

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**HEMODİYALİZ HASTALARINDA LİPOPROTEİN
İLİŞKİLİ FOSFOLİPAZ A2 (LP-PLA2), ARJİNAZ VE
NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ**

Dr. Ayşegül KORKMAZ TEKTAŞ

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

ESKİŞEHİR

2010

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**HEMODİYALİZ HASTALARINDA LİPOPROTEİN
İLİŞKİLİ FOSFOLİPAZ A2 (LP-PLA2), ARJİNAZ VE
NİTRİK OKSİT DÜZEYLERİ**

Dr. Ayşegül KORKMAZ TEKTAŞ

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Sema USLU**

ESKİŞEHİR

2010

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Ayşegül KORKMAZ TEKTAŞ'a ait "Hemodiyaliz Hastalarında Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2 (Lp-PLA2), Arjinaz Ve Nitrik Oksit Düzeyleri" adlı çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Özkan ALATAŞ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Üye	Prof. Dr. Ömer ÇOLAK Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Üye	Doç. Dr. Sema USLU Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun

Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zübeyir KILIÇ

Dekan

TEŞEKKÜR

Eğitimim ve tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve katkılarıyla beni yönlendiren sayın hocam Doç. Dr. Sema USLU'ya, çalışma ile ilgili kaynak temini ve tecrübeleriyle katkı sağlayan Prof. Dr. Ömer ÇOLAK'a, uzmanlık eğitimimde katkıları olan Prof. Dr. zkan ALATAŞ'a, Prof. Dr. Mine İNAL'a, Prof. Dr. Güngör KANBAK'a, Yrd. Doç. Dr. Emine STKEN'e ve Yrd. Doç. Dr. Fahrettin AKYÜZ'e, hastalarımın temini aşamasında gerekli desteği sağlayan Prof. Dr. Ahmet Uğur YALÇIN'a, tezimin laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Halide Edip TEMEL ve Bio. Mehmet KARA'ya, tezimin her aşamasında benden desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarım Dr. Ali DOKUMACIOĞLU, Dr. Semra Can MAMUR, Dr. Berna ERYRK, Dr. Evin KOCATÜRK, Dr. Gönül ÜNVER, Dr. Müge BEKMEZ, Dr. Canan BAYRAK'a ve biyokimya laboratuvar ekibine destekleri için teşekkür ederim.

ÖZET

TEKTAŞ A. Hemodiyaliz hastalarında lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2, arjinaz ve nitrik oksit düzeyleri. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2010. Hemodiyaliz hastalarında artmış kardiyovasküler riski erken dönemde gösterebilecek spesifik belirteçlerin arayışı devam etmektedir. Bu çalışmada serum arjinaz aktivitesi ile lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 (Lp-PLA2) ve nitrik oksit (NO) düzeylerinin, hemodiyaliz hastalarındaki endotel disfonksiyonu ve kardiyovasküler riskteki olası rollerini incelemeyi amaçladık. Çalışma, yaşları 29-78 arasında değişen, 70 hemodiyaliz hastası (32 kadın ve 38 erkek) ile yaş ve cinsiyet uyumlu 18 kontrol grubunda (8 kadın ve 10 erkek) yapıldı. Hasta ve kontrol grubunun serum örneklerinin lipit profili, yüksek duyarlılık C-reaktif protein (hsCRP), Lp-PLA2 ve NO düzeyleri ile arjinaz aktiviteleri belirlendi. Hasta grubunda kontrol grubuna göre, Lp-PLA2 düzeyleri ve arjinaz aktiviteleri yüksek, NO düzeyleri ise düşük bulundu. Lp-PLA2 düzeyleri ve arjinaz aktiviteleri trigliserid, total kolesterol, LDL-kolesterol, yaş, ve vücut kitle indeksi ile pozitif, HDL-kolesterol, ve NO düzeyleri ile negatif korelasyon gösterirken, hsCRP ile korelasyon bulunmadı. Hastaları ayrıca, aşağıdaki şekilde 3 gruba ayırarak Lp-PLA2, NO ve arjinaz aktiviteleri yönünden inceledik. Grup 1 (G-1); Diyabeti ve bilinen makrovasküler komplikasyonu bulunmayan, hemodiyaliz hastaları. Grup 2 (G-2); Bilinen makrovasküler komplikasyonu olan hemodiyaliz hastaları. Grup 3 (G-3); Diyabetik nefropatili hemodiyaliz hastaları. Lp-PLA2 düzeyleri, bütün gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksekti, G-2 ve G-3 grupları arasında da anlamlı fark bulundu. Arjinaz aktiviteleri, bütün gruplarda kontrol grubuna göre yüksekti, G-2 grubunda G-1'den yüksek, G-3'den farksızdı. Nitrik oksit düzeyleri tüm hasta gruplarında kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak sadece G-2 ve G-3 arasındaki fark anlamlıydı. G-1 grubunda G-2'den farksız G-3'den önemli düzeyde yüksekti. Sonuç olarak arjinaz ve Lp-PLA2 artışları ve azalmış NO düzeyleri, hemodiyaliz hastalarında endotel disfonksiyonu ve buna bağlı gelişebilecek kardiyovasküler riskleri yansıtmada yararlı parametreler olarak görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Arjinaz, Hemodiyaliz, Lp-PLA2, NO

ABSTRACT

TEKTAS, A. Lipoprotein-associated phospholipase A2, arginase and nitric oxide levels in hemodialysis patients. Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Medical Biochemistry, Specialty Thesis, Eskisehir, 2010. Investigation of specific markers that can indicate increased cardiovascular risk in hemodialysis patients is pursuing. In this study we aimed to investigate the possible roles of serum arginase activity, lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) and nitric oxide (NO) levels in endothelial dysfunction and cardiovascular risk in hemodialysis patients. The study was conducted with 70 (32 women and 38 men) hemodialysis patients, aged between 29 and 78, and 18 (8 women and 10 men) age- and sex-matched controls. Lipid profile, high sensitivity C-reactive protein (hsCRP), Lp-PLA2 and NO levels and arginase activity were determined in serum samples obtained from patient and control groups. In patient group, Lp-PLA2 levels and arginase activities were higher and NO levels were lower compared to control group. Lp-PLA2 levels and arginase activity were found to be positively correlated with triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol, age and body mass index and negatively correlated with HDL-cholesterol and NO levels, while there was no correlation with hsCRP. We also investigate Lp-PLA2, NO and arginase activity by classifying patients into 3 groups: Group 1 (G-1): Hemodialysis patients without diabetes and known macrovascular complications. Group 2 (G-2): Hemodialysis patients with known macrovascular complications. Groups 3 (G-3): Hemodialysis patients with diabetic nephropathy. Lp-PLA2 levels were statistically significant in all patient groups compared with control groups. There was also a significant difference between G-2 and G-3 groups. Arginase activities were higher in all groups than control. In G-2 group it was higher than G-1 and indifferent from G-3. Although nitric oxide levels were lower than control groups in all patient groups, only the difference between G-2 and G-3 was statistically significant. In G-1 group it was indifferent from G-2 and significantly higher than G-3. In conclusion, increased arginase and Lp-PLA2 and decreased NO levels seems to be beneficial parameters in terms of reflecting endothelial dysfunction and associated cardiovascular risks in hemodialysis patients.

Key Words: arginase, hemodialysis, Lp-PLA2, NO

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLOLAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği	2
2.1.1. Tanım	2
2.1.2. Epidemiyoloji ve Etyoloji	3
2.1.3. Fizyopatoloji ve Klinik Özellikleri	3
2.1.4. Son Dönem Böbrek Yetmezliği Tedavisi	5
2.2. Diabetes Mellitus ve Kronik Böbrek Yetmezliği	5
2.2.1. Diabetes Mellitus	5
2.2.2. Diyabetik Nefropati	6
2.2.3. Diyabetin Makrovasküler Komplikasyonları	8
2.3. Son Dönem Böbrek Yetmezliği ve Kardiyovasküler Hastalıklar	10
2.4. Ateroskleroz	12
2.4.1. Aterosklerozun histopatolojisi	13
2.4.2. Aterosklerozun Patogenezi	14
2.4.3. Ateroskleroz Risk Faktörleri	16
2.5. Fosfolipazlar	16
2.5.1. Fosfolipaz A2	17
2.6. Arjinin ve Arjinaz	25
2.7. Nitrik Oksit	27
2.7.1. Nitrik Oksit Sentezi	28
2.7.2. Arjinaz ve Nitrik Oksit Sentezi	31

3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	33
3.1. Gereçler	33
3.2. Yöntemler	34
3.2.1. Serum Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2 Tayini	34
3.2.2. Serum Arjinaz Aktivitesinin Tayini	35
3.2.3. Serum Nitrik Oksit Tayini	38
4. BULGULAR	42
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	Anjiotensin Çevirici Enzim
ADA	Amerikan Diyabet Birliği
ADC	Arjinin Dekarboksilaz
ADMA	Asimetrik dimetilarjinin
AGE	İleri Glikasyon Son Ürünleri
Apo B	Apolipoprotein B
ARB	Anjiotensin Reseptör Blokörü
BH ₄	Tetrahidrobiyopterin
BUN	Kan Üre Nitrojeni
Cr	Kreatinin
CRP	C-Reaktif Protein
DCCT	Diyabet Kontrolü ve Komplikasyon Klinik Araştırma
DM	Diabetes Mellitus
DN	Diyabetik Nefropati
ED	Endotel Disfonksiyonu
EDRF	Endotel-Kaynaklı Gevşetici Faktör
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
FAD	Flavin Adenin Dinükleotit
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
FMN	Flavin Mononükleotit
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
HDL-K	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
hsCRP	Yüksek Duyarlılık C- Reaktif Protein
ICAM-1	Hücre içi Adezyon Molekülü-1
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
KVH	Kardiyovasküler hastalık
KBY	Kronik Böbrek Yetmezliği
LDL-K	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Kolesterol
Lp-PLA2	Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2

LPC	Lizofosfotidilkolin
M-CSF	Monosit Koloni Uyarıcı Faktör
MI	Miyokart İnfarktüsü
NADPH	Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NCEP	Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
NO	Nitrik oksit
NO ₂	Nitrit
NO ₃	Nitrat
NOHA	N ω -hidroksi-nor-L-arjinin
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
OAT	Ornitin Aminotransferaz
ODC	Ornitin Dekarboksilaz
ox-FFA	Okside Serbest Yağ Asitleri
ox-LDL	Okside Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
PAF-AH	Trombosit Aktive Edici Faktör Asetilhidrolaz
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
RAAS	Renin-Anjiotensin-Aldosteron Sistemi
RTS	Renal Therapy Services
RRT	Renal Replasman Tedavisi
SDBY	Son Dönem Böbrek Yetmezliği
TDMU	Tiyosemikarbazid-Diasetil Monoksim Üre
TGF- β	Transforme-edici Büyüme Faktörü-beta
TG	Trigliserid
T-K	Total Kolesterol
VCAM-1	Damar Hücresi Adezyon Molekülü-1
VKI	Vücut Kitle İndeksi

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Fosfolipaz A2 tarafından fosfolipidlerin hidrolizi	17
2.2. Lp-PLA2 tarafından okside fosfolipitlerin hidrolizi	18
2.3. Stabil plak-yırtılan plak karşılaştırılması	20
2.4. Zayıf plak oluşumunda Lp- PLA2'nin rolü	21
2.5. Lp-PLA2'nin çelişkili rolü	24
2.6. Memeli arjinin metabolizması	25
2.7. Arjinazın hidrolize ettiği arjininden ornitin ve üre oluşumu	26
2.8. Damar hastalıklarının arjinaz tarafından tetiklenmesini gösteren model	27
2.9. Nitrik oksit sentezi	29
2.10. Endotelyal nitrik oksit sentaz'ın uyarılması ve düz kas hücrelerine etkisi	30
2.11. Arjinaz ve NOS tarafından gerçekleştirilen L-Arjinin metabolizması	32
4.1. Çalışma gruplarının Lp-PLA2 düzeyleri	44
4.2. Çalışma gruplarının arjinaz aktiviteleri	45
4.3. Çalışma gruplarının nitrik oksit düzeyleri	46

TABLÖLAR

	Sayfa
2.1. KBH'nın Ulusal Böbrek Vakfı kılavuzlarına göre evreleri	2
2.2. Türkiye'de SDBY'nin nedenleri	3
4.1. Çalışma gruplarının demografik ve biyokimyasal bulguları	42
4.2. Kontrol grubu ve hemodiyaliz alt gruplarında biyokimyasal değişkenler	43
4.3. Çalışma gruplarının Lp-PLA2 düzeyleri	44
4.4. Çalışma gruplarının arjinaz aktiviteleri	45
4.5. Çalışma gruplarının nitrik oksit düzeyleri	46
4.6. Hemodiyaliz hastalarında Lp-PLA2 düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki korelasyonlar	47
4.7. Hemodiyaliz hastalarında arjinaz aktiviteleri ile diğer parametreler arasındaki korelasyonlar	47
4.8. Hemodiyaliz hastalarında nitrik oksit düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki korelasyonlar	48

1. GİRİŞ

Kronik böbrek hastalığı (KBH), dünyada ve ülkemizde epidemi halini almış önemli bir halk sağlığı sorunudur. Kronik böbrek yetmezliği (KBY), çeşitli hastalıklara bağlı olarak nefronların progresif ve geri dönüşümsüz kaybı ile karakterize olan bir sendromdur. Kronik böbrek hastalığının tüm evrelerinde kardiyovasküler hastalıklar (KVH) morbidite ve mortalitenin en önemli nedenini oluşturmaktadır. Pek çok araştırmacı tarafından kabul edilen görüşe göre, KVH'lar KBY'nin erken dönemlerinden itibaren oluşmaya başlamaktadır. Kronik böbrek hastalığının başlangıç dönemlerinde medikal tedavi ve diyet ile KBY'nin son evresi olan son dönem böbrek yetmezliğine (SDBY) ilerlemesi geciktirilmeye çalışılsa da, terminal dönemde mutlaka renal replasman tedavisi (RRT) olan diyaliz veya transplantasyona gerek duyulmaktadır. Aynı şekilde, diyaliz hastalarında KVH'ya bağlı ölümler genel popülasyona göre daha yüksektir.

Kardiyovasküler hastalığın gelişmesine yol açan hipertansiyon, hiperlipidemi, Diabetes Mellitus (DM) gibi risk faktörlerinin çoğu KBY'li hastalarda sıkça bulunmaktadır. Ayrıca üremik hastalarda zeminde var olan kronik inflamasyon da ateroskleroz gelişimi ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır.

Son yıllardaki çalışmalarla KBY'li hastalarda endotel disfonksiyonu olduğu gösterilmiştir. Endotel kaynaklı nitrik oksit (NO) endotel fonksiyonlarının sürdürülmesinde önemlidir. Endotel disfonksiyonu ile beraber NO sentezinin bozulması vasküler değişikliklerle birliktelik gösterir. Üre biyosentezinin son basamağını katalize eden, üre ve ornitin oluşturan arjinazın, substrat olarak L-arjinini kullanarak nitrik oksit sentaz (NOS)'la yarıştığı ve NO sentezini inhibe ederek, KVH'larla ilişkili olayların patogenezinde rol aldığı düşünülmektedir.

Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 (Lp-PLA2), hücre zarı ve lipoproteinlerin fosfolipidlerinin *sn*-2 ester bağınyı hidrolize edebilen hücreler arası ve sekretuar fosfolipaz enzimleri ailesinin bir üyesidir. Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2'nin inflamatuvar bir belirteç olarak aterogenezin patogenezinde rol alan ve bağımsız bir risk faktörü olduğunu gösteren çalışmalar artmaktadır.

Bu çalışmadaki amacımız, serum arjinaz aktivitesi ile Lp-PLA2 ve NO'nun, hemodiyaliz hastalarındaki, endotel disfonksiyonu ve kardiyovasküler riskteki olası rollerini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği

2.1.1. Tanım

Kronik böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon değerinde azalma sonucu, böbreğin sıvı-solüt dengesini ayarlama ve metabolik-endokrin fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma hali olarak tanımlanabilir (1). Böbrek yetmezliği olan bir olguda; üç aydan uzun süren azotemi, uzun süreli üremik belirti ve bulgular, renal osteodistrofi belirti ve bulguları, anemi, hiperfosfatemi, hiperkalemi, idrar sedimentinde geniş silindirler ve radyolojik incelemelerde bilateral küçük böbrekler kronik hastalık göstergeleridir. Bu özellikler KBY'yi akut böbrek yetmezliğinden ayırır (2).

İlerleyici olması nedeniyle KBY'nin hangi seviyede olduğunun saptanması, doğru tanı ve tedavinin düzenlenmesi için çok önemlidir. 2002 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde Ulusal Böbrek Vakfı (National Kidney Foundation) KBH ile ilgili bir kılavuz hazırlamıştır. Bu kılavuzda KBH 5 evreye ayrılır (Tablo 2.1):

Tablo 2.1.KBH'nın Ulusal Böbrek Vakfı kılavuzlarına göre evreleri

Evre	Tanım	GFR(ml/dk)
1	Normal veya artmış GFR ile birlikte böbrek hasarı	≥90
2	Hafif düşük GFR ile birlikte böbrek hasarı	60–89
3	Orta derecede düşük GFR	30–59
4	Ağır derecede düşük GFR	15–29
5	Son dönem böbrek yetmezliği	<15

Kronik böbrek yetmezliğinin erken evresinde sadece böbreğin fonksiyonel rezervinde azalma vardır, klinik belirti ve/veya bulgu yoktur. Orta evrede, yani böbrek yetersizliğinde azotemi oluşur ve bazı klinik belirtiler ortaya çıkabilirse de çoğunlukla hastalar asemptomatiktir. İleri evreye ulaşmış böbrek yetmezliğinde glomerüler filtrasyon oranı (GFR) 20–25 ml/dk'nın altına düşmüştür. Böbreğin ekskresyon, biyosentez ve regülasyon fonksiyonlarının büyük ölçüde bozulması klinik belirti ve bulguların ortaya çıkmasına neden olur. Son dönem böbrek yetmezliğinde, böbrek fonksiyonlarının ileri derecede kaybı sonucunda giderek artan

azotemi ve hemen hemen her organ sistemi ile ilgili belirti ve bulgular ortaya çıkar. Terminal dönemde ortaya çıkan bu klinik durum üremi olarak tanımlanır (2).

2.1.2. Epidemiyoloji ve Etyoloji

Amerika Birleşik Devletlerinde, yaklaşık 270.000 hasta diyaliz tedavisi görmekte ve ilave olarak 100.000 kişi de böbrek nakli ile yaşamlarına devam etmektedir (3).

Son 20 yılda SDBY insidansında dramatik bir artış olmuştur. Bunun yanında KBY'nin etyolojisinde göreceli bir değişim yaşanmıştır. Geçmişte KBY'nin en sık nedeni glomerülonefritler iken günümüzde diyabetik ve hipertansif nefropatilerdir. Etyolojideki bu değişimin nedeni, glomerülonefritlerin daha efektif tedavi edilmesi, diyabetik ve hipertansiyonlu hastalarda mortalitenin azalmış olmasıdır. Genellikle ömrün uzaması ve erken kardiyovasküler mortalitenin azalması KBY'li hastaların ortalama yaşını artırmıştır. Yaşlılarda KBY'nin en sık nedeni hipertansiyondur. İlerlemiş KBY'li hastaların çoğunda etiyoloji tespit edilemez (4).

Türkiye'de son dönem böbrek yetmezliği nedenleri ile ilgili en sağlıklı veriler Türk Nefroloji Derneği tarafından düzenlenmiştir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2 Türkiye'de SDBY'nin nedenleri

Hastalık	%
Diabetes Mellitus	27,2
Hipertansiyon	25
Kronik glomerülonefrit	7,5
Ürolojik hastalıklar	6,0
Polikistik böbrek hastalıkları	4,3
Sekonder glomerülonefrit/vaskülit	2,2
Pyelonefrit	3,6
Renal vasküler hastalık	1,8
Diğer nedenler	4,8
Belirsiz	17,7
Yetersiz bilgi	2,0

2.1.3. Fiziopatolojisi ve Klinik Özellikleri

Kronik böbrek yetmezliğinin fiziopatolojisi, altta yatan primer hastalığa özgü başlatıcı mekanizmalar içerir. Bunun yanında, fonksiyonel nefron kitesinin azalması sonucunda ortaya çıkan ve ilerleyici özellik gösteren mekanizmalar da mevcuttur.

Böbreğin fonksiyonel nefron kitlesinin azalması, sağlam nefronlarda fonksiyon artışına ve hipertrofiye neden olur. Bu kompensatuar hipertrofi, başlangıçta adaptasyon olarak gelişen hiperfiltrasyona bağlıdır ve vazoaktif moleküller, sitokinler ve büyüme faktörleri ile oluşturulur. Glomerüler hiperfiltrasyon ise glomerül kapiller basıncı ile birlikte plazma akımının artması ile gerçekleştirilir. Sonuçta kısa süreli bu adaptif değişiklikler geri kalan nefron kitlesinde skleroza zemin hazırlayan değişikliklere yol açar ki, bu da altta yatan hastalığa göre değişmeksizin glomerüllerde skleroza neden olur (4). Sağlam kalan nefronların fonksiyonlarını azaltan bu patolojik yol, altta yatan primer hastalık aktivitesini yitirse bile devam eder. Bu fizyopatolojik mekanizmada renin anjiyotensin aldosteron sisteminin (RAAS) aktivasyonu önemli rol oynar. İntrarenal RAAS aktifleşerek hem başlangıçtaki adaptif hiperfiltrasyona hem de ardından gelişen maladaptif hipertrofi ve skleroza katkıda bulunur. Renin anjiyotensin aldosteron sisteminin aktivasyonunun uzun süreli bu maladaptif etkileri, kısmen transforme edici büyüme faktörü-beta (TGF- β) gibi büyüme faktörleri ile oluşturulur (4).

Glomerüler filtrasyon oranının azalmasının bir göstergesi olarak serum üre ve kreatinin seviyesi yükselse bile, GFR normalin %30'una düşmediği sürece hastalar asemptomatik kalabilir. Bununla birlikte, çok dikkatli bir şekilde yapılan muayenede genellikle, böbrek yetmezliğinin erken klinik ve laboratuvar bulguları ortaya çıkarılabilir. Bunlar noktüri, hafif düzeyde anemi, hafif güç kaybı, iştah azalması ve beslenme bozukluklarıdır. Laboratuvar incelemelerinde ise kalsiyum ve fosfor anormallikleri saptanabilir. GFR % 30'un altına indiği zaman klinik belirtiler artar, böbrek yetmezliği ilerledikçe klinik tablo ağırlaşır ve biyokimyasal anormallikler gelişir. Karbonhidrat intoleransı, hiperürisemi, dislipidemi gibi metabolik anormallikler görülür (4).

Serum sodyum düzeyi normal veya azalmış, potasyum düzeyi normal veya artmış olabilir. Hipokalsemi ve hiperfosfatemi vardır. Serum parathormon düzeyi yükselmiştir. Metabolik asidoz görülür. İdrar dansitesi izostenüriktir (1008–1010). Oligüri vardır, terminal safha ise anüriktir. GFR 15 ml/dk'nın altına inince SDBY'den bahsedilir ve hastalar diyaliz, renal transplantasyon gibi RRT'ye ihtiyaç duyarlar (1).

2.1.4. Son Dönem Böbrek Yetmezliği Tedavisi

Kronik böbrek yetmezliğini oluşturan hastalıkların çoğunun, etkin ve özgün bir tedavisi yoktur. Periton diyalizi ve hemodiyaliz gibi yaşamı uzatan teknikler, organ transplantasyonu yapılmazsa, son dönem böbrek yetmezliğini ölümlerle sonuçlanmayan yegane majör organ yetmezliği haline getirmektedir (5).

Diyaliz; kandaki bazı toksik maddelerin yarı geçirgen bir zar aracılığıyla diyalizat adı verilen fizyolojik konsantrasyonda elektrolit içeren bir solüsyona geçmesidir. Hemodiyaliz makinesinin 3 önemli komponenti vardır.

- 1) Diyaliz membranı
- 2) Kan akımını sağlayan kan pompası
- 3) Diyalizat solüsyonu

Günümüzde hemodiyalizde diyaliz membranı olarak çoğunlukla selüloz veya kuprofan gibi yarı sentetik membranlar kullanılır. Kanın şekilli elemanları, plazma proteinleri, molekül ağırlığı büyük olan maddeler, bu membranlardan geçemezken, suda eriyebilen, plazma proteinlerine bağlı olmayan düşük molekül ağırlıklı maddeler membrandan difüzyon yolu ile geçerler.

Hemodiyalizin diğer bir alternatif şekli, periton zarının diyaliz membranı görevini gördüğü periton diyalizidir.

2.2. Diabetes Mellitus ve Kronik Böbrek Yetmezliği

2.2.1. Diabetes Mellitus (DM)

Diabetes 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 patojenik mekanizmalarla oluşan bir grup bozukluğun bileşiminden meydana gelmektedir. Sebebinden bağımsız olarak hastalık, insülin eksikliği olarak isimlendirilen hormonal bozukluk ile ilişkilidir. İnsülin eksikliği, total, parsiyel veya birlikte bulunan insülin rezistansı açısından bakıldığında, göreceli olarak yüksek de bulunabilir. Diyabetle ilişkili metabolik değişikliklerin oluşumunda insülin eksikliği primer rol alırken, sonuçta meydana gelen hiperglisemi de, hastalıkla ilişkili komplikasyonların gelişiminde önemli rol oynamaktadır (3).

Diabetes Mellitus Tiplerinin Sınıflandırılması;

- Tip 1 diyabet (Tip 1 DM)
- Tip 2 diyabet (Tip 2 DM)
- Gestasyonel diyabet
- Diğer spesifik diyabet tipleri olarak sınıflandırılır.

Diyabetik hastaların büyük bir kısmında zaman içinde çeşitli komplikasyonlar gelişmektedir. Diyabet kardiyovasküler hastalık için bağımsız bir risk faktörüdür ve güncel görüş, hipergliseminin küçük kan damarlarına doğrudan zarar vererek, nefropati, retinopati ve nöropatiyi içeren mikrovasküler komplikasyonlara yol açtığı yönündedir. Diyabetin makrovasküler komplikasyonları ise koroner kalp hastalığı, periferik damar hastalığı ve serebrovasküler hastalıklardır.

