



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**SİGARANIN SERUM ADMA, L-NMMA, SDMA, ARJİNİN VE α -KLOTHO
DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ: VAKA KONTROL ÇALIŞMASI**

Dr. Mustafa ONMAZ

UZMANLIK TEZİ

KONYA-2022

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**SİGARANIN SERUM ADMA, L-NMMA, SDMA, ARJİNİN VE α -KLOTHO
DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ: VAKA KONTROL ÇALIŞMASI**

Dr. Mustafa ONMAZ

UZMANLIK TEZİ

Danışmanlar

Prof. Dr. Ruhuşen KUTLU

Dr. Öğr. Üyesi Nur DEMİRBAŞ

KONYA-2022

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın oluşumunda, planlanmasında ve yürütülmesinde ilgi ve desteklerini bir an olsun esirgemeyen, eğitimim boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan, yol gösteren, kendilerine ne zaman danışsam bana vakit ayırıp elinden gelenin fazlasını sunan sayın hocalarım Prof. Dr. Ruhuşen Kutlu ve Dr. Öğr. Üyesi Nur Demirbaş'a teşekkürlerimi sunarım. Asistanlığım boyunca bilgi birikimlerini esirgemeyen kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Nazan Karaoğlu'na ve Sayın Prof. Dr. Fatma Gökşin Cihan'a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hatice Küçükceran'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Rotasyon yaparak eğitimlerimi tamamladığım İç Hastalıkları, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Kadın Hastalıkları ve Doğum, Genel Cerrahi, Acil Tıp, Göğüs Hastalıkları, Kardiyoloji, Psikiyatri bölümlerindeki öğretim üyesi hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma, uzmanlık tezimin hazırlanmasında yardım ve katkılarını esirgemeyen araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve aile hekimliği polikliniği çalışanlarına teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca yanımda olan, beni bu günlere getiren; anneme, babama ayrıca teşekkür ederim. Bu sürecin başından sonuna kadar benimle olan, nöbette olduğumda beni dört gözle bekleyen, zorluklarla dolu bu yolda hep desteğini hissettiren sevgili eşim Duygu Eryavuz Onmaz'a ayrıca teşekkür etmeyi borç bilirim.

Dr. Mustafa Onmaz

KONYA-2022

ÖZET

SİGARANIN SERUM ADMA, L-NMMA, SDMA, ARJİNİN VE α -KLOTHO DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ: VAKA KONTROL ÇALIŞMASI

Dr. Mustafa ONMAZ

UZMANLIK TEZİ

KONYA – 2022

Amaç: Sigara, başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere pek çok hastalık için risk faktörüdür ve az sayıda biyobelirteç bu riski öngörmektedir. Bu çalışmanın amacı sigaranın bu konuda aday biyobelirteçlerden olan ADMA (Asimetrik Dimetil Arginin), L-NMMA (N-Monometil-L-Arjinin), SDMA (Simetrik Dimetil Arginin), arjinin ve α -klotho düzeylerine etkisini analiz etmek ve yaşa bağlı bu parametrelerin değişimini incelemektir.

Gereç ve yöntem: Vaka-kontrol çalışması olarak tasarlanan bu araştırma 01/02/2021-31/03/2021 tarihleri arasında yapılmıştır. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Sigara Bırakma Polikliniği'ne sigara bırakmak için başvuran erkek bireyler vaka grubunu oluşturmuştur. Aile Hekimliği Polikliniği'ne periyodik sağlık muayenesi için başvuran ve sigara içmeyen erkek bireyler de kontrol grubu olarak alınmıştır. Vaka ve kontrol grubunun sosyodemografik özellikleri, vücut kitle indeksleri, sistolik ve diyastolik kan basınçları, kreatin, hemogram ve lipit paneli parametreleri, Framingham risk skorları ve vaka grubunun Fagerström Nikotin Bağımlılık Testi (FNBT)'ne göre bağımlılık düzeyleri kaydedildi. Her iki grubun ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin düzeyleri Selçuk Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında tandem kütle spektrometrik yöntemle; α -klotho düzeyleri Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle analiz edildi. Veriler Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versiyon 22.0 istatistik paket programında değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık $p<0.05$ olarak kabul edildi.

Bulgular: Sigara içen 65 bireyin yaş ortalaması $46,26\pm 8,72$ yıl; sigara içmeyen 71 bireyin yaş ortalaması $47,38\pm 9,36$ yıl idi. Sigara içen ve içmeyen bireyler arasında ADMA ($p<0,001$), SDMA ($p<0,001$), L-NMMA ($p=0,024$) ve arjinin ($p<0,001$) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu. Sigara içen bireylerin serum ADMA, L-NMMA, SDMA düzeyleri, sigara içmeyenlere göre yüksek, arjinin seviyeleri ise sigara içmeyenlere göre düşük bulundu. Sigara içenlerin yaşları ile serum ADMA seviyeleri arasında pozitif yönde

yüksek derecede anlamlı bir korelasyon mevcuttu ($r=0,409$, $p=0,001$). Sigara içmeyenlerin ise yaşları ile serum ADMA seviyeleri arasında pozitif yönde orta derecede anlamlı bir korelasyon mevcuttu ($r=0,237$, $p=0,047$). Sigara içen bireylerde α -klotho düzeyleri ($499,73\pm 623,51$ pg/mL), içmeyenlere ($924,67\pm 887,23$ pg/mL) göre daha düşük bulundu ($p<0,001$). Sigara içen bireylerin yaşları ile serum α -klotho seviyeleri arasında negatif yönde orta derecede anlamlı bir korelasyon mevcuttu ($r=-0,293$, $p=0,018$).

Sonuç: Sigara içen bireylerde, içmeyen bireylere göre serum ADMA, L-NMMA, SDMA düzeylerinin yüksek; arjinin ve α -klotho seviyelerinin düşük olduğu görüldü. Ayrıca yaş ile serum ADMA, L-NMMA, SDMA düzeyleri arasında pozitif, arjinin ve α -klotho düzeyleri arasında negatif korelasyon bulundu. Dolayısıyla sigaranın yüksek metilarjininler ve düşük α -klotho düzeylerine neden olarak kardiyovasküler hastalıklar ile erken yaşlanma için bir risk faktörü oluşturabileceği düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Sigara, kardiyovasküler hastalıklar, ADMA, L-NMMA, SDMA, arjinin, metilarjininler, α -klotho

ABSTRACT

EFFECT OF SMOKING ON SERUM ADMA, L-NMMA, SDMA, ARGININE and α -KLOTHO LEVELS: A CASE CONTROL STUDY

Dr. Mustafa ONMAZ

THE MASTER THESIS

KONYA – 2022

Aim: Smoking is a risk factor for many diseases, especially cardiovascular diseases, and few biomarkers predict this risk. In this regard, the aim of this study candidate biomarkers of smoking; ADMA (Asymmetric Dimethyl Arginine), L-NMMA (N-Monomethyl-L-arginine), SDMA (Symmetric Dimethyl Arginine), arginine and α -klotho levels and to analyze the variation of these parameters is to study the effect of age-related.

