

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**RADYASYON UYGULANAN RATLARDA ASİMETRİK DİMETİL
ARJİNİN, HOMOSİSTEİN VE D VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERDEM KAHRAMAN

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Aysel ARICIOĞLU

ANKARA
Ocak 2012

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**RADYASYON UYGULANAN RATLARDA ASİMETRİK DİMETİL
ARJİNİN, HOMOSİSTEİN VE D VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERDEM KAHRAMAN

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Aysel ARICIOĞLU

01.2010.125 Proje kodlu bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP)
olarak desteklenmiştir.

ANKARA

Ocak 2012



TEZ SAVUNMA TUTANAĞI

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalı'nda PROF.DR. AYSEL ARICIOĞLU danışmanlığında ERDEM KAHRAMAN tarafından hazırlanan " RADYASYON UYGULANAN RATLARDA SERUM D VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ RADYASYON UYGULANAN ROTLARDA ASİMETRİK OİMETİL ARJİNİN HOMOSSTEİN VE D VİTAMİNİ DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ" konulu tez savunmasını yapmak üzere 22/11/2012 tarihinde saat 14.00'da ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞINDA toplanan jüri yapılan tez savunma sınavı sonucunda Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinin 29(1)maddesi gereğince, tezin,

- Oybirtliği Oyçokluğu ile,
 Başarılı olduğuna, Düzeltilmesine, Reddine, karar vermiştir.

Gereğini Saygılarımızla arz ederiz.

Tez hakkında Düzeltme veya Red kararının gerekçeleri

BAŞKAN
PROF.DR. HATİCE PAŞAOĞLU

Üye

PROF.DR. AYSEL ARICIOĞLU

Üye

PROF.DR. MÜGE AKMANSU

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vi
GRAFİKLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1.RADYASYON	2
2.1.1.RADYASYON ÇEŞİTLERİ	3
2.1.1.1. İYONLAŞTIRICI RADYASYON	3
2.1.1.2. İYONLAŞTIRICI OLMAYAN RADYASYON	5
2.1.2.RADYASYONUN BİYOLOJİK ETKİLERİ	5
2.1.2.1. DİREKT ETKİ	5
2.1.2.2. DOLAYLI ETKİ	5
2.2. D VİTAMİNİ	6
2.2.1. D VİTAMİNİ METABOLİZMASI	8
2.2.2. D VİTAMİNİ KAYNAKLARI	12
2.3.ASİMETRİK DİMETİL ARJİNİN	12
2.3.1. ADMA METABOLİZMASI	13
2.3.2.ADMA VE OKSİDATİF STRES	16
2.3.3.ADMA'NİN ENDOTEL HASARLA İLİŞKİSİ	17
2.3.4.ADMA'NİN ÇEŞİTLİ HASTALIKLARLA İLİŞKİSİ	18
2.3.4.1.ADMA'NİN RENAL HASTALIKLARDAKİ YERİ	18
2.3.4.2. ADMA-KARDİYOVASKÜLER SİSTEM İLİŞKİSİ	18
2.3.4.3. ADMA-PULMONER HİPERTANSİYON İLİŞKİSİ	20
2.3.4.4. TİP 2 DİYABET'TE ADMA'NİN YERİ	21
2.3.4.5. ADMA-KARACİĞER HASTALIKLARI	22
2.3.5.ADMA VE HOMOSİSTEİN İLİŞKİSİ	22

2.3.6. SERUM ADMA DÜZEYİNİ AZALTAN ETKENLER	24
2.4. HOMOSİSTEİN	25
2.4.1.HOMOSİSTEİN METABOLİZMASI	26
2.4.2. HOMOSİSTEİN MOLEKÜLÜ	27
3. GEREÇ ve YÖNTEM	28
3.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN DENEY HAYVANLARI	28
3.2. KULLANILAN CİHAZ VE MALZEMELER	28
3.3. KULLANILAN YÖNTEMLER	29
3.4. DENEY HAYVANLARININ HAZIRLANMASI	31
3.4.1. Kontrol Grubu (n=6)	31
3.4.2. Radyasyon Grubu (n=6)	31
3.4.3. Radyasyon ve Vitamin D Grubu (n=6)	33
3.4.4. Vitamin D Grubu (n=6)	34
3.5. DENEYİN YAPILIŞI	35
3.5.1. HOMOSİSTEİN TAYİNİ	35
3.5.2. VİTAMİN D TAYİNİ	38
3.5.3. ADMA TAYİNİ	41
3.6. VERİLERİN ANALİZİ	44
4. BULGULAR	45
4.1. Grup 1 için SDMA, ADMA, Vitamin D ve Hcy Düzeyleri	45
4.2. Grup 2 için SDMA, ADMA, Vitamin D ve Hcy Düzeyleri	45
4.3. Grup 3 için SDMA, ADMA, Vitamin D ve Hcy Düzeyleri	46
4.4. Grup 4 için SDMA, ADMA, Vitamin D ve Hcy Düzeyleri	46
4.5. Bütün Gruplar için SDMA Ortalamaları	47
4.6. Bütün Gruplar için ADMA Ortalamaları	47
4.7. Bütün Gruplar için Vitamin D Ortalamaları	48
4.8. Bütün Gruplar için Hcy Ortalamaları	48
4.9. Grup 1-Grup 2, Grup 2-Grup 3, Grup 1 –Grup 4	
“p” değerleri	49
5. TARTIŞMA	50
6. ÖZET	56

7. SUMMARY	58
8. KAYNAKLAR	60
9. TEŞEKKÜRLER	73
10. ÖZGEÇMİŞ	75
11. ETİK KURUL RAPORU	76

ŞEKİLLER

- Şekil 1 : D Vitamini Molekül Yapısı
- Şekil 2 : D Vitamini Metabolizmasını Etkileyen Faktörler
- Şekil 3 : D₃: Kolekalsiferol
- Şekil 4 : D₂ : Ergokalsiferol
- Şekil 5 : Vücutta bulunan başlıca metillenmiş arjininler
- Şekil 6 : Metillenmiş arjinin türevlerinin metabolizmaları
- Şekil 7 : ADMA'nın NOS inhibisyonu
- Şekil 8 : NO'nun DDAH'ı inhibe etmesi
- Şekil 9 : Oksijen radikalleri-ADMA-NO ilişkisi
- Şekil 10: ADMA-Kardiovasküler risk faktörleri ilişkisi
- Şekil 11: Diyabette ADMA artışına neden olan mekanizmalar
- Şekil 12: ADMA ve Homosistein ilişkisi
- Şekil 13: Homosistein
- Şekil 14: Homosistein metabolizması
- Şekil 15 : Ratlardan intrakardiyak kan alınımı
- Şekil 16 : Ratlara radyasyon uygulaması
- Şekil 17: Ratlara radyasyon uygulanan Kobalt-60 cihazı
- Şekil 18 : Ratlara gavaj uygulaması
- Şekil 19 : Homosistein kromatografisi
- Şekil 20 : Vitamin D kromatografisi

TABLÖLAR

Tablo 1: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi
A.B.D.Tedavi Kartı

Tablo 2: Homosistein için HPLC çalışma koşulları

Tablo 3: Vitamin D için HPLC çalışma koşulları

Tablo 4: ADMA Kit İçeriği

Tablo 5 :Tüm gruplar için ortalamalar

Tablo 6 :Gruplar Arası " p" Değerleri

GRAFİKLER

Grafik 1: Kontrol Grubu Ortalamaları

Grafik 2: Radyasyon Grubu Ortalamaları

Grafik 3: Radyasyon + Vitamin D Grubu Ortalamaları

Grafik 4: Vitamin D Grubu Ortalamaları

Grafik 5: SDMA Ortalamaları

Grafik 6: ADMA Ortalamaları

Grafik 7: Vitamin D Ortalamaları

Grafik 8: Homosistein Ortalamaları

KISALTMALAR

- ADMA:** Asimetrik Dimetil Arjinin
SDMA: Simetrik Dimetil Arjinin
L-NMMA: N monometil-L-Arjinin
Hcy: Homosistein
KC: Karağicer
Ev: Elektron volt
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentaz
WHO: Dünya Sağlık Örgütü
VDBP: Vitamin D Bağlayıcı Protein
D3: Kolekalsiferol
D2: Ergokalsiferol
PRMT: Protein Arjinin Metil Transferaz
DDAH: Dimetilamin Dimetilaminohidrolaz
SOD: Süperoksit Dismutaz
c(GMP): Sitozolik siklik guanidin monofosfat

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde radyasyon gerek tanı gerekse tedavide kullanılmaktadır. Bununla birlikte radyasyon biyolojik sistemlerde yer alan biyomoleküller ile etkileşerek moleküllerin elektron almasına veya elektron kaybetmesine neden olmaktadır. Elektron dengesi değişen ve stabil olmayan biyomoleküller sistemde bozunmaya uğramaktadır³. Eğer radyasyon atom veya moleküllerden bir veya daha fazla elektron kopartacak kadar yeterli enerjiye sahipse iyonizasyon oluşur. Bu şekilde oluşan radyasyon iyonize radyasyon olarak adlandırılır. Yüksek miktarda enerji harcanır^{1,2}. Aynı zamanda stabil olmayan biyolojik moleküller hücre veya dokuda lipid peroksidasyonu aracılı membran hasarı başta olmak üzere geri dönüşümsüz reaksiyonları başlatır. Düşük doz X-ray radyasyon veya diğer radyasyon tipleri hücrelerde serbest radikal oluşumunu tetiklemektedir^{2,3}. Serbest radikeller başta lipidler olmak üzere protein veya enzim inaktivasyonu ve DNA kırık lezyonları gibi oksidatif hasarı tetiklemektedir. Serbest radikal hasarı lipid peroksidasyonu ile hücre membran bütünlüğünün bozulmasına, protein ve enzim inaktivasyonuna hatta nükleik asitlerde baz modifikasyonlarına neden olarak hücre veya dokularda apoptotik veya nekrotik kayıplara neden olmaktadır. Radyasyon tedavisi tümör kitlesinde gerilemeye neden olurken aynı zamanda sağlıklı dokularda da oksidan hasarın oluşumuna neden olmaktadır⁴.

Nitrik oksit (NO) özellikle kalp damar sistemi ve merkezi sinir sisteminde fonksiyonel moleküldür. Nörotransmitter etkisinin yanında damar sisteminde vazodilatör etkisi bulunmaktadır. NO fizyolojik gerekli etkilerinin yanında radyasyon etkisi ile plazma ve dokularda artan seviyeleri gösterilmiştir⁵. Artan NO düzeyleri özellikle beraberinde üretilen süperoksit radikali ile reaksiyona girip peroksinitrit oluşumunu artırır.

Peroksinitrit özellikle enzimlerin fonksiyonel gruplarında yer alan tirozin amino asitlerinin nitrasyonunda, poliansature yağ asitlerinin oksidasyonunda etkilidir. Fizyolojik süreçte önem arz eden ve endotel fonksiyonda önemli molekül olan nitrik oksit arjinin aminoasidinden nitrik oksit sentaz katalizli reaksiyon sonucu üretilir. Diğer yandan asimetrik dimetil arjinin (ADMA) ise protein arjinin metil transferazlar ile proteinlerin arjinin kalıntılarının metilasyonu ile oluşur ve nitrik oksit sentaz inhibitörüdür. Artmış ADMA düzeyleri endotel fonksiyon kaybı ile ilişki gösterir. Tüm bunlara paralel olarak radyasyon uygulaması vücutta yaklaşık 4000-7000 m² yer tutan endotel hattında olumsuz etkilemektedir ⁶. Endotel fonksiyon bozukluğunun patofizyolojisinde diğer etkenlerden birisi ise artmış plazma homosistein (Hcy) düzeyleridir ve son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında bazı antioksidan moleküllerin ve vitaminlerin radyasyon sırasında ve sonrasında koruyucu etkileri vurgulanmaktadır ⁷. Özellikle D vitamini uygulamaların endotel fonksiyon veya endotel patolojisinde etkin ADMA düzeylerinde ki artışı engellediğine dair çalışmalar mevcuttur ^{9,10}. Bizde çalışmamızda gama radyasyon uygulanmış ratlarda serum ADMA, Hcy ve D vitamininin olası radyasyon hasarını nasıl etkilediğini araştırmayı planlamaktayız.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Radyasyon

Radyasyon, basit olarak hareket halinde bulunan bir enerji türüdür. Varoluşlarından bu yana insanlar hep radyasyonla iç içe yaşamak zorunda kalmışlardır. Dünyanın oluşumuyla doğada yer alan ve çok uzun yarı ömre sahip radyoaktif elementler yaşadığımız çevrede doğal radyasyonu oluşturmaktadırlar. Ayrıca, nükleer denemeler ve bazı teknolojik ürünlerin kullanımıyla doğal radyasyonun arttığı gözlenmiştir. Doğal radyasyonun bir kısmını da uzaydan gelen kozmik ışınlar

oluşturmaktadır. Fosil yakıtlar, doğal ve uzun ömürlü radyoaktif element içermektedir. Endüstriyel gelişmeler ve tıbbi amaçlı kullanım sonucu birçok yapay radyasyon kaynağı da doğadaki radyasyona eklenmiştir¹¹.

2.1.1.Radyasyon Çeşitleri

Radyasyon elektron, proton gibi parçacıkların oluşturduğu partiküllerin yayılmasıyla oluşturan elektromagnetik ışımadır. İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan radyasyon olarak iki gruba ayrılır¹¹.

2.1.1.1.İyonlaştırıcı Radyasyon

Çarptığı maddede yüklü partiküller oluşturan radyasyona iyonlaştırıcı radyasyon denir. İyonizasyon, maddenin radyasyonla etkileşmesi sonucu ortaya çıkan bir olaydır. İyonize radyasyon her türlü canlıya zarar verebilir ve önlem alınması gerekmektedir. Başlıca beş tip iyonlaştırıcı radyasyon vardır. Bunlar alfa partikülleri, beta partikülleri, x ışınları, gama ışınları ve nötronlardır¹¹.

a- Alfa Partikülleri

Madde içinden geçerken, yolları üzerinde yoğun bir iyonizasyon oluşturur. Enerjilerini kısa sürede kaybederler. Bu yüzden dalga boyları kısadır. Kağıt gibi oldukça ince materyallerle engellenebilirler¹¹.

b-Beta Partikülleri

Belli bir kütle ve yüke sahip olduklarından madde içinden geçerken belli bir iyonlaşmaya neden olurlar. Alfa parçacıklarına göre daha hafif ve daha giricidirler. Alüminyum levha gibi biraz daha kalın bir materyalle durdurulabilirler¹¹.

c- Gama Işınları

Dalga karakterlidir ve kaynağı atom çekirdeğidir. Kararsız haldeki çekirdek gama ışını yayarak kararlı hale gelmektedir¹¹.

d- Nötronlar

Yüksüz parçacıklardır. Herhangi bir madde içine kolaylıkla nüfuz ederler. Kalın bir betonla durdurulabilirler¹¹.

e- X Işınları

Dalga şeklindedir. Atomun iç halkarındaki elektronların kopması ve bunların yerine dış halkalardan elektronların geçmesi esnasında ortamda enerji fazlası meydana gelir. Bu da X ışını şeklinde yayılır¹¹.

2.1.1.2. İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon

İnfrared (IR) ve Ultraviöle (UV) olmak üzere iki tipi vardır. Farklı mekanizmalarla etki gösterirler. IR oluşturduğu ısı ile tahribat gücüne sahiptir. UV ise karşılaştığı hücrelerde çeşitli reaksiyonları başlatarak ölüme neden olur ¹¹.

2.1.2. Radyasyonun Biyolojik Etkileri

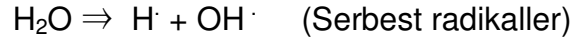
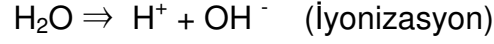
X ışınları ve radyoaktivite ilk keşfedildiğinde herhangi bir tehlikenin varlığından kimse şüphelenmemiştir. Ancak sonraki yıllarda bu ışınlarla çalışılan kişilerde ciddi etkiler gözlemlendiğinde radyasyonun zararlı olabileceği düşünölmeye başlanmıştır. Radyasyonun meydana getirdiği biyolojik etkilerde iki mekanizmanın sorumlu olduğu yapılan çeşitli araştırmalarla bulunmuştur. Bunlar direkt ve dolaylı etkiler şeklinde iki grup altında toplanabilir ¹².

2.1.2.1. Direkt Etki

Radyasyonun direkt olarak hücrenin kritik moleküllerini etkilemesiyle meydana gelir. Hedef atomda radyasyon etkisiyle iyonizasyon meydana gelir ve biyolojik hasara sebep olan bir dizi reaksiyon başlar. Radyasyon, geçtiği yol boyunca bağ kırılmasına neden olarak direkt etki gösterir¹³.

2.1.2.2. Dolaylı Etki

Radyasyon canlı dokuda yoğun olarak bulunan su molekülleriyle etkileşerek serbest radikal oluşmasına neden olur¹³.



Oluşan bu radikaller bazı bozunma reaksiyonlarını tetikleyerek dolaylı etkiye neden olurlar. İyonize edici radyasyon yüksek dozlarda uygulandığı zaman pek çok sistem, organ ve doku üzerinde toksik etkilere neden olarak organizmaya çeşitli zararlar vermektedir. Günümüze kadar hematopoietik, gastrointestinal ve santral sinir sistemleri üzerindeki zararlı etkiler geniş bir şekilde çalışılmış ve bu konularda ayrıntılı veriler elde edilmiştir. İyonize edici radyasyonun dolaşım sistemi üzerine etkileri ise çok daha az sayıda çalışma ile ele alınmış olduğundan bu konudaki veriler sınırlı düzeyde kalmıştır^{13,14}.