2.2.2. Diyabetik Nefropati (DN)

Diyabetik nefropati, diğer böbrek hastalıkları olmadan, diyabetli bir hastada sürekli olarak günde 300 mg'dan fazla albümin atılımıdır (6). Diyabetik nefropati; mikroalbüminüri, hastalık ilerledikçe ortaya çıkan aşikar proteinüri, GFR'de gittikçe azalma, sonunda böbrek yetmezliğine neden olan klinikle karakterizedir (7).

Diyabetik Nefropati Patogenezinde Poliol Yolu

Hiperglisemi nedeni ile poliol yolu normal değerdeki kan şekere göre daha aktif hale gelir. Hücre içi fazla glukoz, aldoz redüktazı aktive eder ve sonuçta hücre içi sorbitol birikmesine neden olur. Hücre içi osmotik basınç artar. Sorbitol birikimi, osmotik etkilerle piridin nükleotidlerinin redoks durumunu değiştirerek (NADH/NAD⁺ oranında ve protein kinaz C'de artış) hücre içi miyoinositol seviyesini azaltır. Bu durum doku hasarına neden olur. Devamlı hiperglisemi sonucu glukoz, proteinlerin amino gruplarına nonenzimatik olarak bağlanarak "*schiff baz*" içeren ürünleri oluşturur. Bu safha stabil amodori cisminin oluşumu olup geri dönüşümlü bir safhadır. Amodori cisminin çapraz bağlarla birleşmesi ile kalıcı ileri glikasyon son ürünleri (AGE) oluşur. Bu safha geri dönüşümsüzdür. İleri glikasyon son ürünlerinin diyabetik hastalarda böbrek glomerüllerinde ve tubuluslarda birikmesi, buralarda hasara sebep olmaktadır. AGE'ler ayrıca LDL, albümin, IgG, DNA, makrofaj, glomerüler tübüler epitelyal ve mezengial spesifik reseptörlerine bağlanarak serbest oksijen radikallerini ortaya çıkarırlar. Damar duvarında çapraz

bağlanma yaparak yıkıma daha fazla direnç kazanırlar ve bazal membran kalınlaşmasına yol açarlar. NO'yu inhibe ederek vazodilatasyonu bozabilirler. Makrofajlardan IL-1, TNF- α , IGF-1, TGF- β artışına sebep olarak endotel yüzeyinde koagülasyona ve tromboza zemin hazırlayabilirler. Vasküler düz kas ve matrikste Tip-IV kollajen artışına bağlı olarak proliferasyon ve glomerüler skleroza sebep olurlar (6,8).

Filtrasyon alanında ve nefron kitlesinde azalma, kalan nefronlarda daha yüksek kapiller akıma neden olur. Böylece intraglomerüler hipertansiyon, hiperfiltrasyon, ve bazal membrandaki selektif geçirgenlikteki değişiklikler ile hızlanan ilerleyici proteinüri oluşur. Bu süreç; sistemik hipertansiyona, renal vazodilatasyona ve glomerüler hipertansiyonun artmasına neden olan proteinden zengin diyetle hızlanır. Ayrıca renal fonksiyon bozuldukça sistemik ve glomerüler hipertansiyon artar ve kısır döngü oluşur (6).

Diyabetik Nefropati Gelişiminde Risk Faktörleri

Diyabetik nefropati gelişiminde en önemli faktör kan şekeri kontrolüdür. Diyabet Kontrolü ve Komplikasyon Klinik Araştırması (DCCT), Tip 1 DM'li 1441 katılımcıyı içeren ve mikrovasküler komplikasyon gelişimi üzerine yoğun ve konvansiyonel kan glukoz kontrolünün etkilerini karşılaştıran 9 yıllık bir takip çalışmasıdır. Bu çalışmada yoğun tedavi alan grupta mikrovasküler komplikasyonların azalması kan şekeri kontrolünün önemini desteklemektedir (9).

Son 10 yılda mikroalbüminüri kavramı sadece Tip 1 ve Tip 2 DM'de renal hastalığı tespit etmesi nedeniyle değil, aynı zamanda diyabetik popülasyon ve genel popülasyondaki erken ölüme yol açması nedeniyle de ilgi odağı olmuştur (10). Diyabetik nefropati gelişmesi ve progresyonunda diğer risk faktörleri hipertansiyon, hiperlipidemi, genetik faktörler, cinsiyet, sigara içimi, protein alım miktarı, diyabetin başlama yaşı ve süresidir (8,11).

Diyabetik Nefropatinin Tanısı

Tip 2 DM'li hastalarda DN araştırılmasına tanı sırasında başlanmalıdır, çünkü bu hastaların % 7'sinde mikroalbüminüri mevcuttur. Tip 1 DM'li hastalarda DN araştırılmasına tanıdan 5 yıl sonra başlanması önerilmektedir.

Diyabetik nefropatinin tanısında ilk basamak, spot idrar örneğinde albüminüriyi ölçmektir. İdrar örneği sabah ilk idrarı veya herhangi bir zamanda alınmış idrar olabilir. Bu metot hassas ve kolay bir metot olup American Diabetes Association (ADA) tarafından önerilmektedir. 24 saatlik idrar toplamak zordur. Diyabetik nefropatinin en erken tanısı idrarda normal olmayan miktarda albümin görülmesi ile konur ($\geq 300\text{mg/gün}$ veya $\geq 200\mu\text{g/dakika}$ veya $\geq 30\mu\text{g/mg}$ kreatinin). Mikroalbüminüriden DN'ye ilerleme hızı Tip 1 DM için yılda % 4, Tip 2 DM için yılda % 4,7'dir. Tip 1 DM'de mikroalbüminüriden DN'ye ilerleme süresi ortalama 8 yıldır (12).

Diyabetik Nefropatinin Evreleri

Evre – I	Hiperfiltrasyon dönemi
Evre – II	Normofiltrasyon dönemi
Evre – III	Mikroalbüminüri dönemi
Evre – IV	Aşıkak böbrek yetersizliği dönemi
Evre – V	Son dönem böbrek yetersizliği dönemi.

Diyabetik nefropati; idrardaki albümin konsantrasyonuna göre de 3 gruba ayrılır (6).

Normoalbüminüri (NA) $<30\text{ mg/gün}$

Mikroalbüminüri (MİA) $30\text{-}300\text{mg/gün}$

Makroalbüminüri (MAA) $>300\text{mg/gün}$

2.2.3. Diyabetin Makrovasküler Komplikasyonları

Diyabetteki aterosklerotik süreç, diyabetik olmayan popülasyondakinden farksızdır, ancak daha erken başlar ve çok daha ciddidir. Garber'in yaptığı çalışmada (13) Tip 2 DM'li hastaların % 50'sinden fazlasında tanı anında, önceden bilinen koroner arter hastalığı olduğu bulunmuştur.

Bozulmuş glukoz toleransı, hipertansiyon, endotel disfonksiyonu, hiperlipidemi, obezite gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin diyabetteki hızlanmış ateroskleroz ve kardiyovasküler risk artışına katkısı olduğu bilinmektedir. Miyokart enfarktüsü (MI) gelişme riski her yaşta artmıştır (14). Bu nedenle 'National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP, ATP III) diyabeti kardiyovasküler risk faktörleri içerisinde koroner arter hastalığı eşdeğeri kabul

etmiştir (15). Diabetes mellitus, değiştirilemeyen faktörler arasında ateroskleroz açısından en güçlü risk faktörüdür.

Diyabette görülen hiperglisemi, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve diğer lipoproteinlerin glikozillenmesini kolaylaştırarak daha kolay okside olmalarına ve daha aterojenik etkinlik göstermelerine yol açar.

İngiltere Prospektif Diyabet Çalışması (UKPDS), çeşitli hipoglisemik ajanlarla sıkı kan şekeri kontrolünün kardiyovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar üzerine etkisini araştırmak amacıyla, 5102 yeni tanılı Tip 2 DM hastasının 10 yıl boyunca takip edilmesiyle gerçekleştirilmiş büyük bir çalışmadır (16,17). Bu çalışmada, HbA1c'nin ortalama %7,9'dan %7'ye düşürülmesi halinde mikrovasküler komplikasyonlarda yaklaşık olarak % 25 azalma olmasına rağmen, MI riskinde sadece % 16'lık bir azalma gözlenmiştir.

Günümüzde diyabetik hayvanlar ve insanların damarlarında gözlenen üç temel mekanizma ortaya çıkmıştır; proteinler ile lipitlerin enzimatik olmayan glikozilasyonu, oksidatif stres ve protein kinaz C aktivasyonu. Bu mekanizmaların bağımsız olmaması önemlidir. Örneğin, hiperglisemi tarafından indüklenen oksidatif stres, AGE oluşumunu ve protein kinaz C aktivasyonunu hızlandırmaktadır.

Diyabette görülen hızlanmış aterosklerozdan sorumlu önemli mekanizmalardan birisi de arter duvarındaki glukoz ve proteinler arasındaki enzimatik olmayan reaksiyondur.

İleri glikasyon son ürünleri, reseptöre bağımlı olmayan ve reseptör aracılı olarak sınıflandırılan ters mekanizmalar ile aterosklerotik süreci hızlandırırlar.

İleri glikasyon son ürünlerinin, inflamasyonu hızlandırıcı etkisi, hücrel proliferasyonu indükleyici etkisi, endotel disfonksiyonuna yol açan etkisi reseptör aracılı mekanizmalar ile meydana gelmektedir (18).

İleri glikasyon son ürünlerinin ekstrasellüler matriks üzerine etkileri (kollajen çapraz bağlanması, LDL'nin subendotele tutunması), lipoprotein modifikasyonları üzerine etkisi (LDL glikozillenmesi, LDL'nin oksidatif modifikasyona duyarlılığındaki artış) reseptör aracılı olmayan mekanizmalar ile gerçekleşir (18).

Diyabette görülen hiperglisemi, hiperinsülinemi, hipertansiyon ve artmış yağ asitleri endotelde olumsuz metabolik değişikliklere neden olmakta ve bu durum aterosklerozun gelişiminden yıllar öncesinde ortaya çıkmaktadır. Uzun süreli

hiperglisemi serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına ve dolayısıyla artmış oksidatif strese neden olmakta, bunun sonucu olarak endotelde nitrik oksit yapımı azalırken, endotelin ve anjiyotensin II yapımı artmakta, trombotik faktörler aktive olmaktadır.

Diyabetin üzerine nefropati eklendiği durumlarda, diyabette mevcut olan aterojenik mekanizmaların etkisi fazlalaşır. Nefropati renal bozukluğun şiddetine bağlı olarak dolaşımdaki ve dokulardaki AGE'lerin hızlanmış birikimine neden olur.

Proteinürisi olan diyabetli hastalarda koroner arter hastalığı (KAH) gelişme riski, renal komplikasyonları olmayanlara göre daha yüksektir. Stehouwer ve ekibinin yaptığı çalışmada (19) hastalar uzunca bir süre izlenerek ve bu mikroalbuminürik hastalardaki albuminürinin ilerleme oranının, özellikle koroner kalp hastalığı nedeni mortalitenin bağımsız ve güçlü bir belirleyicisi olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden diyabette görülen mikroalbuminüri sadece renal hastalık için bir gösterge değil, aynı zamanda güçlü bir KAH risk göstergesidir.

2.3. Son Dönem Böbrek Yetmezliği ve Kardiyovasküler Hastalık

Böbrek bozukluğu olan hastalar, kardiyovasküler morbidite ve mortalite açısından yüksek risk taşırlar, bu durum belirgin böbrek disfonksiyonunun karakteristiği olan hızlanmış aterogenezin bir sonucudur (20).

Son dönem böbrek yetmezliğinde kardiyak mortalite tüm ölümlerin yaklaşık olarak yarısından sorumludur ve bunların % 50'sinden fazlası akut miyokart enfarktüsü sonucu gerçekleşmektedir ve bu oran genel popülasyonda gözlenen insidansın üç ila beş katını oluşturmaktadır (21).

Renal hastalık ve bu hastalığın neden olduğu kardiyovasküler mortalite arasındaki ilişkinin daha çok orta derecede renal bozukluk olan bireylerde belirgin olduğu ve aslında KBY'nin 3 ve 4. aşamasındaki hastaların çoğunun (yani GFR < 60 mL/dk her 1.73 m²) SDBY'e ilerlemeden KVH'lar nedeniyle öldükleri yapılan çalışmalarda açıklanmıştır (22). Çok sayıda çalışma, renal disfonksiyon ile artan kardiyovasküler morbidite ve mortalite arasındaki ilişkinin en hafif derecedeki renal bozukluğu da içeren renal disfonksiyona kadar uzandığını göstermiştir. 65.604 kişilik bir Norveç çalışmasında 2–3. evre KBY hastalarının son dönem böbrek hastalığına ilerlemede az bir risk taşımalarına rağmen yüksek kardiyovasküler ölüm riskine sahip oldukları gösterilmiştir (23).

Bilinen (Framingham) risk faktörleri (yaş, yaşam tarzı, sol ventriküler hipertrofi, dislipidemi, hipertansiyon ve şeker hastalığı) hafif veya orta şiddette KBY'li hastalarda kardiyovasküler mortaliteyi predikte eder (24).

İnflamasyon, endotel disfonksiyonu, sempatik aşırı aktivasyon, oksidatif stres, vasküler kalsifikasyon, anemi, volüm yüklenmesi, kalsiyum fosfor metabolizmasının bozulması ve metabolik ürünlerin muhtemel birikmesi (AGE, ADMA, homosistein) gibi KVH'nın yeni risk faktörleri bu hastalarda oldukça yaygındır ve vasküler hastalık için genel popülasyondakinden çok daha fazla önemli rol oynar (25,26).

Böbrek yetmezliği olan hastaların pek çoğuna eşlik eden hipertansiyon, KVH için güçlü bir risk faktörüdür. Böbrek hastalığı olan deneklerde RAAS aktivasyonu kan basıncının yükselmesinde en önemli mekanizmalardır. Böbrek yetmezliğinde görülen endotel disfonksiyonu ve kan damarlarının yeniden şekillenmesi, vasküler komplikasyonları artırmakla kalmaz, kan basıncının da yüksek seyretmesine neden olur (22).

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda lipit metabolizması bozukluğu sık karşılaşılan bir durumdur ve kardiyovasküler olayların artmasına katkıda bulunur. Bu bozukluk en çok nefrotik sendromda görülür.

Böbrek disfonksiyonu, damarsal bütünlüğün tüm aşamalarının bozulmasına katkıda bulunur ve böylece kanama ve trombo-inflamatuar durum riskini artırır. Üremi, doku plazminojen aktivatör artışı ve Von Willebrand faktör salınımı ile birlikte, kronik endotel hasarına neden olur (18). Kronik böbrek yetmezliği, IL-1, TNF- α ve fibrinojen düzeylerindeki artış ile karakterize bir proinflamatuvar durum ile ilişkilidir (18). Son dönem böbrek yetmezliği olanlarda bu inflamatuvar sürecin klinik göstergesi olarak C-reaktif protein (CRP) yükselmesi koroner arter hastalığında 5,5 kat ve kardiyovasküler nedenli ölümlerde 4,5 kat risk artışı ile ilişkilidir (27). IL-6, IL-18, albümin, lökosit, fibrinojen, miyeloperoksidaz, pentraksin-3 gibi dolaşımda düzeyleri yükselmiş inflamasyon belirteçleri KBY'de kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkilidir (28). Kronik böbrek yetmezliği hastalarında kronik inflamasyon pek çok faktöre bağlı olabilir. Bunlar arasında altta yatan üremi, ateroskleroz, DM, tekrarlayan infeksiyonlar, diyaliz ve diyalizattan endotoksin transferi gibi komorbid durumlar sayılabilir (29).

İnflamasyon ve/veya malnutrisyonun negatif akut faz reaktanı ve belirteci olan serum albümininin, KBY evre 4 hastalarında mortalitenin ve KVH'nın bağımsız bir belirleyicisi olduğu, fakat daha hafif KBY hastalarında bu tip birlikteliğin tanımlanmadığı Shah ve ekibinin yaptığı çalışmada açıklanmıştır (30).

Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda gözlenen ikincil hiperparatiroidizm, aterosklerotik sürecin oluşması ve hızlanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Serum kalsiyum ve fosfat düzeyleri de birçok çalışmada KVH için risk belirteçleri olarak kabul edilmeye başlanmıştır (31).

Kronik böbrek yetmezliği hastalarının plazmalarında, üreminin prooksidan durum olduğunu gösteren oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri yükselmiştir (32).

Kronik böbrek yetmezliği gelişiminin erken dönemlerinde reaktif oksijen ürünlerinin temizlenmesinde azalmaya yol açan antioksidan savunma sistemindeki birçok bozukluğun proaterojenik etkileri olan oksidatif strese yol açtığı gösterilmiştir (33,34).

2.4. Ateroskleroz

Gelişmiş dünya ülkelerinde ateroskleroz, komplikasyonları ile birlikte önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir.

Ateroskleroz, primer olarak intimada değişikliklerin olduğu, media ve adventisyada ise reaktif değişikliklerin görüldüğü bir hastalıktır. İntimanın, lipitler ve inflamatuvar hücreler tarafından infiltrasyonu değişik derecelerde fibrozis gelişimine yol açar (35). Arteryal travma, medial düz kas hücrelerinin, intima içine göç eden fibroblastta benzer tamir hücrelerine fenotipik modülasyonunu içeren bir iyileşme reaksiyonu başlatır. Bu hücreler, intima içinde proliferer olur ve ekstrasellüler matriksi oluştururlar. Zarar damarın içinden de gelse, dışından da gelse, bu reaksiyon aynıdır.

Ross ve Glomset 1976 yılında, ateroskleroz patogenezi için hasara yanıt hipotezini öne sürmüşlerdir (36). Lipoprotein kaynaklı lipitlerin ve özellikle oksidatif olarak modifiye olan lipitlerin birikmesinin arteri hasara uğrattığına ve düz kas hücresine bağımlı tamir sürecini başlattığına inanılmaktadır. Bu durum, diğer iyileşme reaksiyonlarında görülen skar dokusuna benzeyen intimal plakların oluşmasına yol açar.

Ateroskleroz, arterleri düzenli bir şekilde tutmaz, fokal bir hastalıktır. Hastalığın fokal olma özelliği, ateroskleroz gelişmesi açısından, sistemik risk faktörlerinin (hiperlipidemi, HT, diyabet, sigara vs.) lokal faktörlerle uyum içinde etki etmesi gerektiğini açık bir şekilde göstermektedir. Bu lokal faktörlerden biri, kan akımı tarafından oluşturulan shear stresdir. Aterosklerotik plaklar, daha çok lümen yüzeyi ile LDL gibi kandaki partiküller arasında etkileşim süresinin artmış olduğu, düşük shear stresi bulunan dallanma bölgelerine yakın yerlerde yerleşirler. Bu durum, lipoproteinlerin transendotelyal difüzyonunda artışla ilişkilidir. Vasküler permeabilite üzerinde etkisi olabilecek diğer bir risk faktörü homosisteinemidir, çünkü homosisteinin yüksek konsantrasyonları, endotel tabakasındaki hücrelerde hasara neden olabilir (37).

Aterosklerozun klinik semptomları, plak gelişimi ve büyümesinden ziyade, oluşmuş plakların dejenerasyonu ve rüptürü ile ilişkilidir. Buna uygun olarak, bilinen koroner kalp hastalığı olan hastalarda, ateroskleroz tedavisi, primer olarak plak stabilizasyonu üzerinde odaklanmalıdır. Lipit düşürücü maddeler (statinler) kullanılan çalışmalardan elde edilen deneyimler, plak stabilizasyonunun kardiyovasküler olayların azalmasından sorumlu majör bir faktör olabileceğini de göstermektedir (37).

2.4.1. Aterosklerozun Histopatolojisi

3 tip aterosklerotik plak tarif edilmiştir.

- Yağlı çizgilenmeler
- Fibröz plaklar
- Komplike lezyonlar

Yağlı çizgilenmeler, çok sayıda lipit damlacıkları ile dolu makrofajların (köpük hücreleri) intimada birikmesinden oluşurlar. Makroskopik incelemede, kan akım yönünü takip eden sarı çizgiler şeklinde görülür.

Fibröz plaklarda, lipitler hem köpük hücrelerinde, hem de ekstrasellüler matriks içinde bulunurlar. İntima, düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin birikmesine bağlı olarak kalınlaşmıştır. Düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriks, subendotelyal bölgede daha fazla miktarda bulunur ve plağın daha derin olan bölümünde, lipit ve inflamatuvar hücreleri kaplayan fibröz bir şapka oluşturur.

Fibröz plaklar, damarın lümenini önemli derecede daraltacak kadar büyüseler bile, sağlam kaldıkları sürece, majör klinik semptomu neden olmadıklarına inanılır. Ancak fibröz plaklar, bir taraftan lipit ve inflamatuvar hücrelerin miktarı ile diğer taraftan fibröz doku miktarı arasındaki dengeye bağlı olarak heterojendirler. İnce fibröz şapka, lipit ve inflamatuvar hücrelerden oluşan büyük bir çekirdeğe sahip olan plakların yırtılma riski yüksektir.

Komplike lezyonlar lipitler, inflamatuvar hücreler ve fibröz dokuya ek olarak hematoma veya kanama ve trombotik depozitler de içeren plaklardır. Komplike lezyonlar daha çok fibröz plağın yırtılması sonucu gelişirler. Fibröz şapka ve luminal yüzeyde fissürler, erozyonlar ve ülserasyonlar, diğer sık görülen özelliklerdir. Koroner ateroskleroza bağlı morbidite ve mortalite, esas olarak bu lezyonlara bağlıdır (38).

2.4.2. Aterosklerozun Patogenezi

Düşük Dansiteli Lipoprotein Birikmesi ve Modifikasyonu

Plazmada LDL düzeyleri yükseldiği zaman, çok miktarda LDL endotelyumdan geçerek intimaya gider. Transendotelyal permeabilitenin arttığı arteriyel ağacın dallanma bölgelerinde bu süreç hızlanır. LDL'nin intimadan eliminasyonu sınırlıdır, çünkü bu bölgede mikrodamarlar eksiktir. Bu nedenle, LDL ekstrasellüler matriks içinde tutulur (38).

LDL, intimada agregasyon, oksidasyon ve LDL komponentlerinin degradasyonunu içeren bir seri modifikasyona uğrar. Bunlar, LDL partikülü üzerine oksidatif bir saldırı ile açıklanabilir (39).

İnflamatuvar Hücrelerin Toplanması

LDL'nin oksidasyonu, lizofosfatidilkolin (LPC) gibi modifiye lipitlerin salınımına yol açar. Bu lipit türlerinin bazıları, endotel hücrelerini aktive eden sinyal molekülleri olarak rol oynayabilir. Bu durum lökosit adezyon molekülü olan, damar hücresi adezyon molekülü-1'in (VCAM-1) ekspresyonuna yol açar. VCAM-1, monositler ve T-lenfositler için bir reseptördür. VCAM-1'in bağlanması, monositlerin ve T hücrelerinin, lipit birikim ve modifikasyon bölgelerinde, endotelyal yüzeye yapışmasına yol açar.

Kemokinler (kemotaktik sitokinler), makrofajlar, endotelial hücreler ve düz kas hücreleri tarafından üretilir. Bunların indüksiyonu, lipit birikimi ve oksidasyonu ile ilişkilidir. Ayrıca, okside kolesterol agregatları, kemotaktik sinyalleri de üreten kompleman aktivasyonunu da uyarır. Her iki uyarı, mononükleer hücrelerin, endotel tabakasının intersellüler yarıklarından, subendotelial intima içine göçünü başlatır. İntimada monositler makrofajlara dönüşür. Bu süreç, aktive damar hücreleri tarafından üretilen sitokin monosit koloni uyarıcı faktör (M-CSF) tarafından başlatılır.

Köpük Hücre Oluşumu

Makrofaj, aterosklerotik lezyonun oluşmasında çok önemli bir rol oynar. Okside lipoproteinleri içine alma kapasitesi nedeniyle, kolesterolü biriktirir ve lipit dolu köpük hücresine dönüşür. Köpük hücresi, aterosklerozun prototip hücresidir. Erken evrede, köpük hücreleri kolesterolü endotel yüzeyine geri taşıma kabiliyetine sahiptir. Geri endotel hücre yüzeyine taşınan kolesterol, dolaşımdaki yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) tarafından bağlanarak karaciğere taşınabilir, bu işleme ters kolesterol transportu denilebilir (40).

Okside LDL'de bulunan kolesterol esterleri, hidrolize olur ve serbest kolesterol sitoplazma içine kaçar. Sitolitik enzimler tarafından yeniden esterifiye olur ve kolesterol ester havuzu makrofaj içinde intrasellüler damlacıklar oluşturmaya başlar. Okside LDL'nin alınımının devam etmesiyle makrofaj, lipit yüklü köpük hücresine dönüşene kadar bu lipit damlacıkları birikir. Yağlı çizgilenme, sağlam endotelde, köpük hücrelerinin bir miktar T-hücresi ile birlikte ekstrasellüler matrikste birikmesidir.

Yağlı çizgilenmenin klinik önemi yoktur. Ancak, bazı yağlı çizgilenmeler, gerçek aterosklerotik fibrin ve yağ içeren plaklara dönüşürler. Düz kas hücreleri subendotelial aralığa göç ederler, bölünürler ve ekstrasellüler matriksi sentezlerler. Sonuçta lezyonun lipit dolu çekirdeğini endotelial yüzeyden ayıran fibröz bir şapka oluşur. Fibröz şapka oluşumunu başlatan uyarılar, muhtemelen düz kas aktivasyonunu uyararak etki ederler. Lipit çekirdek, fiziksel olarak endotelial yüzeyden ayrılmıştır ve plak stabilize olmuştur (40).