Materials and methods: This research, which was designed as a case-control study, was conducted between 01/02/2021-31/03/2021. Male individuals who applied to Necmettin Erbakan University Meram Medical Faculty Family Medicine Smoking Cessation Polyclinic to quit smoking constituted the case group. Non-smoker male individuals who applied to the Family Medicine Polyclinic for periodic health examination were also included in the control group. Sociodemographic characteristics, body mass indexes, systolic and diastolic blood pressures, creatine, hemogram and lipid panel parameters, Framingham risk scores and addiction levels of smokers according to the Fagerström Nicotine Dependence Test (FNBT) were recorded. ADMA, SDMA, L-NMMA, Arginine levels of both groups were analyzed by tandem mass spectrometric method in the laboratory of Selcuk University Department of Medical Biochemistry, serum α -klotho levels were analyzed by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. The data were evaluated in Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 22.0 statistical package program. Statistical significance was accepted as $p < 0.05$ was accepted.

Results: The mean age of 65 smokers was 46.26 ± 8.72 years, and the mean age of 71 non-smokers was 47.38 ± 9.36 years. There was a statistically significant difference in ADMA ($p < 0.001$), SDMA ($p < 0.001$), L-NMMA ($p = 0.024$) and arginine ($p < 0.001$) levels between

smokers and non-smokers. ADMA, L-NMMA, SDMA levels were higher in smokers than non-smokers, and arginine levels were lower than non-smokers. There was a highly significant positive correlation between the age of smokers and serum ADMA levels ($r=0.409$, $p=0.001$). There was a moderately significant positive correlation between the age of non-smokers and serum ADMA levels ($r=0.237$, $p=0.047$). Klotho levels were significantly lower in smokers than in non-smokers ($p<0.001$). There was a moderately significant negative correlation between the age of smokers and serum α -klotho levels ($r=-0.293$, $p=0.018$). There was also a moderately significant negative correlation between the ages of non-smokers and their serum α -klotho levels ($r=-0.108$, $p=0.369$).

Conclusion: Our findings indicate that serum ADMA, L-NMMA, and SDMA levels are higher in smokers than in non-smokers; showed that arginine and klotho levels were low, there was also a positive correlation between age and serum ADMA, L-NMMA, SDMA levels, and a negative correlation between arginine and α -klotho levels. Therefore, it may be thought that smoking may cause high levels of methylarginines and low levels of α -klotho and may be a risk factor for cardiovascular diseases and premature aging.

Keywords: Smoking, cardiovascular diseases, ADMA, L-NMMA, SDMA, arginine, methylarginines, α -klotho

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
TABLolar LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Sigara	2
2.2. Klotho Proteini.....	3
2.2.1. Klotho dolaşımdaki bir hormon görevi görür:.....	5
2.2.2. Klotho insülin/IGF-1 sinyalini düzenler ve oksidatif stresi bastırır	6
2.2.3. Klotho, FGF'yi düzenleyen bir kofaktör/ koreseptör görevi görür	6
2.2.4. Klotho bir glucuronidaz görevi görür ve TRPV5'i etkinleştirir.....	7
2.2.5. Klotho endotel disfonksiyona karşı korur ve NO üretimini düzenler	7
2.2.6. Klotho hücre içi sinyal yollarını etkiler	8
2.3. ADMA, L-NMMA, SDMA ve Arjinin	9
2.3.1. ADMA, L-NMMA, SDMA Sentezi:.....	9
2.3.2. ADMA ve İzomerlerinin Metabolizması:	10
2.3.3 ADMA ve İzomerlerinin Yüksekliği İle Seyreden Klinik Durumlar	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1. Araştırmanın Tipi ve Evreni	13
3.2. Araştırmanın Örneklemi	13
3.3. Dışlanma Kriterleri	14
3.4. Etik Kurul Onayı ve Onam	14
3.5. Verilerin Toplanması	14
3.5.1. Sosyodemografik Bilgi Formu	14
3.5.2. Fagerström Nikotin Bağımlılık Testi (FNBT).....	15
3.5.3. Framingham Risk Puanlaması.....	15
3.6. Laboratuvar analizi.....	16
3.6.1. Kütle Spektrometrik Analizler	16
3.6.2. ELISA Analizi (Alpha Klotho Analizi).....	17

3.7. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	17
4. BULGULAR	18
5. TARTIŞMA.....	27
6. SONUÇLAR.....	32
7. ÖNERİLER.....	33
8. KAYNAKLAR.....	34



SİMGELER VE KISALTMALAR

ADMA: Asimetrik Dimetil Arginin

CO: Karbon Monoksit

CYP: Sitokrom P450

DDAH: Dimetilarginin Dimetil Amino Hidrolaz

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ELISA: Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay

FGFR: Fibroblast Growth Factor Reseptor

FNBT: Fagerström Nikotin Bağımlılık Testi

FOXO: Forkhead Box O Transkripsiyon Faktörü

HCT: Hematocrit

HGB: Hemoglobin

IGF: Insulin Growth Factor

KI: Klotho

KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

LYM: Lymphosit

L-NMMA: N-Monometil-L-Arjinin

MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin

MCHC: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

MCV: Mean Corpuscular Volume

MPV: Mean Platelet Volume

M.Ö.: Milattan Önce

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

NEU: Neutrophils

PLT: Platelet

PRMT: Protein Arginin Metil Transferaz

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SAM: S- Adenozil Metionin

SAH: S- Adenozil Homosistein

SDMA: Simetrik Dimetil Arginin

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

WBC: White Blood Cell

TABLolar

Tablo 1. Sigara içen ve içmeyen bireylerin yaş, Framingham risk skoru, sistolik ve diyastolik kan basıncı ortalamalarının karşılaştırılması

Tablo 2. Sigara içen ve içmeyen bireylerin demografik özelliklerinin karşılaştırılması

Tablo 3. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı bireylerin hemogram parametreleri

Tablo 4. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı bireylerin lipit paneli ve kreatin değerleri

Tablo 5. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı bireylerin ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin ve klotho serum seviyeleri

Tablo 6. Fagerström Nikotin Bağımlılık puanına ile ADMA, SDMA, LNMA, arjinin ve klotho parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 7. Sigara içen ve içmeyen bireylerde Framingham risk skoruna göre ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin ve klotho parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 8. Sigara içen bireylerde yaş, paket/yıl, FNBT'nin ADMA ve klotho korelasyonu

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Sigara kullanımı, baş edilmesi güç halk sağlığı sorunlarından biridir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verileri yılda yedi milyondan fazla insanın tütünün doğrudan kullanımıyla, bir milyondan fazla insanın ise ikinci el sigara dumanına maruz kalmanın neticesinde ortaya çıkan hastalıklar nedeni ile öldüğünü göstermektedir (1). Sigara kullanımı kanserler, kardiyovasküler hastalıklar, akciğer hastalıkları ve netice itibariyle kısalmış ömür ile ilişkilidir (2). Kişisel ve toplumsal olarak oluşturduğu sorunlar göz önüne alındığında, sigara içicilerin periyodik muayenelere düzenli olarak katılması ve takibi büyük önem taşımaktadır.