2.2. D Vitamini

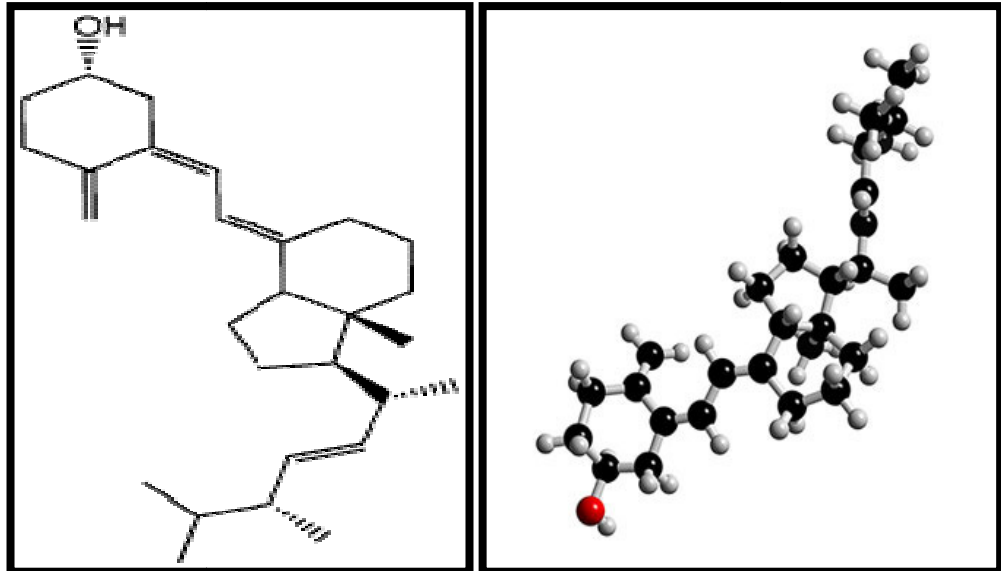
Vitaminler, besinlerle veya dışarıdan alınması zorunlu olan besin öğeleri olarak tanımlanmasına rağmen; D vitamini bir dokuda üretilerek kan dolaşımına verilmesi, diğer dokular üzerinde etki göstermesi ve bu etkisinin “feedback” mekanizmalarla düzenlenmesi nedeniyle vitaminden çok steroid yapılı bir hormon olarak değerlendirilir. D vitamini klasik vitaminlerden farklı olarak vücutta sentezlenmekte ve dolayısıyla hormon olarak adlandırılmaktadır. Uzun yıllar D vitamininin kalsiyum homeostazı ve kemik metabolizması üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ancak, son 20-25 yılda yapılan çalışmalar bize bu bilinen fonksiyonları dışında D vitamininin daha birçok fonksiyonu olduğunu göstermiştir²⁴.

Bugün, otoimmün hastalıklar, inflamatuvar barsak hastalığı, romatoid artrit, multipl skleroz, diyabet, birçok kanser çeşidi ve kalp hastalıklarının oluşmasında D vitamini eksikliğinin rolü olduğu

bilinmektedir. Vitaminler enzim reaksiyonlarında bir kofaktör gibi görev yapan bileşiklerdir. D₃ Vitamini olan Kolekalsiferol; güneş ışığı ile deride 7-dehidrokolesterolden sentezlenebilmekte ve etkilerini hücredeki reseptörüne bağladıktan sonra messenger RNA'yı (mRNA) arttırarak göstermektedir^{15, 16, 17,18}.

Yaygın olarak bu bileşik D vitamini olarak bilinmesine karşın, bu özelliklerden dolayı son zamanlarda vitamin D'nin vitamin gibi etki etmediği ve hormonlara benzer yapıda olduğu düşünülmektedir¹⁹.

D vitamini aile üyeleri siklopentanoperhydrofenanthrene halkasından derive olurlar ve steroidlere benzerler²⁰. Ancak dört halka yapıları olmadığından dolayı gerçek anlamda steroid değildirler²¹. Otuzdan fazla vitamin D metaboliti bildirmekle birlikte çoğunluğu inaktif bileşiklerdir²².



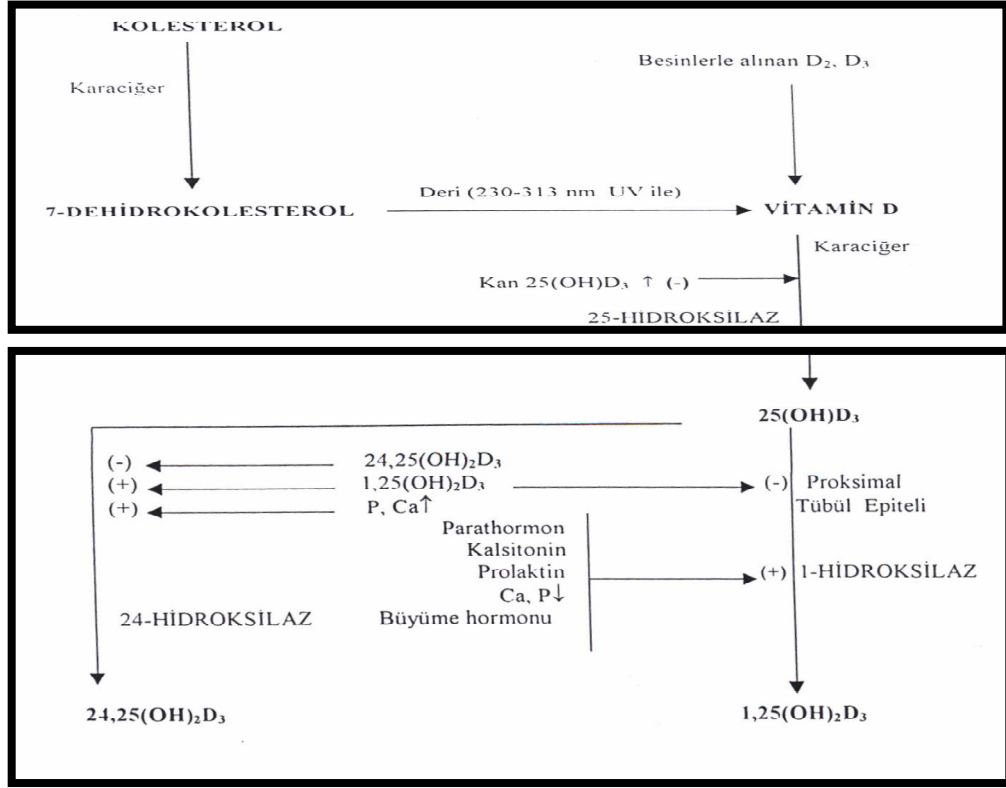
Şekil 1: D Vitamini Molekül Yapısı

2.2.1. Vitamin D'nin metabolizması

Vücuttaki vitamin D' nin %85 kadarı deride 7-dehidrokolesterolden ultraviyole ışını etkisiyle oluşurken, %15'i ise diyetten sağlanır ¹⁹. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) çocuklarda yeterli kemik gelişimi için günlük D vitamini gereksinimini 400 IU olarak belirlemiştir ²³.

Beyaz ırktan bir insanın bir santimetre karelik derisinde, güneş ışınları etkisiyle yaklaşık olarak saatte 6 ünite D vitamini yapılabilir. Sadece yanakları açık olan bir bebeğin, üç-dört saat güneş ışığında kalması bile günlük D vitamini ihtiyacını karşılayabilmektedir ¹⁹.

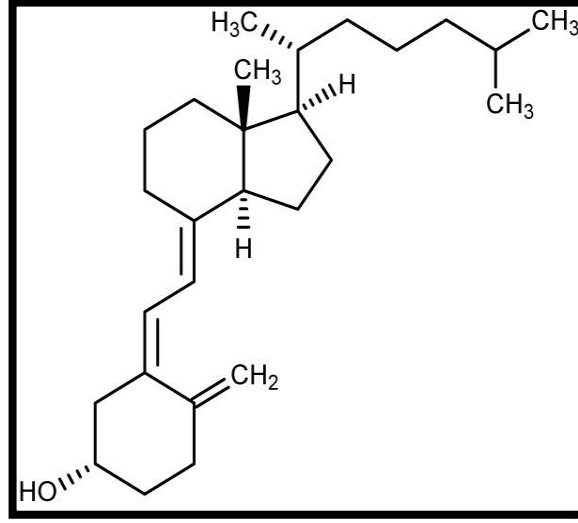
Vitamin D hayvansal gıdalardan kolekalsiferol (vitamin D₃), bitkisel gıdalardan ergokalsiferol (vitamin D₂) olarak alınır. Her ikisi de safra tuzların yardımı ile incebarsağın üst kısımlarından emilip, primer olarak şilomikron yapıları içinde lenfatik sistem yoluyla kana karışır ve "Vitamin D Bağlayıcı Protein"e bağlanarak karaciğere taşınır. D vitamini besinlerle alınabildiği gibi vücut içerisinde de üretilmektedir. Karaciğerde kolesterolden sentez edilen 7-dehidrokolesterol (provitamin D₃) kan yoluyla derinin malpighi tabakasına gelir. 230-313 nm dalga boyundaki ultraviyole ışınları ile kolekalsiferole (vitamin D₃) dönüştürülür ²². Pencere camından, dalga boyu 313 nm'den düşük olan ışınlar geçemediğinden, cam arkasından güneşlenmenin vitamin D sentezi açısından yararı yoktur ^{19,22}.



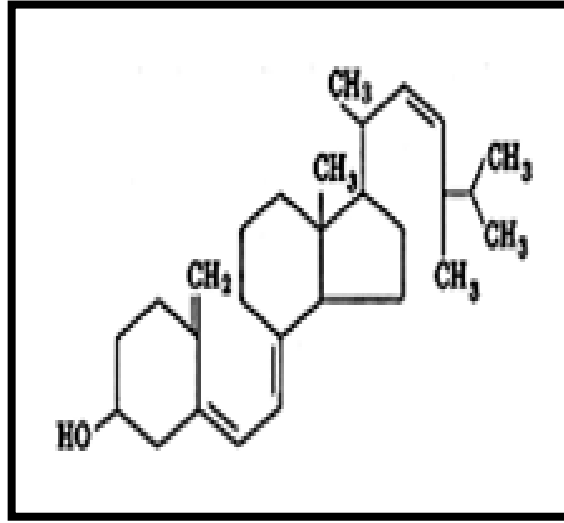
Şekil 2: Vitamin D Metabolizmasını Etkileyen Faktörler

D vitamini yapısal olarak steroid hormonlara benzer. Steroidlerde B halkası kapalıyken, D vitamininde bu halka açıktır²⁵.

- Bitkisel kaynaklı D vitamini (D₂: Ergokalsiferol)
- Hayvansal kaynaklı D vitamini (D₃: Kolekalsiferol)



Şekil 3: D₃: Kolekalsiferol



Şekil 4: D₂: Ergokalsiferol

Normal koşullarda insan vücudunda bulunan D vitamininin %90-95'i güneş ışınlarının etkisi ile sentez edilir. Bu sentez fonksiyonuna, ülkenin bulunduğu enlem, mevsimler, güneş ışınlarının yeryüzüne geldiği açı (Zenith açısı), deri pigmentasyonu, hava kirliliği düzeyi, deriye sürülen koruyucu kremler, giyinme tipi gibi faktörlere bağlıdır. Güneş ışınlarında bulunan ultraviyole B (290-313 nm dalga boyunda) etkisi ile deriden D vitamini sentez edilmesi için sınır değer 18-20 mJ/cm² 'dir. 7-

dehidrokolesterol ultraviyole B ışınları etkisi ile deride önce previtamin D'ye daha sonra vücut ısısı ile hızla D vitaminine dönüşür. Aynı zamanda bu dalga boyundaki güneş ışığı D vitaminini parçalayarak inaktif ürünlere dönüştürür. Bu mekanizma güneşlenmenin neden D vitamini toksisitesine yol açmadığını izah eder. Daha sonra "Vitamin D Bağlayıcı Protein" (VDBP)'e bağlanarak taşınır²⁵.

Karaciğerde 25-hidroksilaz ve böbrekte 1-alfahidroksilaz enzimi tarafından hidroksillenerek aktif form olan 1.25-dihidroksi vitamin D'ye dönüşür. 25-hidroksilasyonun %90'ı karaciğerde , %10'u fibroblast, böbrek, duodenum ve kemik gibi diğer dokularda gerçekleşir. Böbrekte özellikle proksimal tübülüs hücreleri, 1-alfahidroksilaz enzimi açısından zengindir. Ayrıca meme dokusu, prostat, kolon ve makrofajlarda 25-hidroksivitamin D'nin, 1.25-dihidroksi vitamin D'ye dönüşebildiği gösterilmiştir. 1-alfahidroksilaz aktivitesi paratiroid hormon ve prolaktin tarafından artırılır. Bu enzimler p450 enzim ailesine aittir²⁶.

Oral yoldan alınan D vitamini şilomikronların yapısında kana geçerken, deride sentezlenen D vitamini, VDBP'ye bağlanarak taşınır. 25-hidroksivitamin D inaktif olup (1.25-dihidroksivitamin D'nin 500-1000'de bir etkinliğine sahiptir), daha çok D vitamini deposu gibi davranır. VDBP alfa globülin yapısında olup karaciğerde yapılır. Östrojen kullanımı ve gebelikte VDBP düzeyi artar²⁷.

D vitamininin katabolize olma yolu 24-hidroksilasyondur (hem KC hem de böbrekte). 24,25-dihidroksivitamin D daha polardır. Hızlı olarak böbrekten atılır. 1.25-dihidroksivitamin D ise 24-hidroksilasyonla "kalsitroik aside" dönüşür ve safra yolu ile atılır²⁷.

2.2.2. D vitamini kaynakları

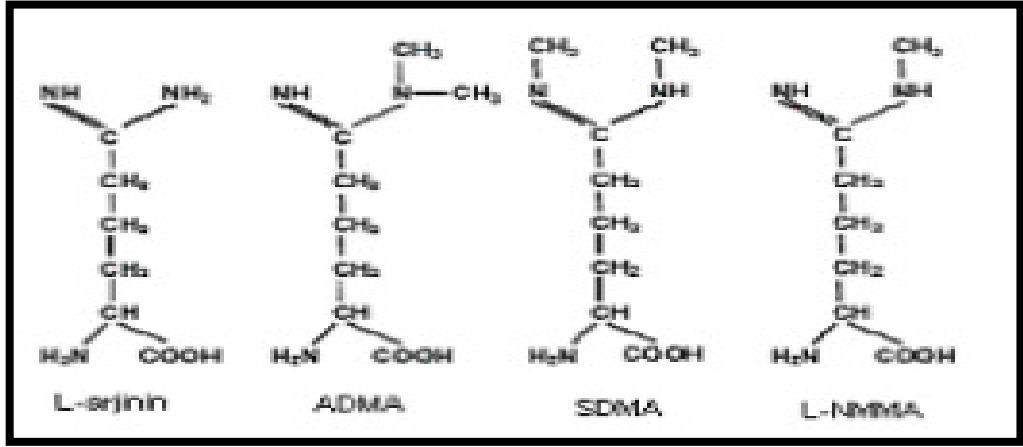
Somon balığı, uskumru, ton balığı ve sardalya gibi yağlı balık türleri, yumurta sarısı, süt, brokoli, soğan, maydanoz, su teresi D vitamini yönünden zengindir ¹³. Ancak şu unutulmamalıdır ki ! Hiçbir gıda maddesi günlük ihtiyacı karşılayacak kadar D vitamini içermez²⁸.

Ancak en önemli kaynak güneş ışınları etkisi ile deride sentez edilen D vitamindir. Anne sütündeki D-vitamini 10-60 IU/L düzeyindedir ²⁹.

2.3. Asimetrik Dimetil Arjinin

ADMA, nükleoproteinlerde bulunan arjinin rezidülerine, protein arjinin metil transferaz (PRMT) enzimi tarafından metil gruplarının sentez sonrası düzenleme ile eklenmesi ve bu proteinlerin yıkılması sonucunda meydana gelen ve önemi giderek artan bir metillenmiş arjinin türevidir. Vücutta daha farklı metillenmiş arjinin bileşikleri de bulunmaktadır. Bu bileşikler 1 ya da 2 metil grubunun arjinine eklenmesi sonucunda meydana gelmektedirler³⁰.

ADMA ve simetrik dimetil arjinin (SDMA) iki metil grubunun eklenmesiyle ve Nmonometil-L-arjinin (L-NMMA) ise bir metil grubunun eklenmesiyle oluşan türevlerdir ³⁰.



Şekil 5 : Vücutta bulunan başlıca metillenmiş arjininler ³¹.

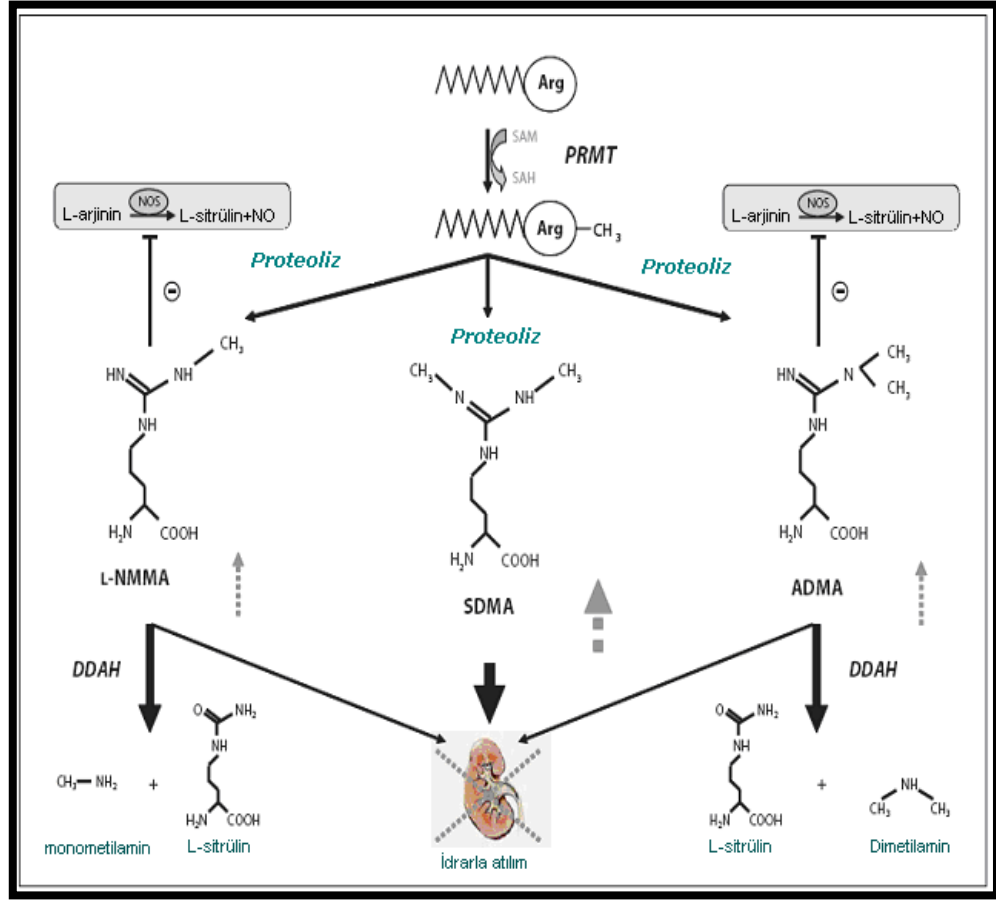
2.3.1. ADMA'nın Metabolizması

Metillenmiş arjinin bileşikleri hücre içerisinde başlıca PRMT enzimi tarafından sentezlenmektedir. PRMT'nin başlıca iki tipi vardır: PRMT1 ve PRMT2. PRMT1 hücrede daha çok çekirdekte bulunurken ³², PRMT2 daha çok sitozolde bulunmaktadır ³³. PRMT1 enzimi başlıca histon ve histon-dışı nükleer proteinleri metillerken, PRMT2 ise sadece miyelin bazik proteini metillemektedir ³⁴. Bu enzimler proteinlerin yapısında bulunan arjininlerin guanidino grubundaki azotlara metil grubu eklemektedirler. Tip1 guanidino grubundaki azotlardan sadece birini metillerken, tip 2 ise 2 azotu da metillemektedir. Böylece PRMT1 ADMA ve L-NMMA'yı sentezlerken, PRMT2 ise SDMA ve L-NMMA'nın sentezlenmesini sağlar ³⁰. ADMA'nın hücre içi miktarları protein metilasyonu, protein yıkım hızı ve ADMA'nın DDAH tarafından yıkılma hızına bağlıdır. Hücre içerisinde oluşan ADMA daha sonra dolaşıma verilmektedir. Protein yıkımının arttığı iskemik kalp hastalığı, diyabet gibi bazı durumlarda hücre içerisinde fazlaca oluşan ADMA dolaşıma verilmekte ve dolaşımdaki düzeyi artmaktadır ^{35,36}. ADMA'nın hücre dışına verilmesindeki başlıca transport sistemi "y+" sistemidir ve L-arjinin de bu

transport sistemini kullanmaktadır³⁷. 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 gösterebilir³⁸.