2.4.3. Ateroskleroz Risk Faktörleri

Klasik Risk faktörleri

- **Değiştirilemeyen risk faktörleri**

Yaş

Cinsiyet

Aile hikayesi

- **Değiştirilebilen risk faktörleri**

Hiperlipidemi

Renal yetersizlik

Sigara

C-Reaktif protein

Hipertansiyon

Fibrinojen

Diyabet

Homosisteinemi

Metabolik sendrom

Lp (a)

Obezite

Lp-PLA2

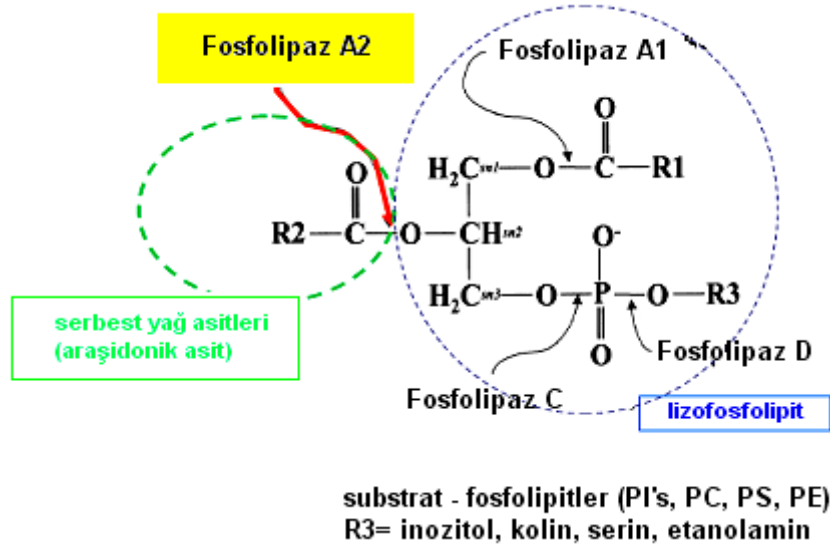
Yaşam tarzı

2.5. Fosfolipazlar

Hücre membranının ana bileşeni fosfolipitlerdir. Fosfolipidler azot içeren polar grubun fosfodiester köprüsüyle 1,2- diaçilgliserol 3-fosfat (fosfatidik asit)'a bağlanmasıyla oluşmuş lipidlerdir. Gliserol iskeletinden türeyen bu moleküller *sn-1* ve *sn-2* pozisyonunda uzun zincirli yağ asitlerini taşırlar. *Sn-2* pozisyonunda genellikle doymamış yağ asitleri bulunur. *Sn-3* pozisyonunda fosfat içeren bir baş grup ve bu gruba bağlı fosfolipidin yapısına göre R₃ pozisyonunda serin, etanolamin, kolin veya inozitol grupları içerir. Membran fosfolipidlerinin sürekliliği ve sayısı fosfolipazların aktivitesine bağlıdır. Bu enzimler öyle spesifikler ki, her enzim ailesi fosfolipid iskeletindeki spesifik bir bağın hidrolizini katalizler (Şekil 2.1).

Fosfolipaz A1 ve A2 sırasıyla gliserolün *sn-1* ve *sn-2* pozisyonundaki ester bağlarını hidroliz etmektedirler. Fosfolipaz C ve D ise şekilde gösterilen fosfodiester bağlarını hidroliz eden fosfodiesterazlardır.

A tipi fosfolipazlar, yağ asitlerini uzaklaştırarak lizofosfolipidi oluşturmaktadırlar. Fosfolipaz A₂'ler etki şekillerine göre karboksilik asit esterazdırlar, özellikle yılan ve arı zehrinde ayrıca pankreatik sıvılarda, insan ve hayvanların farklı dokularında bulunurlar (41).



Şekil 2.1. Fosfolipaz A2 tarafından fosfolipidlerin hidrolizi

2.5.1. Fosfolipaz A2

Fosfolipaz A2 spesifik olarak gliserofosfolipidlerin *sn*-2 pozisyonundaki ester bağınyı hidrolize ederek bir serbest yağ asidi ve bir lizofosfolipid oluşturur. Tüm fosfolipaz A2'ler üç grup altında incelenebilir.

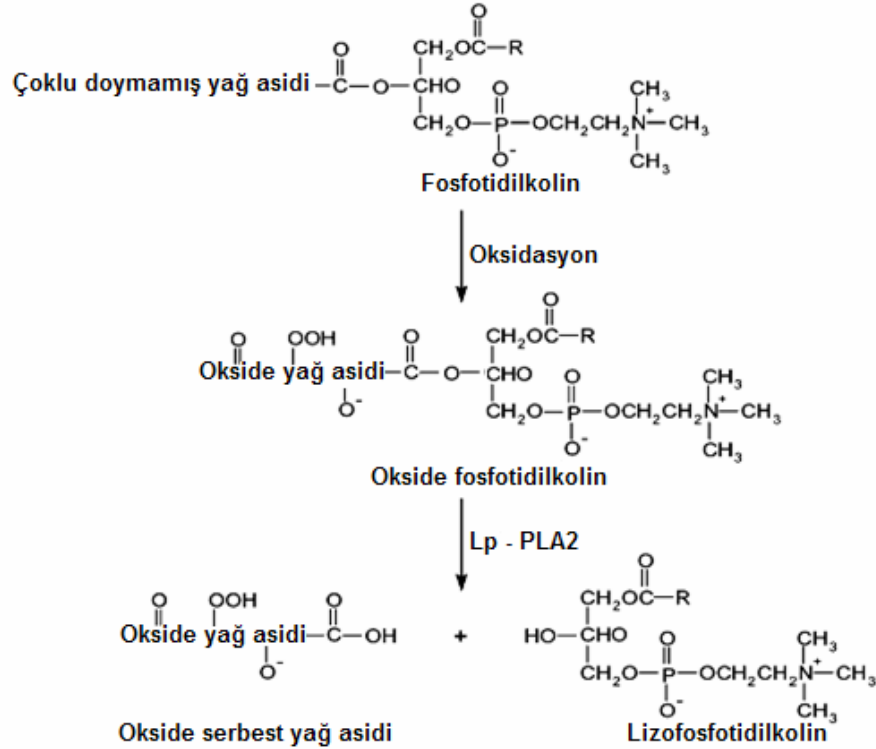
1. Sitoplazmik Ca^{+2} bağımlı fosfolipazA2 (cPLA2)
2. Salgılanan düşük molekül ağırlıklı fosfolipazA2 (sPLA2)
3. Lipoprotein ilişkili fosfolipazA2

Lipoprotein ilişkili Fosfolipaz A2 (Lp-PLA2)

İnflamasyonun, aterotrombotik hastalığın hemen tüm safhalarında önemli bir rol oynadığı artık kabul edilmektedir (41).

Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 (EC: 3.1.1.47), son zamanlarda kardiyovasküler olaylarda bağımsız bir inflamatuvar belirteç olarak öne çıkmıştır. Lp-PLA2 hücre zarı ve lipoproteinlerin fosfolipidlerinin *sn*-2 ester bağınyı hidrolize edebilen hücreler arası ve sekretuar fosfolipaz enzimleri ailesinin bir üyesidir (42). Aynı zamanda platelet aktive edici faktör asetilhidrolaz (PAF - AH) olarak bilinen Lp-PLA2; 441 aminoasitten oluşan 45 kDa'luk Ca^{+2} 'dan bağımsız bir serin lipazdır (43). Lp-PLA2 aterosklerotik plaklarda ve rüptüre meyilli lezyonların fibröz başlıklarındaki makrofajlarda eksprese edilir (44). Lp-PLA2 invitro platelet aktive edici faktör'ü hidroliz edici etkisine ek olarak, arter duvarının etrafında LDL

oksidasyonu ile üretilen okside LDL'deki modifiye fosfolipidlerin, LPC ve okside yağ asitlerine (oxFFA) hidrolizini de gerçekleştirir (35,42,45,46) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Lp-PLA2 tarafından okside fosfolipitlerin hidrolizi

Önceki araştırmalarda Lp-PLA2'nin yaklaşık % 80'inin LDL'ye % 20'sinin HDL'ye bağlandığı gösterilmiştir. Ancak daha sonra, LDL ve HDL partikülleri arasındaki Lp-PLA2 dağılımının rapor edilenlerden daha değişken olabileceği açıklanmıştır (47). HDL ve LDL partikülleri arasındaki Lp-PLA2 dağılımının plazma Lp-PLA2 aktivitesini etkileyen glikozilasyon boyutuna bağlı olarak değiştiği kanıtlanmıştır (48).

Hastalığı tespit etmek için HDL ve LDL'ye bağlı Lp-PLA2'nin dağılımını karşılaştıran bir çalışma sadece LDL'ye bağlı Lp-PLA2'nin koroner arter hastalığını tespit ettiğini göstermiştir. HDL'ye bağlı Lp-PLA2 açısından koroner arter hastalığı olanlar ve kontrol grubu arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir (49).

Yeni çalışmalar, LDL havuzu içinde Lp-PLA2'nin küçük yoğun LDL ile birleşmeyi tercih ettiğini ortaya koymuştur (50). Çünkü küçük yoğun LDL'nin

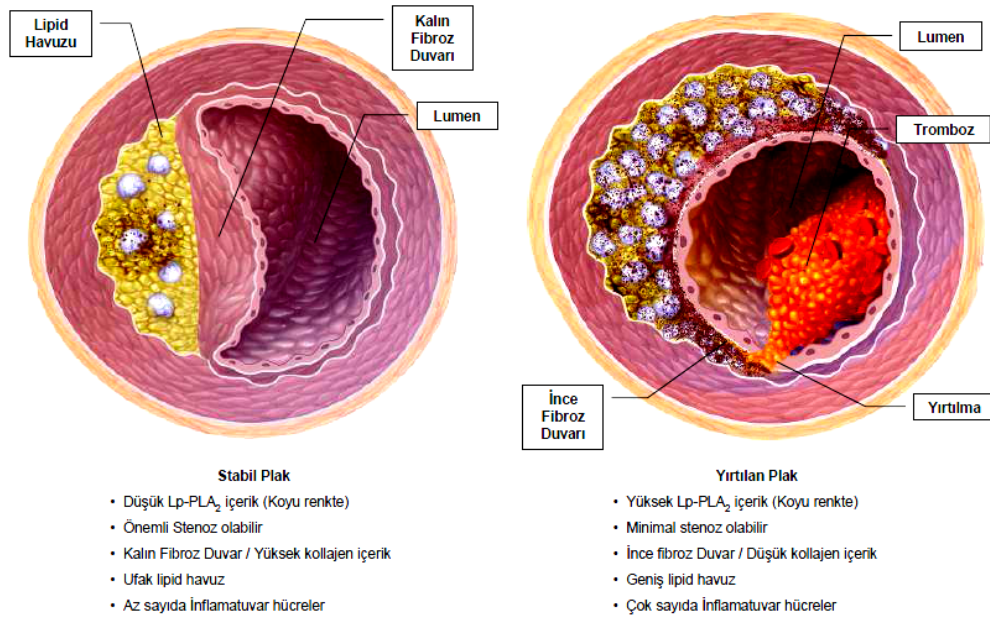
oksidasyona artmış hassasiyeti vardır ve bu durumun Lp-PLA2 ile desteklenmesi küçük yoğun LDL'nin aterojenitesine yardımcı bir faktör olabilir (51).

Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 enziminin aktivitesi küçük yoğun LDL ve elektronegatif LDL türlerinde artar (50). Elektronegatif LDL, okside olmuş lipid içeriği nedeniyle endotel hücreleri için toksiktir ve artmış elektronegatif LDL seviyeleri ateroskleroz riski artışını da beraber getirir (52).

Benzer şekilde okside olmuş LDL'ninde ateroskleroz riskini artırdığı gösterilmiştir. Okside olmuş LDL ya da onun okside fosfolipidi, Lp-PLA2 için substrattır. Bu nedenle, yüksek okside fosfolipid ve yüksek Lp-PLA2 olan hastalarda kardiyovasküler risk yüksek olacaktır. Bu bulgu, İtalya Bruneck'de (53) 10 yıl takipli, yaşları 40–79 arasında değişen 765 kadın ve erkek hastayı kapsayan ve kardiyovasküler olay riskini araştıran prospektif bir çalışmada elde edilmiştir. Bruneck çalışmasında artmış Lp (a) ve Lp-PLA2 kardiyovasküler olaylar için hemen hemen 4 katı risk oranı göstermiştir.

LDL'nin oksidasyon derecesi arttıkça LPC konsantrasyonu da artar. LDL partiküllerinin yüzeyindeki fosfolipid okside olduğunda Lp-PLA2 okside fosfolipidi hidrolize eder; bu şekilde 2 adet inflamasyon kaskadı oluşur; OxFFA ve LPC. Okside serbest yağ asitleri ve LPC, endotel hücreleri, plak bazlı makrofajlar ve diğer lökositler tarafından sitokin ve adezyon moleküllerinin oluşumunu uyarır (54). Lizofosfotidilkolinin bir monosit kemoatraktanı olarak etki gösterdiği, düz kas ve makrofaj proliferasyonunu tetiklediği, arteryal endotel fonksiyonunu bozduğu, makrofaj ve düz kas hücreleri üzerine toksik ve apoptotik etkisi olduğu ve oksitlenmiş LDL'nin antijenitesini artırdığı gösterilmiştir (55-57).

İn vitro çalışmalarda periferik mononükleer hücreler ve trombositlerin de Lp-PLA2 üretebildiği gösterilmiş olsa da, in vivo ortamda Lp-PLA2 büyük çoğunlukla intimadaki makrofaj ve köpük hücreleri tarafından üretilir (58). Erken ve geç dönem plakların bütününde Lp-PLA2'ye karşı bir monoklonal antikor kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmalar Lp-PLA2'lerin makrofajlarla bir arada lokalize olduğunu ve özellikle de nekrozlu bölge ve çevresinde yerleştiğini doğrulamıştır (44). İnce fibröz şapkalı ve yırtılmaya meyilli plak lezyonlarının yoğun Lp-LPA2 boyaması göstermesi, Lp-PLA2'nin ürünlerinin plak dayanıksızlığını teşvik eden bir rol oynadığını ortaya koyar (Şekil 2.3).



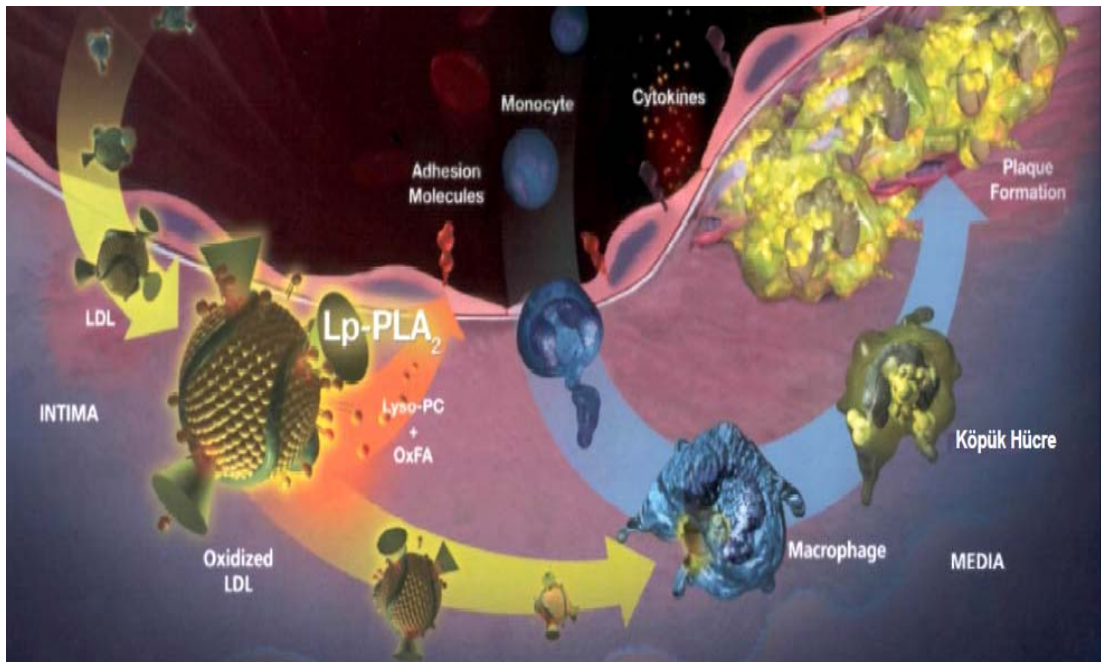
Şekil 2.3. Stabil plak - yırtılan plak karşılaştırılması

Lavi ve ekibi, aterosklerotik damardan aterosklerotik olmayan koroner damar yatağına akan kanda Lp-PLA₂ üretimini araştırmak için, in vivo bir çalışma yapmıştır (59). Bu çalışmada minimum (% <0) koroner anjiyografik stenozu olan 30 hastada aortun koroner dalından ve eş zamanlı olarak koroner sinüsteeki koroner döngünün venöz kısmından kan örnekleri alınmıştır. Koroner döngüye giriş ve koroner sinüsteeki Lp-PLA₂ seviyeleri arasındaki fark, kan koroner döngüden geçerkenki Lp-PLA₂ üretimi ya da emilimini yansıtmaktadır. Daha önceden gözlemlendiği gibi Lp-PLA₂ okside fosfolipidlerin *sn*-2 yağ asitlerini hidrolize ettiği zaman hem LPC hem de oxFFA oluşur. Lizofosfatidilkolin endotel disfonksiyonuna eşlik ettiği için koroner damar yatağındaki LPC düzeyleri de ölçülmüştür. Bu çalışmada ateroskleroz vakalarını kontrollerden ayırmak için 3 boyutlu damar içi ultrasonu kullanılmıştır. Sonuçlar in vivo şartlarda, koroner arterlerdeki aterosklerotik plağın, hem Lp-PLA₂ hem de LPC'nin lokal üretimini sağladığını göstermiştir. Ateroskleroz olmayan gruba karşı aterosklerozlu hasta grubunda net Lp-PLA₂ oluşumu saptanmıştır. Bu çalışma, Lp-PLA₂ enziminin hastalığın erken evrelerinde var olduğu iddiasını desteklemektedir. Ayrıca aterosklerotik arterlerde üretilen Lp-PLA₂ miktarı ile 3 boyutlu damar içi ultrasonu ile ölçülen aterom hacim yüzdesi arasında istatistiki açıdan önemli bir bağlantı tespit edilmiştir. Aterosklerotik

plaktan net koroner CRP üretimi olmaması, CRP'nin sistemik inflamasyon belirleyicisi olduğu hipotezi ile uyumludur.

Kardiyovasküler Hastalıklarda Lp-PLA₂'nin Rolü

Plaktaki etki için düşünülen mekanizma Lp-PLA₂'nin LPC ve oxFFA oluşturmak üzere oksitlenmiş fosfatidilkolini hidrolize etmesiyle bağlantılıdır. LPC ve oxFFA inflamatuvar mediatörlerdir; adezyon molekülleri, sitokinler ve CD40 ligandının oluşumunu artırır, makrofaj bölünmesini uyarır, monosit kemoatraktan protein-1 üretimini tetiklerler, düz kas hücre göçünü destekler ve endotelden NO üretimini inhibe ederler (45). Yani Lp-PLA₂'nin damar duvarlarındaki okside LDL partikülleri üzerine etkisi (LPC ve oxFFA oluşturmak üzere) vasküler inflamasyonu başlatır, damar duvarına monosit toplanmasını ve plak içindeki apoptozisi uyarır. Sonrasında şekillenen makrofajlar damar duvarındaki okside LDL'yi fagosite eder ve köpük hücreleri oluştururlar, bunların birikmesi bir lipit çekirdeğinin oluşumuna yol açar. Makrofajlar daha da fazla Lp-PLA₂ üretir ve böylece işlem süregelir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Zayıf plak oluşumunda Lp- PLA₂'nin rolü

Epidemiyolojik Çalışmalar

Packard ve ekibinin yaptığı WOSCOPS (The West of Scotland Coronary Prevention Study) çalışması koroner olay riski ile Lp-PLA2 arasında bağımsız bir ilişki olduğunu gösteren ilk çalışmadır (60). Bu vaka kontrol çalışmasında Lp-PLA2 konsantrasyonu, bir koroner olayı olan 580 erkek hastada ve koroner olayı olmayan 1160 kontrol deneğinde karşılaştırılmıştır. En yüksek quartildeki Lp-PLA2 düzeylerine sahip bireyler ile en düşük quartildeki Lp-PLA2 düzeylerine sahip bireyler karşılaştırıldığında, koroner kalp hastalığı riskinin 2 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, en yüksek quartildeki CRP düzeylerine sahip bireyler, en düşük quartile sahip bireyler ile karşılaştırıldığında koroner kalp hastalığı riski 2 kat fazla bulunmuştur. Oysa çok değişkenli analizlerde, CRP düzeyleri ile risk ilişkisi azalmıştır, fakat koroner kalp hastalığı riski ile Lp-PLA2 arasındaki ilişki tüm quartillerde aynı önemde kalarak, Lp-PLA2'nin koroner kalp hastalığı için bağımsız bir belirteç olarak gücünü göstermiştir.

Ballantyne ve ekibi tarafından yapılan, 6 yıllık bir periyotta 12000'in üzerinde sağlıklı orta yaşlı bireylerde ateroskleroza değerlendirmek için planlanmış prospektif bir çalışmada (ARIC), Lp-PLA2 ve CRP düzeyleri önemli ve bağımsız bir şekilde koroner kalp hastalığı ile ilişkili bulunmuştur (61).

Koenig ve ekibinin çalışmasında (MONICA), 14 yıl takip edilen, yaşları 45 ile 64 arasında değişen 934 sağlıklı erkekte Lp-PLA2 düzeyleri ve koroner olay arasındaki ilişki değerlendirilmiştir (62). Lp-PLA2 kütleindeki 1 standart deviasyon (SD) artma koroner olayların riskinde % 37 artma ile ilişkili bulunmuştur.

Klinikte kullanım için, aterosklerotik hastalık belirtecinin yüksek spesifikliği ve düşük biyolojik değişkenliği olmalıdır. Pek çok inflamatuvar belirteç infeksiyon varlığında, romatolojik bozukluklarda ve insülin direnci durumunda görülen inflamasyon varlığında artar.

Wolfert ve ekibi (63) Lp-PLA2 seviyesinin romatoid artrit, kronik bronşit, osteoartrit ve sinüzitli hastalarda artış göstermediğini rapor etmişlerdir. Ayrıca sistemik lupus eritematozuslu hastaları kapsayan bir çalışmada da kardiyovasküler hastalığı da olanlarda artmış Lp-PLA2 aktivitesi görülürken, kardiyovasküler hastalığı olmayan lupuslu hastalarda Lp-PLA2 aktivitesi düşük bulunmuştur (64). Koenig ve ekibini çalışmasında (65) Lp-PLA2'nin diğer kardiyak risk

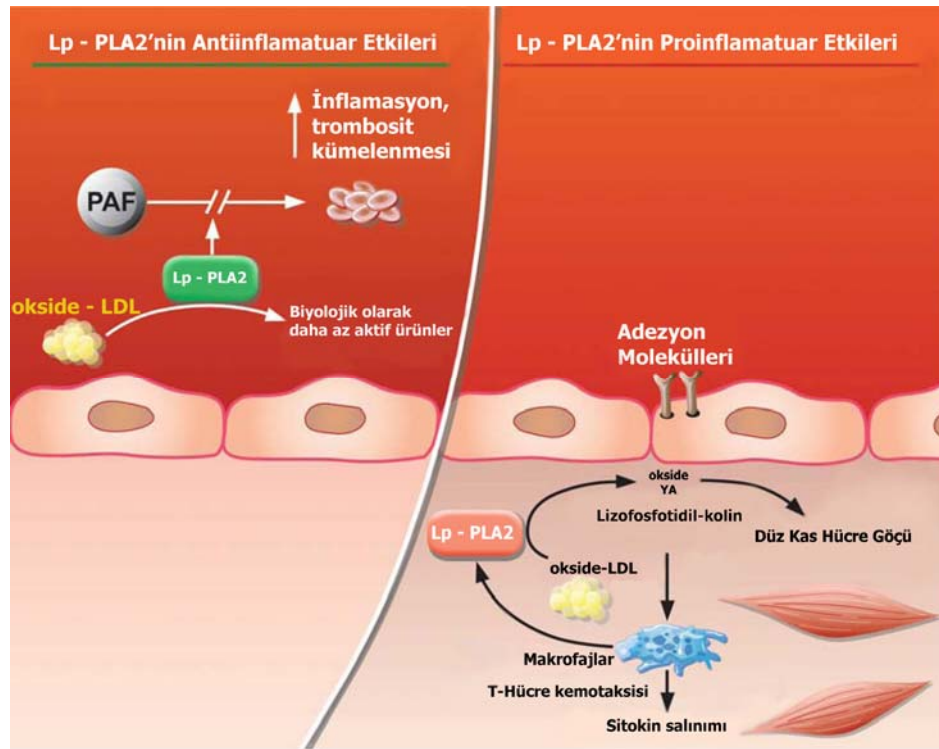
belirteçlerinden bağımsız olarak, kardiyovasküler hastalığı olanlarda yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca DM'si olmayan hastalarda, insülin direncinin yoğunluğuna karşın Lp-PLA2 seviyelerinin artış göstermediği açıklanmıştır (66). Wolfert ve ekibi (63) genç ve sağlıklı bireylerde (34 yaş) sistemik inflamasyon (hsCRP > 3 mg/L) görülebilmemesine rağmen, bu yaşlarda Lp-PLA2 artışının nispeten nadir olduğunu açıklamıştır. Yaklaşık 90 sağlıklı genç bireyin % 46'sında hsCRP seviyesi 3 mg/L'den yüksek olmasına rağmen, sadece % 4 ünde Lp-PLA2 seviyesinin 250 ng/mL'nin üstünde olduğunu açıklamıştır.