Yaşlanma doğal olarak ilerleyen bir süreçtir ve zamanın akışı içerisinde canlı organizmalarda görülen anatomik ve fizyolojik değişiklikler olarak kendini gösterir. Yaşlanma sürecinde hem çevresel hem de genetik faktörler oldukça etkilidir. Bu süreci etkileyen çevresel faktörlerin başında sigara ve madde kullanımı alışkanlığı, beslenme alışkanlığı ve kalitesi, stres ve yaşanılan ortamın kalitesi gelmektedir (3). Genetik faktörler kavramıysa birçok metabolik yolağı kontrol altında tutan geni kapsamaktadır ve klotho geni tanımlanabilmiş olanlardan önemli bir tanesidir. İlk olarak farelerde tanımlanmış bu gen azalmış ömür ile karakterizedir. Klotho gen hasarı olan fareler tipik olarak erken yaşlanma, organ atrofisi, daha kısa ömür, hiperfosfatemi, osteomalazi, endotel disfonksiyonu, ateroskleroz ve kardiyovasküler patolojiler gösterir (4). Sigara içenlerde de benzer patolojilerin çıkması, sigaranın reaktif oksijenler üzerinden klotho genini olumsuz etkileyebileceğini ve klotho düzeylerinin düşmesine yol açabileceğini akla getirmektedir (5, 6). Bu varsayımı destekler nitelikte sigaranın klotho seviyelerini azalttığını bildiren yayınlar mevcut iken (7), klotho seviyelerini arttığını bildiren çalışmalar da vardır(8). Halen yeni sayılabilecek bir protein olması ve bu konuda çalışma sayısının yeterli sayıya ulaşmamış olması nedeniyle bu durum çelişkiler doğurmaktadır.

Sigaranın, kardiyovasküler hastalıkların birçoğunda başrolde olduğu, bunu birden fazla mekanizma ve yolak üzerinden gerçekleştirdiği artık modern tıpta kabul edilmiş bir görüştür (9). Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA) de tıpkı klotho gibi bu yolaklardan önemli bir tanesidir. ADMA, insan dolaşımında bulunan doğal olarak oluşan bir metabolizma ürünüdür. Simetrik Dimetil Arjinin (SDMA) ve N-monometil-L-arjinin (L-NMMA) ADMA'nın izomerleridir ve yolakta ortaya çıkan yan ürün dimetil arjininlerdir. Bu yolağın asıl nihai hedefinin ADMA olması, konsantrasyon olarak fazla oluşması, etki gücü

bakımından üstün olması nedeniyle öne çıkan ürün ADMA'dır. ADMA'nın yüksek konsantrasyondaki seviyeleri Nitrik Oksit Sentaz (NOS) inhibisyonu ile Nitrik Oksit (NO) sentezini engelleyerek endotel fonksiyonunu bozar ve ateroskleroza sebep olur (10). Sigaraya bağlı oluşan süper oksitlerle ADMA'nın yıkımından sorumlu olan Dimetilarjinin Dimetil Amino Hidrolaz (DDAH) enziminin inaktive edilmesi ADMA konsantrasyonlarında artmaya yol açar. Ayrıca yaşlanmaya bağlı böbrekler ile olan atılımın azalması da ADMA'nın konsantrasyonunun artmasına yol açar. Sonuç olarak ADMA artışı nedeniyle NOS inhibe olur ve NO üretimi azalır. Bu da azalmış damar genişlemesiyle karşımıza çıkar (11,47).

Özellikle sigaranın klotho seviyeleri üzerine etkisindeki çelişkiler ve bu iki parametrenin daha önce hiç birlikte değerlendirilmemesi literatürde göze çarpan bir eksikliklerdir. Bu bağlamda çalışmanın amacı sigara içen ve içmeyen bireylerde ADMA, L-NMMA, SDMA, arjinin ve α -klotho düzeylerini tespit etmek ve yaşa bağlı bu parametrelerin değişimini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Sigara

Amerika kıtasında M.Ö 6000'li yıllarda başladığı düşünülen tütün tüketimi 1400'lü yılların sonlarında Avrupa kıtasına taşınmış, 1500'lü yıllarda Asya ve Afrika kıtasına kadar ulaşmıştır. Zararsız olarak tanıtılarak önemli bir tüketim ürününe dönüştürülen sigaranın, zaman içerisinde vücutta pek çok patolojiye yol açtığı bilimsel çalışmalar ile ortaya çıkarılmıştır (12). Sigara üreticileri, artan baskılar ile bu araştırmalara karşı koyamayarak sigara dumanında benzopiren, arsenik, krom, nikel ve polisiklik hidrokarbonlar da dahil olmak üzere birkaç düzine karsinojen olduğunu kabul etmek zorunda kalmıştır. Günümüzde sigara artık direkt olarak karsinojen maddeler içeren, metabolik yolları etkileyen, kardiyovasküler hastalıklara ve erken ölümlere neden olan bir ürün olarak bilinmektedir (13).

Yaşlanma kaçınılmaz bir gerçektir fakat karmaşıklığı nedeniyle yaşlanma mekanizması henüz tam olarak açıklanamamış değildir. Yaşlanmanın çevresel ve genetik birçok sebebi vardır. Sigara da yaşlanmayı hızlandıran, erken ölüme neden olan önemli bir çevresel sebep olarak kabul edilmiştir (14). Sigara birçok mekanizma ile kanserler, kardiyovasküler hastalıklar ve yaşlanmayla ilişkili hastalıklara neden olarak yaşam süresini kısaltır (15). Burada değinilen yaşlanma ilişkili hastalıklar tanımı ise arterioskleroz, çeşitli yumuşak dokularda ektoptik kalsifikasyon, osteoporoz, büyüme geriliği, kısırlık, cilt atrofisi,

kas atrofisi, pulmoner amfizem gibi hastalıkları kapsar (4). Bu etkilerle sigara içicilerin yaşam süresi, hiç sigara içmeyenlere göre 10 yıldan daha fazla kısalmıştır. Sigaranın neden olduğu erken yaşlanma ve kısalmış ömür, önceki birçok çalışmada bildirilmiştir fakat kesin mekanizması hala tam belirlenememiştir (8,16). Sigara içicilerde yapılan çalışmalar serbest oksijen radikallerinin ve interlökin seviyelerinin yükseldiğini göstermektedir. Sigaranın interlökinler ve serbest radikalleri artırması sonucu, damar endoteli üzerine olumsuz yönde etki ederek yaşlanma ve kardiyovasküler hastalıklara neden olduğu ileri sürülmektedir (8,16,17,18).