ADMA'nın %10'luk kısmı böbrekler yoluyla uzaklaştırılırken, geriye kalan % 90 kadarlık kısım ise dimetil arjinin dimetil amino hidrolaz (DDAH) tarafından metabolize edilmektedir. Bir başka metillenmiş arjinin olan SDMA'nın ise tamamı renal yolla atılmaktadır³⁹ (Şekil 6). Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar SDMA'nın da hepatik yolla metabolize edildiğine dair kanıtlar sunmaktadır⁴⁰.

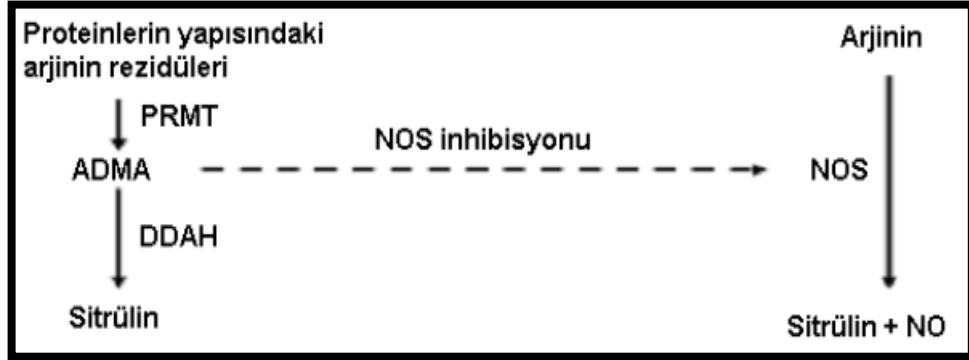
DDAH enzimi sitoplazmik lokalizasyonludur ve 2 tipi bulunmaktadır. Tip 1 DDAH aktivitesi böbrekte ve beyinde fazlayken, Tip 2 DDAH aktivitesi ise kalpte, plasentada ve böbrekte oldukça fazla bulunmaktadır. DDAH enziminin NO ilişkisini göstermesi bakımından önemli bir nokta da, DDAH-1 daha çok nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) eksprese eden hücrelerde bulunurken, DDAH-2 çoğunlukla endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) eksprese eden dokularda bulunmaktadır³⁶. ADMA'nın DDAH tarafından metabolize edilmesi sonucunda sitrülün ve dimetilamin oluşmaktadır⁴¹. ADMA yapısındaki guanidino grubuna enzimin aktif bölgesinde bulunan sistein kalıntısının nükleofilik atağı sonucunda yıkım gerçekleşmektedir⁴².



Şekil 6: Metillenmiş arjinin türevlerinin metabolizmaları ⁴¹.

ADMA ve L-NMMA nitrik oksit sentazı (NOS) inhibe ederken, SDMA'nın böyle bir etkisi bulunmamaktadır. L-NMMA'nın NOS'u inhibe ettiği ADMA'dan daha önce bulunmuştur ³⁹ (Şekil 7).

NO, endotel tarafından salgılanmaktadır. Damarlar üzerinde vazodilatasyon, damar direncinde düşme ve kan akımında artış gibi etkileri bulunmaktadır. Böylelikle, ADMA'nın NOS inhibisyonunun hemodinamik değişikliklere yol açması beklenebilir ⁴³.

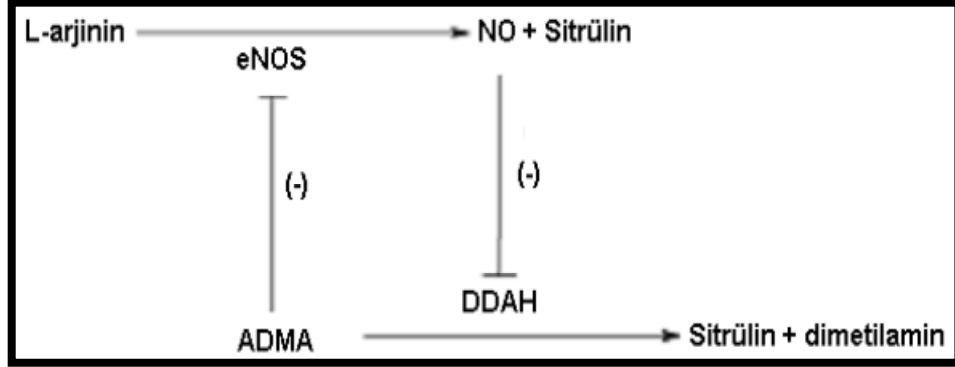


Şekil 7: ADMA'nın NOS inhibisyonu ⁴⁴.

2.3.2. ADMA ve Oksidatif Stres

Vücutta oksidatif stresin arttığı durumlarda ADMA düzeylerinde artış meydana gelir. ADMA düzeylerindeki bu artış DDAH enzim aktivitesindeki azalmaya bağlı olabilir. Aktivitenin azalmasında DDAH'ın aktif bölgesinde bulunan sisteinin yükseltgenmesi önemlidir. Bu yükseltgenme NO tarafından gerçekleştirilmekte ⁴⁵ ve böylece aktivitesi geri dönüşümlü olarak azaltılabilmektedir ⁴⁶. İndüklenebilir NOS (iNOS) aktivitesi inflamasyonda çok artar ve NO çok fazla miktarda üretilir. Üretilen NO süperoksit radikalleriyle birleşip peroksinitrite dönüşür ve NO'nun yarılanma ömrünü azaltır ⁴⁷.

Peroksinitrit oluşumu süperoksit dismutazın (SOD) süperoksit radikallerini yakalamasından daha hızlı gelişmektedir. Peroksinitritte DDAH'ın aktif bölgesine bağlanarak aktivitesini azaltır. Böylece ADMA miktarında artışa ve NO düzeylerinde azalmaya yol açar. Oksidatif stres ADMA yapımında rol alan enzimlerin aktivitelerini değiştirerek, ADMA miktarlarında değişime yol açmaktadır ⁴⁶. PRMT aktivitesi reaktif oksijen türleriyle artırılır ve ADMA düzeyleri artar ⁴⁸.



Şekil 8: NO'nun DDAH'ı inhibe etmesi ⁴⁹.

2.3.3. ADMA'nın Endotel Hasarıyla İlişkisi

Damar düz kasları tarafından salgılanan faktörler daha çok vazokonstrüksiyona sebep olurken, endotel tabakasının salgıladığı faktörler ise daha çok vazodilatasyonda rol alırlar. Endotel tarafından salgılanan NO'in damar yapısını ve fonksiyonlarını koruyucu etkileri bulunmaktadır. Düz kas proliferasyonunu engellemesi, lökosit adhezyonunu ve trombosit agregasyonunu önlemesi bu etkiler arasında sayılabilir. Endotelde meydana gelen bir harabiyet NO düzeylerinde azalma meydana getirmekte, bu da damar fonksiyonlarının bozulmasına yol açmaktadır. NO eksikliğinde damar düz kaslarında proliferasyon izlenmekte, damar duvarının esnekliği azalmakta ve bunların sonucu olarak akışa-bağımlı vazodilatasyon kaybı ortaya çıkmaktadır ⁵⁰.

Klinik ve deneysel çalışmalar endotel disfonksiyonunu, artmış oksijen kökenli serbest radikal üretimiyle ilişkilendirmiştir ⁴⁸. NO'in yarılanma ömrü oksidatif stres altında azalmaktadır. NO süperoksit anyonlarıyla birleşmekte, peroksinitrit meydana gelmekte ve meydana gelen bu ürün lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. ADMA, NOS aktivitesini inhibe ettiğinden dolayı NO düzeylerinde bir azalmaya yol

açmakta, bunun sonucu olarak endotel fonksiyon bozuklukları gelişmektedir^{51,52}.

2.3.4. ADMA'nın Çeşitli Hastalıklarla İlişkisi

2.3.4.1. ADMA'nın Renal Hastalıklardaki Yeri

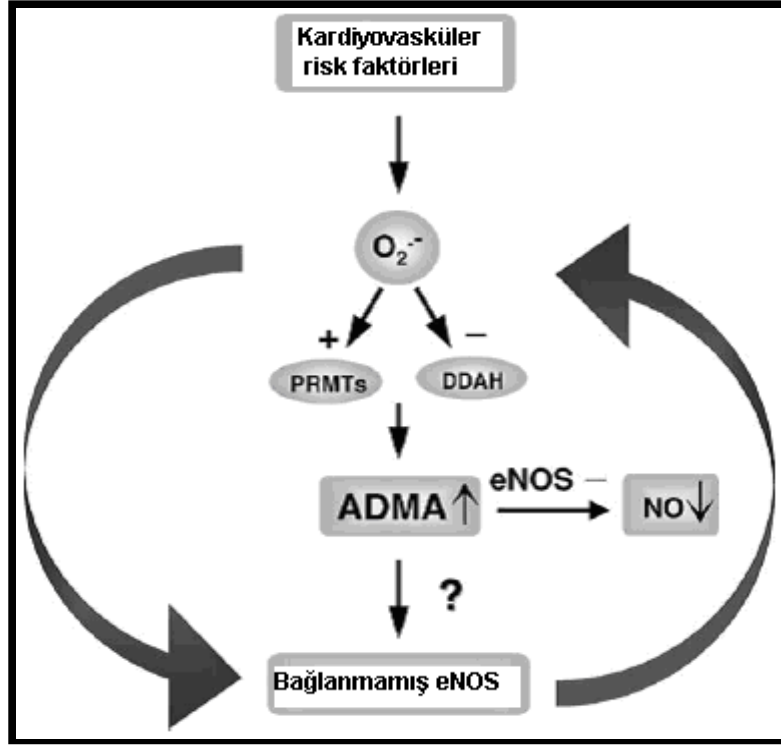
ADMA aşağıdaki özelliklerinden dolayı üremik toksin özelliği taşımaktadır:

- a) Böbrek yetmezliklerinde artmaktadır,
- b) Yapısında guanidino grubu bulundurmaktadır,
- c) Protein metabolizmasının ürünüdür,
- d) Etkisini NOS'lar üzerinden göstermektedir,
- e) Renal yetmezlikli hastalarda kardiyovasküler sistem, kemik ve immün sistem metabolizmasını bozmaktadır^{30,53}.

ADMA renal yetmezlikte artmaktadır⁵⁴. Hemodiyaliz hastalarında yükselmektedir ve hemodiyalizden sonra miktarı azalmaktadır. Kronik renal yetmezlikli olup hemodiyaliz alan hastalarda ADMA kardiyovasküler hastalık mortalite riskini belirleyici olabilir⁵⁵.

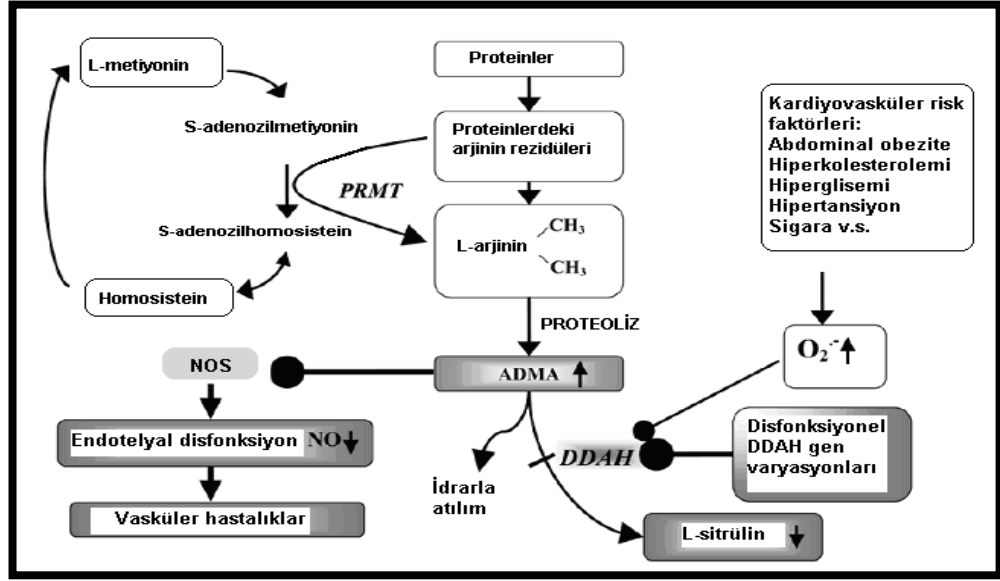
2.3.4.2. ADMA-Kardiyovasküler Sistem İlişkisi

Endotel kökenli NO antiaterosklerotiktir. NO prostasiklinle birlikte trombosit agregasyonunu⁵⁶, immün sistem hücrelerinin adhezyonunu inhibe eder⁵⁰ ve düz kas çoğalmasını önler. Dolayısıyla NO eksikliği ateroskleroz gelişimini hızlandırır⁵⁷.



Şekil 9 : Oksijen radikalleri-ADMA-NO ilişkisi ⁴⁸.

Vazospastik anjinalı hastaların koroner damarlarında ADMA düzeyleri yüksek, NO düzeyleri ise düşük bulunmuştur ⁵⁸. ADMA düzeylerini düşürmek ve NO düzeylerini arttırmak amacıyla verilen L- arjininin de hastalarda egzersiz kapasitesini arttırdığı, ADMA'yı düşürdüğü, NO düzeylerini ve kan akımını arttırdığı gösterilmiştir ⁵⁹. Kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde rol oynayan risk faktörleri bulunan kişilerde ADMA düzeyleri yüksek bulunmuştur. Hiperkolesterolemide, hiperhomosisteinemide, hipertansiyonda, hipertrigliseridemide ADMA düzeyleri yüksektir ^{39,60,61,62} (Şekil 9,10).



Şekil 10 :ADMA-Kardiyovasküler risk faktörleri ilişkisi ⁶³.

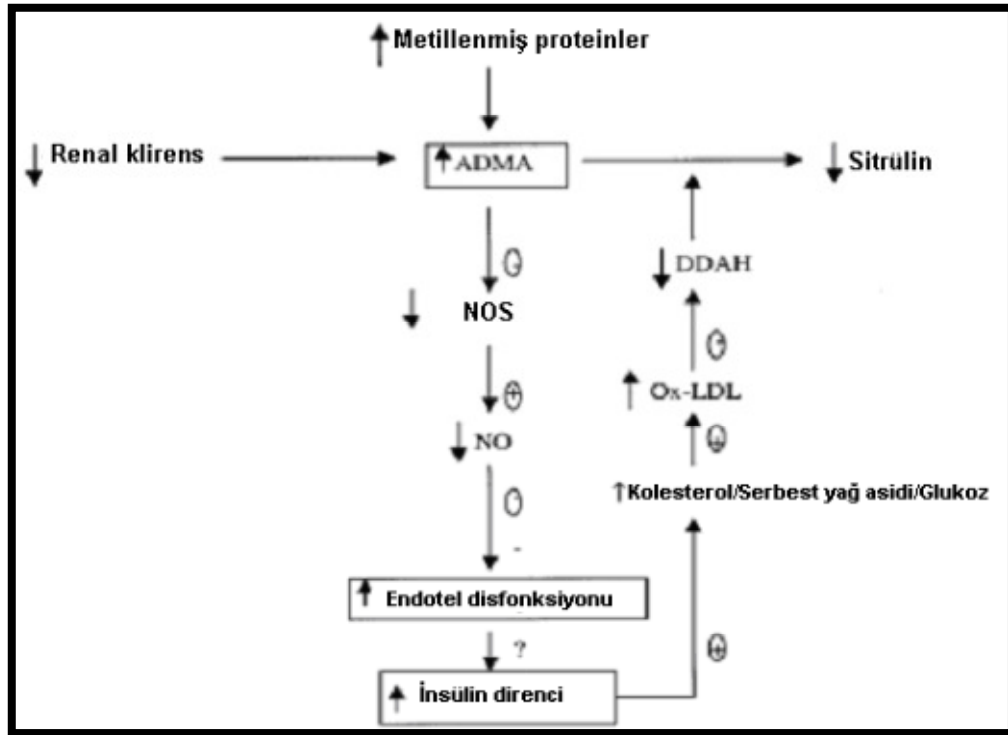
ADMA ventriküler kontraksiyonu kalp hızını azaltmaktadır ve düzeyleri kalp yetmezliğinde artmaktadır ^{64,65}. ADMA sadece kardiyovasküler risk faktörleri ve hastalıklarda değil serebrovasküler olayların patofizyolojisinde de rol almaktadır ⁶⁶.

2.3.4.3. ADMA-Pulmoner Hipertansiyon İlişkisi

Pulmoner hipertansiyonda ADMA düzeyleri yüksektir. Bunun nedeni hipoksiye bağlı olarak meydana gelen oksijen radikallerinin DDAH enzim aktivitesini azaltmasıdır ^{67, 68,69}.