Pearson ve ekibi tarafından (67) 43 sağlıklı bireyde her biri 4 haftalık periyotta 7 kez kan alarak Lp-PLA2'nin yüzde değişim katsayısını araştırılmıştır. Bir bireydeki Lp-PLA2 varyasyonunun katsayısı % 10 iken, CRP'nin aynı bireyde % 42,6 kadar değişkenlik gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle Lp-PLA2 güvenli bir şekilde uzun süre takip edilebilirken CRP takip edilemez. Yani vasküler inflamasyon için oldukça spesifik olan sonuç Lp-PLA2 seviyelerinin uzun süre stabil olmasıdır.

Ateroskleroz patogenezinde rol oynayan okside fosfolipidleri ve PAF'ı hidroliz etmesinden dolayı Lp-PLA2'nin antioksidan ve antiaterojenik olduğu varsayılan yayınlara vardır (68). Kolesterolün ana bileşeni HDL olan farelerde, Lp-PLA2'nin aterosklerotik hastalık gelişimine karşı koruyucu olması ve hemen tamamının HDL'ye bağlanması bu varsayımı destekler (42). Ancak bu antiaterojenik etki insanlarda gösterilmemiştir. Okside fosfolipidlerin ve PAF'ın Lp-PLA2 aracılı yıkım ürünleri, proinflamatuvar, proliferatif ve en sonunda proaterojenik rollere sahiptir (69) (Şekil 2.5).

Artmış Lp-PLA2 seviyelerinin kardiyovasküler olayları tespit ettiğini gösteren çok sayıda çalışma vardır (53–56).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda Lp-PLA2 ile iskemik inme arasında da ilişki tespit edilmiş olup, Lp-PLA2'nin iskemik inme için de bağımsız bir belirleyici olduğu açıklanmıştır (70).



Şekil 2.5. Lp-PLA2'nin çelişkili rolü

Tedavi Hedefi Olarak Lp-PLA2

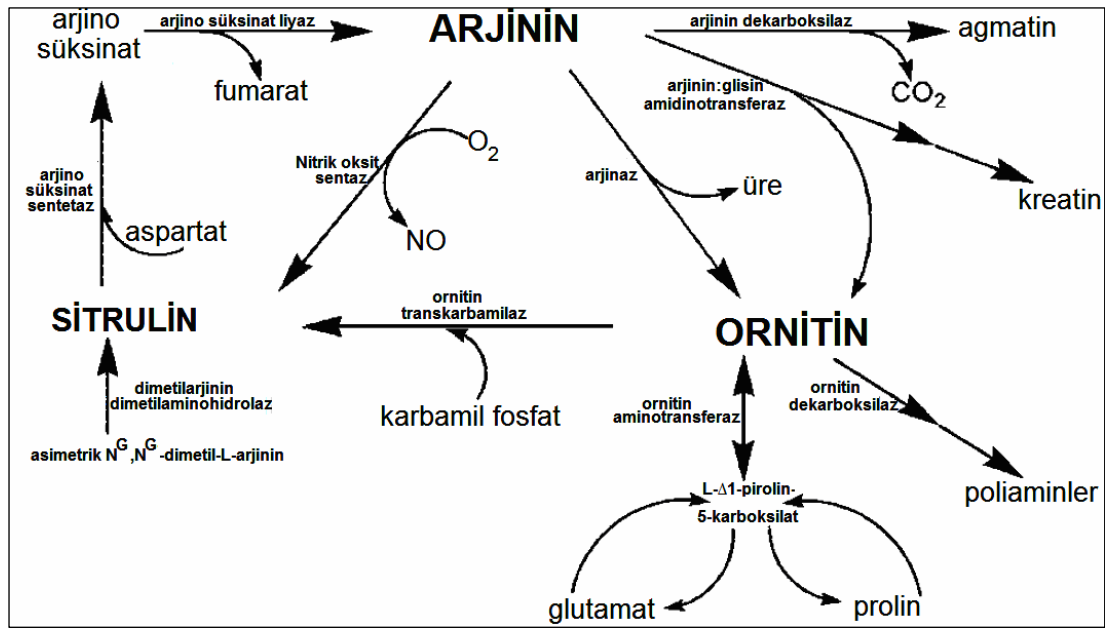
Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 dolaşımında çoğunlukla LDL ile birlikte bulunur, bu nedenle LDL'yi azaltan tedaviler plazma Lp-PLA2 konsantrasyonunu ve aktivitesini de azaltacaktır. Bununla beraber spesifik bir Lp-PLA2 enzim inhibitörü kullanılarak yapılan prospektif çalışma sonuçları henüz yoktur. Lipit düşürücü ilaçlar lipit özünün boyutunu küçülterek plakları stabilize eder, makrofaj infiltrasyonunu azaltır (71-73). Bununla bağlantılı olarak tüm lipit düşüren ilaçların Lp-PLA2'yi ve kardiyovasküler olay riskini azalttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (74-76).

Ancak bu tip vakalarda Lp-PLA2 seviyesinin düşme derecesi, LDL'nin düşme derecesi ile her zaman aynı oranda olmamıştır (76). Yani Lp-PLA2 seviyelerinin statinlerle düşürülmesi mümkün olmakla beraber LDL düşürüldüğünde Lp-PLA2 seviyesinin ne kadar azalacağını belirlemek zordur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar statine, niasin veya omega 3 eklenmesinin Lp-PLA2 seviyesini daha fazla düşürdüğünü göstermiştir (77,78).

2.6. Arjinin ve Arjinaz

Arjinin pek çok fizyolojik ve patolojik durumda önemli rol oynayan metabolik işlemlerde gerekli olan, yarı esansiyel bir aminoasittir. Arjinin, NO, kreatin, üre, poliaminler, prolin, glutamat ve agmatin gibi pek çok bileşiğin öncüsüdür. Bu ürünlerin büyük çoğunluğu, arjininin arjinaz katabolizmasından oluşur (Şekil 2.6).

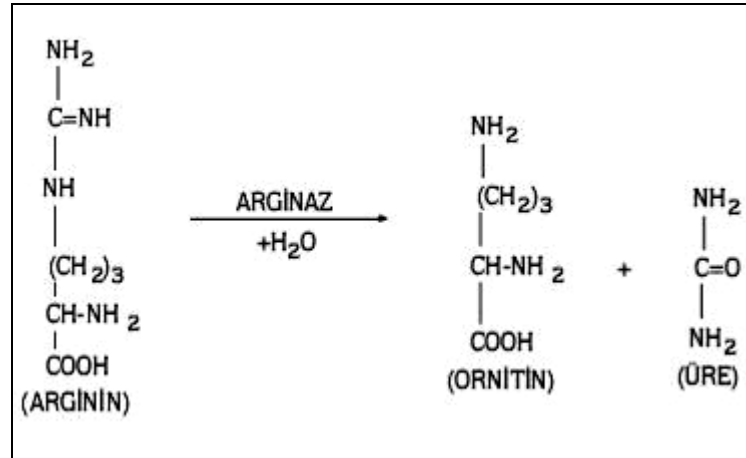
Arjininin arjinaz tarafından hidrolizi üre ve ornitin oluşturur, bunlar da sırası ile poliamin, prolin veya glutamat sentezi için öncül olarak hizmet ederler.



Şekil 2.6. Memeli arjinin metabolizması

Arjinaz (L-arginin aminohidrolaz, EC 3.5.3.1), L-argininin üre ve ornitine hidrolizini katalizleyen, birçok ara metabolizmada rol alan ve mangan kullanan anahtar bir enzimdir (Şekil 2.7).

Memelilerde arjinaz proteinini kodlayan iki ayrı gen saptanmıştır. Bu iki gen tarafından kodlanan iki izoenzim amino asit dizilimi açısından % 60 benzerlik gösterir. Enzimatik özellikleri ve mangana olan ihtiyaçları bakımından da birbirlerine benzerler (79,80). Doku dağılımı, subsellüler lokalizasyon ve immünolojik reaktivite açısından birbirlerinden farklıdırlar (81).



Şekil 2.7. Arjinazın hidrolize ettiği arjininden ornitin ve üre oluşumu

Arjinaz I ağırlıklı olarak karaciğerde bulunan, üre döngüsünün son basamağını katalizleyen ve tüm vücut arjinaz aktivitesinin çoğunluğunu teşkil eden sitozolik bir enzimdir. Arjinaz I'in katalizlediği tepkime ile amonyak üreye dönüştürülürken, döngünün devamlılığı için gerekli olan ornitin sağlanmaktadır. Arjinaz II ise; böbrek, prostat, ince barsak, meme dokusu ve makrofaj gibi ekstrahepatik dokularda bulunan mitokondriyal bir proteindir, karaciğerde az bulunur. Arjinaz II'nin fizyolojik görevinin ise poliamin, L-prolin, L-glutamat biyosentezi için öncül molekül olan ornitini sağlamak olduğu ileri sürülmektedir (82).

Tip I arjinaz ve üre siklusundaki diğer enzimler, nitrojen ürünlerinin detoksifikasyonunda görevlidirler. Üre siklusu nitrojen metabolitlerinin detoksifikasyon işleminin gerçekleştiği çok önemli bir metabolik yoldur.

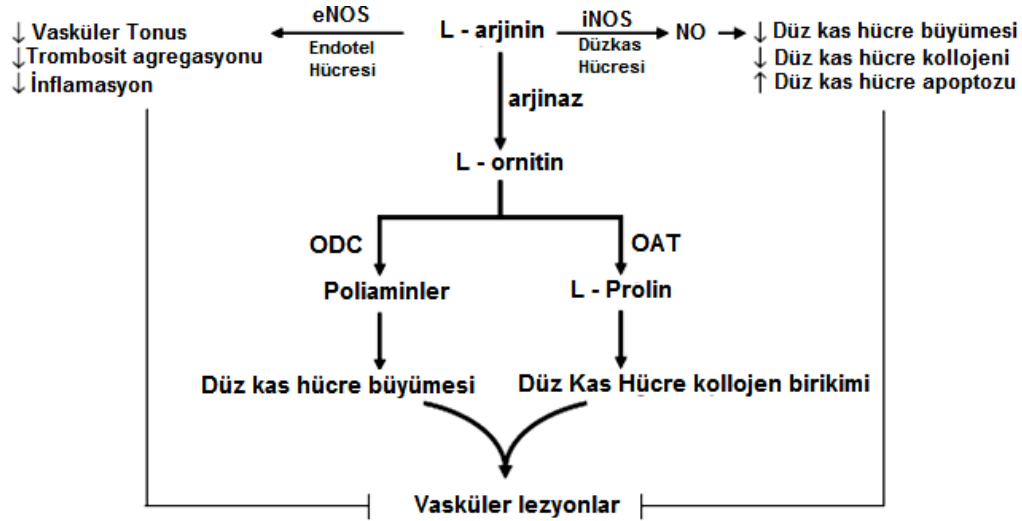
Arjinazın optimal pH'sı 9.4 ile 9.8 arasındadır. Enzimin aktivitesi, pH 7,4 de % 10–30 oranında azalmakta, pH 7'nin altında ise kaybolmaktadır (83).

Arjinaz üç tetramerden oluşur. Fonksiyon gösterebilmesi için iki molekül mangan (Mn^{+2}) elementine ihtiyaç duyar. Mn^{+2} iyonu enzimi stabilize eder (84).

Arjininden meydana gelen ürünlerden biri olan ornitin, ornitin dekarboksilaz ile poliamin ve putresine metabolize olur. Poliaminler tüm memeli hücrelerinde bulunur. Hücre proliferasyonunun arttığı durumlarda poliamin düzeyinin de arttığı gösterilmiştir. Ornitin dekarboksilaz aktivitesi poliamin sentezindeki artışa öncülük ederek, damar düz kas hücre proliferasyonuna neden olur (85) (Şekil 2.8).

Poliaminler, DNA ve RNA sentezi ile DNA'nın stabilizasyonunda uyarıcı etki gösterirler (86).

Ornitin, ornitin aminotransferaz ile proline metabolize olur. Prolin, kollajeni de içeren pek çok yapısal proteinin sentezi için temel maddelerdendir (87).



Şekil 2.8. Damar hastalıklarının arjinaz tarafından tetiklenmesini gösteren model.

ODC; ornitin dekarboksilaz, OAT; ornitin aminotransferaz

Son çalışmalar arjinazın anjiogenez işlemlerinde rol aldığını ortaya çıkarmıştır. Durante ve ekibinin yaptığı çalışmalarda damar düz kas hücrelerinin arjinaz aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (88). Arjinaz temel olarak endotel hücrelerinde de oluşturulur. Bir miktar arjinaz I insan endotel hücrelerinde tespit edilmiş olmasına rağmen, baskın olan izoform arjinaz II'dir. Çeşitli çalışmalarda arjinaz I ve II aorta, karotis, koroner ve pulmoner arterlerde tespit edilmiştir (89-93).

2.7. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından katalizlenen bir tepkimede arjininin guanido azotu ve moleküler oksijenden sentezlenen, göreceli olarak kararlı, birçok biyolojik olayda önemli rolü olan, çok kısa ömürlü bir serbest radikaldir. 1987 yılında, o güne kadar egzoz gazında ve sigara dumanında bulunduğu ve hava kirliliğinin bir unsuru olduğu bilinen ve *endothelium-derived relaxin factor* (EDRF) olarak adlandırılan maddenin NO olduğu anlaşılmıştır (94-96).

Nitrik oksit, renksiz bir gazdır. Yüksek konsantrasyondaki NO oksijensiz ortamda oldukça stabil olup suda erime özeliği gösterir. Nitrik oksidin üzerinde yük taşınaması ve eşleşmemiş elektron bulundurması, hücreden hücreye kolayca geçmesini sağlar. Aynı zamanda NO taşıdığı eşleşmemiş elektron nedeniyle bir radikal molekül olarak isimlendirilebilir. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. Nitrik oksit, bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü özelliği kazanmaktadır (97).

Düşük konsantrasyondaki NO, hemoglobine oksijene nazaran 3000 kat bir affinite ile bağlanır. Hemoglobin oksijen formunda ise NO'yu kısa sürede nitrata (NO_3) oksitleyerek etkisizleştirir. Özellikle dolaşımdaki oksihemoglobin NO için kuvvetli bir inhibitördür. NO, nitrite de (NO_2) okside olabilir. Ancak nitrit tekrar oksitlenerek kısa sürede nitrata dönüşür (98).

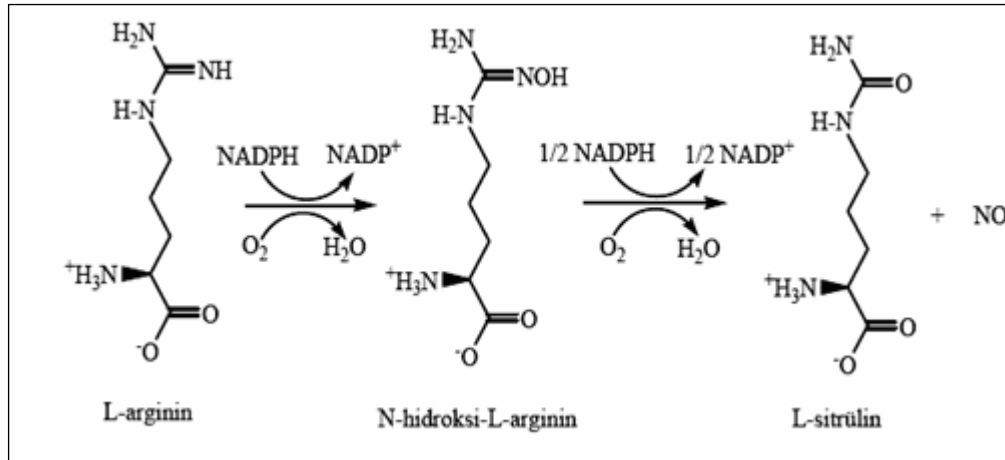
Nitrik oksit, yarılanma ömrü 2–30 saniye olan bir moleküldür. Biyolojik sıvılarda ölçülemez. Nitrik oksit son ürünleri olan NO_2 ve NO_3 biyolojik sıvılarda ölçülebilir ve bunların toplam konsantrasyonları NO üretiminin bir indeksi olarak kabul edilir.

2.7.1. Nitrik Oksit Sentezi

Nitrik oksit, NOS denilen enzim ailesi tarafından, bir aminoasit olan L-argininin terminal guanidin grubunun NO'ya çevrilmesiyle üretilir. Bu oluşum esnasında moleküler oksijen ile kofaktör olarak, redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN), ve tetrahidrobiyopterin (BH_4)' e ihtiyaç vardır (99-100) (Şekil 2.9).

Nitrik oksit sentaz enziminin farklı genler tarafından kodlanan 3 farklı izoenzimi tanımlanmaktadır. Bu üç izoenzim lokalizasyonları, aktivitelerinin düzenlenmesi, katalitik özellikleri ve inhibitör duyarlılıkları açısından farklılık göstermektedirler. NOS1 (nNOS; nöronal) ve NOS3 (eNOS; endotelyal) konstitütif NOS'lardır ve sırasıyla nöronal ve endotelyal hücrelerde eksprese olmaktadır. NOS2 (iNOS; indüklenebilir) ise başta makrofajlar olmak üzere birçok doku ve hücrede, özellikle inflamasyon durumunda, sitokinlerle uyarılma sonrası sentezlenmektedir. Konstitütif form olan NOS1 ve NOS3'ün aktiviteleri Ca^{+2}

bağımlıdır ancak, NOS2'nin aktivitesinin düzenlenmesinde, fizyolojik sınırlar içinde, Ca^{+2} 'a bağımlılığı yoktur.



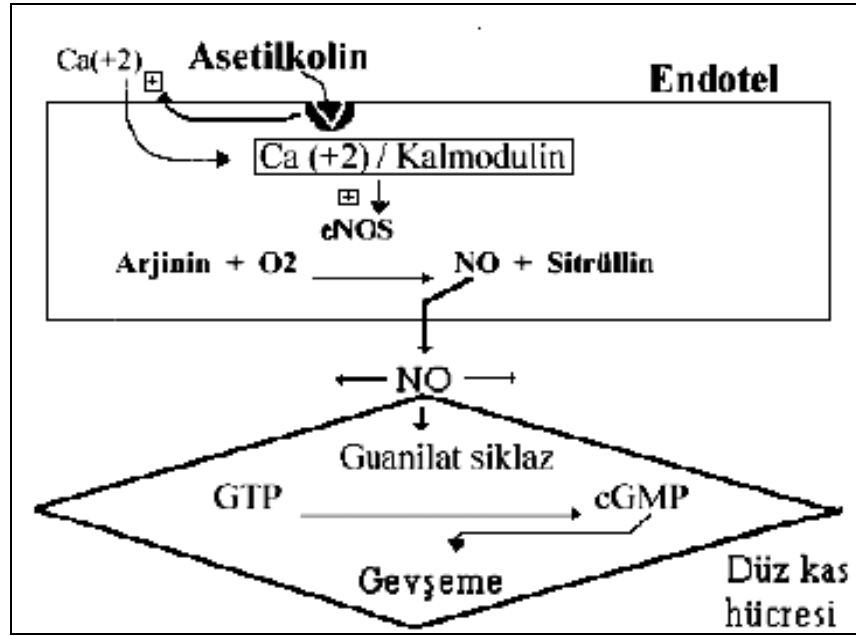
Şekil 2.9 Nitrik oksit sentezi

Konstitütif formlar kısa sürelerle ve düşük derişimlerde NO üretiminden sorumluyken NOS2 ise çok uzun süreçlerde ve çok yüksek derişimlerde NO üretebilmektedir (101,102).

Nitrik oksit üretildiği hücreden dışarı çıkarak direk hedef hücrelerine yönelir. NO'nun en önemli hedef molekülleri demir, kükürt ve oksijen türevi yapılarıdır.

Nitrik oksit sentaz enziminin aktivasyonunda, asetil kolin gibi bir haberci endotel hücreleri üzerindeki reseptörüne bağlandıktan sonra, Ca^{+2} iyon kanalları açılarak, hücre içi Ca^{+2} düzeyi yükselir. Kalsiyumun kalmoduline bağlanmasıyla oluşan kompleks tarafından, yapısal bir enzim olan eNOS uyarılır ve L-argininden NO ve sitrüllin oluşur. Oluşan NO, endotelden çıkarak komşu düz kas hücrelerine girer. Düz kas hücrelerinin sitozolündeki guanilat siklazın hem grubundaki demire bağlanır, onu aktive eder ve GTP'den cGMP oluşumunun artmasına neden olur. Artan cGMP damarlarda vazodilatasyona neden olur. Diğer bir yapısal enzim olan nNOS'da aynı mekanizma ile uyarılmaktadır (103) (Şekil 2.10).

Ayrıca lipopolisakkaritler ve sitokinler gibi ajanların Ca^{+2} 'a bağımlı olmadan NOS'u indüklemeleri söz konusudur. İlgili hücrelerde önceden NOS yoktur veya çok azdır. Uyarıcılar tarafından transkripsiyonel olarak (mRNA artışıyla) enzim indüklenir ve sonuçta oluşan NO amaca uygun işlevini gerçekleştirir. Bu mekanizma daha çok makrofajlarda görülür, bu tip enzim de indüklenebilir NOS olarak adlandırılır.



Şekil 2.10 Endotelyal nitrik oksit sentazın uyarılması ve düz kas hücresine etkisi

Biyolojik yarı ömrü saniyeler düzeyinde olan NO, insan fizyolojisi ve fizyopatolojisinde önemli bir yere sahiptir.

Endotel kaynaklı NO, damar düz kaslarının gevşemesini sağlayarak kan akışı ve basıncının ayarlanmasını sağlamaktadır. Bu etki, sistemik dolaşımında meydana geldiği gibi lokal olarak kalp, beyin, karaciğer, gastrointestinal sistemde de izlenebilmektedir (97).

Nitrik oksit, merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, denge, uyarı geçişi, koku alma gibi birçok fonksiyonları destekleyen bir nörotansmitter olarak fonksiyon göstermektedir (104). Periferik sinir sisteminde ise noradrenerjik ve nonkolinerjik sinirleri etkileyerek vazodilatasyon, solunum, genitoüriner ve mide barsak fonksiyonlarının regüle edilmesine katkıda bulunmaktadır (105).

İmmün stimuluslara ve iltihabi mediatörlere karşı makrofajlar NO salgılayarak cevap verirler. iNOS'un ürettiği NO'nun majör fonksiyonu, mikroorganizmalar veya tümör hücrelerine sitotoksik ve sitostatik etki oluşturmaktır (106).

Nitrik oksidin normal fizyolojik olayları düzenlenmesinde ve çeşitli patolojik süreçlerin gelişiminde önemli rol oynadığı sistemlerden birisi de kardiyovasküler sistemdir. Normal homeostazı sağlamada NO'nun aracılık ettiği temel olaylar

miyokart kontraktilitesi, vasküler tonus, trombosit endotel etkileşimleri ve lökosit adezyonunun düzenlenmesidir. Vasküler yapıda NO üretiminin azalması, sonuçta trombosit endotel etkileşimi ve vasküler düz kasın proliferasyonu üstüne NO aracılı inhibitör etkinin azalmasına yol açarak aterojenik potansiyeli artırır (107).

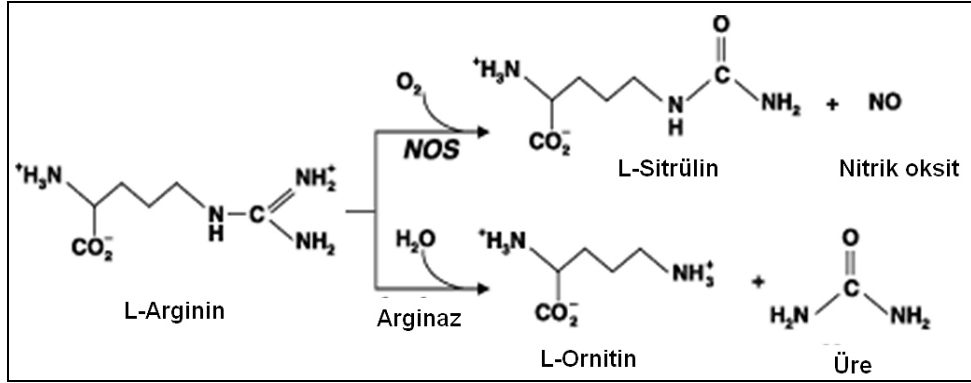
Nitrik oksit endotel yüzeyinde antitrombotik etkinliğe sahiptir. Nitrik oksit sentaz aktivitesinin inhibisyonu, mikrovasküler permeabiliteyi artırarak lökositlerin migrasyonunu ve adezyonunu artırmaktadır. NOS inhibitörlerinin sistemik kullanımları küçük arter ve arteriollerde kan basıncını artırır (108). Bu durum damar endotelinde yapılan NO'nun kan basıncı ve kan akımını düzenlemedeki önemine işaret eder. Nitekim endoteldeki genetik (DM, homosisteinemi, ailevi hiperlipidemi) veya edinsel (sigara içimi, sedanter yaşam, aterojenik diyet) herhangi bir fonksiyonel bozukluk hipertansiyona yol açmaktadır (108,109).

Nitrik oksit; böbrek kan akımı, glomerüler filtrasyon, renin salgılanması ve sodyum atılımı gibi böbrek fonksiyonlarının kontrolünde en önemli parakrin modülatör ve mediatördür (110). Bazal NO sentezi bloke edilirse, böbrek kan akımı ve sodyum atılımı azalır (103).

2.7.2. Arjinaz ve Nitrik Oksit Sentezi

Arjinin katabolizmasında, üre, prolin ve poliamin üretimine neden olan arjinaz yolu L-arjinini en fazla tüketen yoldur. Nitrik oksit sentaz ve arjinin dekarboksilaz (ADC), L-arjininin günlük total dönüşümünün çok küçük bir yüzdesini teşkil eder. (Şekil 2.7.3)

Arjinaz ve NOS'un biyokimyasal özellikleri, arjinazın L-arjinin için NOS ile rekabet ederek NO sentezini inhibe edebileceği fikrini desteklemektedir. L-arjininin saflaştırılmış NOS'a affinitesi, arjinaza göre olandan daha yüksek olmasına karşın arjinazın maksimum aktivitesi NOS'unkinden 1000 kat daha fazladır. Bu fizyolojik L-arjinin konsantrasyonlarında benzer oranlarda substrat kullanımını ileri sürmektedir (111). Sağlıklı bir hücrede yeterli arjinaz miktarı NO sentezi için arjinin kullanımını sınırlayabilir.