Sigara erken yaşlanma ve kalp damar hastalıklarının patogeneğinde rol almasına rağmen hastalığın oluşumunu öngören kesin bir laboratuvar parametresi bulunmaması, bilim insanlarını yeni arayışlara itmiştir. Erken yaşlanmanın kabul edilen biyobelirteçlerinden olan α -klotho ve kardiyovasküler hastalıklarda ön plana çıkmış ADMA bu bağlamda kullanılabilir. Halen yeterince çalışmanın olmaması ve elde olan sınırlı çalışmalarınsa birbiri ile tam örtüşmemesi bu konuda en önemli sorundur. Sigaranın yaşlanma ve kardiyovasküler hastalıklar üzerine etkisini; bu durumlar üzerinde kabul edilmiş fakat daha önce birlikte hiç araştırılmamış olan metilargininler ve α -klotho üzerinde yaptığı değişimler ile değerlendirmek bu paradoksu çözmek için yol gösterici olabilir.

2.2. Klotho Proteini

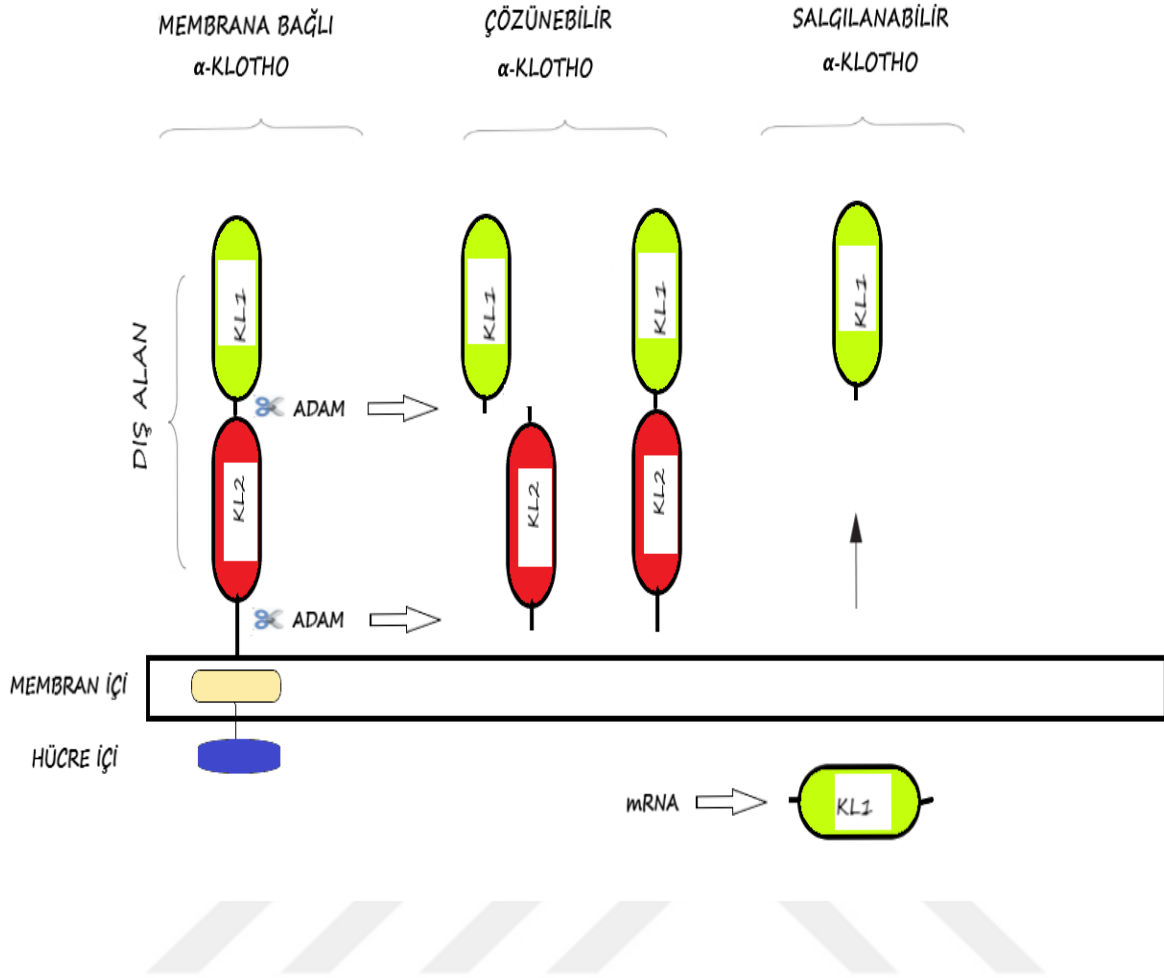
Klotho proteini, Kuro-o ve ark. tarafından 1997 yılında yapılan bir hayvan deneyinde, proteini hasarlı olan farelerin erken yaşlanma belirtileri oluşturması ve yaşam sürelerinin kısaldığının görülmesi üzerine tanımlanmıştır (4). Mutasyonlu farelerin üç-dört hafta normal olarak geliştikten sonra arterioskleroz, çeşitli yumuşak dokularda ektopik kalsifikasyon, osteoporoz, büyüme geriliği, kısırılık, cilt atrofisi, erken timik involüsyon, kas atrofisi, pulmoner amfizem ve beklenenden kısa ömür de dahil olmak üzere yaşlanmaya benzer birçok fenotip geliştirdiği görülmüştür. Bu proteine klotho ismi verilmesinin sebebi ise mitolojide karşımıza çıkmaktadır. Yunan mitolojisindeki inanca göre yaşam süresi Zeus ve Themis'in üç kızı tarafından kontrol edilir. Bu üç kızdan Klotho (Clotho) yaşam ipini ilmek ilmek dokur, Lachesis yaşam ipini ölçerek yaşam süresinin tayininde görev alır ve Athropos yaşam ipini keserek yaşamı noktalar. Klotho yaşam ipini eğirerek iğ üzerine sarar. Bu yüzden bu protein tanrıça Klotho'ya benzetilerek bu isim yakıştırılmıştır (19,20)