2.3.4.4. Tip 2 Diyabette ADMA'nın Yeri

İnsülin rezistans sendromunda ⁷⁰ ve Tip 2 Diyabette ADMA düzeyleri artmaktadır⁷¹ (Şekil 11). Diyabet tedavisinde kullanılan metformin ADMA düzeylerini düşürmektedir. Metformin diyabette insülin rezistansı gelişmesine yol açan faktörleri azaltarak ve endotel hasarında azalmaya yol açarak ADMA düzeylerinde azalmaya yol açar ⁷².



Şekil 11:Diyabette ADMA artışına neden olan mekanizmalar ⁷³.

2.3.4.5. ADMA-Karaciğer Hastalıkları

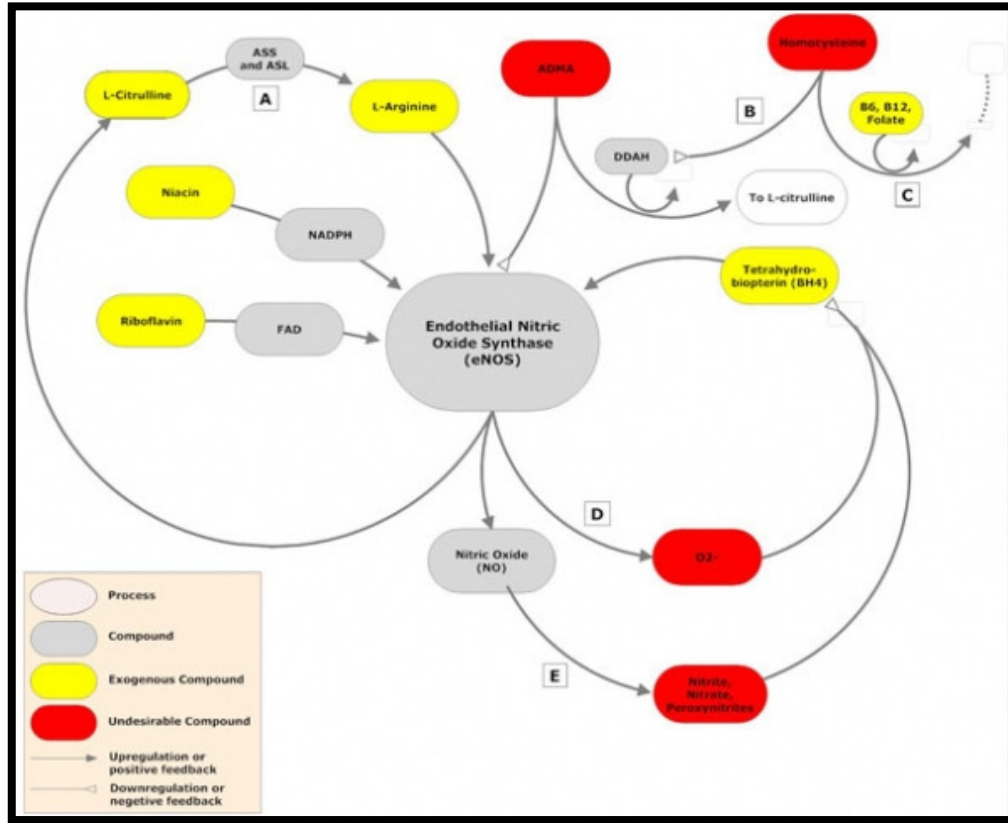
ADMA KC tarafından yüksek miktarda dolaşımdan alınarak metabolize edilmektedir. SDMA'da KC tarafından düşük miktarlarda da olsa alınmaktadır. Bütün bunlar dimetilarjininlerin KC metabolizmasında ne kadar önemli olduğunu göstermektedir ⁴⁰. ADMA akut ve kronik KC hastalıklarında yüksek bulunmuştur. ADMA; KC transplantasyonu yapılan hastalarda transplantasyonun başarısının izlenmesi açısından değerli bir belirteç olabilir ⁷⁴. Alkolik sirozda ADMA düzeyleri yüksektir ⁷⁵.

2.3.5. ADMA VE HOMOSİSTEİN İLİŞKİSİ

ADMA ve homosistein ilişkisi, aralarında çeşitli etkileşimler olduğundan dolayı ilginçtir. Homosistein, DDAH enziminin aktif bölgesindeki sistein etkileşimi yoluyla inhibe edebilir. Homosistein metilasyonunda ADMA önemli rol oynar. Arjinin metilasyonundaki metil vericisi S-Adenozilmetiyonin, ADMA, metil arjininler ve S-adenozil homosisteindir. S-adenozil homosistein daha sonra homosisteine çevrilir. Metiyonin döngüsünün yüksek olması homosistein seviyelerini artırarak endotelial disfonksiyona neden olur ⁷⁶. Homosistein gibi sülfhidril bloke edici ajanlar DDAH enzimini inhibe ederler. Dithiothreitol gibi dithiol redüktanlarının bu inhibisyonu engelleyebildiği veya tersine çevirebildiği gösterilmiştir ⁷⁷.

Hiperhomosisteinemide ADMA artışının diğer bir mekanizması ADMA'nın DDAH tarafından azaltılmış katabolizmasıdır ⁷⁸. Bu mekanizmayı destekleyen Cooke ve arkadaşları yaptığı çalışmada, homosisteinin endotelial hücre kültüründe DDAH aktivitesini inhibe ederek ADMA düzeylerinin yükselmesine neden olduğunu gözlemlemişlerdir ⁷⁹.

Metioninle zenginleştirilmiş hiperhomosisteinli diyet ve folik asitten yoksun bırakılmış maymunlarda yapılan bir çalışmada ADMA seviyelerinin yüksek bulunduğu gözlenmiştir. Akut metionin yüklenmesi olan kişilerde ADMA seviyesi hızlı şekilde arttırıldığı gösterilmiştir. Hiperhomosisteinematik diyetle, plazma ADMA ve homosistein seviyeleri yaklaşık 3 kat artırılabilmektedir⁸⁰.



Şekil 12: ADMA ve Homosistein İlişkisi

2.3.6. SERUM ADMA DÜZEYİNİ AZALTAN ETKENLER

Son zamanlarda bazı aminoasit, hormon ve vitamin destekleri ile ADMA düzeyini azaltarak çeşitli fonksiyonların değerlendirilmesine gidilmiştir. ADMA düzeyini azaltmak amacı ile yapılan destekleyici tedavilerde L-arjinin, ACE inhibitörleri, östrojen, metformin, tiazolidinedionlar, D vitamini, folik asit, all-transretinoik asit, fenofibrat ve statin uygulamaları yapıldığı literatürde gözlemlenmektedir⁸¹.

L-Arjinin: L- Arjinin desteğinin ADMA seviyesi ne olursa olsun endotel fonksiyonu, miyokard perfüzyonu, anjina, erektil disfonksiyon ve egzersiz toleransında düzelmeye neden olabileceği belirtilmiştir. Kardiyovasküler disfonksiyonun tedavisinde arjinin destek tedavisi faydalı bulunmuştur⁸¹.

ACE inhibitörleri: ACE inhibitörleriyle tedavi edilen aterosklerozlu ve tip 1 diabetli hastalarda ADMA seviyeleri azaldığı gösterilmiştir⁸¹.

Metformin ve tiazolidinedionlar: Özgürtaş ve arkadaşlarının ülkemizde polikistik over sendromu olan hastalarda yaptıkları çalışmada 3 ay süreyle metformin ve oral kontraseptiflerle ADMA seviyesinde azalma tespit etmişlerdir⁸².

Östrojenler: Deneysel çalışmalarda DDAH ekspresyonunu artırarak ADMA düzeyini düşürdükleri gözlenmiştir⁸³.

Folik Asit: Hiperhomosisteinematik bireylerde hem ADMA, hem de arjinin seviyesini azalttığı gösterilmiştir⁸³.

All-transretinoik asit: Endotelyal hücrelerde DDAH 2 ekspresyonunu düzenlediğine dair kanıtlar vardır ⁸⁴.

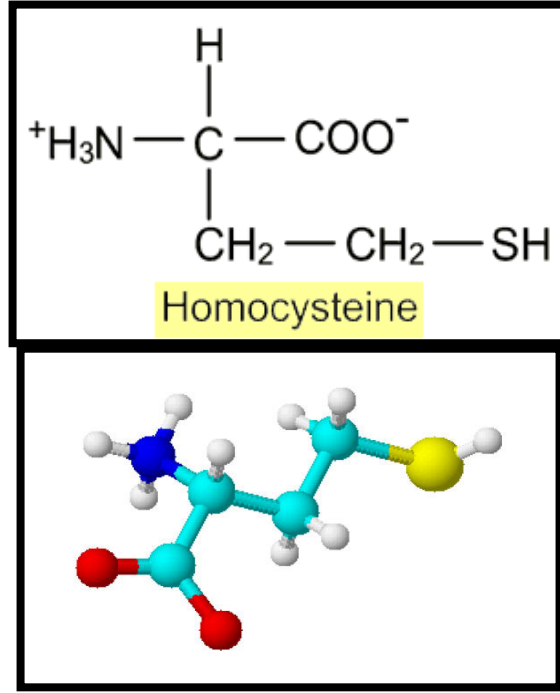
Fenofibratlar: Yung ve arkadaşlarının hipertrigliseridemik hastalar üzerinde yaptığı çalışmada fenofibrat tedavisinin ADMA ve MDA düzeylerini azalttığı görülmüştür ⁸⁵.

Statinler: Tanaka ve arkadaşları atorvastatin kullanımının ADMA düzeylerinde belirgin ölçüde düşüşe neden olduğunu, hipertansiyon ve ateroskleroza bağlı inmelerin önlenmesinde güvenle kullanılabileceğini savunmuşlardır ⁸⁶.

Vitamin D: DDAH enzim düzeyini artırarak ADMA düzeyini azaltabileceği belirtilmektedir ⁹⁵.

2.4. HOMOSİSTEİN

Homosistein, metionin metabolizması esnasında oluşan, yapısında sülfür bulunduran bir aminoasittir ⁸⁹. Yüksek homosistein konsantrasyonları altta yatan sebepten bağımsız olarak vasküler yapıya ve fonksiyonuna birçok mekanizma ile zarar vermektedir. Bu mekanizmaların bazıları endotelyal disfonksiyon, trombosit aktivasyonu ve trombüs formasyonu, sitotoksik reaktif oksijen radikalleri oluşumu, lipid peroksidasyonu ve LDL-kolesterolün oksidasyonu ile vasküler düz kasproliferasyonudur ⁹⁰. Çalışmalar plazma homosistein seviyesindeki % 51 civarındaki bir artışın dahi koroner, periferik ve serebral arterlerin hastalığında artışa neden olduğunu göstermiştir ⁹¹.

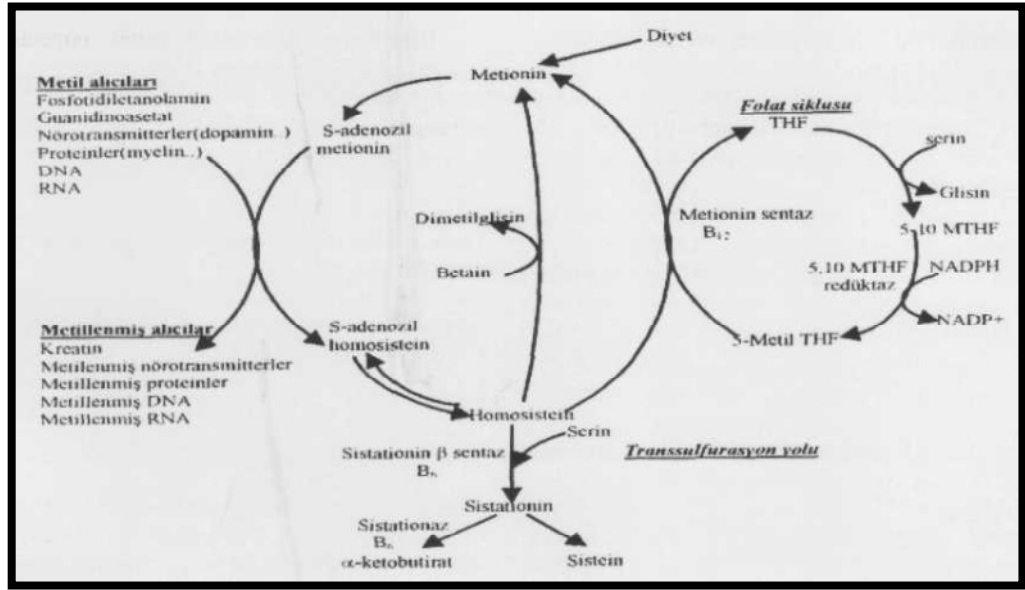


Şekil 13: Homosistein Molekül Yapısı

2.4.1.HOMOSİSTEİN METABOLİZMASI

Homosistein (Hcy); metionin metabolizması esnasında oluşan, yapısında sülfür bulunduran bir aminoasittir. İki şekilde metabolize olur: Remetilasyon ve transsülfürasyon. Remetilasyon döngüsünde homosistein, metionin sentetazın katalizlediği reaksiyonda metil grubu olarak kurtarılır⁸⁹. B12 vitamini (kobalamin) metionin sentetaz için esansiyel bir kofaktördür. N5-metil-tetrahidrofolat bu reaksiyonda metil donörü olarak görev yapar. N5, N10- metiltetrahidrofolat redüktaz (N5, N10 MTHF redüktaz) ise remetilasyon sürecinde katalizördür. Ortamda fazla metionin bulunduğu veya sistein sentezi gerektiğinde homosistein, B6 vitaminine bağlı sistationin beta sentetazın katalizlediği

reaksiyonda sistationin oluşturmak üzere serin ile birleşir. Sistationin daha sonra sisteine hidrolize olur. Sistein ya glutationa bağlanır ya da sülfata metabolize olarak idrarla atılır⁹³. Homosistein metabolizması Şekil 14' te ana hatları ile görülmektedir.



Şekil 14: Homosistein metabolizması.

2.4.2. HOMOSİSTEİN MOLEKÜLÜ

Homosistein ile yapılmış birçok çalışmada, homosisteine bağlı mikst disüflitler, homosistein tiolakton, serbest homosistein ve proteine bağlı homosistein olmak üzere total homosistein havuzunun % 70 ile % 80' ini oluşturur^{89, 90, 94}. Normal toplam homosistein konsantrasyonu açlıkta 5 ile 15 $\mu\text{mol/L}$ arasında değişir^{89, 90, 94}. Kang ve arkadaşları homosisteinemiği 15 ile 30 $\mu\text{mol/L}$ arasında hafif, 30 ile 100 $\mu\text{mol/L}$ arasında orta, 100 $\mu\text{mol/L}$ ' nin üzerinde de ağır olarak sınıflamıştır⁹².

3.GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda Üniversite Yerel Hayvan Etik Kurulu (G.Ü.E.T-10.081 kod numaralı) onayı alınarak yapıldı.

3.1.Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanları

Bu çalışmada *Wistar albino* cinsi toplam 24 adet dişi rat kullanıldı.

Deneyde kullanılan ratlar, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM)'nden temin edildi. Ağırlık ortalamaları 200-250 gram arasında değişmektedir. Ratlar standart ışık (12 saat gün ışığı /12 saat karanlık), ısı (25°C)'da yeteri kadar (ad-libitum) su ve yem ile toplam 4 hafta süreyle beslendiler.

3.2.Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Santrifüj

Vorteks

Benmari

Etüv

Derin Dondurucu

Otomatik Pipetler

Eppendorf

Vida kapaklı cam tüpler

Cam malzemeler
Adma analiz kiti
Homosistein analiz kiti
Vitamin d analiz kiti
Adma kolonu
Homosistein kolonu
Vitamin d kolonu
Ayçiçeđi yađı
Anestezik maddeler(alfazin,alfamin)
HPLC Cihazı (Shimadzu)
D Vitamini

FORMÜL :

Her 1 ml' lik ampulde:

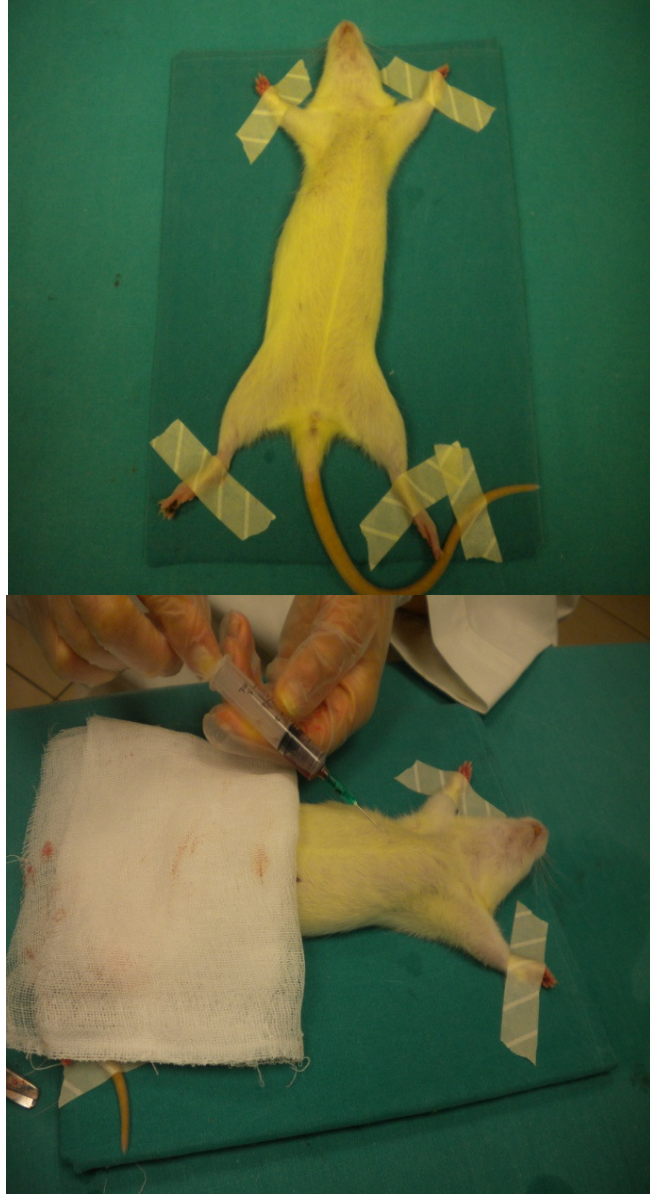
7.5 mg (300.000 U.I.) D₃ vitamini, Diđerleri: Butilhidroksitoluen

0.26 mg, Nötralize

ayçiçek yađı q.s. 1 ml ihtiva eder.

