: markers for diabetes and cardiovascular risk? *Am Heart J*. 2007 Jan;153(1):67-73.
- 171-** Devangelio E, Santilli F, Formoso G, Ferroni P, Bucciarelli L, Michetti N, Clissa C, Ciabattini G, Consoli A, Davi G. Soluble RAGE in type 2 diabetes: association with oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2007 Aug 15;43(4):511-8.
- 172-** Khaw KT; Wareham N Association of hemoglobin A1c with cardiovascular disease and mortality in adults: the European prospective investigation into cancer in Norfolk *Ann Intern Med* 2004 Sep 21;141(6):413-20.
- 173-** Kuusisto J; Mykkanen L-NIDDM and its metabolic control predict coronary heart disease in elderly subjects *Diabetes* 1994 Aug;43(8):960-7
- 174-** Asayama K, Sato A, Ohkubo T, Mimura A, Hayashi K, Kikuya M, Yasui D, Kanno A, Hara A, Hirose T, Obara T, Metoki H, Inoue R, Hoshi H, Satoh H, Imai Y. The association between masked hypertension and waist circumference as an obesity-related anthropometric index for metabolic syndrome: the Ohasama study. *Hypertens Res*. 2009 Jun;32(6):438-43.
- 175-** Bai Y, Hui R. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH)--a critical regulator of hypertensive left ventricular hypertrophy? *Med Hypotheses*. 2008;70(5):962-6.
- 176-** Cavusoglu E, Ruwende C, Chopra V, Poludasu S, Yanamadala S, Frishman WH, Eng C, Pinsky DJ, Marmur JD. Relation of baseline plasma ADMA levels to cardiovascular morbidity and mortality at two years in men with diabetes mellitus referred for coronary angiography. *Atherosclerosis*. 2010 May;210(1):226-31.

9. TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezi çalışmam boyunca her aşamada bilgi ve deneyimlerini, desteğini hiç esirgemeyen tez danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. Ali Ünlü'ye çok teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimimizi gerçekleştirmemizde ve gerek bilgi, gerekse tecrübeleriyle becerilerimizi arttırmamız için büyük emek harcayan Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İdris Mehmetoğlu başta olmak üzere anabilim dalında görev yapan tüm hocalarıma teşekkürü bir borç biliyorum.

Vakalarımızın seçimi ve hasta gruplarının oluşturulması için fikir ve emekleriyle katkıda bulunan Uzm.Dr.Mehmet Kayrak'a, Dr. Mehmet Tekinalp'e, Uzm.Dr.Selim S.Ayhan'a deneysel çalışmalarında yardımları için Uzm.Dr. Abdullah Sivrikaya'ya , her zaman her konuda bana destek olan Yard.Doç.Dr.Aysel Kıyıcı'ya, Yard.Doç.Dr.S.Sami Erdem'e teşekkür ederim. Numunelerimin toplanmasında emeği olan Dr.Erkan Taşyürek, Dr.Hümeysra Çiçekler, Dr.Ekrem Erbay, Dr.Ayhan Erener'e, Dr.Sibel Döşeyici'ye, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı asistan ve uzman arkadaşlarıma, ayrıca tüm laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.

Çalışmamı destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne de teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca üzerimden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve bugünlere ulaşmamda en büyük pay sahibi olan anneme, babama ve kardeşlerime, ayrıca kıymetli eşim Bilge'ye teşekkür ederim.