Şekil 2.11. Arjinaz ve NOS tarafından gerçekleştirilen L-arjinin metabolizması

Aslında NOS ve arjinaz arasındaki ilişki yalnızca aynı substratı kullanmaları ile sınırlı değildir, daha komplikedir. Örneğin iNOS ekspres eden makrofajlar ve endotel hücreleri arjinaz aktivitesini inhibe etmek için yeterli N- hidroksiarjinin de üretebilirler (112).

Birçok çalışmada yaralardaki makrofaj kaynaklı arjinaz aktivitesinin dokunun iyileşmesinde, inflamasyon ve enfeksiyona karşı korunmasında rol oynadığı gösterilmiştir. Arjinaz NO sentezinde substrat olarak kullanılan arjinini ortamdaki uzaklaştırır ve ayrıca kollajen sentezlenirken ihtiyaç duyulan prolini sentezlemek için ornitin üretir (113).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereçler

Bu çalışma RTS (Renal Therapy Services) Özel Yaşam Diyaliz Merkezinde hemodiyaliz tedavisi gören, yaşları 29-78 arasında değişen, 32 kadın ve 38 erkekten oluşan toplam 70 son dönem böbrek yetmezliği hastası ile 8 kadın ve 10 erkekten oluşan toplam 18 kişilik kontrol grubunda yapıldı.

Hemodiyaliz hastaları, en az üç aydır haftada 3 kez, 4-5 saat/seans süre ile düzenli olarak hemodiyalize giren ve hemodiyaliz işleminde high flux membranların kullanıldığı kişilerden seçildi. Hepatit B ve/veya C pozitifliği, enfeksiyon, aktif karaciğer hastalığı ve malignitesi, transaminaz yüksekliği olan ve antikoagülan tedavi alan hastalar çalışma dışında tutuldu. Kontrol grubu ise sistemik hastalığı bulunmayan sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Hastalar, makrovasküler komplikasyonları olanlar (EKG’de iskemi bulguları; 7, geçirilmiş MI hikayesi; 5, iskemik inme; 3, renal arter darlığı; 3 kişi), diyabeti olanlar ve makrovasküler komplikasyonu ve diyabeti olmayanlar olarak aşağıdaki gibi üç gruba ayrıldı.

Grup 1 (G-1); Diyabeti ve bilinen makrovasküler komplikasyonu bulunmayan, hemodiyaliz hastaları (n=30).

Grup 2 (G-2); Bilinen makrovasküler komplikasyonu olan hemodiyaliz hastaları (n=18).

Grup 3 (G-3); Diyabetik nefropatili hemodiyaliz hastaları (n=22).

Hemodiyaliz hasta gruplarında 29 hastada (diyabet ve makrovasküler komplikasyonu olmayan grupta; 16, makrovasküler komplikasyonu olan grupta; 6, diyabet grubunda; 7 kişi) hipertansiyon mevcuttu ve buna bağlı olarak anjiyotensin converting enzim (ACE) inhibitörü/anjiyotensin reseptör blokörü (ARB) kullanılmaktaydı. Sekiz hasta (diyabet ve makrovasküler komplikasyonu olmayan grupta; 1, diyabet grubunda;7 kişi) ortalama 40 mg/gün dozda statin tedavisi, diyabeti olan 22 hasta ortalama 15-40IU/gün dozunda uzun etkili insülin (insülin glarjin) tedavisi almaktaydı.

Çalışma grubundaki hastaların etyolojik dağılımı; 22 diyabet, 15 hipertansiyon, 6 ilaç toksisitesi, 5 glomerülonefrit, 4 polikistik böbrek, 4 taş hastalığı, 14 etyolojisi bilinmeyen nedenlerdi.

Hemodiyaliz hastalarının kan örnekleri, hemodiyaliz ve heparin enjeksiyonu öncesi periferik venden herhangi bir koruyucu ve antikoagülan içermeyen jelli düz tüplere alındı. Sirkadiyen değişimlerin etkisini önlemek için tüm kanlar sabah saat 8:00–9:00 arasında, 8–12 saat açlığı takiben alındı. Kan örnekleri, oda ısısında 1 saat içinde 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Kontrol grubunun kanları alınırken de aynı koşullar uygulandı.

Serum örnekleri alındığı gün TG, T-K, LDL-K, HDL-K, düzeyleri enzimatik-kolorimetrik, BUN düzeyleri kinetik UV fotometrik, kreatinin düzeyleri kinetik kolorimetrik, albümin ve hsCRP düzeyleri immüno-türbidimetrik yöntemlerle, Roche/Hitachi Moduler otoanalizörde ölçüldü.

Yeterli miktarda serum plastik tüplere aktarılarak Lp-PLA2 ve arjinaz ölçümü için -80°C’de ve NO düzeylerinin belirlenmesi için -18°C’de çalışma tarihine kadar saklandı.

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Biyokimya Anabilim dalı ve Nefroloji Bilim dalı ile birlikte yürütülen bu çalışma için, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’nun 28.07.2009 tarih ve 2009-307 sayılı kararı ile onay alınmıştır.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Serum Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2 Tayini

Serum’daki Lp-PLA2’nin kantitatif olarak belirlenmesi için türbidimetrik immunoassay yöntemi ile çalışan PLAC (Diadexus) test kullanıldı. Lp-PLA2 test prosedürü Roche/Hitachi Moduler otoanalizöre uygulandı daha sonra tüm örnekler ölçüldü. Yöntemin ölçüm Aralığı 7-500 ng/ml’dir. Intra – assay kesinlik (n=80) 1,6 – 2,4 ve total kesinlik (n=80) 1,8-3,2’dir.

Test Prensipleri

PLAC™ testi, insan serum veya plazmasındaki Lp-PLA2 konsantrasyonunun doğrudan ölçümü için oldukça yüksek duyarlılıklı iki monoklonal antikor kullanan türbidimetrik immünassaydir. Süspansiyon içindeki polimerik mikropartiküllere bağlanmış monoklonal antikorlara hasta örneklerindeki Lp-PLA2 belirli bir biçimde bağlanır. Lp-PLA2 bağlanması sonucu süspansiyonun türbiditesinde meydana gelen değişim 570 nm’de okunur. Absorbansdaki bu değişim hasta örneğindeki Lp-PLA2

konsantrasyonu ile orantılıdır. Lp-PLA2 kalibratör seti Lp-PLA2 konsantrasyonuna karşı standart bir absorbans eğrisi çizmek için kullanılır. Bu şekilde test örneğindeki Lp-PLA2 konsantrasyonunun ara değerleri belirlenebilir.

Reaktif ve Gereçler

PLAC™ Test Reaktif kiti 50 teste yetecek kadar sıvı halde kullanıma hazır iki reaktif kitinden oluşur.

Reaktif 1 (R1), 15 ml olup % 0.03 metilizotiazolinon koruyucu madde ve protein stabilizatörlü Tris tampon solüsyonu içerir.

Reaktif 2 (R2), 5 ml olup ProClin 300 koruyuculu fare monoklonal anti-Lp-PLA2 antikoru kaplı mikro partikül solüsyonu içerir.

PLAC™ Test Kalibratör Kiti

Lp-PLA2 kontrol kiti

Ölçüm Prosedürü

Kalibrasyon

Ölçüm 5 nokta kalibrasyon eğrisi kullanılarak kalibre edildi. Standart eğri cihazın uygulama prosedürüne uygun eğri modeli kullanılarak oluşturuldu.

Ölçüm Basamakları

1. 6 µl örneğin reaksiyon hücreğine eklenmesi ve 185 µl tampon reaktifi (R1) ile seyreltilmesi
2. Örneğin 5 dakika 37 °C'de Reaktif 1 ile inkübe edilmesi
3. Reaksiyon hücreğine 60 µl Reaktif 2'den eklenmesi
4. 5 dakikalık periyot süresince absorbansın 570 nm'de sürekli olarak okunması
5. Reaktif 2'nin eklenmesinden son okumaya kadar geçen süredeki absorbans değer farkının standart eğri üzerinden hesaplanması

3.2.2. Serum Arjinaz Aktivitesinin Tayini

Yöntem adı: Tiyosemikarbazid-Diasetil Monoksim Üre (TDMU) yöntemi (114).

Prensip

Tiyosemikarbazid-Diasetil Monoksim Üre yöntemi spektrofotometrik olarak üre düzeyini ölçen bir yöntemdir. Bu yöntemde arjinaz aktivitesi indirekt olarak ölçülür. Arjinaz substrat olarak L-arjinin kullanır ve ürün olarak üre ve ornitine dönüştürür. Oluşan reaksiyonla ortamda biriken üre diasetil monoksim (DAM) ile doğrudan reaksiyona girmez. İlk önce asit ortamda ısı etkisi ile hidroksilamin ve diasetile hidrolize olur. Diasetil, asit çözeltide üre ile kondanse olur ve H₂O ve renkli bir bileşik olan diazin meydana gelir. Bu rengi stabilize etmek için tiyosemikarbazid ve Fe⁺⁺⁺ iyonları kullanılır.

Serum arjinaz aktivitesi tayini için kullanılan çözeltiler

50 mM Arjinin Çözeltisi

0.871 gr L-Arjinin bir miktar suda çözüldü. 0.1 M HCl ile pH'sı 9,7'ye getirildi, son hacim distile su ile 100 ml'e tamamlandı. Hazırlanan çözelti +4°C'de saklandı.

0,1 M pH: 9,7 Karbonat Tamponu

1,0599 gr Na₂CO₃ bir miktar suda çözülerek distile su ile 100 ml'e tamamlandı. 0,8401 gr NaHCO₃ bir miktar distile suda çözülerek 100 ml'ye tamamlandı. 100 mL 0,1 M NaHCO₃ üzerine 0,1 M Na₂CO₃ ilave edilerek pH 9,7'ye getirildi. Hazırlanan tampon çözelti +4°C'de saklandı.

9 mM MnCl₂ Çözeltisi

1,78119 gr MnCl₂.4H₂O bir miktar distile su ile çözülerek 1000 mL'ye tamamlandı. Buzdolabında +4°C'de saklandı.

Asit Karışımı

0,12 M FeCl₃ / % 56,7 H₃PO₄: 3,24 g FeCl₃.6H₂O bir miktar distile su ile çözüldü, üzerine %85'lik H₃PO₄'ten 66,7 mL eklendi. Üzeri distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerden 1 ml alınıp üzerine % 20 (h/h)'lik H₂SO₄ ilave edildi. Deney sırasında asit karışımı olarak bu çözelti kullanıldı. Asit karışımı oda sıcaklığında saklandı.

Renk Ayracı

6,238 gr diasetilmonoksim ile 0,328 gr tiosemikarbazid karıştırılarak bir miktar distile suyla çözüldü. Çözelti distile suyla 1000 ml'ye tamamlandı. Oda ısısında ve renkli şişede saklandı.

Üre standardı

3 mg üre, 0,016 M 100 ml benzoik asit içinde çözüldü.

Stok olarak hazırlanan bu çözültiden deney sırasında 1:5 oranında dilüsyon yapılarak 0,1 µmol üre/ ml standart hazırlandı. Hazırlanan çözelti +4°C'de saklandı.

Deneyin Yapılışı

1. Enzim aktivitesi tayini için iki deney düzeneği hazırlandı. Birinci düzeneğe deney tüpleri, ikinci düzeneğe ise kör, standart ve sıfır zaman tüpleri konuldu. Sıfır zaman tüplerini hazırlamaktaki amacımız, enzim kaynağındaki endojen ürenin arjinaz aktivitesinin hesaplanması esnasında göz ardı edilebilmesidir.

2. Serum örnekleri 9 mM Mangan klorür ile 1:10 oranında sulandırıldı.

3. Sulandırılan serum örnekleri 55°C'de 20 dakika ön inkübasyona bırakıldı.

4. Bu aşamadan sonra deney ve sıfır zaman tüplerine 0,4 ml L-arjinin ve 0,4 ml karbonat tamponu konuldu.

5. Kör tüpüne 1 ml distile su, standart tüpüne 1 ml üre standardı konuldu.

6. Aynı zamanda oda ısısında tutulan sıfır zaman tüplerine 3 ml asit karışımı konuldu.

7. Sıfır zaman tüplerine 0,2 ml serum konuldu

8. Kör ve standart tüplerine 3 ml asit karışımı konuldu

9. Dilüe serum örnekleri ve hazırlanmış deney tüpleri 37°C'de 3 dakika bekletilerek tüm düzeneklerin aynı ısıya gelmesi sağlandı.

10. Daha sonra 37°C'ye gelen serum örneğinden deney tüplerine 0,2 ml konularak vortekslendi

11. Enzimatik reaksiyon için 37°C'de 15 dakika inkübe edildi

12. İnkübasyon süresinin sonunda reaksiyonu durdurmak için deney tüplerine 3 ml asit karışımı konuldu

13. Bu işlemi takiben her iki düzenekteki tüplere 2 ml renk reaktifi konulup vortekslendi.

14. Tüplerin ağzını kapatılıp, 10 dakika kaynar su banyosunda renk oluşumu için bekletildi

15. Süre sonunda tüpleri musluk suyu altında soğutuldu.

16. Absorbansları 520 nm’de okundu.

Hesaplama; her deney tüpünün absorbansından, kendi sıfır zaman absorbansı çıkartılarak net absorbans elde edildi. Böylece enzim kaynağındaki endojen ürenin absorbansı hesabın dışında bırakılmış oldu.

Standart absorbansı, standarttaki üre miktarı ve sulandırma katsayılarından ortak bir faktör bulundu. Faktör hesaplanması şu şekilde yapıldı:

$$\text{Faktör} = \frac{(0,1 \mu\text{mol/ml}) \times 10 \times 5 \times 4}{\text{Üre standardının absorbansı}}$$

10: Serumun MnCl_2 sulandırma katsayısı

5: serumun inkübasyon ortamındaki sulandırma katsayısı

4: İnkübasyon süresinin 1 saate tamamlanma katsayısı

0,1 μmol üre /ml’ nin absorbansı: 0,331 olarak okunmuştur.

Faktör = 60,42 olarak hesaplandı.

Serum için enzim aktivitesi; ünite olarak tanımlanmıştır. 1 saatte, 37°C ’de, substrat olarak kullanılan L-arjinin’den 1 μmol üre oluşturan enzim aktivitesinin hesaplanmasında net örnek absorbansları faktör ile çarpıldı. $\mu\text{mol/mL/saat}$ olarak enzim aktiviteleri bulundu ve ünite olarak tanımlandı.

Ünite = $\mu\text{mol/ml/saat}$

3.2.3. Serum Nitrik Oksit (NO) Tayini

Prensip

Serum nitrat düzeyleri Cortas ve arkadaşlarının yöntemine göre belirlendi (115). Deproteinizasyon işlemi ile ortamdan proteinler uzaklaştırıldıktan sonra ölçüm nitratın bakır kaplı kadmiyum granülleri ile indirgenmesi ve oluşan nitritin ölçülmesi esasına dayanır.

Kullanılan çözeltiler

Kadmiyum granüllerinin aktive edilmesi

Kadmiyum granülleri 20-40 mg ağırlığında tartıldı ve küçük parçalara bölündükten sonra bir erlenmayerde 0,1mol/L H₂SO₄ içerisinde depolandı. Kadmiyum granülleri bu şekilde 9 ay stabildir. Çalışma anında kadmiyum granülleri asitten çıkarıldı distile su içerisinde üç defa yıkandı. Granüller glisin-NaOH tamponu içindeki 5mol/L CuSO₄'ta iki dakika bekletildikten sonra glisin-NaOH tamponu ile üç defa yıkandı ve bakır kaplanmış granüller 10 dakika içerisinde kullanıldı.

Glisin-NaOH tamponu

15g glisin deiyonize suda çözüldü. 2mol/L NaOH ile pH 9,7'ye ayarlandı ve 1L'ye tamamlandı. Bu tampon 0-8°C'de bir ay stabildir.

Sülfanilamid çözeltisi

5g sülfanilamid ılık 3mol/L HCl solüsyonunun 500ml si içinde çözüldü, sonra hemen soğutuldu. Bu çözelti oda ısısında 1 yıl stabildir.

N-Naftiletilen diamin çözeltisi

50 mg N-Naftiletilen diamin 250ml distile suda çözüldü. Bu tampon 0-8°C'de iki ay stabildir.

Standartlar

0, 1mol/L'lik stok NaNO₃ çözeltisi 10mmol/L Na₂B₄O₇ içinde çözülerek hazırlandı. Bu çözelti 9 ay stabildir. Çalışma standartları stok solüsyonun dilüsyonu ile kullanılacağı gün hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Bu çalışma 2 aşamada gerçekleşir.

A-Deproteinizasyon

- 2,0 ml 75 mmol/L ZnSO₄ solüsyonu üzerine
- 0,5 ml serum ilave edildi
- 2,5 ml 55 mmol/L NaOH reaktifi ile karıştırıldı
- 10 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonucu elde edilen süpernatant numune olarak kullanıldı.

B-Nitrat ölçümü

1. Kör, standart ve numune tüpleri hazırlandı
2. Her bir tüpe 1ml glisin tamponu eklendi.
3. Numune tüplerine 1ml deproteinize numune eklendi.
4. Standartlar 3 adet hazırlandı: 10 μ mol/L NaNO₃ den
Standart 1'e 0,5 ml
Standart 2'e 1,0 ml
Standart 3'e 1,5 ml ilave edildi.
5. Bütün tüpler deiyonize su ile 4ml'ye tamamlandı.
6. Spatula ile 2,5–3 g bakır kaplı kadmiyum granüllerinin ilavesi ile reaksiyon başlatıldı.
7. Tüm tüpler oda ısısında 90 dakika inkübe edildi.
8. İnkübasyon sonunda reaksiyon karışımından 2 ml alınıp diğer tüplere aktarıldı
9. Tüm tüplere 2,5 ml deiyonize su ve sırasıyla 1 ml sülfanilamid ve 1 ml N-naftiletilediamin çözeltileri ilave edilerek karıştırıldı.
10. Oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildikten sonra absorbands 545 nm'de köre karşı okundu.
11. Nitrit değerleri kalibrasyon grafiğinden değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizleri için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15,0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirmek için normalite testleri yapıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin karşılaştırılmasında independent-Student-t testi ve ANOVA. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin karşılaştırılmalarında Mann-Whitney U testi ve non-parametrik Kruskal- Wallis testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak, ANOVA analizlerinde TUKEY HSD, Kruskal –Wallis analizlerinde Dunn's method testi uygulandı.

Parametreler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde normal dağılım gösteren parametreler için Pearson korelasyon testi, normal dağılım göstermeyen parametreler

için Spearman korelasyon testi kullanıldı. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

A-Kontrol grubu ve hemodiyaliz hastalarının demografik ve biyokimyasal bulgularının istatistiksel olarak karşılaştırılması

Kontrol ve hemodiyaliz grubunun demografik ve biyokimyasal bulguları istatistiksel olarak incelenmiş ve Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışma gruplarının demografik ve biyokimyasal bulguları

	Kontrol (n=18)	Hemodiyaliz grubu (n=70)	p
Cinsiyet (K/E)*	8/10	32 /38	-
Yaş (yıl)*	53,4 ± 6,2	55,7 ±10,3	ns
VKİ (kg/m ²)*	26,5 ± 4,3	25,4 ± 4,3	ns
BUN (mg/dl)*	11,4 ± 2,5	61,2 ±12,7	<0.001
Kreatinin (mg/dl)**	0,8 (0,6–0,9)	7,9 (6,6–9,1)	<0.001
Albümin (g/dl)**	4,5 (4,4–4,7)	4,0 (3,8–4,3)	<0.001
hsCRP (mg/dl)**	1,3 (0,8–1,8)	4,8 (2,4–9,6)	<0.001
Trigliserit (mg/dl)**	112,0 (66,0–126,0)	211,0 (173,2–270,0)	<0.001
T.Kolesterol (mg/dl)*	159,8 ± 19,7	197,8 ± 50,9	<0.001
HDL-K (mg/dl)*	53,0 ± 7,7	37,6 ± 7,9	<0.001
LDL-K (mg/dl)*	86,9 ±12,9	139,7 ± 48,9	<0.001
Lp-PLA ₂ (ng/ml)*	138,6 ± 17,6	238,9 ± 97,2	<0.001
Arjinaz (U/L)*	1,4 ± 0,8	6,9 ± 5,1	<0.001
Nitrik oksit (µmol/L)*	0,7 ± 0,1	0,5 ± 0,2	<0.001

*Bağımsız t-testi uygulanan veriler ortalama ± SD olarak,

** Mann-Whitney U testi uygulanan veriler ortanca (%25-%75) olarak verilmiştir. n.s:önemsiz

VKİ: Vücut Kitle İndeksi, BUN: Kan üre azotu, Lp-PLA₂:Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A₂

Hemodiyaliz grubunda;

Kontrol grubuna göre yaş ve VKİ düzeyleri, istatistiksel olarak farksız ($p>0.05$), BUN, kreatinin (Cr), hsCRP, TG, T-K, LDL-K, Lp-PLA₂ düzeyleri ile arjinaz aktiviteleri yüksek ($p<0.001$), albümin, HDL-K ve NO düzeyleri ise düşük bulunmuştur ($p<0.001$).

B- Hemodiyaliz tedavisi alan her grubun birbirleri ve kontrol grubu ile karşılaştırılması

Hemodiyaliz hasta grupları kendi aralarında ve kontrol grubu ile kıyaslandı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Kontrol grubu ve hemodiyaliz alt gruplarında biyokimyasal değişkenler

	Kontrol grubu (n=18)	Hemodiyaliz grubu		
		G-1 (n=30)	G-2 (n=18)	G-3 (n=22)
BUN* (mg/dl)	11,4 ± 2,5	60,6 ± 12,1 ^a	62,3 ± 14,3 ^a	61,2 ± 12,6 ^a
Kreatinin** (mg/dl)	0,8 (0,6 – 0,9)	8,6 ^a (7,2 – 9,4)	8,2 ^a (7,1 – 8,9)	6,9 ^a (5,3 – 8,3)
Albümin** (g/dl)	4,5 (4,4 – 4,7)	4,1 ^a (3,8 – 4,3)	4,1 ^a (3,9 – 4,3)	4,0 ^a (3,8 – 4,0)
hsCRP** (mg/dl)	1,3 (0,8 – 1,8)	4,0 ^a (2,4 – 7,4)	4,9 ^a (2,2 – 9,8)	6,5 ^a (2,9 – 11,2)
Trigliserit ** (mg/dl)	112 (66,0 – 126,0)	193,5 ^a (168,0 – 233,0)	265,5 ^a (179,0 – 99,0)	222,5 ^a (198,0 – 236,0)
T.Kolesterol* (mg/dl)	159,8 ± 19,7	188,5 ± 53,6	209,6 ± 59,3 ^b	200,3 ± 37,9 ^c
LDL-K* (mg/dl)	86,9 ± 12,9	138,0 ± 56,4 ^a	162,0 ± 45,2 ^{a,d}	123,8 ± 33,3 ^a
HDL-K* (mg/dl)	53,0 ± 7,7	37,5 ± 8,5 ^a	37,2 ± 7,7 ^a	38,0 ± 7,5 ^a

* ANOVA testi uygulanan veriler ortalama ± SD olarak verilmiştir.

** Kruskal – Wallis testi uygulanan veriler ortanca (%25-%75) olarak verilmiştir.

Kontrol grubuna göre; a: p<0.001, b: p<0.01, c: p<0.05, G-2 grubuna göre G-3; d: p<0.05

BUN, kreatinin, hsCRP ve TG düzeyleri; G-1, G-2, G-3 gruplarında kontrol grubuna göre yüksekti (her bir grupta, p<0.001), gruplar arasında ise anlamlı bir fark bulunamadı (p>0.05).

Albümin ve HDL-K düzeyleri; G-1, G-2, G-3 gruplarında kontrol grubuna göre düşüktü (her bir grupta, p<0.001), gruplar arasında ise anlamlı bir fark bulunamadı (p>0.05).

Total kolesterol düzeyleri; G-1 grubunda kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). G-2 ve G-3 gruplarında kontrol grubuna göre yüksekti (sırasıyla, $p<0.01$, $p<0.05$), gruplar arasında ise anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

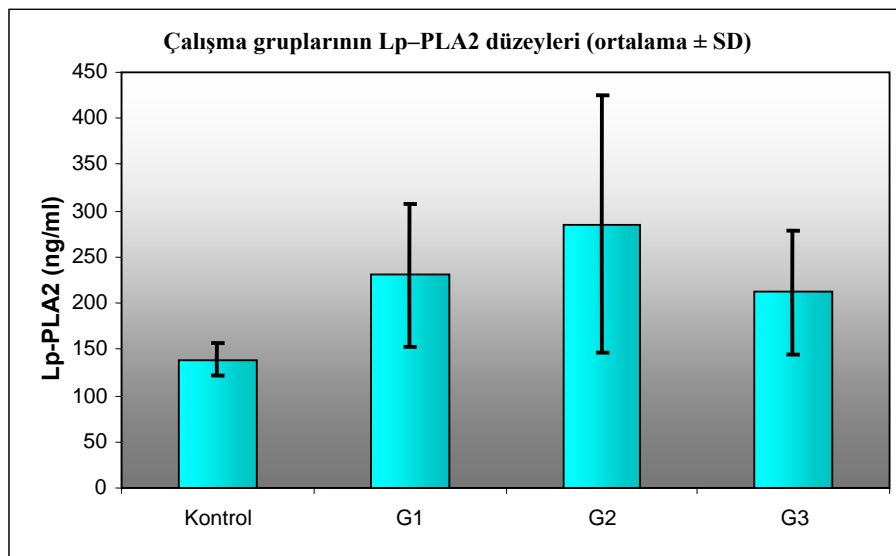
LDL-kolesterol düzeyleri; G-1, G-2, G-3 gruplarında kontrol grubuna göre yüksek (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$), G-1 ile G-2, G-3 arasında fark yoktu ($p>0.05$). G-2 ve G-3 grupları arasında ise anlamlı bir fark vardı ($p < 0.05$).