3.3.Kullanılan Yöntemler

Çalışmamızda, deney hayvanları uygun şekilde hazırlandı. Anestezi 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Alfamin) ve 8 mg/kg ksilazin (Alfazin) karışımı ile intraperitoneal uygulandı. Anestezi altında enjektörle kanları alınarak ötenazi uygulanmıştır. Alınan numuneler 3500 x RPM devirde 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Çalışmaya yapılıncaya kadar – 80⁰ C' de muhafaza edilmiştir.



Şekil 15 : Ratlardan intrakardiyak kan alınımı

3.4.Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Bu çalışmada toplam 24 adet dişi rat kullanıldı. Ratlar Kontrol Grubu (n=6), Radyasyon grubu (n=6), Radyasyon + Vitamin D Grubu (n=6), Vitamin D Grubu (n=6), olmak üzere toplam 24 rat, özel olarak hazırlanmış kafeslerde gruplar halinde tutuldular.

3.4.1 Kontrol Grubu (Grup 1) (n=6)

Bu gruptaki ratlara hiçbir uygulama yapılmamıştır. Doku ve serumları uygun koşullarda alınıp çalışma yapılincaya kadar – 80⁰ C' de muhafaza edilmiştir.

3.4.2. Radyasyon Grubu (Grup 2) (n=6)

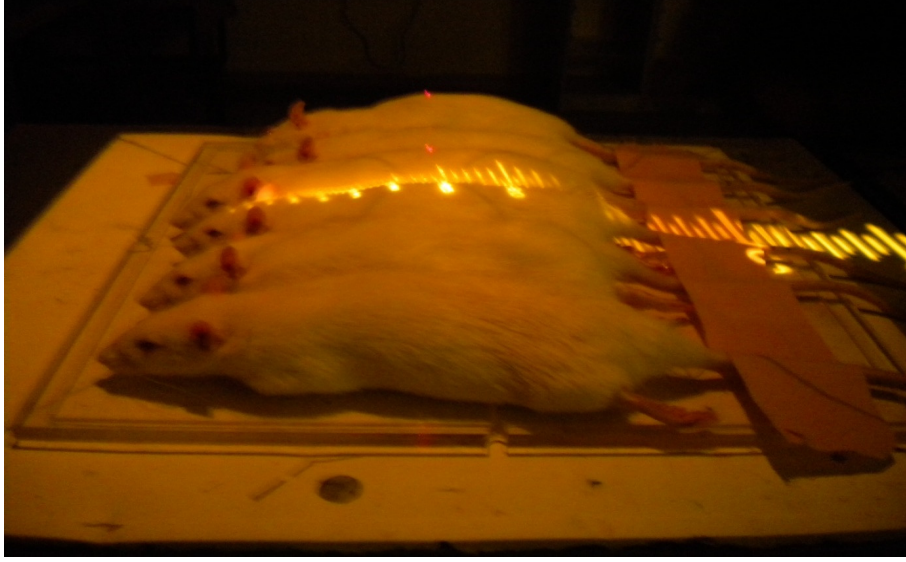
Bu grupta bulunan 6 adet rata G.Ü.Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Birimi'nde kobalt ışınlaması (612 cGy) yapılmıştır.Uygulamadan 24 saat sonra doku ve serumları uygun koşullarda alınıp çalışma yapılincaya kadar – 80⁰ C' de muhafaza edilmiştir.

Tablo 1: GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ RADYASYON ONKOLOJİSİ A.B.D. TEDAVİ KARTI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ RADYASYON ONKOLOJİSİ A.B.D. TEDAVİ KARTI		
		
	ALAN 1	ALAN 2
YERİ	ÖN	ARKA
BOYUTU(SSD)
BOYUTU(SAD)	35	35
IŞIN/CİHAZ	CO-60	Co-60
TEDAVİ TEKNİĞİ	SAD	SAD
FRAKSİYON DOZU	612 cGy	612 cGy
DERİNLİK/REFERANS	1.5 cm	1.5 cm
KARE EŞDEĞERİ	35	35
DERİN DOZ YÜZDESİ
TAR	1.068	1.068
BSF	1.074	1.074
TEPSİ FAKTÖRÜ	Yok	Özel + 0.934
OUT PUT	89.9	89.9
CİLT DOZU
WEDGE AÇISI
WEDGE FAKTÖRÜ
ZAMAN	3.38	3.61
FRAKSİYON SAYISI
TOPLAM DOZ
KRİTİK ORGAN DOZU

3.4.3. Radyasyon ve Vitamin D Grubu (Grup 3) (n=6)

Bu gruptaki ratlara 1 hafta boyunca gündüz 11:30 ' da oral yolla gavaj yöntemiyle D vitamini verilmiştir.1 hafta sonunda bu uygulama bitirilmiş olup sekizinci günde kobalt ışınlaması (612 cGy) yapılmıştır. Uygulamadan 24 saat sonra doku ve serumları uygun koşullarda alınıp çalışma yapılıncaya kadar – 80⁰ C' de muhafaza edilmiştir.



Şekil 16 : Ratlara radyasyon uygulaması



Şekil 17: Ratlara radyasyon uygulanan Kobalt-60 cihazı

3.4.4. Vitamin D Grubu (Grup 4) (n=6)

Bu gruptaki ratlara 1 hafta boyunca gündüz 11:30 ' da oral yolla gavaj yöntemiyle D vitamini verilmiştir. Uygulamadan 24 saat sonra doku ve serumları uygun koşullarda alınıp çalışma yapıncaya kadar – 80⁰ C' de muhafaza edilmiştir.



Şekil 18 : Ratlara gavaj uygulaması

3.5. Deneyin yapılışı

3.5.1.Homosistein Tayini ($\mu\text{mol/ml}$)

Immuchrom homosistein kitiyle çalışıldı. Floresan dedektör kullanıldı.

PRENSİP

Homosistein tayini için numune, tek basamakta redükte ve derivatize edilmektedir. Albumine bağlı ve okside Hcy indirgenmekte ve floresan bir proba çevrilmektedir. Presipitasyon sırasında yüksek molekül ağırlıklı maddeler uzaklaştırılmaktadır^{87,88}. Konsantrasyonlar cihaz tarafından “internal standart” metoduna göre hesaplanmaktadır.

Reaktifler ve Mobil Faz:

Reaktifler kit ile beraber sağlanmaktadır. Plazma kalibratör, Internal Standart, Reduction Solution, Derivat ve PREC reaktifi, kitin çalışma yönergesine göre Recon solüsyonu içinde çözülerek hazırlandı. Hcy tayini için kullanılan tek Mobil Faz da kitin beraberinde bulunmaktadır.

HPLC Sistem Parametreleri:

Tablo 2: Homosistein için HPLC çalışma koşulları

Enjeksiyon hacmi	50 µl
Akış Hızı	1,0mL/dk
Kolon Sıcaklığı	30 °C
Çalışma Süresi	5 dk
Dalga Boyu	Ex=385nm ; Em=515nm

HPLC cihazı: SHIMADZU DG-G 20 A3

Homosistein düzeyi ölçümü öncesi örnek hazırlama prosedürü:

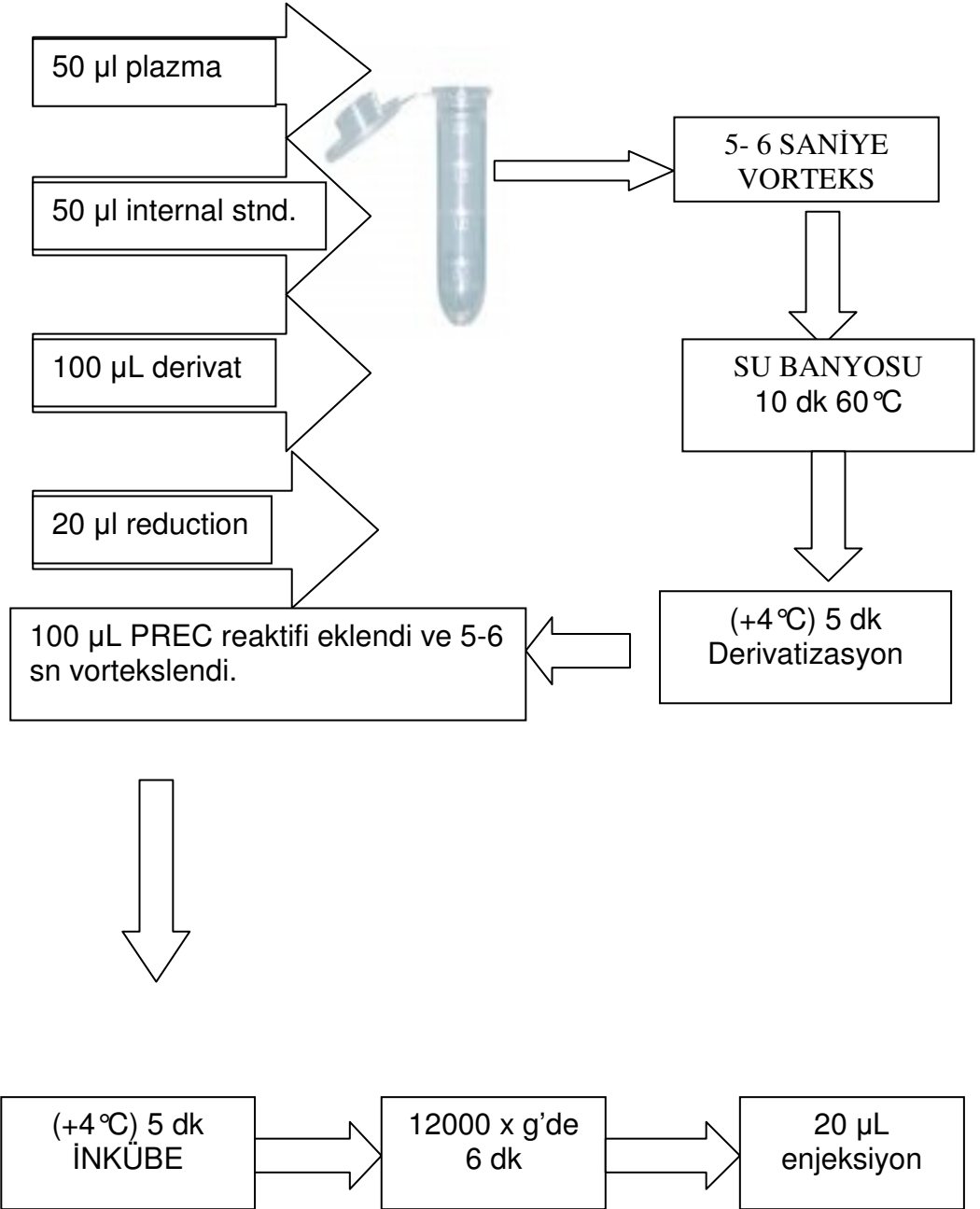
1- Eppendorf tüpü içerisine 50 µl plazma koyularak üzerine 50 µl internal standart 100 µL derivat ve 20 µl reduction reagent eklenir ve vortekslenir (5-6 sn) .

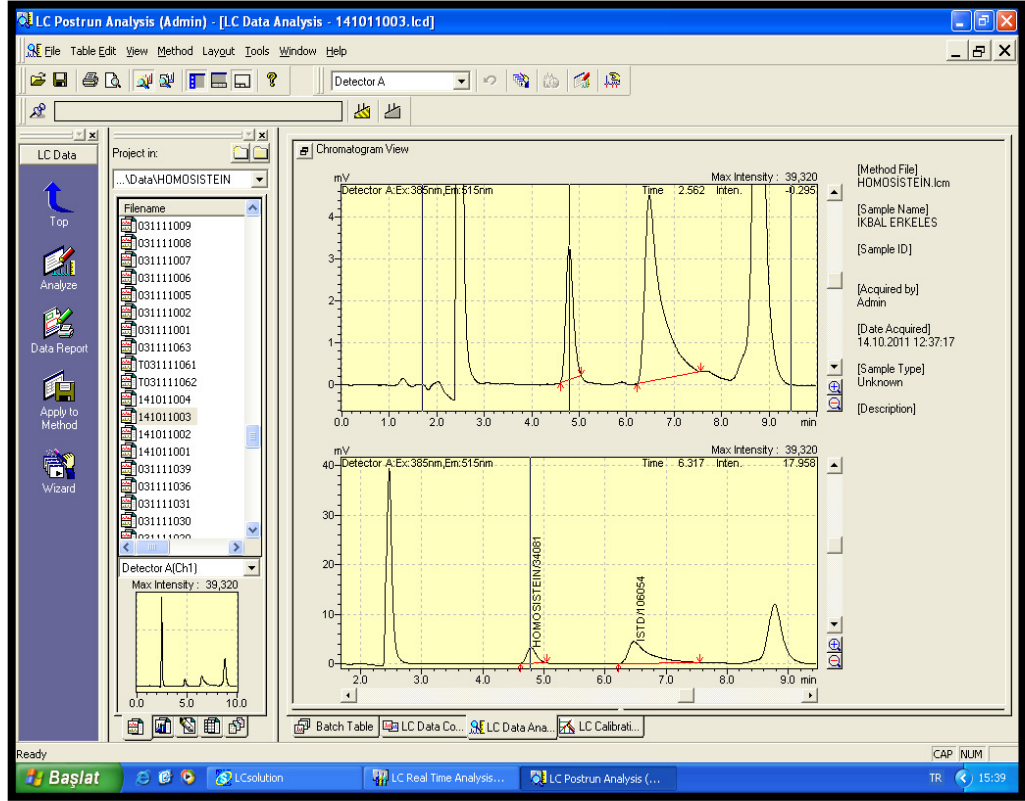
2-10 dk 60°C'lik su banyosunda inkübe edildi ve inkübasyon sonunda hemen buzdolabına (+4°C) konularak 5 dk soğutuldu (Derivatizasyon basamağı).

3-Dolaptan çıkarılan karışımın üzerine 100 µL PREC reaktifi eklendi ve 5-6 sn vortekslendi.

4-4°C'de 5 dk daha inkübe edildikten hemen sonra 12000 x g'de 6 dk santrifüjlendi.

5-Oluşan supernatanttan cihaza 20 µL enjeksiyon yapıldı.





Şekil 19 : Homosistein kromatografisi

3.5.2.D VİTAMİNİ TAYİNİ (µg/ml)

Numune toplama: Kan numuneleri biyokimya tüpleri ile toplanır. Toplanan kanlar en geç yarım saat içinde santrifüj edilir. 5800 rpm devirde 5 dakika santrifüj işleminden sonra serumları ayrılır.

Toplanan kan numunelerinden elde edilen serumlar -20° C'de 30 gün karanlıkta saklanabilir.

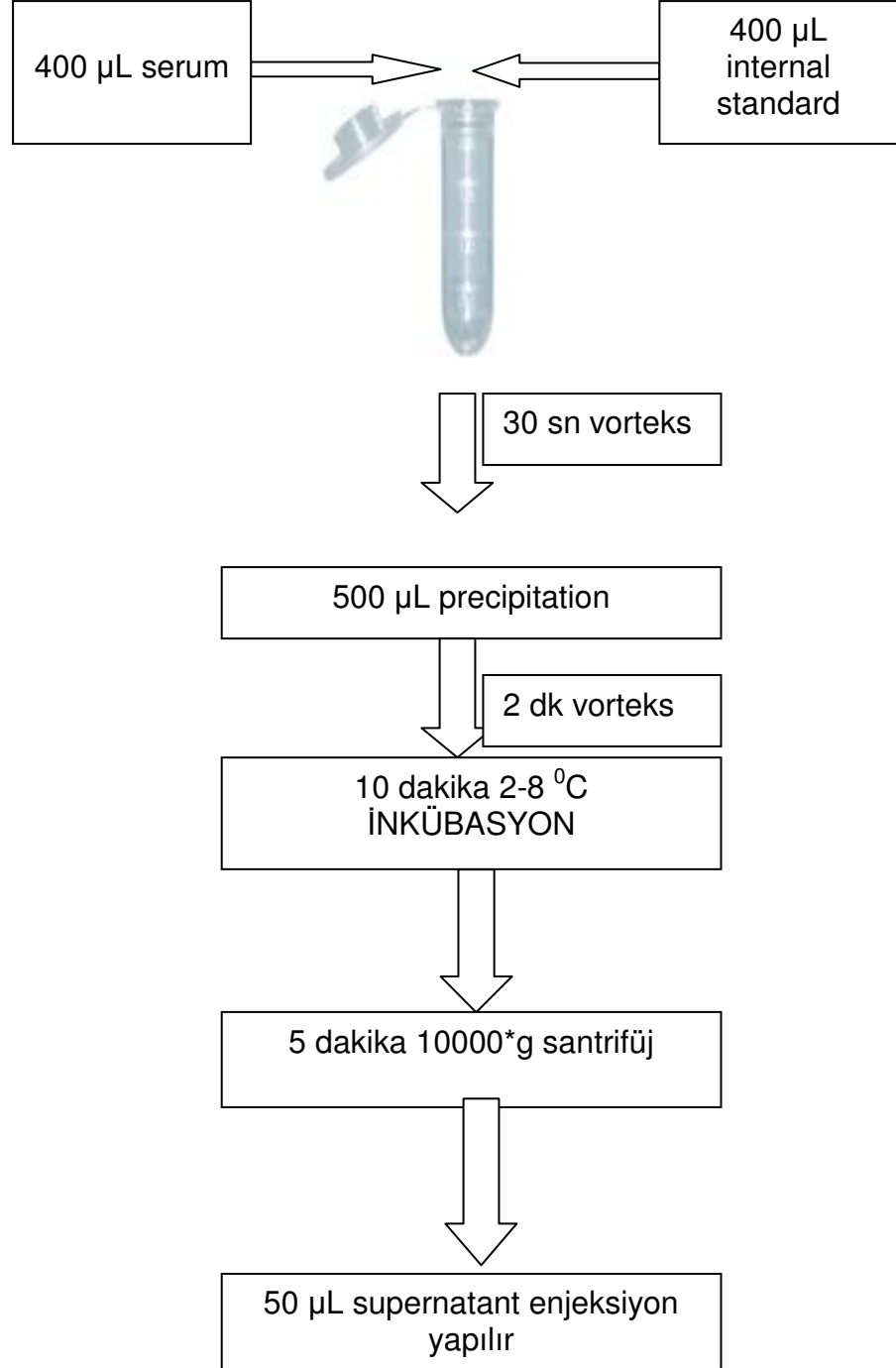
Reaktiflerin hazırlanması: Kalibratör likid haldedir. Numune gibi hazırlanır.