Klotho geni 13. Kromozomun q kolunda yaklaşık 50 kbp'lik bir alandan ve beş ekzondan oluşur. Bu gen membrana bağlanacak ve salgılanacak klotho proteinlerini kodlar

(22). Hücre membranına ilişik klotho proteini, 130 kD ağırlıkta bir proteindir ve 1012 aminoasitten oluşur. Diğer klotho proteinleri ise ekstraselüler bölgeye salındığı için çözünür haldedir (21). Çözünür formda bulunan klotho proteinleri yaklaşık 70 kD ağırlığa sahip olup bu proteine 549 amino asit iştirak eder. Membranda bulunan klotho proteini; amino uç bölgesinde kısa bir sinyal dizisi, karboksi uç bölgesinde ise transmembran bölgesi taşır. Membrana bağlı olan proteinin 980 amino asit civarı kısmı hücre dışında kalan bölgeyi oluşturur. Hücre içerisinde kalan bölgeyi ise 21 aminoasit oluşturmaktadır (4). Membran bağlı klotho proteinin hücre dışında kalan kısmı, Kl-1 ve Kl-2 olarak adlandırılan iki iç tekrar bölgesinden oluşur. Kl-1 ve Kl-2 tekrarları arasında Lys-Lys-Arg-Lys şeklinde dört bazik amino asitten oluşan proteolitik işleme için hedef dizisi bulunur. Bu bölgeden proteoliz sonucu da salgılanan form klotho proteini oluşabilir. Bu işlem ADAM10 ve ADAM17 metalloproteaz enzimleri tarafından gerçekleştirilir. Salgılanan tip klotho proteiniyse ekstraselüler bölgesinde Kl-2 tekrarı, transmembran bölgesi ve intaselüler bölge içermez (4,8,23,24).

Klotho proteininin yapılan birçok çalışmada baskın olarak böbrek hücrelerinde ve beyinde koroid pleksus epitel hücrelerinde sentezlendiği, bununla birlikte hipofiz bezi, plasenta, iskelet kası, idrar kesesi, pankreas, testis, yumurtalık ve kolon hücrelerinde de düşük düzeyde eksprese edildiği saptanmıştır (25,26,27). Klotho proteinin alternatif işleme ya da ADAM metalloproteaz enzimleri ile kesim sonucu oluşan salgı formu serebrospinal sıvıda, kanda ve ürede gösterilmiştir (15). Klotho proteininin α -klotho ve β -klotho olmak üzere bilinen iki tipi mevcuttur. β -klotho ağırlıklı olarak karaciğer ve yağ dokusunda eksprese edilir. β -klotho'nun ana işlevleri, α -klotho'dan bağımsız olarak metabolik düzenleme, glikoz alımı, safra asidi sentezi ve yağ asidi metabolizmasını içerir. Şimdiye kadar, salgılanmış hiçbir β -Klotho formu keşfedilmemiştir. Kanda tespit edilememesi başta olmak üzere yukarıda anlatılan diğer sebepler nedeniyle klotho proteini denilince akla ilk α -klotho gelmektedir (28).

Aşağıdaki şekilde membrana bağlı olan, çözünebilir ve salgılanabilir form klotho proteinleri görselleştirilmiştir. Şekilde ADAM proteinlerinin, klotho proteininde nasıl değişim yaptığı ve membran proteinini nasıl diğer formlara çevirdiği de açıkça görülmektedir.



Şekil 1. Membrana ilişik klotho proteininin hücre dışı bölgesinin ADAM metaloproteaz enzimleriyle kesilerek çözüner formda α-klotho proteininin oluşması (10)

2.2.1. Klotho dolaşımdaki bir hormon görevi görür:

Klotho proteininin doğrudan veya metabolitleri aracılığıyla bir hormon gibi hareket ettiği düşünölmektedir. Klotho proteininin membran formu tıpkı bir hormon gibi kan, idrar ve beyin omurilik sıvısında çözüner halde gösterilebilir (15). Bunu desteklemek için Saito ve ark. klotho heterozigot fareler ve vahşi tip fareleri, parabiyoz (faktörlerin değişimine izin vermek için iki hayvanın cerrahi bağlantılanması) hale getirilmiŐtir. Çalışma sonunda heterozigot farelerin endotel fonksiyonunun tamamen iyileŐtięi gösterilmiştir (31). Saito ve ark diğer bir destekleyici çalışmada ise klotho gen aktarımı yapılan farelerin anjiyotensin II'nin neden olduğu böbrek hasarından kurtulduğunu göstermiştir (26).

Hormon gibi hareket ettiği düşünölen bu proteininin dolaşım sistemine ise üç yoldan katıldığı düşünölmektedir. Bunlar; alternatif RNA birleştirme işlemi ile dolaşıma salınma, transmembran olan formun ADAM10 ve ADAM17 metalloproteinaz proteinleriyle proteolizivle salınması ve golgiden gelen klotho proteinin Na-K ATPase ile dışarı atılmasıdır (21,29,30).

2.2.2. Klotho İnsölin/insölin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF1) sinyalinii düzenler ve oksidatif stresi bastırır

Klotho insölin/IGF-1 sinyal yolunu inhibe eder. Bu görüşün destekleyicisi klotho geni hasarlı farelerin hipoglisemik olmasıdır. Klotho aşırı ekspresyonlu farelerin normal açlık kan şekeri seviyelerini korumalarına rağmen insöline ve IGF1'e dirençli olduğu gösterilmiştir (25,33). İnsölin/IGF-1 sinyal yolunun orta derecede inhibisyonunun yaşlanmayı bastırmak için evrimsel olarak korunan mekanizmalardan biri olduğunu ortaya koyulmuştur. Bununla birlikte, klotho proteininin insölin /IGF1 sinyal yolağını düzenlemesi, memelilerde hücreseel seviyelerde oksidatif strese karşı direnci oluşturduğu düşünölmektedir (32,33). Çünkü FOXO1(Forkhead Box O Transkripsiyon Faktörü), FOXO3a ve FOXO4 olarak adlandırılan transkripsiyon faktörleri, insölin/IGF-1 sinyali ile inhibe edilerek düzenlenmektedir. İnsölin/IGF-1 sinyalinin aktivasyonu fosforilasyona ve serine-threonine kinaz Akt aktivasyonuna yol açar, bu da FOXO'ların fosforilasyonuna neden olur. Fosforilasyonlu FOXO'lar çekirdekten dışlanır ve inaktive edilir. Bu işlem durdurulduğunda, nükleer FOXO'lar doğrudan katalaz ve mitokondriyal manganez-süperoksit dismutaz (SOD2) dahil olmak üzere antioksidan enzimlerin promotörlerine bağlanır ve ifadelerini düzenler. Böylece reaktif oksijen türlerinin (ROS) çıkarılmasını ve oksidatif strese karşı direnci sağlar. Yani klotho-overexpressing transgenik fareler insölin / IGF-1 sinyalinii engelleyebilir ve aktif FOXO'larda ve SOD2 ekspresyonunda azalmaya yol açarak oksidatif stresi azaltabilir (34).