C- Kontrol grubu ile hemodiyaliz alt gruplarında lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2, NO düzeyleri ile arjinaz aktivitelerinin karşılaştırılması

Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 düzeyleri; Kontrol ve hemodiyaliz hastalarının farklı gruplarında lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 düzeylerinin istatistiksel incelenmesi Tablo 4.3'de ve şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Çalışma gruplarının Lp-PLA2 düzeyleri (ortalama \pm SD)

	Kontrol grubu (n=18)	Hemodiyaliz grubu		
		G-1 (n=30)	G-2 (n=18)	G-3 (n=22)
Lp-PLA2 (ng/ml)	138,6 \pm 17,6	230,8 \pm 77,2	285,7 \pm 138,6	211,8 \pm 67,0



Şekil 4.1. Çalışma gruplarının Lp-PLA2 düzeyleri

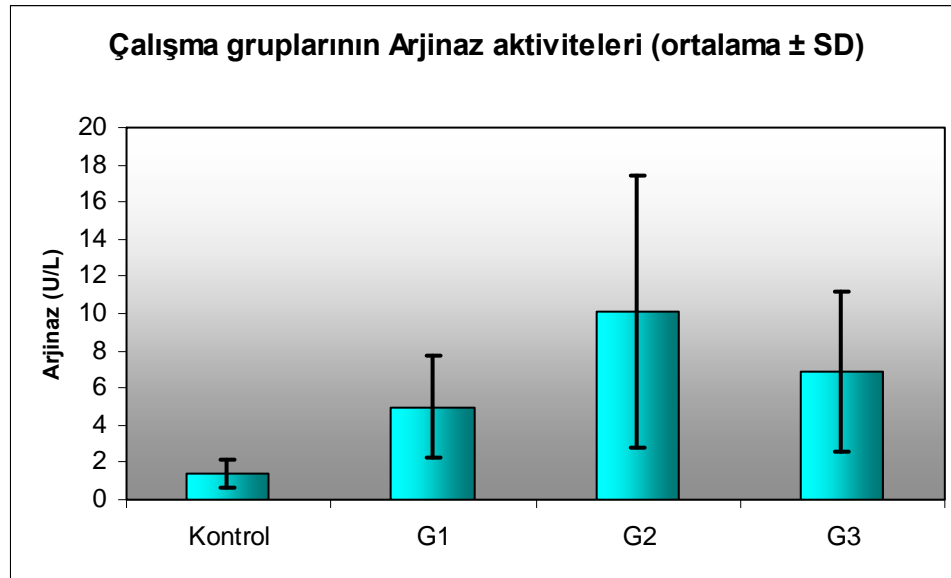
Lp-PLA2 düzeyleri, G-1, G-2, G-3 gruplarında kontrol grubuna göre yüksekti (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$), G-2 ve G-3 grupları arasında anlamlı bir fark vardı ($p<0.05$). G-2 grubunda G-1'e göre yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0.05$).

Arjinaz aktiviteleri;

Kontrol ve hemodiyaliz hastalarının farklı gruplarında arjinaz aktivitelerinin istatistiksel incelenmesi Tablo 4.4'de ve şekil 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4.Çalışma gruplarının arjinaz aktiviteleri (ortalama \pm SD)

	Kontrol grubu (n=18)	Hemodiyaliz grubu		
		G-1 (n=30)	G-2 (n=18)	G-3 (n=22)
Arjinaz (U/L)	1,4 \pm 0,8	5,0 \pm 2,7	10,1 \pm 7,3	6,9 \pm 4,3



Şekil 4.2. Çalışma gruplarının arjinaz aktiviteleri

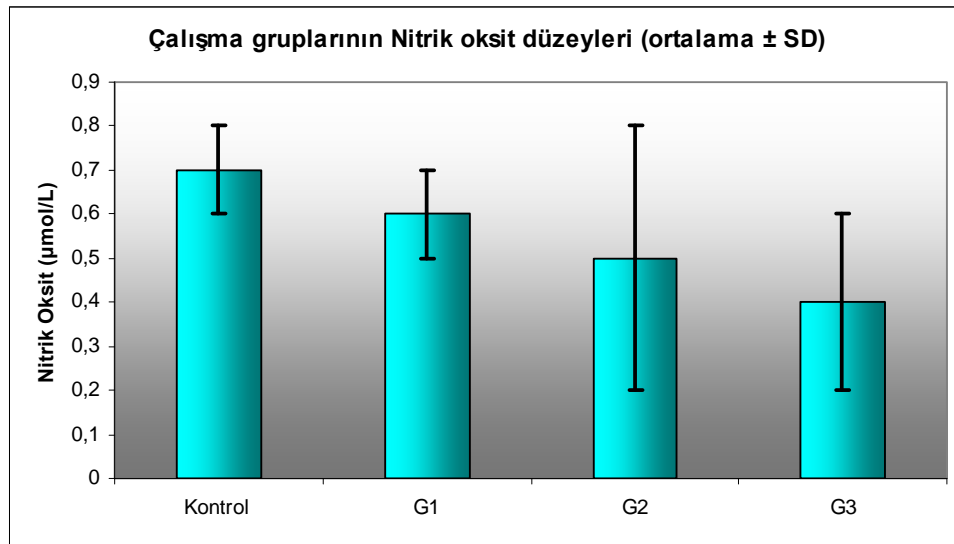
Arjinaz aktiviteleri, G-1, G-2, G-3 gruplarında kontrol grubuna göre yüksek (sırasıyla, $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.001$). G-2 grubunda G-1'den yüksek ($p<0.01$), G-3'den farksız bulundu ($p>0.05$).

Nitrik oksit düzeyleri:

Kontrol ve hemodiyaliz hastalarının farklı gruplarında nitrik oksit düzeylerinin istatistiksel incelenmesi Tablo 4.5’de ve şekil 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Çalışma gruplarının nitrik oksit düzeyleri (ortalama \pm SD)

	Kontrol grubu (n=18)	Hemodiyaliz grubu		
		G-1 (n=30)	G-2 (n=18)	G-3 (n=22)
Nitrik oksit ($\mu\text{mol/L}$)	0,7 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,5 \pm 0,3	0,4 \pm 0,2



Şekil 4.3. Çalışma gruplarının nitrik oksit düzeyleri

Nitrik oksit düzeyleri kontrol grubuna göre tüm hasta gruplarından düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak sadece G-2 ($p < 0,05$) ve G-3 ($p < 0,001$) arasında anlamlı farklılık bulundu. G-1 grubunda G-2’den farksız G-3’den önemli düzeyde yüksekti ($p < 0,01$).

D. Hemodiyaliz hastalarında çalışılan parametreler arasındaki ilişkiler:

Tablo 4.6. Hemodiyaliz hastalarında Lp – PLA2 düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki korelasyonlar

		Yaş	VKİ	TG	T-K	LDL	HDL	BUN	Cr	ALB	hsCRP	Arjinaz	NO
Lp - PLA2 (ng/ml)	R	.298*	.325*	.592**	.567**	.717**	-.473**	.019	-.074	-.043	.027	.605**	-.491***
	P	.012	.006	.000	.000	.000	.000	.874	.541	.724	.824	.000	.000

Hemodiyaliz hastalarının (n=70) Lp-PLA2 düzeyleri; yaş, VKİ, TG, T-K, LDL-K düzeyleri ve arjinaz aktiviteleri ile pozitif, HDL-K ve NO düzeyleri ile negatif korelasyon gösterdi. Lp-PLA2 düzeyleri ile BUN, kreatinin, albümin ve hsCRP düzeyleri arasında korelasyon bulunmadı.

Tablo 4.7. Hemodiyaliz hastalarında arjinaz aktiviteleri ile diğer parametreler arasındaki korelasyonlar

		Yaş	VKİ	TG	T-K	LDL-K	HDL-K	BUN	Cr	ALB	hsCRP	NO
Arjinaz (U/L)	r	.475**	.243*	.565**	.529**	.499**	-.397**	.111	-.133	-.040	.103	-.715**
	p	.000	.043	.000	.000	.000	.001	.360	.273	.745	.395	.000

Arjinaz aktiviteleri; yaş, VKİ, TG, T-K, LDL-K düzeyleri ile pozitif, HDL-K ve NO düzeyleri ile negatif korelasyon gösterdi. Arjinaz aktiviteleri ile BUN, kreatinin, albümin ve hsCRP düzeyleri arasında korelasyon bulunmadı

Tablo 4.8. Hemodiyaliz hastalarında nitrik oksit düzeyleri ile diğer parametreler arasındaki korelasyonlar

		Yaş	VKİ	TG	TK	LDL-K	HDL-K	BUN	Cr	ALB	hsCRP
NO ($\mu\text{mol/L}$)	<i>r</i>	-.304	-.087	-.525**	-.469**	-.395**	.266*	-.181	.206	.000	-.098
	<i>p</i>	.011	.474	.000	.000	.001	.026	.134	.087	.998	.420

NO düzeyleri; yaş, TG, T-K, LDL-K, düzeyleri ile negatif, HDL-K düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdi. NO ile VKİ, BUN, kreatinin, albümin ve hsCRP düzeyleri arasında korelasyon bulunmadı.

5. TARTIŞMA

Kronik böbrek hastalığının tüm evrelerinde kardiyovasküler problemler en önemli ölüm nedenidir. KBY'li hastalar genel popülasyona göre KVH için klasik risk faktörlerine daha çok sahip olmanın yanında, üremi ile ilişkili risk faktörlerine de maruz kalmaktadırlar.

Renal hastalık ve kardiyovasküler mortalite arasındaki ilişkinin daha çok orta derecede renal bozukluk olan bireylerde belirgin olduğu ve aslında KBY'nin 3. ve 4. evresindeki hastaların çoğunun SDBY'e ilerlemeden KVH nedeniyle öldükleri gözlemlenmiştir.

Kronik hemodiyaliz hastalarındaki aterosklerotik KVH riskini belirlemeye yönelik yapılan bir çalışmada (HEMO çalışması) (116), klasik koroner risk faktörlerinin bu hastalardaki KAH sıklığını açıklamada yetersiz kaldığı vurgulanmıştır. Bu amaçla yapılan diğer bir çalışmanın (CHOICE çalışması) (117) verileri ise, KBY'li hastalarda klasik KVH risk faktörlerinin daha sık gözlemlendiğini; ancak, bunların KVH sıklığının artırmasından kısmen sorumlu olduğunu göstermektedir.

Aterosklerozun birçok hastalığın gelişiminde rol oynaması, yüksek morbidite ve mortaliteye yol açması bu konuya ilgiyi arttırmış, özellikle ateroskleroza bağlı komplikasyonları önleyebilmek ve bu konuda asemptomatik aşamadayken kolay uygulanabilir tetkiklerle tanı koyup gerekli önlemleri alabilmek son derece önemli hale gelmiştir.

Üremili hastalarda klasik risk faktörlerinin yanında artmış kardiyovasküler riski gösterebilecek daha spesifik belirteçlerin arayışı devam etmektedir. Biz de çalışmamızda, hemodiyaliz hastalarında, aterosklerozun patogeneğinde risk faktörü olarak yer alan ve kardiyovasküler olaylarda rüptüre yatkın plağın belirleyicisi olan Lp-PLA2 düzeylerini belirleyerek bu hastalardaki artmış olan kardiyovasküler riski göstermeyi, bunun hastaların klinik durumu ile ve diğer biyokimyasal parametreler ile ilişkisini karşılaştırmayı amaçladık.

Kardiyovasküler hastalıklarda Lp-PLA2 düzeylerine ilişkin yapılmış pek çok çalışma olmasına karşın, KBY hastalarında yapılmış çalışma çok azdır. Çalışmamızda hemodiyaliz hastalarında Lp-PLA2 düzeylerini, kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek olduğunu

tespit ettik. Bu durum, hemodiyaliz hastalarındaki yüksek kardiyovasküler riski göstermesi açısından önemlidir. Evre 3–4 KBY’li 48 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada ve Evagelos N’nin periton diyalizli hastalarda yaptığı çalışmada PAF-AH düzeyleri incelenmiş ve bizim çalışmamızla uyumlu olarak kontrol grubundan yüksek olduğu tespit edilmiştir (118,119).

Haralampos ve ekibi (120), RRT almayan orta düzeyde KBY hastaları ile hemodiyaliz tedavisi alan SDBY hastaları ve periton diyalizi tedavisi alan SDBY hastaları olmak üzere üç grup hastada PAF-AH aktivitelerini kontrol grubu ile karşılaştırmıştır. Bu çalışmada enzim aktivitesinin RRT alan ve almayan böbrek yetmezlikli tüm hastalarda arttığı, periton diyalizi hastalarında hemodiyaliz hastaları ve orta düzeyde böbrek yetmezliği olan hastalara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diyaliz öncesi KBY hastaları ile hemodiyaliz hastalarının enzim aktiviteleri arasında fark bulunamamıştır. Kreatinin seviyeleri veya kreatinin klirens değerleri ve plazma PAF-AH aktivitesi arasında bir bağlantı gözlenmemiştir. Ayrıca enzim aktivitesi ile rezidüel böbrek fonksiyonu arasında da ilişki tespit edilememiştir. Bu sonuçlar böbrek disfonksiyonu derecesinin plazma PAF-AH aktivitesi üzerine etkisi olmadığını göstermektedir ve KBY hastalarındaki erken dönemde kardiyovasküler riskin yüksek olmasını da açıklamaktadır.

Enzim aktivitesinin periton diyalizi hastalarında hemodiyaliz ve diyaliz öncesi KBY hastalarına göre yüksek olması PAF-AH aktivitesi ile diyaliz işlemleri arasındaki bir ilişkiyi gündeme getirmektedir. Ayrıca böbrek yetmezliği olan hastalarda ve özellikle periton diyalizi hastalarında proteinler ve lipoprotein sentezinin uyarıldığı gözlenmiştir. Bu durum KBY ve hemodiyaliz hastalarındaki yüksek enzim aktivitesini açıklayabilir. Enzim sekresyonunun, lipoprotein partiküllerinden bağımsız olması, sonradan birleştikleri hipotezi yaygın olduğundan, doğrudan PAF-AH sentezinin artışı, bu popülasyondaki enzim aktivitesinin artışının ardındaki mekanizma da olabilir (120).

Çalışmamızda Lp-PLA2’nin en yüksek seviyelerini makrovasküler komplikasyonu olan hemodiyaliz hastalarında (G2) tespit ettik. Bu durum, Lp-PLA2’nin aterosklerozun risk faktörü olması ile uyumludur. Makrovasküler komplikasyonu olan hemodiyaliz hastalarının (G2) Lp-PLA2 düzeyleri diyabetik nefropati (G3) gruplarına göre anlamlı derecede yüksekti. Yine aynı grubun (G2) Lp-

PLA2 düzeyleri makrovasküler komplikasyonu ve diyabeti olmayan hemodiyaliz hastalarına (G1) göre yüksekti fakat istatistiksel olarak fark tespit edilemedi.

Diabetes mellitus ateroskleroz için önemli bir risk faktörüdür. DM'li hastalarda LDL'nin hızla oksitlenmesi, glukoz ile HDL'nin kolesterol taşıma fonksiyonunun bozulması ve hiperinsülinemi ateroskleroz riskini artırmaktadır. DM'li KBY hastalarında diğer nedenlere ikincil gelişmiş KBY'si olanlara oranla daha sık aterosklerotik komplikasyonlar izlenmektedir. Çalışmamızda diyabetik nefropatili hemodiyaliz hastalarında (G3) Lp-PLA2 düzeylerinin istatistiksel olarak anlamsız olmasına rağmen G1'e göre daha düşük olması, hasta sayısının düşük olmasına veya G3 grubunda %37'lik oranla statin kullanımının neden olduğu statinlerin antioksidan özellikleri, aterosklerotik plakları stabilize etmeleri ve vasküler inflamasyonu azaltmaları gibi pleiotropik etkilerine bağlı olabilir.

Çalışmamızda, bütün hasta gruplarında LDL-K düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken, hasta grupları içinde en düşük düzey G3'de saptanmıştır. Bu durum, statinlerin LDL-K üzerine olumlu etkilerini ve LDL-K ile bağlı bulunan Lp-PLA2'nin bu grupta daha düşük olmasını destekler. Tip 1 ve Tip 2 diyabet hastalarında Lp-PLA2 düzeylerini belirlemeye yönelik çalışmalarda, bizim çalışmamızla uyumlu olarak, Lp-PLA2'nin arttığı tespit edilmiştir ve bu durum diyabet ve aterosklerozdaki düşük derece inflamasyona bağlanmıştır (121-123).

Lipit metabolizması bozukluğu ve dislipidemi KBY'de sık karşılaşılan bir sorundur. Üremik ortamın etkisiyle lipoprotein konsantrasyon ve kompozisyonlarında değişiklikler meydana gelmektedir. Lipoprotein oksidasyonunun çeşitli mekanizmalarla aterosklerozu hızlandırdığı bilinmektedir. Son dönem böbrek yetmezliğinde en sık gözlenen lipit anomalileri; serum TG, LDL-K, T-K, Apo B seviyelerinde artış, HDL-K düzeylerinde azalmadır. Lipoproteinlerdeki oksidasyonun çeşitli mekanizmalarla aterosklerozu hızlandırdığı bilinmektedir. Okside LDL'nin ve onun okside fosfolipidlerinin, ateroskleroz risk faktörü olan Lp-PLA2 için substrat fonksiyonu görmesi bu mekanizmalardan biridir.

Hemodiyaliz hastalarında oksidatif hasarın çeşitli sebepleri vardır. Antioksidan sistemde zayıflık, endotel disfonksiyonu, dislipidemi, artmış protein modifikasyonu, hemodiyaliz işlemi bunlardan birkaçıdır (124). Hemodiyaliz işlemi sırasında üremik toksinler uzaklaşırken, aynı zamanda antioksidan bir enzim olan

glutasyon peroksidaz için esansiyel olan selenyum gibi eser elementler, antioksidan vitaminlerden olan vit C ve vit E diyalizat sıvısına geçerek oksidan hasarın artışına neden olmaktadır. Ayrıca diyaliz membranı ve diyalizat sıvıları, kompleman sistemi ve polimorfo-nüveli lökositleri aktive ederek süperoksit radikali oluşumunu artırmaktadır (124). Hemodiyaliz hastalarında görülen bu oksidatif durum, lipoproteinlerin oksidasyonuna yol açarak aterosklerozun patogenezindeki temel faktörü oluşturur.

Düşük derece inflamasyonun hassas bir göstergesi olarak hsCRP, aterosklerotik vasküler hastalık gelişimi için iyi bir belirteçtir. Çalışmamızda, hemodiyaliz hastalarında, hsCRP'nin yüksek olması KBY hastalarındaki inflamatuvar durumu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla bu hastalarda bir inflamasyon belirteci olan Lp-PLA2'nin yüksek düzeyleri de bu sonuçlarla uyumludur.

Çalışmamızda Lp-PLA2 düzeyleri; yaş, VKİ, T-K, LDL-K düzeyleri ile pozitif, HDL-K ve NO düzeyleri ile negatif koreleydi. BUN, kreatinin, albümin ve hsCRP ile korelasyonu yoktu.

Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2'nin LDL-K ile kuvvetli ilişki göstermesi sürpriz değildir, çünkü LDL, Lp-PLA2'nin majör taşıyıcısıdır. Yaşla korelasyonu ise yaşla beraber artan LDL düzeyleriyle ilişkilendirilebilir. Lp-PLA2 ile TG arasındaki korelasyonun, insülin direncine bağlı olarak lipoprotein lipaz aktivitesinin bozulması ve TG'den zengin Apo B lipoproteinlerinin katabolizmasının azalmasına bağlı olabileceği çeşitli çalışmalarda açıklanmıştır (123). Diyabet hastaları üzerinde yapılan çalışmalarda bu korelasyonlar gösterilmiştir (121-123). Kronik böbrek yetmezliği, hemodiyaliz ve periton diyalizi hastaları ile yapılan çalışmalarda da aynı korelasyonlar tespit edilmiştir (119,120).

Lp-PLA2 ile NO arasındaki negatif korelasyon, Lp-PLA2'nin ürünü olan LPC'nin endotel disfonksiyonuna yol açarak NO üretimini engellediği gerçeğini destekler.

Lp-PLA2 ile hsCRP arasında korelasyon olduğu açıklanan yayınlar olmasına rağmen (123) bizim çalışmamızda korelasyon tespit edilmedi. Literatürdeki çok sayıda çalışmada da korelasyonun tespit edilememesi, Lp-PLA2'nin koroner arter hastalığında bağımsız etkisini gündeme getirir (42).

Yaptığımız çalışmada Lp-PLA2 düzeyleri ile BUN ve kreatinin arasında korelasyon olmaması literatürdeki çalışmalarla uyumludur ve bu enzimin aktivitesinin böbrek disfonksiyonu derecesi ile ilişkili olmadığını gösterir (120).

Yüzde 30'un altında stenozu olan 172 hastada koroner damar içi asetilkolin infüzyonu ile koroner endotel disfonksiyonunu inceleyen Yang ve ekibi (125) koroner arterde kan akışındaki değişim ve önemli bir asetilkolin cevabı olan çap değişimini değerlendirerek, plazma Lp-PLA2 konsantrasyonunun insanlardaki koroner endotel disfonksiyonunun bağımsız bir belirleyicisi olduğunu göstermişlerdir ve bu bulgu diğer kardiyak risk faktörlerinden bağımsızdır. Lp-PLA2 tüm çok değişkenli uyarlamalardan sonra koroner endotel disfonksiyonu için bağımsız bir belirleyici olarak dikkat çekmektedir. Erken evredeki KBY hastalarında, koroner endotel disfonksiyonu olan hastaları tespit etmede Lp-PLA2 önemli bir klinik ihtiyaca cevap verebilecektir.

Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2'nin MI ve inmenin patogeneğinde hiperkolesterolemiden bağımsız rolü olduğu ve selektif inhibisyonunun koroner aterosklerotik lezyonun ilerlemesini durdurduğu gösterilmiştir (126,127).

Okside LDL (ox-LDL)'nin en güçlü proaterojenik lipoprotein olduğu düşünülmektedir. Endotel hücreleri ox-LDL'yi lektin benzeri ox-LDL reseptör 1 (LOX-1) yoluyla alırlar. Ox-LDL endotel hücrelerinde bir dizi sinyal sistemini aktive ederek apoptozis ve süperoksit radikal oluşumuna neden olur. Bu nedenle ox-LDL endotel disfonksiyonunun en güçlü tetikleyicisidir. Endotel disfonksiyonu NO üretimi yerine süperoksit anyonları oluşturan bir durumdur.

Arjininin, ornitin ve üreye hidrolizini katalizleyen arjinaz enzimi üzerine son yıllarda yapılan çalışmalar, bu enzimin, damar hastalıkları, enfeksiyöz hastalıklar, immün hücre fonksiyonu üzerindeki rolleri üzerine odaklanmıştır (128).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, arjinaz oluşumu ve/veya aktivitesindeki artışın ateroskleroza da içeren kardiyovasküler hastalıklar için risk teşkil eden faktörlerle ilişkili olduğunu göstermektedir (129).

Damar duvarındaki shear stres değişimlerinin ateroskleroz gelişiminde lokal bir risk faktörü olarak rol oynadığı iyi bilinmektedir. İyi kontrol edilmiş hemodinamik bir ortamda, shear stres değişimlerinin arjinaz düzenlemesi üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, karotid arterin 3 gün boyunca yüksek düzeyde

shear strese maruz kalmasının, arjinaz II oluşumunu artırdığı gösterilmiştir. Plak gelişimi için uygun hemodinamik ortam olarak bilinen osilasyon tipi akışın uygulanmasından 1 gün sonra, damar arjinaz II oluşumu artmıştır (129). Bu sonuçlar arjinaz II'nin akış tipi ve süresine bağlı olarak shear stresle uyarıldığını göstermektedir. Hemodiyaliz hastalarında diyaliz prosesinin shear stresini artırarak arjinaz oluşumunu artırabileceğini düşünmekteyiz.

Arter bölümlerinin 3 gün boyunca yüksek düzey shear strese maruz bırakılması ve ardından arjinaz inhibitörü N ω -hidroksi-nor-L-arjinin (nor NOHA) ile inkübe edilmesi bradikinine cevap olarak NO'ya bağlı endotel disfonksiyonunu iyileştirdiği ve total damar reaktif oksijen türleri oluşumunu azalttığı görülmüştür. Bütün bu sonuçlar, arjinaz inhibisyonunun, arter duvarını, plak oluşturmaya meyilli hemodinami tarafından tetiklenen erken dönem biyolojik işlevlerden koruduğunu ortaya koymaktadır (129).

Ryoo ve ekibi (130) ox-LDL'nin hızla arjinaz II aktivitesini artırdığını, aynı zamanda insan aort endotel hücrelerinde arjinaz II'nin oluşumunu tetiklediğini göstermişlerdir. Endotel hücrelerinde arjinaz II baskın izoformdur bu nedenle Ryoo ve ekibi bu enzim üzerine odaklanmıştır.

Hemodiyaliz hastalarında ateroskleroz gelişiminde arjinazın rolünü ve aktivitesini belirlemeye yönelik yaptığımız bu çalışmada, arjinaz aktivitesinin, hemodiyaliz hastalarında artmış olduğunu tespit ettik. Diğer bir çalışmada, LPC'nin arjinazı arttırdığı gösterilmiştir (131). Hemodiyaliz hastalarında ox-LDL-K'yı ölçmemiş olmamız bu çalışmanın bir eksikliğidir ancak ox-LDL'nin ateroskleroz gelişiminde tetikleyici faktör olduğu bilinmektedir. Lp-PLA2'nin substratının ox-LDL, ürünün de LPC olduğu göz önüne alındığında, Lp-PLA2'nin yüksek olduğu durumlarda arjinazın artması beklenen bir sonuçtur. Çalışmamızda en yüksek arjinaz aktivitelerinin, Lp-PLA2 düzeylerinin de en yüksek olduğu G-2'de saptanmış olması bu durumu destekler niteliktedir. Yapılan bir çalışmada glomerülofritte de arjinaz aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (132).