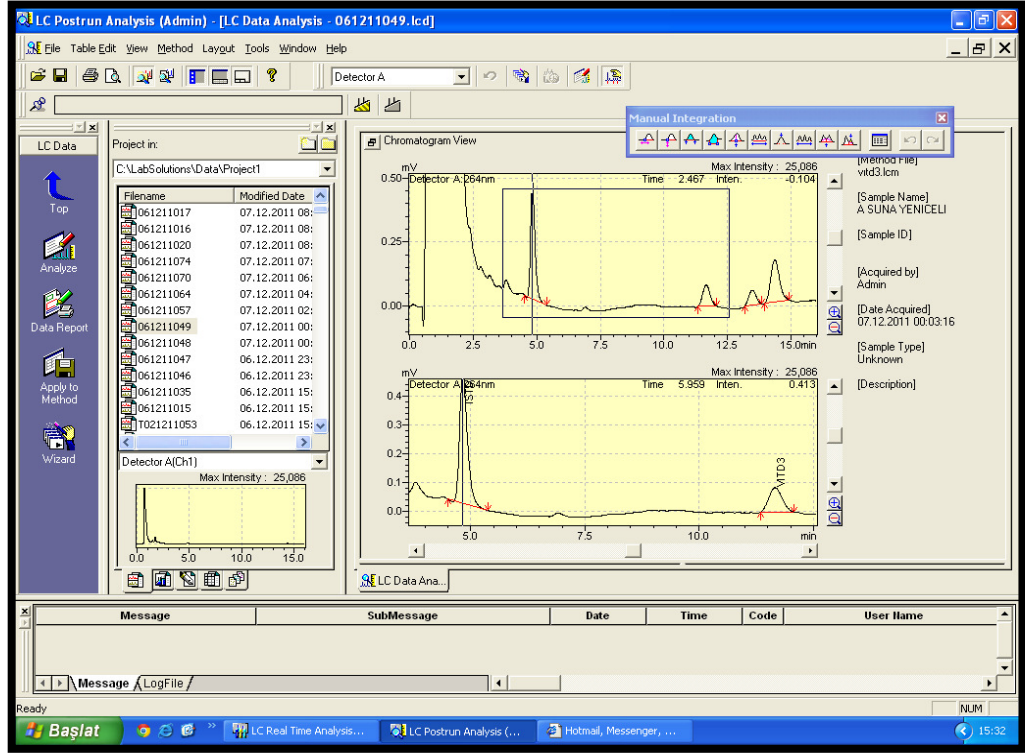
Tablo 3: Vitamin D için HPLC çalışma koşulları

Enjeksiyon hacmi	50 µl
Akış Hızı	1,0mL/dk
Kolon Sıcaklığı	30 °C
Çalışma Süresi	15 dk
Dalga Boyu	264 nm

Vitamin D çalışmasında UV dedektör kullanılmıştır.

Numune hazırlama:





Şekil 20 : Vitamin D kromatografisi

3.5.3.ADMA TAYİNİ

ADMA çalışmasında floresan dedektör kullanılmıştır.

Numune hazırlama:

Kalibratör 5 ml iyonize su ile çözülür.

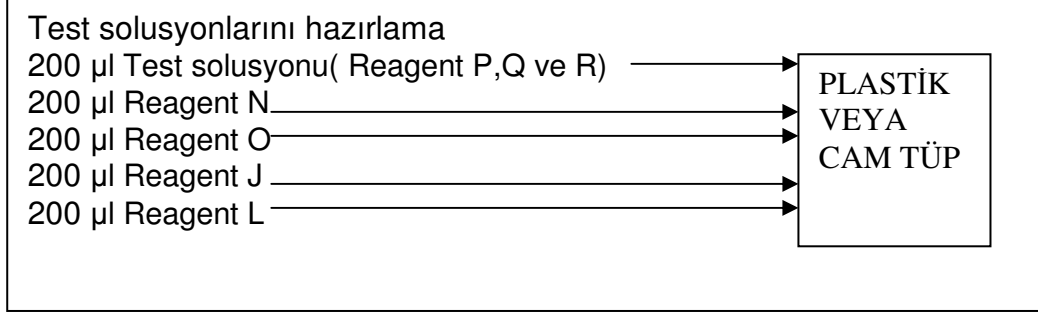
Reagent L 5 ml ASETONİTRİL ile çözülür.

Numuneleri hazırlama:

Örnek sayısı kadar tüp hazırlanır. İçerisine 1 ml Reagent D eklenir. 400 µl örnek numunedan eklenir.5- 6 saniye vorteks yapılır.

Tablo 4: ADMA KİT İÇERİĞİ

REAGENT A	Conditioning solution N-1	1*100 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT B	Conditioning solution N-2	1*100 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT C	Conditioning solution N-3	1*100 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT D	Dilution Solution	1*100 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT E	Wash Solution	1*100 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT F	Wash Solution	1*100 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT I	Eluting Solution	1*100 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT J	Starter Solution	1*5 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT L	Derizatization Solution	1*4.6 mg	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT N	Buffer Solution	1*20 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT O	Buffer Solution	1*15 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT M	Mobil Phase	8*500 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT P	Test Solution	1*5 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT Q	Test Solution	1*5 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT R	Test Solution	1*5 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.
REAGENT S	Plasma Calibratör lyophil	1*5 ml	Stability:3 years at 2-8 °C.



PRENSİP:

Basamak 1: Ön kolonlar cam tüplere yerleştirilir. 1 ml Reagent A kolona aktarılır. Basınç uygulanarak süzdürülür.

Basamak 2: 1 ml Reagent B kolona aktarılır.Basınç uygulanarak süzdürülür.

Basamak 3: 1 ml Reagent C kolona aktarılır.Basınç uygulanarak süzdürülür.

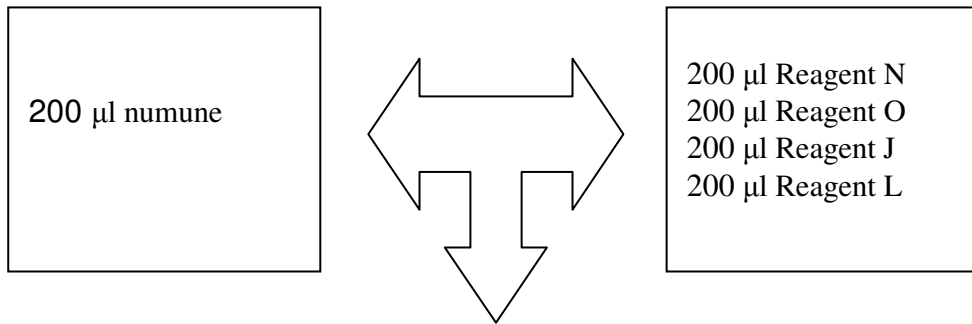
Basamak 4: Hazırlanan numuneler kolonlara aktarılır ve süzülür.

Basamak 5: 1 ml Reagent E kolona eklenerek tekrar süzdürür.

Basamak 6: Süzdürme işlemi tamamen bittikten sonra ön kolonlar temiz tüplere aktarılır.1 ml Reagent I eklenerek süzdürülür ve kolonlar atılarak tüpte kalan numune hafif vorteks yapılır.

Basamak 7: Bu numuneden 200 µl alınır.

Basamak 8:



Basamak 9: 30 dakika oda ısısında bekletilir.	Basamak 10: 150 µl distile su eklenir.	Basamak 11: Cihaza enjeksiyon yapılır.
--	---	---

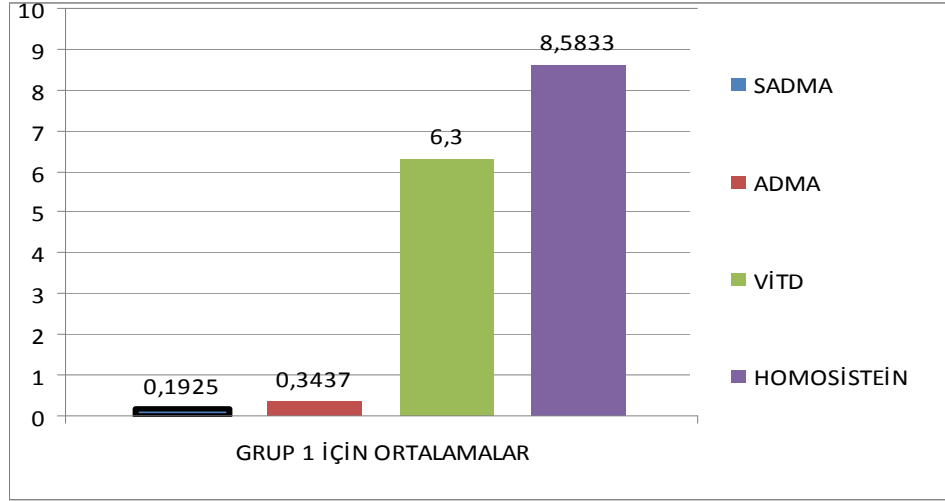
3.6. VERİLERİN ANALİZİ

Verilerin analizi SPSS (Statistical Package for Social Science) 15.0 programı kullanılarak yapıldı. Hasta grupları kendi aralarında ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edildi. Gruplar arasında laboratuvar ölçümleri yönünden farkın önemliliği Mann Whitney U testi ve t testi ile kullanılarak araştırıldı. Sonuçlar istatistik olarak $p < 0,05$ zayıf anlamlı, $p < 0,001$ kuvvetli anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

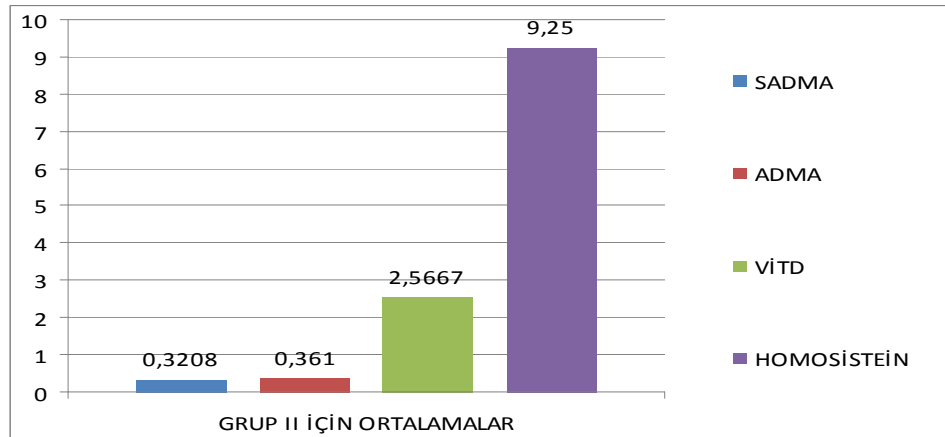
Kontrol Grubu, Radyasyon Grubu, Radyasyon + Vitamin D Grubu ve Vitamin D Grubu'nun SDMA, ADMA, Vitamin D ve Hcy düzeyleri aşağıdaki grafik ve tablolarda görülmektedir .

4.1. Grup 1 için SDMA, ADMA, Vitamin D ve Hcy Düzeyleri



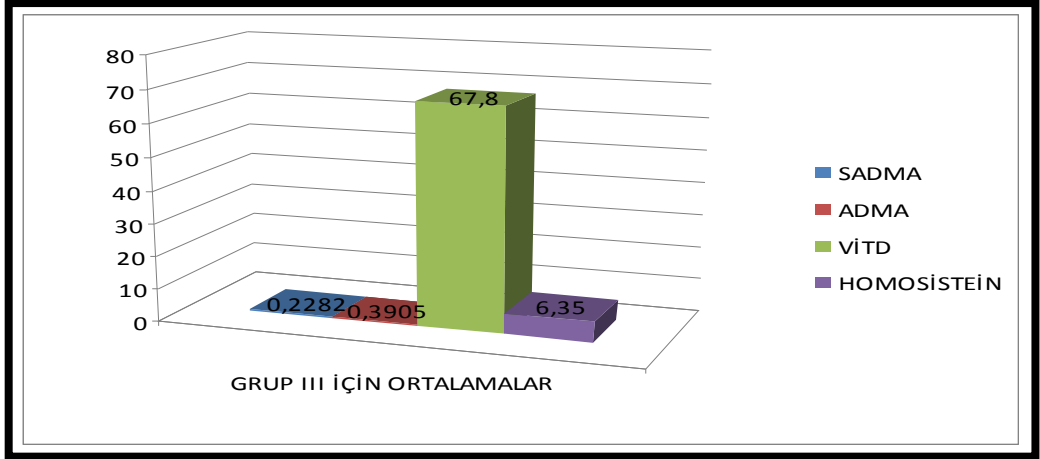
Grafik 1: Kontrol Grubu Ortalamaları

4.2. Grup 2 için SDMA, ADMA, Vitamin D ve Hcy Düzeyleri



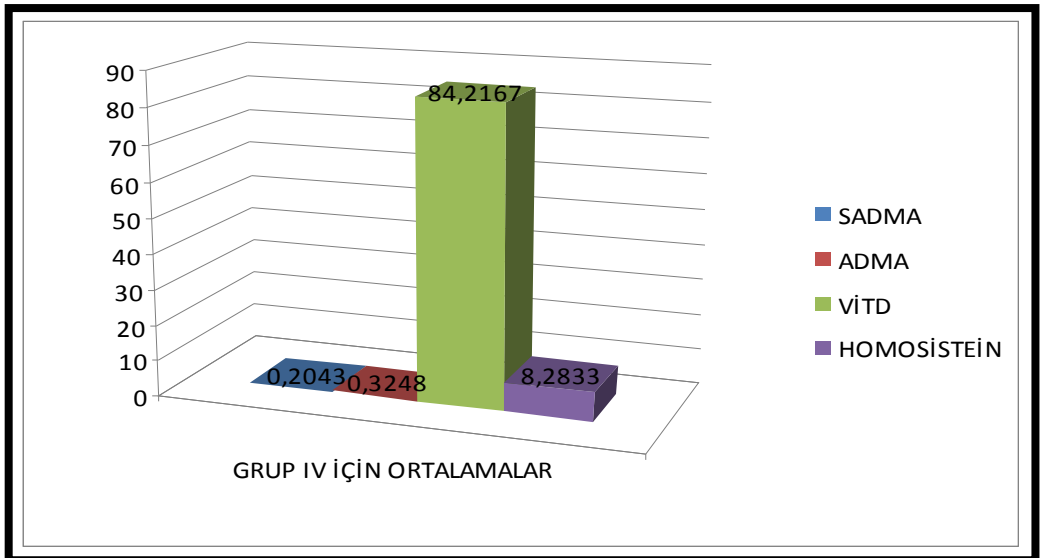
Grafik 2: Radyasyon Grubu Ortalamaları

4.3. Grup 3 için SDMA, ADMA, Vitamin D ve Hcy Düzeyleri



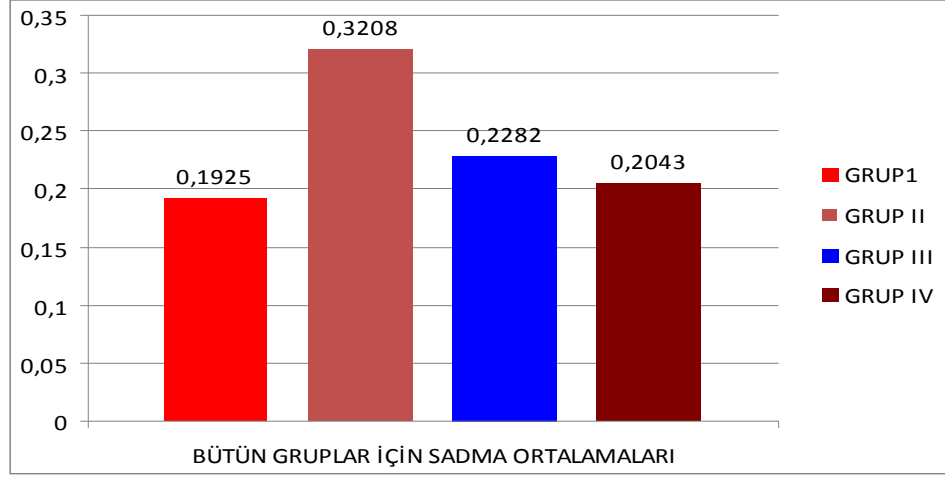
Grafik 3: Radyasyon + Vitamin D Grubu Ortalamaları

4.4. Grup 4 için SDMA, ADMA, Vitamin D ve Hcy Düzeyleri



Grafik 4: Vitamin D Grubu Ortalamaları

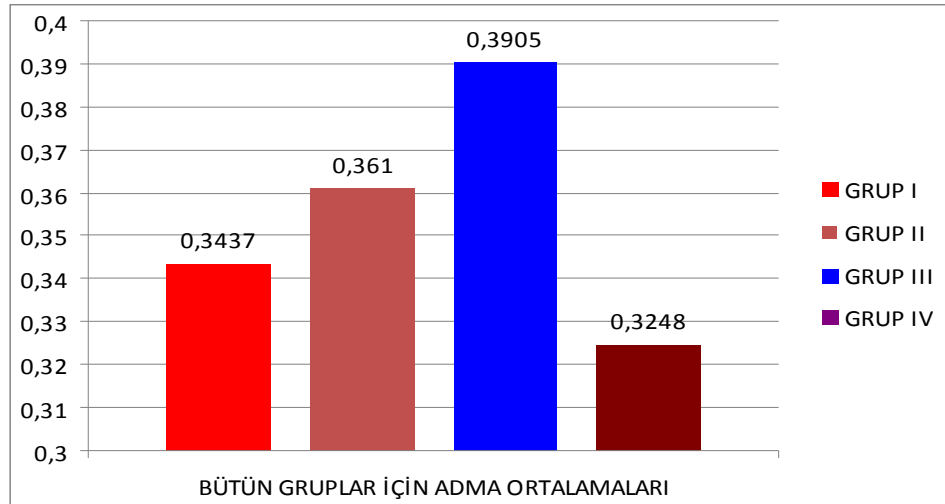
4.5. Bütün Gruplar için SDMA Ortalamaları



Grafik 5: SDMA Ortalamaları

SDMA düzeyinde Kontrol grubu ile Radyasyon grubu arasında anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo: 5).