2.2.3. Klotho, Fibroblast Büyüme Faktörünü (FGF) düzenleyen bir kofaktör/ koreseptör görevii görür

FGF23, böbrekte işlev gören, fosfat reabsorpsiyonu ve D vitamini biyosentezini inhibe eden, böylece idrara fosfat atılımını artıran ve 1,25-dihidroksivitamin D seviyelerini baskılayan kemik türevii bir hormondur (34). FGF23, FGF ligand süper aileye aittir; FGF ailesii üyelerinin çoğu, işlevlerini Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörleri (FGFR) ile etkileşime girerek uygular. Fibroblast büyüme faktörleri hücre içii sinyal proteinleridir.

Klotho'nun doğrudan birden fazla FGF reseptörlerine bağlanıp FGF23 sinyalizasyonunda koreseptör olarak işlev gösterdiği bulunmuştur (35). Klotho-FGF23 kompleksinin oluşması çoğalmayı uyarır ve D vitamini kaynaklı apoptozu önler. Klotho eksikliği, klotho-FGF23 sinyal transdüksiyonunu bozar ve 1,25 (OH) üretiminin artmasına neden olur. Sonuçta oluşan yüksek 1,25 (OH) seviyelerinin diyet fosfat ve kalsiyumunun bağırsaktan emilimini teşvik etmesi hiperkalsemi ve hiperfosfatemiye neden olur (25,36) Ayrıca, klotho eksikliği böbreklerde fosfat geri emilimini artırır ve buna ek olarak, klotho eksikliği kemikten fosfatın kana akışını da artırır, hiperfosfatemiye katkıda bulunur (28). Oksidatif stresin ve 1,25(OH) D vitamininin artmasına neden olan klotho eksikliği, farelerde yaşlanma benzeri fenotiplerin birincil derecede sorumlusu olabileceği düşünülmektedir. Çünkü kalsiyum ve fosfatın aşırı yükselmesi ve oksidatif stresin artması sonucu damarlarda ve dokularda ektopik kalsifikasyona yatkınlık artar. Bu nedenle yaşlanma benzeri fenotiplerin ortaya çıktığı düşünülmektedir (4,23).

2.2.4. Klotho bir glucuronidaz görevi görür ve iyon kanalı TRPV5'i etkinleştirir

Klotho'nun extraselüler alanı (KL1, KL2), glikosidaz ailesi 1 β -glikosidaz üyeleriyle homolojiktir (4). Klotho proteininin zayıf β -glucuronidaz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Kimerik Klotho-insan IgG1 Fc proteini, bir dizi varsayılan substrat arasından 4-metilumbelliferil β -D-glukuronidi hidrolize eder ve bu enzimatik aktivite, spesifik β -glucuronidaz inhibitörlerinin eklenmesiyle azalır. Klotho-insan IgG1 Fc proteini β -estradiol 3- β -D-glukuronid, 3- β -D-glukuronid ve estriol 3- β -D-glukuronid dahil olmak üzere bazı doğal olarak oluşan β -glukuronidleri hidrolize edebilir (23).

Geçici Reseptör Potansiyel Vanilloid 5 (TRPV5) iyon kanalı, distal tübüllerin epitel hücrelerinde ifade edilen bir kalsiyum kanalıdır. Hücrelerarası kalsiyum reabsorpsiyonu için bir giriş kapısı olarak işlev görür (38). Klotho β -glucuronidaz aktiviteleri TRPV5 iyon kanalının aktivitesinde önemli bir rol oynar. İdrardaki klotho, β -glucuronidaz olarak, TRPV5'in N bağlantılı hücre dışı şeker kalıntılarını hidrolize eder ve TRPV5'in plazma zarında tutulmasını artırır. Bu nedenle hücreye kalsiyum akımını artırır (38,39).

2.2.5. Klotho endotel disfonksiyona karşı korur ve NO üretimini düzenler

Klotho geni vasküler endotel hücreleri üzerinde anti-apoptotiktir ve yaşlanma karşıtı etkilere sahiptir. Bu sayede endotel disfonksiyonlarına karşı koruma sağlar. İnsanlarda, klotho geninin birkaç nükleotid polimorfizminin; yaşam süresi, koroner arter hastalıkları, inme ve

osteoporoz ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Klotho dolaşım sisteminde bulunur ve sürekli damarlar klotho'ya maruz kalır. NO metabolitlerinin üriner atılımı, klotho eksikliği olan farelerde önemli ölçüde azalmıştır. Endotel hücreleri asetilkolin'e yanıt olarak nitrik oksit (NO) salgılar ve vazodilatasyon meydana gelir (40). Asetilkoline yanıt olaran aortun ve arteriollerin endotel bağımlı vazodilasyonu klotho eksikliğiyle önemli ölçüde zayıflar (26). Diabetes mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi ve obezite gibi çoklu aterojenik risk faktörleri gösterdiği bilinen Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) sıçanlarında klotho gen aktarımının NO üretimini arttırarak endotelial fonksiyonu düzelttiği gösterilmiştir. Klotho heterozigot fareler ile vahşi tip fareler arasındaki parabiyozun klotho-eksik farelerin endotel işlevini geri getirmesi de klotho proteininin normal endotel işlevini korumak için humoral bir faktör olarak işlev görebileceğini gösterir. Normal kan fosfat ve D vitamini seviyelerine sahip olmalarına rağmen klotho heterozigot farelerde endotel fonksiyonu tam değildir. Bu nedenle klotho eksikliği olan farelerde NO sentezi azalması hiperfosfatemi veya D vitamini artışına sekonder olmayabilir. Burdan da anlaşılacağı üzere klotho proteininin aracılık ettiği NO sentezinin mekanizması aslında tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte tam emin olunamasa da klotho eksikliği eNOS'u aşağı doğru düzenleyebilir ve NO oluşumunu azaltabilir. Diğer yandan, NO seviyesindeki klotho eksikliği kaynaklı düşüş, süper oksit anyonları gibi çöpçüler tarafından, NO'nun hızlandırılmış bozulmasına bağlanabilir. Çünkü yaşlanmada süper oksit üretiminde artış gösterilmiştir (26,31).