Tip 2 DM, inflamasyon, oksidatif stres ve hızlanmış ateroskleroz gelişimi ile karakterize bir insülin direnç durumudur. Literatürdeki çalışmalarda hipergliseminin vasküler arjinaz aktivitesini artırdığı ve arjinazın obezite ve diyabette endotel disfonksiyonuna neden olabileceği açıklanmıştır (133-135). Ayrıca inflamatuvar

sitokinler ve büyüme faktörlerinin arjinazı artırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (136).

Tip 2 diyabetik hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, plazma arjinaz aktivitesi hiperglisemi derecesiyle bağlantılı bulunmuş, kısa süreli (4saat) fizyolojik hiperinsülineminin yükselmiş plazma arjinaz aktivitesini azalttığı, kontrol grubunda ise bu etkinin olmadığı görülmüştür. (135). Bu durum insülinin, arjinaz enzimi aktivitesi üzerine önemli düzenleyici etkisini göstermektedir.

Çalışmamızda arjinaz aktiviteleri, yaş, VKİ, TG, T-K, LDL-K ile pozitif korele, HDL-K, NO ile negatif korele idi. BUN, kreatinin, albümin, hsCRP ile korelasyon saptanmadı.

Lp-PLA2'nin hem substratı, hem de ürününün arjinazı artıran faktörler olması nedeniyle, Lp-PLA2'nin LDL-K, TG, T-K ve yaş ile korele olması arjinazın bunlarla korele olmasını açıklar. Yaşla artan kardiyovasküler hastalıkların ve kolesterol aracılı endotel disfonksiyonu patofizyolojisinde arjinaz II aktivasyonunun önemli bir rol oynadığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (137-139).

NOS'un substratı olan arjinini kullanan arjinazın aktivasyonu, NO üretiminin azalmasına ve reaktif oksijen ürünlerinin artmasına neden olur. Bu durum, arjinaz ile NO arasındaki negatif korelasyonu açıklamaktadır.

Arjinazın damar düz kas hücre bölünmesini ve biyolojik olarak önemli moleküller üreterek hücre dışı matriks birikmesini artırdığına dair kanıtlar vardır. Arjinazın ürünü olan üre böbrekten atılırken, diğer arjinaz ürünü olan L-ornitin, ornitin dekarboksilaz ile poliamin ve putresine metabolize olur. Poliaminler hücrelerin mitojenik cevabında bütünleyici rol oynarlar. Damar düz kas hücre bölünmesine ornitin dekarboksilaz aktivitesi ve poliamin sentezindeki artış öncülük eder ve poliamin oluşumunun inhibe edilmesi düz kas hücre gelişimini inhibe eder (140,141).

Arjinaz aktivitesinin farmakolojik inhibisyonu poliamin üretimini azaltır ve düz kas hücrelerinin gelişimini inhibe eder. Arjininin NOS ile katalizlenen NO'nun sitrülline dönüşümünde bir ara ürün olarak oluşan N-Hidroksiarjinin, arjinazın ve hücre proliferasyonunun güçlü bir yarışmalı inhibitörüdür (142,143). Ayrıca NO'nun ornitin dekarboksilazın bir inhibitörü olduğu ve bu yolla hücre proliferasyonunu engellediği de açıklanmıştır (144).

Ateroskleroz patogeneğinde, erken vasküler lezyonlar, düz kas hücre aktivasyonu ve monosit makrofaj saldırısının artması ile karakterizedir. Bu mekanizmalar yolu ile hemodiyaliz hastalarında artmış olan arjinaz aktivitesi ve arjinin-NO yolunun inhibisyonu, kardiyovasküler riski artıran faktörler olarak rol alır.

Arter bölümlerinin 3 gün boyunca yüksek düzey shear strese maruz bırakılması ve ardından arjinaz inhibitörü nor NOHA ile inkübe edilmesi bradikinine cevap olarak NO'ye bağlı endotel disfonksiyonu iyileştirdiği ve total damar reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu azalttığı görülmüştür. Bütün bu sonuçlar, arjinaz inhibisyonunun, arter duvarını, plak oluşturmaya meyilli hemodinami tarafından tetiklenen erken dönem biyolojik işlevlerden koruduğunu ortaya koymaktadır (129, 138).

Arjinaza karşı yönelmiş tedavi modelleri, hem damar endotel hem de düz kas hücre disfonksiyonunu düzeltme imkanı sağladığından tek bir hücreyi hedefleyen diğer tedavi seçeneklerinden daha avantajlı olabilir. Ayrıca hedeflenen L-arjinin metabolizmasındaki değişimleri düzeltmek amacıyla L-arjinin verilmesi seçeneğine göre daha seçici yaklaşımlar sağlayabilir. Diyete L-arjinin eklenmesi NO sentezini düzeltirken, L-arjininin alternatif yollara kayması bu tedavinin etkinliğini tehlikeye sokabilir (145). Arjinaz oluşumu ve aktivitesini hedefleyen spesifik ve seçici moleküllerin gelişmesi damar hastalıklarının tedavisinde yeni tedavi yaklaşımları oluşturacak derecede ümit vaad eden bir alan gibi görünmektedir.

Nitrik oksitin eNOS aracılığı ile salınması damar homeostazının korunmasında önemli rol oynar. Bozulmuş NO sentezinden kaynaklanan endotel disfonksiyonu pek çok damar hastalığında belirgin bir özelliktir (146).

Yaptığımız çalışmada hemodiyaliz hastalarında NO seviyelerinin kontrol grubuna göre azalmış olduğunu tespit ettik. Bu durum, çeşitli damar hastalıklarının patogeneğinde NO'nun azalmış biyoyararlanımı ile uyumludur. Wever ve ekibi tarafından da KBY hastalığında NO'nun azaldığı gösterilmiştir (147). Hemodiyaliz hastalarında NO'nun arttığına dair çalışmalar olsa da (148) bu çalışmalarda, NO artışı sebebine yönelik açıklamaların ve diyaliz hastalarında yaygın olarak görülen hipertansiyona yol açan mekanizmaların, NO azalmasıyla çelişkili olması bizim çalışmamızın daha mantıklı olabileceğini düşündürmektedir.

Böbrek hastalıklarında pek çok yol NO yetersizliğine yol açabilmektedir. Bu nedenle KBY'nin indüklediği NO yetersizliği KBY'nin ilerlemesine de neden olur. Deneysel olarak tetiklenmiş kronik NOS inhibisyonunun sistemik ve glomerüler hipertansiyona, glomerüler iskemiye, glomeruloskleroza, tubulointerstisyel hasar ve proteinüriye neden olduğunu kanıtlayan hayvan çalışmaları vardır (149–151). Kronik böbrek yetmezliği ilerledikçe NO yetersizliğine çoklu mekanizmalar dahil olur (152).

Endotel disfonksiyonu KBY'nin erken evrelerinde oluşur. Damar endoteli vücuttaki en büyük organ olduğundan renal hastalıktaki azalmış NO üretimi endotel disfonksiyonu yansıtır.

Çeşitli laboratuvar çalışmaları arjinazın bazı patolojik durumlarda endotel disfonksiyonunun önemli bir mediatörü olduğunu göstermiştir (153). Son çalışmalar renal ve vasküler arjinazın NOS için L-arjinin substratı ile rekabet ettiğini ortaya koymuştur (111,113) (Şekil 2.11).

L-arjininin çoğunluğu üre üretimi için tüketilir. Arjinaz I veya II'nin aşırı oluşumu endotel hücrelerinde NO oluşumunu baskılar bu da hücrelerarası L-arjinin içeriğinde önemli azalmalara yol açar (130,154).

Yarı esansiyel aminoasit olan L-arjininin karaciğerdeki üretiminin, üre döngüsünde kullanılması nedeniyle, böbrek korteksinin proksimal tübüllerinde sentezlenen arjinin vücudun ihtiyacını karşılayan temel kaynaktır. KBY'li hastalarda bu sentez azalmıştır (155).

Senteze ek olarak böbrek, böbrekten süzülen arjininin hemen hemen tamamını, Na gerektiren antiport taşıyıcı sistemle proksimal tübülden reabsorbe edebilir. Fakat diyaliz esnasında bu reabsorbsiyon sistemi yoktur ve diyaliz yoluyla arjinin kaybedilir (156).

Kronik böbrek yetmezliğinde, artmış arjinaz aktivitesi, arjininin sentezinin azalması ve diyaliz yolu ile kaybı nedeniyle, sınırlı substrattan dolayı, NO azalmasına katkıda bulunur. Yapılan çalışmalarda düşük arjinin seviyelerinde NOS'un eşleşmediği ve NO yerine reaktif oksijen ürünleri ve oksidatif stres oluşturduğu açıklanmıştır (157).

Son dönem böbrek yetmezliği hastalarının plazmasında kompetitif NOS inhibitörü olarak fonksiyon gören, metillenmiş proteinlerin degradasyon ürünü olan ADMA'nın arttığını gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır. (158,159).

Başlangıçta SDBY'deki plazma ADMA artışının, renal klirensindeki kaybını yansıttığı farz ediliyordu. Ancak idrarda çok az bir ADMA miktarının değişmeden atıldığı ve çoğunluğunun dimetilarjinin dimetilamino hidrolaz 1 ve 2(DDAH 1,2) enzimleri tarafından yıkıldığı bilinmektedir. Dimetilarjinin dimetilamino hidrolaz vücutta yaygın olarak bulunur, en çok böbrekte ve karaciğerde vardır. Renal yetmezlik belirgin bir oksidatif stres durumudur ve oksidatif stres ile artan ox-LDL, DDAH aktivitesini inhibe ederek ADMA seviyelerinin artışına neden olur. Artmış ADMA seviyeleri NOS'u inhibe ederek KBY'li hastalarda NO eksikliğine katkıda bulunur (160).

Çalışmamızda en yüksek arjinaz aktivitelerini G2 hastalarında tespit etmemize rağmen en düşük NO düzeylerini G3 hastalarında tespit etmemiz diyabet hasta grubunda endotel disfonksiyonuna neden olan farklı mekanizmaların olduğunu düşündürmektedir.

İnsülin direncinin tip 2 diyabete ilerleyişi ile endotel disfonksiyonundan ateroskleroza kadar ilerleyen sürecin paralel seyrettiğine dair kanıtlar artmaktadır. Eldeki kanıtlar fosfoinozitol-3 kinaz yolunun glukoz transportu yanında, insülinin endotel hücrelerinde NO sentezini stimüle edici etkisinde de rol oynadığını göstermektedir. Bu yoldaki defektler hem glukoz transportunda, hem de NO sentezinde bozulmalara yol açmaktadır. İnsülin direnci ve Tip 2 DM olan kişilerin iskelet kasında fosfoinozitol-3 kinaz yolağının baskılandığı gösterilmiştir. Hiperinsülinemik insülin direnci durumunda vasküler düz kas hücre fonksiyonları uyarılmakta ve NO üretiminin azalması ile endotel hücrelerinde denge proaterojenik yöne kaymaktadır (161,162). İnsülin direnci ile oluşan NO biyoyararlanımının azalması, insülin direncinin ilerlemesine de katkıda bulunur (135).

İnsülin direnci olan bireylerde adipoz dokuda TNF- α ekspresyonu artmaktadır. TNF- α 'nın endotel hücre kültürlerinde NO biyoyararlanımını, hem insan, hem de hayvan çalışmalarında endotel bağımlı dilatasyonu azalttığı gözlenmiştir. Bundan sorumlu olası mekanizmalar arasında TNF- α aracılığı ile olan eNOS mRNA yarı ömründe azalma ve vasküler NADPH oksidaz aracılığı ile gerçekleşen süperoksit üretiminde artış sayılabilir (163).

İnsülin direncinde NO yapımında azalmanın diğer bir nedeni de endojen NOS inhibitörlerinin oluşumudur ve bu inhibitörlerden birisi ADMA'dır. İnsülin direnci ile birlikte ADMA birikiminde artış olduğu gösterilmiştir (164).

Bozulmuş glukoz toleransı ve diyabetle ilişkili olarak gelişen hiperglisemi, oksidatif strese artışa, ileri glikozilasyon ürünlerinin oluşumuna neden olarak insülin direncine yol açar. Ek olarak hiperglisemi, ekstrasellüler matriks ve prokoagulan proteinlerin ekspresyonunu indükler, endotel hücre apoptozisini artırır, endotel hücre proliferasyonunu azaltır ve endotel hücre disfonksiyonuna neden olur. Hiperglisemi, endotelial permeabiliteyi ve lökositlerin endotele adezyonunu artırır, NO biyoyararlanımını bozar (165).

Kuzey Manhattan çalışması bozulmuş açlık glukozu ile endotel disfonksiyonu arasında pozitif ilişki olduğunu bildirmektedir (166). Bozulmuş açlık glukozu olan bireylerde akıma bağlı dilatasyon normal bireylere göre belirgin olarak düşüktür. Plazma glukozundaki her 10 mg/dl artış akıma bağlı dilatasyonda % 0,24'lük azalmaya neden olmaktadır. Bu bulgular diyabetin farklı evrelerinde gelişen vasküler disfonksiyonun patogenezinde hipergliseminin rolünü göstermekte ve bozulmuş glukoz toleransının makrovasküler hastalık gelişimi için risk faktörü olduğuna işaret etmektedir.

İleri glikozilasyon ürünlerinin oluşumu hiperglisemi ve oksidatif stres durumunda artar ve stabilitesi nedeniyle yaşam boyunca birikirler. İleri glikasyon son ürünleri reaktif oksijen ürünlerinin oluşmasına ve AGE reseptörleri aracılığı ile hücrel NO sinyalizasyon sisteminde bozulmaya yol açarlar (167).

Çalışmamızda NO düzeyleri; yaş, TG, T-K, LDL-K, Lp-PLA2 ve arjinaz ile negatif korele, HDL-K ile pozitif koreleydi. VKİ, BUN, kreatinin, albümin, hsCRP ile korelasyonu yoktu. Arjinazın artan aktiviteleri ile NO'nun azalması bu korelasyonları destekler. Lp-PLA2'nin ürünü olan LPC'nin de NO'yu azalttığı ve endotel disfonksiyonu yansıttığı bilinmektedir (59).

Arjinin-NO yolunun önemli bir fizyolojik rolü; hipertansiyon, inme ve ateroskleroz gibi kronik hastalıklara yol açan patofizyolojik durumlara karşı kardiyovasküler sistemi korumaktır. Değişmiş vasküler endotel hücreler tarafından NO üretimindeki bir azalmanın aterosklerozun ilerlemesi veya oluşmasına katkıda bulunması muhtemeldir. Genelde koroner arter hastalığı ve aterosklerozis,

monositlerin vasküler dokuya invazyonu, vasküler düz kas hücrelerinin subendotelyal alana geçerek çoğalması ve en sonunda plak formasyonu, lümen oklüzyonu ve plak rüptürü ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalık olarak değerlendirilir. NO ve arjinin-NO yolunun, bilinen kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı, bu yolun normal endotel hücrelerinde, intima yüzeyine lökosit ve makrofajların göçü ve yapışmasını engellemek, lipoproteinleri oksidatif stresin oksidasyonundan korumak için bir antioksidan gibi işlev görmek ve vasküler düz kas hücreleri ve lökositlerin proliferasyonunun önüne geçmek için çok yönlü fonksiyonlar gördüğünü söylemek mümkündür (144).

L-Arjinin verilmesiyle, vaskularite ve vazodilatasyonda önemli bir mediatör olan NO'nun üretiminin artırılabilirdiği bir süredir bilinmektedir. Asimetrik dimetilarjinin gibi NOS inhibitörlerinin varlığında L-arjinin verilmesi eNOS'u destekler. Ancak L-arjinin, kendisi için NOS ile yarışan arjinaz için de substrattır.

Kronik böbrek yetmezliğinde görülen yüksek kardiyovasküler riskin azaltılmasına yönelik böbrek yetmezliğinin tüm evrelerindeki tedavi stratejileri, kardiyovasküler hastalığa neden olan etyoloji ve mekanizmaları hedef almalıdır. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda yüksek vasküler hastalık prevalansını açıklamak üzere yapılan pek çok çalışma, endotel disfonksiyonu, inflamasyon ve ateroskleroz arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermiştir. Patogenez endotel hücre hasarıyla başlar. Hemodiyaliz hastalarında kardiyovasküler hastalık riskini azaltmaya yönelik çalışmalar endotel disfonksiyonunu onarmaya ya da en azından bu hasarın ilerlemesini önlemeye yönelik olmalıdır (168). Endotel disfonksiyonu ve aterosklerozun temelinde oksidatif stres ve inflamasyon yatmaktadır. Kronik böbrek yetmezliğinin tüm evresindeki hastalar yüksek kardiyovasküler risk ve endotel disfonksiyon açısından izlenmelidir.

Hemodiyaliz hastalarında, Lp-PLA2 ve NO düzeyleri ile arjinaz aktivitesini belirlemeye yönelik yaptığımız bu çalışmada, kardiyovasküler risk faktörü olarak bu belirteçlerin mekanizmalarının kesiştiğini ve birbirlerini tetiklediğini gözlemledik.

Bu çalışmanın önemli bulguları; Lp-PLA2 ile arjinaz arasındaki pozitif ve azalmış NO arasındaki negatif korelasyonlardır. Bu bulgu, KBY'deki endotel disfonksiyonuna katkılarının birbirini tetiklediğini düşündürmektedir. Ayrıca klasik

risk belirteçleri (TG, T-K, LDL-K, HDL-K) ile ilişkisi benzerdir. Her üç parametre de inflamasyon belirteci hsCRP ile korelasyon göstermemiştir.

Hemodiyaliz hastalarında arjinin metabolizmasının disregülasyonu altında, endotel disfonksiyonu ile izlenebilen azalmış NO biyoyararlılığı olduğu bilinmektedir. Bu durum arjinaz ve Lp-PLA2 artışları ile ilişkilendirilebilir.

Sonuç olarak arjinaz ve Lp-PLA2 artışları ve azalmış NO düzeyleri, hemodiyaliz hastalarında endotel disfonksiyonu ve buna bağlı gelişebilecek kardiyovasküler riskleri yansıtmada yararlı parametreler olarak görünmektedir.

Böbrek yetmezliği hastalarında, endotel disfonksiyonu azaltmaya yönelik yapılacak çalışmalarda, Lp-PLA2 ve arjinazın artmış aktivitelerinin düşürülmesi hedef alınmalıdır. Lp-PLA2'yi azaltmaya yönelik çalışmalarda LDL'nin oksidasyonunun önlenmesi ve Lp-PLA2'nin spesifik inhibitörlerinin kullanımı yararlı olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

RTS (Renal Therapy Services) Özel Yaşam Diyaliz Merkezinde hemodiyaliz tedavisi gören SDBY hastalarında serum Lp-PLA2, NO düzeylerinin ve arjinaz aktivitelerinin, endotel disfonksiyonu ile kardiyovasküler hastalıklardaki olası rollerini araştırdığımız bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1. Hasta ve kontrol grubunun yaş, VKİ ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak fark yoktu. ($p>0.05$),

2. Hemodiyaliz grubunda; BUN, kreatinin, hsCRP, TG, T-K ve LDL-K düzeyleri kontrol grubundan yüksek ($p<0.001$), Albümin ve HDL-K düzeyleri ise kontrol grubundan düşük bulundu ($p<0.001$).

3. Hemodiyaliz grubunun Lp-PLA2 düzeyleri ve arjinaz aktiviteleri kontrol grubundan yüksek, NO düzeyleri ise düşük bulundu ($p<0.001$).

4. G-1, G-2, G-3 gruplarında kontrol grubuna göre; BUN, kreatinin, hsCRP ve TG düzeyleri yüksek, albümin ve HDL-K düzeyleri düşük bulundu (her bir grupta, $p<0.001$), gruplar arasında ise anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$).

5. T-K düzeyleri; G-1 grubunda kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0,05$). G-2 ve G-3 gruplarında kontrol grubuna göre yüksekti (sırasıyla, $p<0.01$, $p<0.05$), gruplar arasında ise anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$).

6. LDL-K düzeyleri; G-1, G-2, G-3 gruplarında kontrol grubuna göre yüksekti (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$), G-1 ile G-2, G-3 arasında fark yoktu ($p>0.05$). G-2 ve G-3 grupları arasında ise anlamlı bir fark vardı ($p < 0,05$).

7. Lp-PLA2 düzeyleri, G-1, G-2, G-3 gruplarında kontrol grubuna göre yüksekti (sırasıyla, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.05$), G-2 ve G-3 grupları arasında ise anlamlı bir fark vardı ($p< 0,05$). G-2 grubunda G-1'e göre yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p> 0,05$).

8. Arjinaz aktiviteleri; G-1, G-2, G-3 gruplarında kontrol grubuna göre yüksekti (sırasıyla, $p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.001$), G-2 grubunda G-1'den yüksek ($p<0.01$), G-3'den farksızdı ($p> 0,05$).

9. Nitrik oksit düzeyleri tüm hasta gruplarında kontrol grubuna göre düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak sadece G-2 ($p<0,05$) ve G-3 ($p<0,001$) arasında

anlamli farklilik bulundu. G-1 grubunda G-2'den farksiz G-3'den yuksekti ($p < 0,01$).

10. Lp-PLA2 duzeyleri; yas, VKI, TG, T-K, LDL-K duzeyleri ve arjinaz aktivitelemi ile pozitif, HDL-K ve NO duzeyleri ile negatif korelasyon gosterdi. Lp-PLA2 ile BUN, kreatinin, albümin ve hsCRP duzeyleri arasinda korelasyon bulunmadi.

11. Arjinaz aktivitelemi; yas, VKI, TG, T-K, LDL-K duzeyleri ile pozitif, HDL-K ve NO duzeyleri ile negatif korelasyon gosterdi. Arjinaz aktivitesi BUN, kreatinin, albümin ve hsCRP değerleri arasinda korelasyon bulunmadi

12. NO duzeyleri; yas, TG, T-K, LDL-K, duzeyleri ile negatif, HDL-K duzeyleri ile pozitif korelasyon gosterdi. NO ile VKI, BUN, kreatinin, albümin ve hsCRP duzeyleri arasinda korelasyon bulunmadi.

Sonuç olarak; hemodiyaliz hastalarinda Lp-PLA2 ve arjinaz artislari ile azalmis NO duzeylerinin, birbirlerini tetikleyen mekanizmalarla etkili olduklarini dusunmekteyiz. Bu mekanizmalarin sonucu olarak gelisen endotel disfonksiyonu ile erken donemdeki kardiyovaskuler riskleri yansitmada Lp-PLA2, arjinaz ve NO yararli parametreler olarak gorunmektedir. Kronik bobrek yetmezliginde kardiyovaskuler hastaliklarin azaltilmasina yonelik yapilacak calismalarda bu mekanizmalarin baslangic noktası olan LDL-K oksidasyonunun onlenmesi veya artmıs Lp-PLA2 ile arjinaz aktivitelemi azaltmaya yonelik inhibitörler gelistirilerek bu kısır dongünün kirlilmasinin yararli olacagini dusunmekteyiz. Daha kapsamlı protokolleri ve arjinaz 2 izoenzimlerinin belirlenmesini de icerecek sekilde planlanarak yapilacak yeni calismaların kliniğe yararli mekanizmalarin aydinlatilmasina ışık tutacagini ümit etmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Tekin A, Cengiz U, Gültekin S, Nefroloji El Kitabı, İç: Ahmet UY, Tekin A, Ed. Kronik Böbrek Yetmezliği.4.baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 2007. s.283-304
2. Gürler İ, Serhat Ü, Kadir B, Sema A, Gültekin S. İliç'in Temel İç Hastalıkları. İç: Emel A, Gültekin S. Kronik Böbrek Yetmezliği. Ankara, Güneş Kitabevi, 1996. s. 769-777.
3. Goldman L, Dennis A. Cecil Textbook of Medicine. 22.baskı. Saunders, Güneş Kitabevi, 2006.s.708-716.
4. Fauci AS, Braunwold E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. Harrison's Principles of Internal Medicine. In: Lazarus JM, Brenner BM.Chronic renal failure. 14th Ed.USA,McGraw-Hill;1998.p.1513-1520
5. Robert WS, Nefroloji El Kitabı, In: Bruce JF. Kronik Böbrek Yetmezliği Olan Hasta,5.baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 2000.s.155-167
6. Mevlüt K, Ayşegül A, Alper G. Diyabetik nefropati, Hacettepe Tıp Dergisi 2004; 35:12-17
7. Jay SS. Diyabet Atlası. İç: Robert CS, Diyabet ve Böbrek, 3.baskı, İstanbul, Tenedoks Yayıncılık, 2007,s.193-204.
8. Hasan Y, Vedat H, Abdullah S. Cerrahpaşa İç Hastalıkları. İç: Mücahit Ö. Diyabetik Nefropati. 1.baskı, İstanbul, İstanbul Medikal Yayıncılık, 2005.s.1114-1118.
9. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group.The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1993;329:977-986.

10. Mogensen CE. Microalbuminuria and hypertension with focus on type 1 and type 2 diabetes. *J Intern Med.* 2003;254:45–66.
11. Foggensteiner L, Mulroy S, Firth J. Management of diabetic nephropathy. *JR Soc Med.* 2001; 94(5):210-7
12. Warram JH, Gearin G, Laffel L, Krolewski AS. Effect of duration of type I diabetes on the prevalence of stages of diabetic nephropathy defined by urinary albumin/creatinine ratio. *J Am Soc Nephrol.* 1996;7:930–937.
13. Garber AJ. Vascular disease and lipids in diabetes. *Med Clin North Am.* 1998;82:931–948.
14. Serhat I, Tuncay D, Dilek B, Yusuf A, Serdar G. Kalp hastalıklarında diyabet yönetimi-Derleme. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2009;9:238–247
15. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285:2486–2497.
16. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet.* 1998;352:837–53.
17. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Lancet.* 1998;352:854–65.
18. Eric JT. *Textbook of Cardiovascular Medicine.* AND Yayıncılık. 2005.s.139-158.