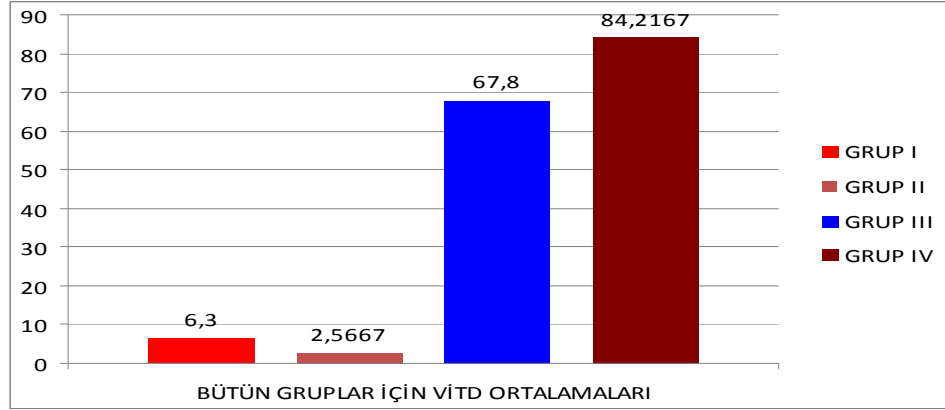
4.6. Bütün Gruplar için ADMA Ortalamaları



Grafik 6: ADMA Ortalamaları

ADMA düzeyinde; gruplar arasında anlamlılık saptanmamıştır (Tablo: 6).

4.7. Bütün Gruplar için Vitamin D Ortalamaları



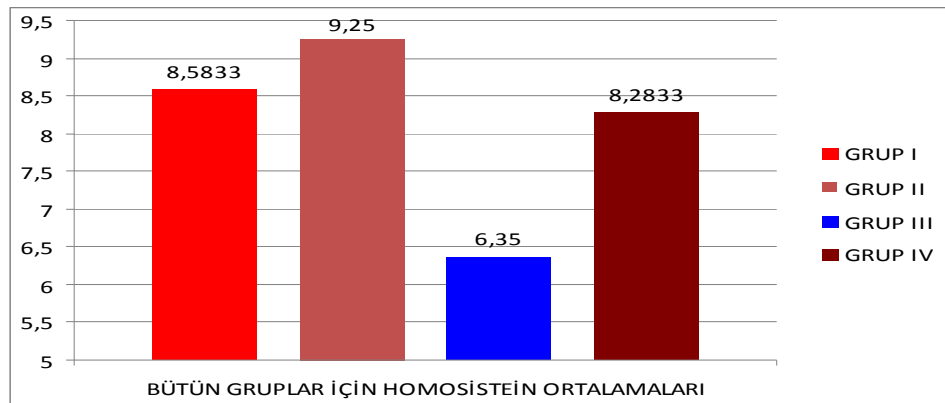
Grafik 7: Vitamin D Ortalamaları

Vitamin D düzeyinde; Kontrol grubu ile Radyasyon grubu arasında anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p < 0,001$).

Radyasyon grubu ile Radyasyon + Vitamin D grubu arasında anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p < 0,05$).

Kontrol grubu ile Vitamin D grubu arasında anlamlı derecede fark bulunmuştur ($p < 0,05$) (Tablo: 6).

4.8. Bütün Gruplar için Hcy Ortalamaları



Grafik 8: Homosistein Ortalamaları

Hcy düzeyinde; diğer gruplarda kontrol grubuna göre artış ve azalışlar saptanmıştır. Grupların karşılaştırılması sonucu istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır (Tablo: 6).

Tablo 5: Tüm gruplar için ortalamalar

TESTLER	GRUP 1 (n=6)	GRUP 2 (n=6)	GRUP 3 (n=6)	GRUP 4 (n=6)
SDMA ($\mu\text{mol/l}$)	0.1925	0.3208	0.2282	0.2043
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	0.3437	0.361	0.3905	0.3248
VİTAMİN D ($\mu\text{g/ml}$)	6.3	2.5667	67.8	84.2167
Hcy ($\mu\text{mol/ml}$)	8.5833	9.25	6.35	8.2833

4.9. Grup 1-Grup 2, Grup 2-Grup 3, Grup 1 –Grup 4 “p” değerleri

Tablo 6: Gruplar Arası “p” Değerleri

	Grup 1- 2	Grup 2- 3	Grup 1–4	Grup3–4
SDMA	p: 0.006 *	p : 0.078	p : 0.575	p: 0.173
ADMA	p : 0.522	p : 0.575	p : 0.423	p: 0.200
VİT D	p : 0.010 *	p : 0.004 *	p : 0.004 *	p: 0.262
Hcy	p : 0.749	p : 0.078	p : 0.337	p: 0.109

5.TARTIŞMA

Radyasyon; biyolojik sistemlerde görevli moleküller ile etkileşime girerler. Bu etkileşimlerin olduğu metabolik reaksiyonlarda elektron alışverişi gerçekleşir. Bunun sonucunda meydana gelen birçok reaksiyon hücre veya doku düzeyinde feri dönüşümsüz olaylara yol açar. Elektron değişimi varlığında meydana gelen olaylarda oluşan serbest radikaller, lipid, protein veya enzim düzeyinde direk etki gösterirler. Bunlar da oksidatif hasar olarak tanımlanır ^{1,2}.

Nitrik oksit (NO) özellikle kalp damar sistemi ve merkezi sinir sistemi üzerinde fonksiyonel bir moleküldür. ADMA, endojen NOS inhibitörüdür. Lokal NO sentezini engelleyerek vazospazma ve endotel fonksiyon bozukluğuna neden olmakta ve koroner arter hastalık gelişimi için risk faktörü olarak kabul edilmektedir ⁶. Endotel fonksiyon bozukluğunun diğer etkenlerinden birisi de artmış serum Hcy düzeyidir. Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında bazı antioksidan moleküllerin ve vitaminlerin radyasyon esnasında ve sonrasında koruyucu etkilerinin olduğu kanaati vurgulanmaktadır ⁷.

Oksidatif stres sonucu oluşan endotel fonksiyon bozukluğu, enzim inaktivasyonu, DNA gibi birçok yapıda hasarlara neden olan etkenlere örnek olarak gösterilen ADMA ve Hcy üzerinde birçok çalışma yapılmaktadır ^{5, 6, 32, 33, 34, 35, 36, 42, 44, 51, 52}.

DDAH enzimi ADMA' yı katabolize ederek NOS aktivitesini sağlar. DDAH sitozolik bir enzimdir. Başta karaciğer ve böbrek dokularında bulunmaktadır ^{39, 40}.Hcy ise DDAH aktivitesini; enzimin aktif bölgesindeki sistein ile etkileşimi sonucu inhibe eder ^{76,77,78}.

Bu çalışmada radyasyonun; ADMA, Hcy ve D vitamini düzeyleri üzerindeki etkilerini gözlemledik.

Vallance ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; kolesterolü yüksek olan hastalarda homosistein ile ADMA düzeylerinin yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Hiperhomosisteinemi' de ADMA sentezinin DDAH enzimi tarafından inhibe edildiğini belirlemişlerdir. DDAH enziminin aktif bölgesindeki sistein molekülünün, ADMA molekülünün guanido kısmına nükleofilik bir atak yaparak etkileşime girmesi sonucunda, serin aminoasiti ile yer değiştirdiğini tespit etmişlerdir. Bunun sonucunda da inhibisyonla sentezinin engellenebildiğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca metilasyon döngüsünün ADMA sentezinde önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir. Homosistein molekülünün oluşmasında gerekli olan metil grubunun, bu metilasyon döngüsünden karşılanacağını tespit etmişlerdir. Çalışmalarında ADMA ile homosistein arasındaki paralel artışla NOS enzimini baskılayıp NO sentezini azalttığını, bunun sonucunda oluşan endotelial fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak ADMA ile homosistein yüksekliğini kardiyovasküler risk olarak belirtmişlerdir⁷⁸. Rainer ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; ADMA düzeylerindeki artışa bağlı olarak azalan vazodilatasyon tespit etmişlerdir. ADMA düzeyindeki bu artışı arterosklerozis risk faktörü olarak görmüşlerdir⁶⁰. Yaptığımız çalışmada; Grup 2 ' deki (Radyasyon grubu) ADMA ve homosistein düzeylerinde Grup 1 ' e (kontrol grubu) göre artış gözlemledik. Bu seviyelerdeki artışın radyasyon grubunda olması dikkat çekicidir. Her ne kadar radyasyonun ADMA ve homosistein düzeylerine etkisi hakkında yapılan çalışmaya rastlamasak da, radyasyona maruz kalan doku ve hücrelerde oluşan serbest radikallerin ADMA ve homosistein düzeylerinde artışa yol açtığını ve bu artışın NOS sentezini baskılayarak NO inhibisyonuna bağlı olarak endotel fonksiyon bozukluğu üzerinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Markus ve arkadaşları endotel hücre kültürü çalışmalarında; homosisteinin oldukça reaktif sülfidril grupları içerdiğini belirtmişlerdir.

Proteinlerle amino-tiyol ve sisteinlerle oluşturulmuş disülfid bağlarıyla disülfid-dimer homosistein yapıları meydana geldiğini, bu etkileşimleri de DDAH enzimi varlığında yaptığını açıklamışlardır. Homosistein konsantrasyonlarının arttıkça DDAH enzim aktivitesinin azaldığını, ADMA seviyesinin ise paralel bir şekilde arttığını gözlemlemişlerdir. Dolayısıyla homosistein artışı ile DDAH enzim aktivitesi arasında negatif, ADMA ile pozitif ilişkisi olduğunu tespit etmişlerdir. SDMA düzeyinde ise herhangi bir değişiklik görülmediğini ileri sürmüşlerdir. Buna bağlı olarak da DDAH enziminin SDMA molekülü sentezinde etkisinin olmadığını belirtmişlerdir⁷⁹.

Yaptığımız çalışmada; homosistein ile ADMA düzeyleri radyasyon grubunda kontrol grubuna göre artma göstermiştir. Radyasyon + Vitamin D grubunda (Grup 3) ise ADMA düzeyi artarken homosistein düzeyi bunun aksine azalmıştır. Grup 2 ADMA ve homosistein düzeyleri kontrol grubuna göre artış gösterirken, beraberinde SDMA düzeyinde de artış görüldü. Bu artma istatikselsel olarak çok anlamlılık ifade etmiştir. Çalışmamızdaki veriler, DDAH enziminin SDMA molekülü sentezinde etkili olduğunu düşündürmektedir. Her ne kadar böyle bir çalışma yapılmış olmasa da; radyasyon uygulaması öncesi verilen D vitamininin istatikselsel olarak anlamlı olmasa da homosistein düzeylerini azaltıcı bir etkisi olduğu görülmüştür. D vitamininin, hiperhomosisteinemiye bağlı endotel disfonksiyonu ve vazodilatasyon bozukluğu, dolayısıyla kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde olası pozitif etkisi olabileceğini düşünülebilir.

Tran ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; Metillenmiş üç form olan ADMA, L-NMMA ve SDMA moleküllerinden, ADMA'nın DDAH enzimi için substrat olduğunu, SDMA'nın olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca DNA'nın 5' bölgesinde meydana gelen duplikasyonların neden olduğu değişikliklerin ADMA regülasyonunu baskıladığını ve azalan NO düzeyinin otoimmün hastalıklarda etkili olabileceğini vurgulamışlardır⁹⁶.

Jan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; ADMA' nın sadece endotelial fonksiyon bozukluğu ve arteroskleroz patolojilerinde ortaya çıkan bir marker olmadığını, buna ek olarak; serebral perfüzyon azalışında ve damar sertliğinde ortaya çıkan, renin-anjiyotensin ve sempatik sistemde sodyum geri emilimine bağlı hipertansiyon vakalarında bir belirteç görevi yapan önemli bir molekül olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu bilgilere dayanarak; ADMA 'nın sadece kardiyolojik vakalarda değil nefrolojik vakalarda da ne kadar önemli bir marker olabileceği düşünülebilir. Ayrıca ADMA' nın üremik toksin madde olarak düşünüleceği gibi buna karşın kronik böbrek hastalıklarının patofizyolojisinde de kritik bir rol oynadığını savunmuşlardır. Hipertansiyon görülen çocuklarda, renal fonksiyon parametresi olarak gösterilen idrar kreatinin değerleriyle SDMA ' nın paralel bir ilişki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu bilgi esas alınarak ADMA gibi SDMA ' nında nefrolojik vakalarda önemli bir yerinin olabileceği bildirilmektedir. Bunun yanı sıra SDMA 'nın monositlerde kalsiyum kanallarından kalsiyum geçişi sırasında, reaktif oksijen türlerinin üretimini stimüle ettiğini ileri sürmüşlerdir⁹⁹ . Bu bilgiye dayanarak kardiyolojik patolojilerinde SDMA' nın önemi küçümsenmemelidir. Çalışmamızda; radyasyon grubu SDMA düzeyi kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Radyasyonun etkilediği SDMA düzeyi kontrol grubu seviyesine karşılık yaklaşık iki kat artmıştır. Her ne kadar radyasyonun SDMA düzeyine etkisi üzerinde herhangi bir çalışmaya rastlayamasak da, radyasyon uygulanması sonucu artan SDMA düzeyi ciddi bir şekilde nefrolojik bozukluğa neden olabilir.

Doan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; antioksidan ve vitaminlerin özellikle de D vitamininin endotel patolojisinde etkin olan ADMA molekülünün sentezini engellediğini ileri sürmüşlerdir. ADMA düzeyi artışı sonrasında inflamasyon oluştuğunu ve bu esnada ADMA sentez basamaklarında düşük D vitamini düzeyi ile yüksek high-sensitivity C-reaktif proteininin akut inflamasyona yol açtığını tespit etmişlerdir. Bu

bilgiye dayanarak ADMA artışına bağlı olarak gelişen akut inflamasyonda D vitamininin önemi vurgulanabilir. NOS enziminin uyarılması ile endotel hücrelerinde nitrik oksit sentezlendiğini ve salınan bu gazın kas tabakasına diffüze olarak sitozolik siklik guanidin monofosfat c(GMP) oluşumunu tetiklediğini belirtmişlerdir. Artan c(GMP)'nin protein kinaz G aktivasyonuna yol açtığını ve arterleri çevreleyen düz kas hücrelerinin kasılmalarını azalttığını izah etmişlerdir. Böylece artmış ADMA seviyelerinin de vazodilatasyonun azalmasına neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Çalışmalarındaki 253 hastada; ölçülen ADMA düzeyi azalış gösterirken D vitamini düzeyi artma göstermiştir⁹. Çalışmamızda Grup 4 D vitamini düzeyi Grup 3' e göre artarken, ADMA düzeyinde azalış görülmüştür. Artan D vitamini düzeyine bağlı azalan ADMA düzeyinin vazodilatasyonu artırarak kardiyovasküler riski azalttığını söyleyebiliriz. Dolayısıyla elde ettiğimiz bu veriler Doan ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmayı desteklemektedir.

Cooke ve arkadaşları Akut inflamasyon esnasında salınan indüklenebilir NOS 'un ADMA tarafından inhibe edildiği tespit etmişlerdir. Buna bağlı olarak yüksek ADMA düzeyleri inflamasyonun başlıca nedenlerinden biri olarak görülebilir. Çalışmamızda; Radyasyon grubu D vitamini düzeyleri kontrol grubuna göre azalış gösterirken, ADMA düzeyleri artış göstermiştir. İstatiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Elde ettiğimiz bu verilere göre; artmış ADMA düzeyleri indüklenebilir NOS'u baskılayarak inhibisyonunu sağlayıp akut inflamasyon etkisini azaltabilir.^{9,54}

Talmor ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; D vitamini düzeylerinin nitrik oksit sentaz 3' ün ekspresyonu ve aktivitesinin azalmasına neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir. PCR tekniğini kullanarak DNA düzeyinde D vitamininin olası anti-inflamatuar özelliğine vurgu yapmışlardır. D vitamininin endotel inflamasyonunu engellendiği ve

İnterlökin-6 mRNA ekspresyonunun azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca D vitamini yetersizliğini Tip 1 ve Tip 2 Diabet patolojisi açısından bir risk faktörü kabul etmişlerdir. Diabetes mellitus sıklığını ve bozulmuş insülin direncini D vitamini düzeyleri ile ters bir ilişki içinde olduğunu öngörmüştür. Yaptıkları çalışmada; D vitaminin aktif formu olan kalsitriol seviyeleri arttıkça endotel NO seviyelerinde de artış, akut inflamatuvar parametrelerinde (RAGE, IL-6) azalış gözlemlenmiştir^{9,98}.

Bu bilgilere dayanarak kalsitriol etkisinde artan NO düzeyleri beraberinde akut inflamatuvar parametrelerini de azalttığından dolayı endotel inflamasyonunu engellendiğini söyleyebiliriz. Uygulamış olduğumuz D vitaminin olası koruyucu etkisinin akut inflamatuvarın engellenmesinde son derece önemli bir yeri olduğunu savunabiliriz.

Radyasyona maruz kalan hücre veya dokularda oluşabilecek hasara karşı D vitamini uygulamasının ADMA ve homosisteinin tetiklediği endotel fonksiyon bozukluğunun önlenmesinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

6. ÖZET

Günümüzde radyasyon gerek tanı gerekse tedavide kullanılmaktadır. Bununla birlikte radyasyon biyolojik sistemlerde yer alan biyomoleküller ile etkileşerek moleküllerin elektron almasına veya elektron kaybetmesine neden olmaktadır. Serbest radikaller başta lipidler olmak üzere protein veya enzim inaktivasyonu ve DNA kırık lezyonları gibi oksidatif hasarı tetiklemektedir. Radyasyon tedavisi tümör kitlesinde gerilemeye neden olurken aynı zamanda sağlıklı dokularda da oksidan hasarın oluşumuna neden olmaktadır.

Radyasyon uygulaması vücutta endotel yapıyı da olumsuz etkilemektedir. Endotel fonksiyon bozukluğunun patofizyolojisinde etkenlerden birisi ise artmış serum ADMA ve Hcy düzeyleridir. Özellikle D vitamini uygulamaların endotel fonksiyon bozukluğunda bu parametrelerin artışı engellediğine dair çalışmalar mevcuttur.

Radyasyonun Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA), D vitamini ve Homosistein (Hcy) düzeyleri üzerindeki etkisini HPLC yöntemini ile gözlemledik. Deney için 24 adet rat kullanıldı ve bunları dört gruba ayırdık (n=6 kontrol grubu, n=6 radyasyon grubu, n=6 radyasyon+vitamin d grubu, n=6 vitamin d grubu).

Radyasyon grubunun (grup 2) SDMA düzeyi kontrol grubuna (grup 1) göre yüksek bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı olduğunu gözlemledik (p=0,006).

Grup 2 ile Grup 1'in vitamin D düzeyleri karşılaştırıldığında grup 2 vitamin D düzeyi grup 1'e göre düşük bulundu. İstatistiksel olarak anlamlılık tespit edildi ($p=0,01$).