2.2.6. Klotho hücre içi sinyal yollarını etkiler

Klotho'nun moleküler mekanizmasının anlaşılmasına katkıda bulunabilecek birçok klotho sinyal yolağı da ortaya çıkmaya devam etmektedir. Bunlar arasında; p53/p21, cAMP, PKC sinyal yolu, Wnt sinyal yolu ve yukarıda da tartışıldığı üzere insülin / IGF-1 sinyal yolu gösterilmektedir (25,41,42,43).

2.3. ADMA (Asimetrik Dimetil Arjinin), L-NMMA (N-Monometil-L-Arjinin), SDMA (Simetrik Dimetil Arjinin) ve Arjinin

2.3.1. ADMA, L-NMMA, SDMA Sentezi:

Arjinin esansiyel bir aminoasittir ve birçok biyolojik süreçte yer alır (Hsu & Tain, 2019). Protein yapısında olan L-arjinin aminoasidinin hücre içinde metiltransferaz enzimleri vasıtasıyla metillendirilmesi ile ADMA üretimi gerçekleşmektedir. Metillenme işlemi, protein arjinin metil transferaz (PRMT) 1 ve protein arjinin metil transferaz (PRMT) 2 enzimleri ile yapılmaktadır. PRMT enzimleri, S-Adenozil Metioninden (SAM) metil grubunu L-arjinine ekler ve böylece proteinlerdeki arjinin artıklarının guanidin gruplarına metil gruplarının eklenmesini sağlamış olur. Metil grubu vericisi SAM bu işlem sonucunda S-Adenozil homosisteine (SAH) dönüşür. SAH daha sonra homosisteine hidrolize olur. Yolak içinde oluşam metillenmiş proteinlerin proteolitik katabolizması ile serbest metilarjinin rezidüleri salınır. Bu işlemler bittiğinde ADMA, N-Monometil-L-Arjinin (L-NMMA) ve Simetrik dimetilarjinin (SDMA) sentezlenmiş olur. Ortaya çıkan SDMA ve L-NMMA ADMA'nın izomerleridir. Bu sentezde asıl önemli olan ADMA'dır ve oluşan ADMA NOS enziminin üç formunu da yarışarak inhibe edebilmektedir (37). Oluşan izomerlerden L-NMMA, ADMA kadar güçlüdür fakat plazma konsantrasyonu ADMA konsantrasyonunun %10'u kadardır. Bir diğer izomer SDMA ise ADMA ile eşit konsantrasyonlarda üretilir fakat SDMA'nın, NOS aktivitesine etkisi bulunmamaktadır (18).

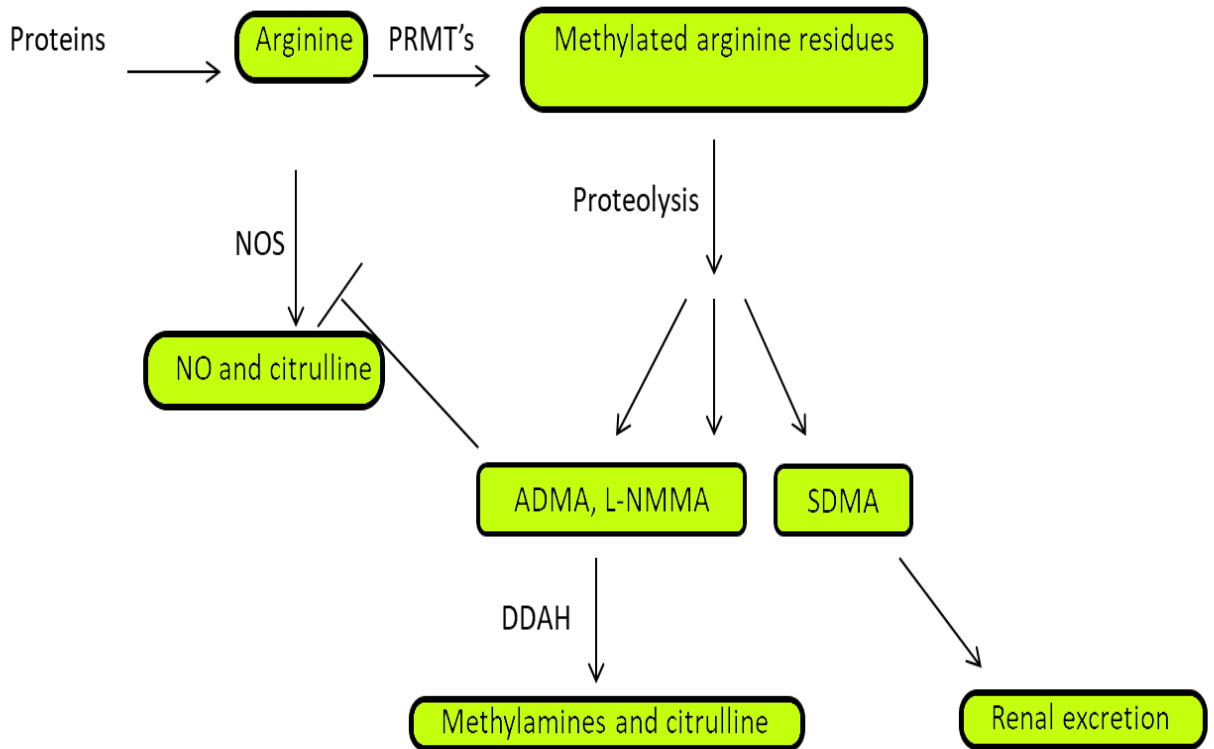
PRMT enzimleri iki çeşittir ve metil arjininlerin sentezinden sorumludur. L-NMMA ve ADMA PRMT 1 enzimiyle, L-NMMA ve SDMA PRMT 2 enzimi ile oluşur. PRMT enzimleri yardımıyla gerçekleşen metillenme olayı geri dönüşümsüzdür. Metillenen proteinler nükleusta bulunurlar ve RNA'nın işlenmesi ile transkripsiyonel kontrolünde rol üstlenirler. Metillenmiş arjininler (ADMA, SDMA ve L-NMMA), katyonik aminoasit taşıyıcısı (Y taşıyıcısı) vasıtasıyla endotel hücrelerine taşınır. Bu üç metilarjininin hepsi hücreye girerken arjininle yarışa girer. Bu yüzden yüksek konsantrasyonlarda ki ADMA, L-arjininin hücre içine taşınmasını engeller ve NO sentezinde azalmaya yol açar (44).