19. Spoelstra-de Man AM, Brouwer CB, Stehouwer CD, Smulders YM. Rapid progression of albumin excretion is an independent predictor of cardiovascular mortality in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria. *Diabetes Care*. 2001;24:2097–101.
20. Baigent C, Burbury K, Wheeler D. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. *Lancet*. 2000;356:147–52.
21. Held PJ, Port FK, Webb RL, Wolfe RA, Bloembergen WE, Turenne MN, Holzman E, Ojo AO, Young EW, Mauger EA, et al. Excerpts from United States Renal Data System 1995 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis*. 1995;26:1–186.
22. Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JF. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation*. 2007;116(1):85-97.
23. Hallan SI, Dahl K, Oien CM, Grootendorst DC, Aasberg A, Holmen J, Dekker FW. Screening strategies for chronic kidney disease in the general population: follow-up of cross sectional health survey. *BMJ*. 2006;333:1047.
24. Muntner P, He J, Astor BC, Folsom AR, Coresh J. Traditional and nontraditional risk factors predict coronary heart disease in chronic kidney disease: results from the atherosclerosis risk in communities study. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:529–38.
25. Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Dwyer JT, Heyka RJ, Rocco MV, Teehan BP, Levey AS. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2000;58:353–62.
26. Muntner P, Hamm LL, Kusek JW, Chen J, Whelton PK, He J. The prevalence of nontraditional risk factors for coronary heart disease in patients with chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. 2004;140:9–17.
27. Westhuyzen J, Healy H. Review: Biology and relevance of C-reactive protein in cardiovascular and renal disease. *Ann Clin Lab Sci*. 2000;30:133-43.

28. Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimbürger O, Massy Z. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3:505-21.
29. Kaysen GA. The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:1549-57.
30. Shah NR, Dumler F. Hypoalbuminaemia-a marker of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease stages II-IV. *Int J Med Sci.* 2008;5:366-70.
31. Stevens LA, Djurdjev O, Cardew S, Cameron EC, Levin A. Calcium, phosphate, and parathyroid hormone levels in combination and as a function of dialysis duration predict mortality: evidence for the complexity of the association between mineral metabolism and outcomes. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:770-9.
32. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int.* 2002;62:1524-38.
33. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP, Kebede M, Salama L, Lambrey G, Witko-Sarsat V, Drüeke TB, Lacour B, Thévenin M. Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:335-40.
34. Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, Himmelfarb J. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2004;65:1009-16.
35. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115-26.

36. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (second of two parts). *N Engl J Med*. 1976;295:420-5.
37. Michael HC, John PD. Crawford Kardiyoloji.1.baskı.1.cilt.İstanbul. AND yayıncılık.2004.s.1-12.
38. Nordestgaard BG. The vascular endothelial barrier--selective retention of lipoproteins. *Curr Opin Lipidol*. 1996;7:269-73.
39. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*. 1997;272:20963-6.
40. Joseph GM, Margaret AL. Mayo Clinic Cardiology. 3.baskı.Ankara.Güneş Kitabevi, 2008.s. 699-713.
41. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 2002;420:868-74.
42. McConnell JP, Hoefner DM. Lipoprotein-associated phospholipase A2. *Clin Lab Med*. 2006;26:679-97.
43. Dada N, Kim NW, Wolfert RL. Lp-PLA2: an emerging biomarker of coronary heart disease. *Expert Rev Mol Diagn*. 2002;2(1):17-22.
44. Kolodgie FD, Burke AP, Taye A, Liu W, Sudhir K, Virmani R. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is highly expressed in macrophages of coronary lesions prone to rupture. [Abstract 1183, Scientific Sessions of the American Heart Association, Nov 2004. New Orleans, La.] *Circulation*. 110 Suppl 3:246-247.
45. MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, Dhanak D, Ife RJ, Leach CA, Leake DS, Milliner KJ, Patterson RA, Suckling KE, Tew DG, Hickey DM. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor. *Biochem J*. 1999;338:479-87.

46. Macphee CH. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a potential new risk factor for coronary artery disease and a therapeutic target. *Curr Opin Pharmacol.* 2001;1:121-5.
47. Snyder MR, Mullins JL, Ninova D, Hartman SJ, et al. Article: Distribution of Lp-PLA2 Among Lipoprotein Fractions and Association with Atherosclerotic Risk Markers (Abstract C-132). *Clin Chem* 2006;52:120-1.
48. Tselepis AD, Karabina SA, Stengel D, Piédagnel R, Chapman MJ, Ninio E. N-linked glycosylation of macrophage-derived PAF-AH is a major determinant of enzyme association with plasma HDL. *J Lipid Res.* 2001;42:1645-54.
49. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, Holmes SD, Chamberlain P, Macphee CH. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2000;150:413-9.
50. Karabina SA, Liapikos TA, Grekas G, Goudevenos J, Tselepis AD. Distribution of PAF-acetylhydrolase activity in human plasma low-density lipoprotein subfractions. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1213:34-8.
51. de Graaf J, Hak-Lemmers HL, Hectors MP, Demacker PN, Hendriks JC, Stalenhoef AF. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb.* 1991;11:298-306.
52. Yang CY, Raya JL, Chen HH, Chen CH, Abe Y, Pownall HJ, Taylor AA, Smith CV. Isolation, characterization, and functional assessment of oxidatively modified subfractions of circulating low-density lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:1083-90
53. Kiechl S, Willeit J, Mayr M, Viehweider B, Oberhollenzer M, Kronenberg F, Wiedermann CJ, Oberthaler S, Xu Q, Witztum JL, Tsimikas S. Oxidized phospholipids, lipoprotein(a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity,

- and 10-year cardiovascular outcomes: prospective results from the Bruneck study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:1788-95.
54. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. the road ahead. *Cell.* 2001;104:503-16.
 55. Safaya R, Chai H, Kougiyas P, Lin P, Lumsden A, Yao Q, Chen C. Effect of lysophosphatidylcholine on vasomotor functions of porcine coronary arteries. *J Surg Res.* 2005;126:182-8.
 56. Takahashi M, Okazaki H, Ogata Y, Takeuchi K, Ikeda U, Shimada K. Lysophosphatidylcholine induces apoptosis in human endothelial cells through a p38-mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *Atherosclerosis.* 2002;161:387-94.
 57. Chaudhuri P, Colles SM, Damron DS, Graham LM. Lysophosphatidylcholine inhibits endothelial cell migration by increasing intracellular calcium and activating calpain. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:218-23.
 58. Tselepis AD, John Chapman M. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl.* 2002;3:57-68.
 59. Lavi S, McConnell JP, Rihal CS, Prasad A, Mathew V, Lerman LO, Lerman A. Local production of lipoprotein-associated phospholipase A2 and lysophosphatidylcholine in the coronary circulation: association with early coronary atherosclerosis and endothelial dysfunction in humans. *Circulation.* 2007;115:2715-21.
 60. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J, Macphee CH, Suckling KE, Krishna M, Wilkinson FE, Rumley A, Lowe GD. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med.* 2000;343:1148-55.
 61. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, Sharrett AR. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-

- reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*. 2004;109:837-42.
62. Koenig W, Khuseyinova N, Löwel H, Trischler G, Meisinger C. Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany. *Circulation*. 2004;110:1903-8.
 63. Wolfert RL, Kim NW, Selby RG, Sarno MJ, Warnick RG, Sudhir K. Biological Variability and Specificity of lipoprotein-associated phospholipase A2, a novel marker of cardiovascular risk. [Abstract 1477, Scientific Sessions of the American Heart Association, November 2004. New Orleans, LA]. *Circulation*, 2004;110 (Suppl 3):309.
 64. Cederholm A, Svenungsson E, Stengel D, Fei GZ, Pockley AG, Ninio E, Frostegård J. Platelet-activating factor-acetylhydrolase and other novel risk and protective factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2004;50:2869-76.
 65. Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:1586-93.
 66. McLaughlin TM, Abbasi F, Wolfert R, Lamendola C, Reaven G, Reaven P. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is not increased in association with insulin resistance (abstract). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:E-67
 67. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F; Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular

- disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107:499-511.
68. Marathe GK, Zimmerman GA, McIntyre TM. Platelet-activating factor acetylhydrolase, and not paraoxonase-1, is the oxidized phospholipids hydrolase of high density lipoprotein particles. *J Biol Chem* 2003;278:3937–3947
 69. Münzel T, Gori T. Lipoprotein-associated phospholipase A(2), a marker of vascular inflammation and systemic vulnerability. *Eur Heart J*. 2009;30(23):2829-31
 70. Gorelick PB. Lipoprotein – Associated Phospholipase A2 and Risk of Stroke. *Am J Cardiol*. 2008; 101:34-40
 71. Libby P, Sasiela W. Plaque stabilization: Can we turn theory into evidence? *Am J Cardiol*. 2006;98:26-33.
 72. Taylor AJ, Sullenberger LE, Lee HJ, Lee JK, Grace KA. Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol (ARBITER) 2: a double-blind, placebo-controlled study of extended-release niacin on atherosclerosis progression in secondary prevention patients treated with statins. *Circulation*. 2004;110:3512-7.
 73. Zhao XQ, Yuan C, Hatsukami TS, Frechette EH, Kang XJ, Maravilla KR, Brown BG. Effects of prolonged intensive lipid-lowering therapy on the characteristics of carotid atherosclerotic plaques in vivo by MRI: a case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:1623-9.
 74. O'Donoghue M, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, McCabe CH, Cannon CP, Braunwald E. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection

- Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction) trial. *Circulation*. 2006;113:1745-52.
75. Albert MA, Glynn RJ, Wolfert RL, Ridker PM. The effect of statin therapy on lipoprotein associated phospholipase A2 levels. *Atherosclerosis*. 2005;182:193-8.
 76. Schaefer EJ, McNamara JR, Asztalos BF, Tayler T, Daly JA, Gleason JL, Seman LJ, Ferrari A, Rubenstein JJ. Effects of atorvastatin versus other statins on fasting and postprandial C-reactive protein and lipoprotein-associated phospholipase A2 in patients with coronary heart disease versus control subjects. *Am J Cardiol*. 2005;95:1025-32.
 77. Shalwitz RA, Maki KV, Doyle RT, Ballantyne CM. Lipoprotein subfraction responses differentially predict changes in lipoprotein-associated phospholipase A2 during prescription omega-3 therapy [abstract]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:e93– e94.
 78. Kuvin JT, Dave DM, Sliney KA, Mooney P, Patel AR, Kimmelstiel CD, Karas RH. Effects of extended-release niacin on lipoprotein particle size, distribution, and inflammatory markers in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2006;98:743-5.
 79. Dizikes GJ, Grody WW, Kern RM, Cederbaum SD. Isolation of human liver arginase cDNA and demonstration of nonhomology between the two human arginase genes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1986;141:53-9.
 80. Vockley JG, Jenkinson CP, Shukla H, Kern RM, Grody WW, Cederbaum SD. Cloning and characterization of the human type II arginase gene. *Genomics*. 1996;38:118-23.
 81. Jenkinson CP, Grody WW, Cederbaum SD. Comparative properties of arginases. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 1996;114:107-32.

82. Levillain O, Balvay S, Peyrol S. Mitochondrial expression of arginase II in male and female rat inner medullary collecting ducts. *J Histochem Cytochem.* 2005;53:533-41.
83. Aminlari M. A novel colorimetric method for assaying arginase activity. *Clin Biochem.* 1992;25:431-6.
84. Di Costanzo L, Moulin M, Haertlein M, Meilleur F, Christianson DW. Expression, purification, assay, and crystal structure of perdeuterated human arginase I. *Arch Biochem Biophys.* 2007;465:82-9.
85. Durante W, Liao L, Peyton KJ, Schafer AI. Thrombin stimulates vascular smooth muscle cell polyamine synthesis by inducing cationic amino acid transporter and ornithine decarboxylase gene expression. *Circ Res.* 1998;83:217-23.
86. Wallace HM, Fraser AV, Hughes A. A perspective of polyamine metabolism. *Biochem J.* 2003;376:1-14.
87. Durante W. Regulation of L-arginine transport and metabolism in vascular smooth muscle cells. *Cell Biochem Biophys.* 2001;35:19-34.
88. Durante W, Liao L, Peyton KJ, Schafer AI. Lysophosphatidylcholine regulates cationic amino acid transport and metabolism in vascular smooth muscle cells: role in polyamine synthesis. *J Biol Chem* 1997;272:30154–30159
89. Berkowitz DE, White R, Li D, et al. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation* 2003;108:2000–2006
90. Demougeot C, Prigent-Tessier A, Marie C, Berthelot A. Arginase inhibition reduced endothelial dysfunction and blood pressure rising in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2005;23:971– 978

91. Durante W, Tulis DA, Keswani AN, Wang H, Peyton KJ. Arginase promotes vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation. *Cardiovasc Pathol* 2004;13:S46.
92. Xu W, Kaneko T, Zheng S, et al. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary artery hypertension. *FASEB J* 2004;18:1746–1748.
93. Johnson FK, Johnson RA, Peyton KJ, Durante W. Arginase inhibition restores arteriolar endothelial function in Dahl rats with salt-induced hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;288:R1057–1062
94. Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-26.
95. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:9265-9.
96. Moncada S, Higgs A. The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002-11.
97. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-37.
98. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. *Pharmacology Reviews* 1991; 43(9): 109-37.
99. Muriel P. Regulation of Nitric Oxide Synthesis in the Liver, *J. Appl. Toxicol.*, 2000;20: 189-195,
100. Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update*. 1998;4(1):3-24.

101. Napoli C, de Nigris F, Williams-Ignarro S, Pignalosa O, Sica V, Ignarro LJ. Nitric oxide and atherosclerosis: an update. *Nitric Oxide*. 2006;15(4):265-79.
102. Hines IN, Harada H, Flores S, Gao B, McCord JM, Grisham MB. Endothelial nitric oxide synthase protects the post-ischemic liver: potential interactions with superoxide. *Biomed Pharmacother*. 2005;59(4):183-9.
103. Çekmen MB, Turgut M, Türköz Y, Aygün AD, Gözükara EM. Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentazın (NOS) Fizyolojik Ve Patolojik Özellikleri, *T Klin J Pediatr* 2001;10: 226-236,
104. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide. *Ann Neurol* 1992;32:297-311.
105. Tottrup A, Glavindh EB, Svane D. Involvement of the Larginine- nitric oxide pathway in internal analspinchter relaxation. *Gastroentrolgy* 1992;102:409-15.
106. Stadler J, Billiar TR, Curan RD, Effect of exogenous and endogenous nitric oxide on mitokondrial respiration of rat hepatocyte . *Am J Physiol* 1991: 260:C910-6
107. Sibel G. Nitrik oksit ve kardiyovasküler sistem, Nitrik oksidin farmakolojisi,2005, Mersin
108. Anggard E. Nitric Oxide: Mediator, Murderer and Medicine. *The Lancet* 1994; 343:1199-206.
109. Vane JR, Anggard E, Botting RM. Regulatory Functions of the Vascular Endothelium. *N Engl J Med* 1990; 323:27-36
110. Kansu B. Nitrik oksidin fizyolojik ve fizyopatolojik olaylardaki rolü Nitrik oksidin farmakolojisi,2005, Mersin
111. Wu G, Morris Jr SM. Arginine metabolism: Nitric oxide and beyond. *Biochem. J.* 1998; 336: 1–17.

112. Hecker M, Nematollahi H, Hey C, Busse R, Racké K. Inhibition of arginase by NG-hydroxy-L-arginine in alveolar macrophages: implications for the utilization of L-arginine for nitric oxide synthesis. *FEBS Lett.* 1995;359(2-3):251-4.
113. Shearer JD, Richards JR, Mills CD, Caldwell MD. Differential regulation of macrophage arginine metabolism: a proposed role in wound healing. *Am J Physiol.* 1997;272(2 Pt 1):E181-90.
114. Geyer JW, Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem.* 1971;39(2):412-7.
115. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem.* 1990;36(8):1440-3.
116. Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Dwyer JT, Heyka RJ, Rocco MV, Teehan BP, Levey AS. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2000;58(1):3
117. Longenecker JC, Coresh J, Powe NR, Levey AS, Fink NE, Martin A, Klag MJ. Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE Study. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(7):1918-27.
118. Papavasiliou EC, Gouva C, Siamopoulos KC, Tselepis AD. PAF-acetylhydrolase activity in plasma of patients with chronic kidney disease. Effect of long-term therapy with erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21(5):1270-7.
119. Liberopoulos EN, Papavasiliou E, Miltiados GA, Cariolou M, Siamopoulos KC, Tselepis AD, Elisaf MS. Alterations of paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase activities in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2004;24(6):580-9.
120. Milionis HJ, Elisaf MS, Karabina SA, Bairaktari E, Tselepis AD, Siamopoulos KC. Plasma and Lp(a)-associated PAF-acetylhydrolase activity in uremic

- patients undergoing different dialysis procedures. *Kidney Int.* 1999;56(6):2276-85.
121. Gomes MB, Cobas RA, Nunes E, Castro-Faria-Neto HC, da Matta MF, Neves R, Tibiriçá E. Plasma PAF-acetylhydrolase activity, inflammatory markers and susceptibility of LDL to in vitro oxidation in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009;85(1):61-8.
 122. de Castro SH, Faria Neto HC, Gomes MB. Platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) activity in patients with type 1 diabetes mellitus. *Arq Bras Cardiol.* 2007;88(2):179-84.
 123. Noto H, Chitkara P, Raskin P. The role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in the metabolic syndrome and diabetes. *J Diabetes Complications.* 2006;20(6):343-8.
 124. Sema A, Buğra HK, Ahmet K, Tülay K. Hemodiyaliz hastalarının sitokin düzeyleri ve oksidatif stres ile ilişkisi. *Türk nefroloji diyaliz ve transplantasyon dergisi* 2007;3:129-134.
 125. Yang EH, McConnell JP, Lennon RJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent marker for coronary endothelial dysfunction in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:106–11.
 126. Wilensky RL, Shi Y, Mohler ER 3rd, Hamamdžic D, Burgert ME, Li J, Postle A, Fenning RS, Bollinger JG, Hoffman BE, Pelchovitz DJ, Yang J, Mirabile RC, Webb CL, Zhang L, Zhang P, Gelb MH, Walker MC, Zalewski A, Macphee CH. Inhibition of lipoprotein – associated phospholipase A2 reduces complex coronary atherosclerotic plaque development. *Nat Med.* 2008;14(10):1059-66
 127. Packard CJ. Lipoprotein – associated phospholipase A2 as a biomarker of coronary heart disease and a therapeutic target. *Curr Opin Cardiol.* 2009;24(4):358-63.

128. Morris SM Jr. Recent advances in arginine metabolism: roles and regulation of the arginases. *Br J Pharmacol.* 2009;157(6):922-30
129. Thacher TN, Gambillara V, Riche F, Silacci P, Stergiopoulos N, da Silva RF. Regulation of arginase pathway in response to wall shear stress. *Atherosclerosis.* 2009 (Yayın aşamasında)
130. Ryoo S, Lemmon CA, Soucy KG, Gupta G, White AR, Nyhan D, Shoukas A, Romer LH, Berkowitz DE. Oxidized low-density lipoprotein-dependent endothelial arginase II activation contributes to impaired nitric oxide signaling. *Circ Res.* 2006;99(9):951-60.
131. Durante W, Liao L, Peyton KJ, Schafer AI. Lysophosphatidylcholine regulates cationic amino acid transport and metabolism in vascular smooth muscle cells. Role in polyamine biosynthesis. *J Biol Chem.* 1997;272(48):30154-9.
132. Waddington SN. Arginase in glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2002;61(3):876-81.
133. Romero MJ, Platt DH, Tawfik HE, Labazi M, El-Remessy AB, Bartoli M, Caldwell RB, Caldwell RW. Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity. *Circ Res.* 2008;102(1):95-102.
134. Durante W, Johnson FK, Johnson RA, Peyton KJ. Arginase induces endothelial dysfunction and hypertension in obese Zucker rats. *Diabetes* 2005;54 (Suppl. 1): A51
135. Kashyap SR, Lara A, Zhang R, Park YM, DeFronzo RA. Insulin reduces plasma arginase activity in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2008;31(1):134-9.
136. Nelin LD, Nash HE, Chicoine LG. Cytokine treatment increases arginine metabolism and uptake in bovine pulmonary arterial endothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2001;281(5):1232-9.

137. Santhanam L, Christianson DW, Nyhan D, Berkowitz DE. Arginase and vascular aging. *J Appl Physiol.* 2008;105(5):1632-42
138. Ryoo S, Gupta G, Benjo A, Lim HK, Camara A, Sikka G, Lim HK, Sohi J, Santhanam L, Soucy K, Tuday E, Baraban E, Ilies M, Gerstenblith G, Nyhan D, Shoukas A, Christianson DW, Alp NJ, Champion HC, Huso D, Berkowitz DE. Endothelial arginase II: a novel target for the treatment of atherosclerosis. *Circ Res.* 2008;102(8):923-32
139. Berkowitz DE, White R, Li D, Minhas KM, Cernetich A, Kim S, Burke S, Shoukas AA, Nyhan D, Champion HC, Hare JM. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation.* 2003;108(16):2000-6
140. Durante W, Liao L, Peyton KJ, Schafer AI. Thrombin stimulates vascular smooth muscle cell polyamine synthesis by inducing cationic amino acid transporter and ornithine decarboxylase gene expression. *Circ Res.* 1998;83(2):217-23.
141. Edean ED, Kispert JF, Martin KW, O'Connor W. Intimal hyperplasia is reduced by ornithine decarboxylase inhibition. *J Surg Res.* 1991;50(6):634-7.
142. Buga GM, Singh R, Pervin S, Rogers NE, Schmitz DA, Jenkinson CP, Cederbaum SD, Ignarro LJ. Arginase activity in endothelial cells: inhibition by NG-hydroxy-L-arginine during high-output NO production. *Am J Physiol.* 1996;271(5):H1988-98
143. Daghigh F, Fukuto JM, Ash DE. Inhibition of rat liver arginase by an intermediate in NO biosynthesis, NG-hydroxy-L-arginine: implications for the regulation of nitric oxide biosynthesis by arginase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;202(1):174-80.
144. Ignarro LJ, Buga GM, Wei LH, Bauer PM, Wu G, del Soldato P. Role of the arginine-nitric oxide pathway in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(7):4202-8.

145. Wu G, Meininger CJ. Arginine nutrition and cardiovascular function. *J Nutr.* 2000;130(11):2626-9.
146. Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007;34(9):906-11.
147. Wever R, Boer P, Hijmering M, Stroes E, Verhaar M, Kastelein J, Versluis K, Lagerwerf F, van Rijn H, Koomans H, Rabelink T. Nitric oxide production is reduced in patients with chronic renal failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19(5):1168-72.
148. Kusano E, Akimoto T, Sasaki N, Ando Y, Asano Y. Hemodialysis and nitric oxide. *J Artif Organs.* 2001; 4:23-29
149. Erdely A, Freshour G, Smith C, Engels K, Olson JL, Baylis C. Protection against puromycin aminonucleoside-induced chronic renal disease in the Wistar-Furth rat. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;287(1):F81-9
150. Erdely A, Freshour G, Smith C, Engels K, Olson JL, Baylis C. Protection of wistar furth rats from chronic renal disease is associated with maintained renal nitric oxide synthase. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(10):2526-33.
151. Vaziri ND, Ni Z, Wang XQ, Oveisi F, Zhou XJ. Downregulation of nitric oxide synthase in chronic renal insufficiency: role of excess PTH. *Am J Physiol.* 1998;274(4 Pt 2):F642-9.
152. Baylis C. Nitric oxide deficiency in chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008;294(1):F1-9
153. Romero MJ, Platt DH, Tawfik HE, Labazi M, El-Remessy AB, Bartoli M, Caldwell RB, Caldwell RW. Diabetes-induced Coronary Vascular Dysfunction Involves Increased Arginase Activity. *Circ Res.* 2008;102:95-102.
154. Li H, Meininger CJ, Hawker JR Jr, Haynes TE, Kepka-Lenhart D, Mistry SK, Morris SM Jr, Wu G. Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide,

- polyamine, and proline syntheses in endothelial cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;280(1):E75-82.
155. Tizianello A, De Ferrari G, Garibotto G, Gurreri G, Robaudo C. Renal metabolism of amino acids and ammonia in subjects with normal renal function and in patients with chronic renal insufficiency. *J Clin Invest.* 1980;65(5):1162-73.
156. Xiao S, Schmidt RJ, Baylis C. Plasma from ESRD patients inhibits nitric oxide synthase activity in cultured human and bovine endothelial cells. *Acta Physiol Scand.* 2000;168(1):175-9.
157. Xia Y, Dawson VL, Dawson TM, Snyder SH, Zweier JL. Nitric oxide synthase generates superoxide and nitric oxide in arginine-depleted cells leading to peroxynitrite-mediated cellular injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(13):6770-4.
158. Böger RH, Zoccali C. ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. *Atheroscler Suppl.* 2003;4(4):23-8.
159. Fleck C, Janz A, Schweitzer F, Karge E, Schwertfeger M, Stein G. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in renal failure patients. *Kidney Int Suppl.* 2001;78:S14-8.
160. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T, Cooke JP. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation.* 1999;99(24):3092-5.
161. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109(23 Suppl 1):III27-32.
162. Behrendt D, Ganz P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol.* 2002;90(10):40-48.

163. Griending KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*. 2000;86(5):494-501.
164. Böger RH, Bode-Böger SM. Asymmetric dimethylarginine, derangements of the endothelial nitric oxide synthase pathway, and cardiovascular diseases. *Semin Thromb Hemost*. 2000;26(5):539-45.
165. Kim JA, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation*. 2006;113(15):1888-904.
166. Rodriguez CJ, Miyake Y, Grahame-Clarke C, Di Tullio MR, Sciacca RR, Boden-Albala B, Sacco RL, Homma S. Relation of plasma glucose and endothelial function in a population-based multiethnic sample of subjects without diabetes mellitus. *Am J Cardiol*. 2005;96(9):1273-7.
167. Ziemann SJ, Kass DA. Advanced glycation endproduct crosslinking in the cardiovascular system: potential therapeutic target for cardiovascular disease. *Drugs*. 2004;64(5):459-70.
168. Diaz-Buxo JA, Woods HF. Protecting the endothelium: a new focus for management of chronic kidney disease. *Hemodial Int*. 2006;10(1):42-8.