Radyasyon+vitamin D grubu (grup 3) vitamin D düzeyleri grup 2 ye göre yüksek bulundu. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,004$).

Grup 4 vitamin D düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,004$).

Vitamin D grubu (grup 4) ADMA düzeyi grup 3'e göre düşük tespit edildi. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,213$).

Radyasyona maruz kalan hücre veya dokularda oluşabilecek hasara karşı D vitamini uygulamasının ADMA ve homosisteinin tetiklediği endotel fonksiyon bozukluğunun önlenmesinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: ADMA, SDMA, Hcy, D vitamini, endotel hasar, radyasyon.

7. SUMMARY

At the present day, We use to radiation for diagnosis and treatment. Radiation interact with the biomolecules in biological systems and is caused by electron-taking or to lose. Free-radicals increase oxidative-damage such that lipid-peroxidation, protein and enzyme inactivation and DNA broken lesions. While radiation therapy causes tension in tumor mass, at the same time, also leads to the formation of oxidant damage in healthy tissues.

The radiation of the body also affect the structure of endothelial. Increased-serum Asymmetric dimethyl arginine (ADMA) and Hcy levels play with a role in pathophysiology of endothelial dysfunction. Especially, Applications of vitamin D prevent to increase of ADMA levels in endothelial dysfunction and many studies have demonstrated.

Effect of radiation on ADMA, vitamin D and homocysteine levels researched with used HPLC method for measurement. We used to 24 rats for experiments and separated to four groups to rats.(n=6 control group, n=6 radiation group, n=6 radiation and vitamin D groups, n=6 vitamin D group)

ADMA levels of radiation group (group 2) were higher than control group (group 1). It was found value of means is statically($p=0,006$).

Vitamin D levels of group 2 were lower than group 1. It was found value of means is statically.($p=0,001$)

Vitamine D levels of radiation + vitamine D group were higher than group 2. This increase was found value of means is statically($p=0,004$).

Group 4 Vitamine D levels were higher than control group . This increase was found value of means is statically($p=0,004$).

ADMA levels of vitamine D group (group 4) were lower than group 3. This decrease was statically significant difference wasn't observed ($p=0,432$).

Against damage to cells or tissues exposed to radiation that may occur when the application of vitamine D in the prevention of ADMA and homocysteine-induced endothelial dysfunction, may be effective.

Key Words:, ADMA, SDMA, Hcy, vitamine D, endothelial damage, radiation

8. KAYNAKLAR

1. Ohta S, Matsuda S, Gunji M, Kamogawa A, (2007) The role of nitric oxide in radiation damage. *Biol Pharmacol bull*, 30(6): 1102-1107.
2. Katz D, Mazor D, Dvilanky A, Meyerstein N. (1996) Effect of radiation on red cell membrane and intracellular oxidative defense system. *Free Radical Res.* 24(3): 199-204.
3. Anand AJ, Dzik WH, Imam A, Sadrzadeh SM. (1997) Radiation-induced red cell damage: role of reactive oxygen species *Tranfusion* 37: 160-165.
4. Vallance P., Leone A., Calver A., Collier J., Moncada S. (1992). "Endogenous dimethyl-arginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis". *J. Cardiovasc. Pharmacol* 20 (Suppl. 12): S60–S62.
5. Markus C. Stühlinger, MD; Philip S. Tsao, PhD; Jeng-Horng Her, PhD; Masumi Kimoto, PhD; Robert F. Balint, PhD; John P. Cooke, MD PhD . Homocysteine Impairs the Nitric Oxide Synthase Pathway Role of Asymmetric Dimethylarginine Circulation.
6. Weiss JF, Landauer MR. (2000) Radioprotection by antioxidants *Ann NY Acad Sci.* 899:44-60.
7. Stuhlinger MC, Stanger O (2005). "Asymmetric dimethyl-L-arginine (ADMA): a possible link between homocyst(e)ine and endothelial dysfunction". *Curr Drug Metab* 6(1): 3–14.
8. Emin Özgür Akgül , Erdinc Cakir , Ömer Özcan , Halil Yaman , Yasemin Gülcan Kurt , Sükrü Öter , Ahmet Korkmaz , Cumhuriyet Bilgi and Mehmet Kemal Erbil. PressurereLATED Increase of Asymmetric Dimethylarginine

Caused by Hyperbaric Oxygen in the Rat Brain. *Neurochemical Research*, Volume 32, Number 9 / September, 2007.

9. Doan T. Ngo, Aaron L Sverdlov, John J. Mc Neil, John D. Horowitz. (1981) Does vitamin D modulate asymmetric dimethylarginine and c-reactive protein concentration? *The American Journal of Medicine*. 123(4) : 335 -341.

10. Pat F. Neville, Hector F. DeLuca. The Synthesis of [1,2-³H] Vitamin D₃ and the Tissue Localization of a 0.25- μ g (10 IU) Dose per Rat* *Biochemistry*, 1966, 5 (7), (2201–2207. 2001;104:2569.)

11. Gopal N.G.S. , Radiation Sterilization of Pharmaceuticals and Polymers, *Radiat. Phys. Chem.*, 12, 35950, 1978.

12. Ulusal Tıbbi NBC Savunması Sempozyum Kitabı (15916 Mayıs 2003), s: 11.

13. Chaialo PP, Lialhovchuk N N, Chobat'ko G M, Voziian PA, Kholodova I U D: The composition and physicochemical properties of the blood lipoproteins in rats exposed to external gamma irradiation. *Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal* 64: 26-32, 1992.

14- Chirkin A A, Konevalova N, Grebennikor I W, Kulikov V A, Filepesko G V: Effects of polyunsaturated phosphatidylcholine on the activity of antioxidant and lipolytic enzymes in alimentary hypercholesterolemia in irradiated rats. *Voprosy Meditsinskoi Khimii* 40: 24-28, 1994.

15- Hollick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80 (6suppl): S1678- 88.

16- Ward LM. Vitamin D deficiency in the 21st century: a persistent problem among Canadian infants and mothers. CMAJ 2005; 172:769- 70.

17- Holick MF. The Vitamin D epidemic and its health consequences. J Nutr 2005; 135: 2739- 48. J Clin Nutr 2003; 78: 912- 9.

18- Holick MF. Vitamin D: important for prevention of osteoporosis, cardiovascular heartdisease, type 1 diabetes, autoimmune diseases, and some cancers. South Med J 2005; 98:1024- 7.

19-Yurdakök M, Bilginturan N, Özsoylu S.Yordan N. ve Çoskun T. D vitamini yetersizliğine bağlı rikets, Katkı Pediatri Dergisi; 11(4):345-386, 1990.

20-Burnand B. Sloutskis D. and Gionali F.: Serum 25-hydroxyvitamin D: distribution and determinants in Swiss population, Am J Nutr 56:537-540. 1992.

21- Karlson P.: Vitamin D In "Biyokimya", 12 Baskı, 253, Sermet Matbaası, Kırklareli 1988.

22-Kruse K.:Endocrine Control of Calcium and Bone Metabolism. In "Clinical Paediatric Endocrinology" Ed. Brook CGD,3th ed,712-743. Backwell Science Ltd.Oxford, 1995.

23-Specker B.L. and Ho M.L. :Prospective study of vitamin D supplementation and in China, J pediatri; 120:733-739,1992.

24-Holick MF. McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D--new horizons for the 21st century. Am J Clin Nutr 1994; 60: 619-630.

25-Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006; 116: 2062-272.

26-Holick MF. Sunlight "D"ilemma: risk of skin cancer or bone disease and muscle weakness. *Lancet* 2001; 357: 4-6.

27-Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 664-673.

28- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-281.

29- Henderson A. Vitamin D and the breastfed infant. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2005; 34: 367-372.

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

31-Beltowski J, Kedra A. *Pharmacological Reports.* 2006;58:159-178.

32-Tang J, Gray JD, Clarke S, Herschman HR. PRMT 3, a type I protein arginine Nmethyltransferase that differs from PRMT1 in its oligomerization, subcellular localization, substrate specificity and regulation. *J Biol Chem.* 1998;273:16935-16945.

33-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.

34-Ghosh SK, Woon KP, Kim S. Purification and molecular identification of two protein methylases I from calf brain. myelin basic protein and histon spesific enzymes. J Biol Chem. 1988;263:19024-19033.

35-Goldberg AL, St John AC. Intracellular protein degradation in mammalian and bacterial cells:part 2. Annu Rev Biochem. 1976;45:747-803.

36-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.

37-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.

38-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.

39-Tran CT, Leiper JM, Vallance P. The DDAH/ADMA/NOS pathway. Atheroscler Suppl. 2003;4:33-40.

40-Siroen MP, van der Sijp JR, Teerlink T, van Schaik C, Nijveldt RJ, van Leeuwen PA. The human liver clears both asymmetric and symmetric dimethyl arginine. Hepatology. 2005;41:559-565.

41-Jacobi J, Tsao PS. Asymmetrical dimethylarginine in renal disease: limits of variation or variation of limits? Am J of Nephrol. 2008;28:224-237.

42-Murray-Rust J, Leiper J, McAlister M, Phelan J, Tilley S, Santa Maria J, Vallance P, McDonald N. Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Nat Struct Biol.* 2001;8:679-683.

43-Li H, Förstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol.* 2000;190:244-254.

44-Wilcken DE, Sim AS, Wang J, Wang XL. Asymmetric dimethyl arginine (ADMA) in vascular, renal and hepatic disease and the regulatory role of L-arginine on its metabolism. *Mol Genet Metab.* 2007;91:309-317.

45- Leiper J, Murray-Rust J, McDonald N, Vallance P. S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:13527-13532.

46- Valkonen VP, Laaksonen R. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) acute vascular events. *Clin Chim Acta.* 2004;348:9-17.

47- Noris M, Perico N, Remuzzi G. Mechanisms of disease: Pre-eclampsia. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2005;1:98-114.

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

49- Slaghekke F, Dekker G, Jeffries B. Endogenous inhibitors of nitric oxide and preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2006;19:447-452.

50- Cooke JP. ADMA: its role in vascular disease. *Vasc Med.* 2005;10:S11-17.

51- Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol.* 1986;250:H822-827.

52- Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad and the ugly. *Am J Physiol.* 1996;271:1424-1437.

53- Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet.* 1992;339:572-575.

54- Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Schaffer J, Barbey M, Koch KM, Frölich JG. 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.

55- Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frölich J, Böger R. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet.* 2001;358:2113-2117.

56- Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol.* 1987;92:639-646.

57- Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromocyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1989;83:1774-1777.

58-Hori T, Matsubara T, Ishibari T, Ozaki K, Tsuchida K, Mezaki T et al. Significance of asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentrations during coronary circulation in patients with vasospastic angina. *Circ J.* 2003;67:305-311.

59- Böger RH, Ron ES. L-arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Altern Med Rev.* 2005;10:14-23.

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

61- Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J 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;33:652-658.

62-Lundman P, Eriksson MJ, Stuhlinger M et al. Mild-to-moderate hypertriglyceridemia in young men is associated with endothelial dysfunction and increased plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38:111-116.

63-Valkonen VP, Tuomainen TP, Laaksonen R. DDAH gene and cardiovascular risk. *Vasc Med.* 2005;10:S45-48.

64-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.

65- Saitoh M, Osanai T, Kamada T, Matsunaga T, Ishizaka H, Hanada H, Okumura K. High plasma level of asymmetric dimethyl arginine in patients with acutely exacerbated congestive heart failure: role in reduction of plasma nitric oxide level. *Heart Vessels.* 2003;18:177-182.

66- Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homosisteine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis.*2001;158;425-430.

67- Gorenflo M, Zheng C, Werle E, Fiehn W, Ulmer HE. Plasma levels of asymmetric dimethyl-L-arginine in patients with congenital heart disease and pulmonary hypertension. *J cardiovasc Pharmacol.*2001;37;489-492.

68- Arrigoni F, Vallance P, Haworth S, Leiper J. Metabolism of asymmetric dimethylarginines is regulated in the lung developmentally and with pulmonary hypertension induced by hypobaric hypoxia. *Circulation.* 2003;107:1195-1201.

69- Millatt LJ, Whitley GS, Li D, Leiper JM, Iragy HM, Carey RM, Johns RA. Evidence for dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase I in chronic hypoxia– induced pulmonary hypertension. *Circulation.* 2003;108:1493-1498.

70- 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.

71-Krzyzanowska K, Mittermayer F, Shnawa N, Hofer M, Schnabler J, Etmüller Y, Kapiotis S, Wolzt M, Schernthaner G. Asymmetrical dimethylarginine is related to renal function, chronic inflammation and macroangiopathy in patients with Type 2 diabetes and albuminuria. *Diabet Med.* 2007;24:81-86.

72- Asagami T, Abbasi F, Stuelinger M, Lamendola C, McLaughlin T, Cooke JP, Reaven GM, Tsao PS. Metformin treatment lowers asymmetric dimethyl arginine concentrations in patients with type 2 diabetes . *Metabolism.* 2002;51:843-846.

73-Chan NN, Chan JC. Asymmetric dimethyl arginine (ADMA): a potential link between endothelial dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome? *Diabetologia.* 2002;45:1609-1616.

74- Siroen MP, Warle MC, Teerlink T, Nijveldt RJ, Kuipers EJ, Metselaar HJ, Tilanus HW et al. The transplanted liver graft is capable of clearing asymmetric dimethylarginine. *Liver Transpl.* 2004;10:1524-1530.

75- Lluch P, Torondel B, Medina P, Segarra G, Del Olmo JA, Serra MA, Rodrigo JM. Plasma concentrations of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in human alcoholic cirrhosis. *J Hepatol.* 2004;41:55-59.

76-Vallance P, Leiper J. Cardiovascular Biology of the Asymmetric Dimethylarginine: Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase Pathway. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 2004;24:1023-1030.

77-Mark F, McCarty. *Medical Hypotheses* 2004; 63: 699–708.

78-Vallance P. The asymmetrical dimethylarginine/dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway in the regulation of nitric oxide production. *Clin Sci* 2001; 100: 159–60.

79-Stühlinger 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: 2569–75.

80-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: 733.

81-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.

82-Ozgurtas T, Oktenli C, Dede M, Tapan S, Kenar L, Sanisoglu SY, et al. Metformin and oral contraceptive treatments reduced circulating asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Atherosclerosis* 2008; 15 (Epub ahead of print).

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

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

85-Yang TL, Chen MF, Xia X, Luo BL, Li YJ. Effect of fenofibrate on the level of asymmetric dimethylarginine in individuals with hypertriglyceridemia. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 179-84.

86-Tanaka N, Katayama Y, Katsumata T. Effects of long-term administration of HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, on stroke events and local cerebral blood flow in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Brain Res* 2007; 12: 125-32.

87- Principle of the method. [online]. 2009 [cited 2009 Dec 03]. Available from: URL: <http://www.immuchrom.de/>.

88- Araki A, Sako Y. Determination of free and total homocysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr* 1987;422:43-52.

89-Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al. "Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical application". *Clin Chem*; 39: 1764 - 79, 1993.

90. Van den Berg M, Boers GH, Franken DG, et al, "Hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction in young patients with peripheral arterial occlusive disease". *Eur J Clin Invest*; 25: 176-81, 1995.

91. Mc Cully KS. "Homocysteine and vascular disease", *Nat Med*; 2: 386-9, 1996.)

92-Kang SS, Wong PW, Malinow MR, "Hyperhomocysteinemia as a risk factor for occlusive vascular disease". *Ann Rev Nutr* 1992;12: 279-298.

93. Finkelstein JD, Martin JJ, Harris BJ, "Methionine metabolism in mammals: the methionine-sparing effect of cystine", J Biol Chem 1988; 263: 11750-4.
94. Jacobsen DW, Gatautis VJ, Gree R, et al, "Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma: sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects", Clin Chem 1994; 40: 873-881).
95. Erdem S. Kronik obstrüktif akciğer hastalarında serum asimetrik dimetilarginin (ADMA) ve nitrik oksit düzeyleri. Tıpta Uzmanlık. Konya: Selçuk Üniversitesi; 2006.
96. Tran Cam TL, Fox MF, Vallance P, Leiper J. Chromosomal localization, gene structure and expression pattern of DDAH1: Comparison with DDAH2 and implications for evolutionary origins. Genomics 2000;68:101–105.
97. Clarke S. Protein methylation. Curr Opin Cell Biol 1993;5:977–983.
98. Y. Talmor, E. Golan, S. Bencherit *et al.* Calcitriol blunts the deleterious impact of advanced glycation end products on endothelial cells **Am J Physiol Renal Physiol**, 294 (2008), pp. F1059–F1064
99. Kielstein Jan T, Danilo Fliser and Hendrik Veldink. Asymmetric dimethylarginine and Symmetric dimethylarginine: Axis of Evil or Useful Alliance? 2009.
100. Tsao PS, Wang B, Buitrago R, Shyy JY, Cooke JP, Nitric oxide mediates monocyte chemotactic protein-1 Circulation, 1997;96(3):934-40.

9. TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans eğitimim süresince ve bu tezin gerçekleştirilmesinde, başlangıcından sonuna kadar, tavsiye ve yönlendirmeleri yapan, karşılaştığım problemlerin çözümünde deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof.Dr. Aysel ARICIOĞLU' na;

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini aktarıp yol gösteren, her zaman yanımda olan ve tez çalışmalarımda desteklerini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU' na;

Tez çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Müge AKMANSU' ya;

Her zaman yanımda olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, görüş ve önerileriyle her zaman bana yardımcı olan dostum, kardeşim, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine devam eden Uzman Kimyager Durmuş AYAN' a;

Manevi desteklerini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine devam eden Uzman Biyolog Çiğdem İLHAN ve Uzman Biyolog Adem EKTİ' ye;

Her türlü desteği esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı asistanlarına ve çalışma arkadaşlarıma, kan alma biriminde çalışan hemşire arkadaşlarıma;

Yaşamım boyunca desteklerini her ne olursa olsun esirgemeyen ve bu günlere gelmemde çok büyük öneme sahip olan değerli aileme sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

10. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyadı : Erdem Kahraman

Doğum Tarihi : 26 /07/ 1984

Doğum Yeri : KIRŞEHİR

EĞİTİM DURUMU

2010- : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.B.D.
Yüksek Lisans

2002-2007 : Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü (İngilizce)

1997-2001 : Rauf Denктаş Lisesi

1994-1997 : Gülhane İlköğretim Okulu

1992-1997 : Kocatepe İlköğretim Okulu

YABANCI DİL : İNGİLİZCE