Metil arjininlerin lokal konsantrasyonlarında Y taşıyıcı aktivitesi oldukça önemlidir. Y taşıyıcı sistem endotel hücrelerinde metilarjininleri konsantre eder. Bu sebeple hücre içi konsantrasyonu dolaşımdakinden daha fazladır. Y taşıyıcı sisteminde oluşan herhangi bir defekt artmış ADMA konsantrasyonuna yol açar ve bu da azalmış NO biyosentezi ile sonuçlanır. Sonuçta endotel disfonksiyonu nedeniyle artmış kan basıncı, azalmış kan akımı

oluşur. Bu sebeple ADMA, kardiyovasküler mortalite ve morbiditeyi tahmin etmede kullanılabilir uygun bir biyobelirteç olarak kullanılabilir (17,40,44).

2.3.2. ADMA ve İzomerlerinin Metabolizması:

NOS inhibitörü olan ADMA ve L-NMMA'nın %90'ından fazlasının yıkımında Dimetilarginin dimetil amino hidrolaz (DDAH) enzimi görev alır. DDAH metillenmiş arjininleri sitrülün ve dimetilamine veya monometilamine parçalar. DDAH enziminin iyi bilinen iki izoformu mevcuttur. Bu izoformların ikisi de benzer gen yapısı ve benzer enzim aktivitesine sahiptirler ancak farklı dokularda yer alırlar. DDAH1 enzimi Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS) eksprese eden beyin, karaciğer, adrenal bez, testis ve böbrek gibi dokularda; DDAH 2 enzimi ise kalp, aorta, plasenta gibi Endotelial Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) ve indüklenebilir Nitrik oksit Sentaz (iNOS) eksprese eden dokularda yüksek miktarda bulunmaktadır. DDAH aktivitesi oksidatif strese aşırı duyarlıdır. Enzim aktivitesini İnflamasyon ve oksidatif stres gibi durumlar azaltır. DDAH enziminin inaktivasyonu ADMA eliminasyonu bozulmasına ve ADMA seviyelerinin artmasına ve NO üretiminin azalmasına sebep olur (17,18).



Şekil 2. ADMA ve izomerlerinin metabolizması (45)

2.3.3 ADMA ve İzomerlerinin Yüksekliği İle Seyreden Klinik Durumlar

Metabolizma basamaklarının herhangi birinde meydana gelebilecek bir defekt, ADMA serum düzeyini etkiler. PRMT enzimi aktivitesindeki artma, metilenmiş proteinlerin yıkımının artması, böbrek yetmezliği sonucu atılımın azalması ve DDAH enzim aktivitesindeki azalma başlıca ADMA metabolizması defektleri olarak karşımıza çıkar. Şiddetli inflamasyonla kendini gösteren hastalıklarda, dejeneratif hastalıkların çoğunda ve organ yaralanmalarında proteoliz artmıştır. Proteolizin artması ve eliminasyonun azalması ADMA birikimine sebep olmaktadır. Örneğin; plazma ADMA konsantrasyonunun ciddi karaciğer yetmezliği olan hastalarda yükseldiği görülmüştür. Bu durum ADMA metabolizmasında karaciğerin önemli rolü olduğunu düşündürmektedir. Kronik böbrek yetmezliğinde olduğu gibi eliminasyon ve atımda azalma durumlarında da ADMA'nın konsantrasyonu artmaktadır. Son dönem böbrek yetmezliği bulunan hastalarda serum ADMA düzeyi 10 katına kadar çıkmaktadır. Ayrıca bu hastalarının hemodiyaliz sonrası ADMA düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir (17,46). Hiperinsülinemi ve hiperlipideminin ADMA'nın üretim ve yıkımından sorumlu enzimleri stimüle ettiği, enzimlerin aktivitesinde veya seviyesinde değişiklik oluşturduğu bilinmektedir. Yakın zamanda hipergliseminin, ADMA yıkımını katalizleyen DDAH seviyelerini azaltarak ADMA seviyelerinde artışa sebep olduğu gösterilmiştir. Hiperlipidemideyse okside LDL ile indüklenen oksidatif stres, DDAH enzimini inhibe ederek ADMA seviyesini yükseltir (18,46).

Hipertansiyonda, hiperhomosisteinemide, koroner arter hastalığında, periferik arter darlıklarında, konjestif kalp yetmezliğinde, stroke, pulmoner hipertansiyonda ADMA seviyeleri artmıştır. Bu durum, vasküler süperoksit seviyelerinin artmasıyla ve ADMA yıkımının azalması ile olmaktadır. Yani Koroner aterosklerozu olan veya kardiyovasküler hastalık açısından riskli hasta grubunda endotel disfonksiyonu bulunmaktadır (47). Alzheimer, demans ve vasküler demansta da benzer şekilde artmış serum ADMA seviyeleri karşımıza çıkmaktadır. Artan ADMA seviyeleri etkisiyle NO düzeyinin azalmasının bilişsel fonksiyon kaybının nedeni olduğu düşünülmektedir (48). Oksidatif stres ADMA katabolizmasından sorumlu olan DDAH enziminin aktif bölümünde sistein aminoasidine zarar vererek enzim aktivitesini azaltmaktadır. Böylece ADMA'nın yıkımı azalırken kan düzeyi de artmaktadır. Bu nedenle oksidatif stresi arttıran birçok dejeneratif hastalıkta ADMA düzeyi yüksek bulunmaktadır (47).

Aile hekimleri, bireyi doğumundan ölümüne kadar sürekli ve kapsamlı olarak takip etmektedir. Bu takip sırasında, bireyde meydana gelen hastalıkları tedavi etmenin yanı sıra sonradan gelişme ihtimali olan hastalıkları önlemek de amaçlanır. Günümüzde de zaten hastalıklar için tanı ve tedavi uygulamalarından ziyade birincil korunma uygulamaları öne çıkmaktadır. Aile hekimliğinin temel prensipleri incelendiğinde; sigarayla mücadelenin gerektirdiği bütüncül ve kapsamlı yaklaşımın mevcut olduğu görülmektedir. Yani sigara gibi hayatı tehdit eden zararlı bağımlılıklarla mücadelede aile hekimlerine büyük iş düşmektedir. Bu amaçla Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Sigara Bırakma Polikliniği 31 Mayıs 2012 tarihinde açılmıştır.

Sigara kullanan ve henüz bırakmayı başaramayan bireylerde sigaraya bağlı olumsuz etkiler oluşmadan, sürecin oluşumundan sorumlu bazı parametrelerle takip edilebilmesi, bireylerin sigara bırakmasına olan motivasyonunu arttıracaktır. Ayrıca mortalite ve morbiditeyi ciddi anlamda azaltacaktır. Kardiyovasküler hastalıklarda ön plana ADMA ve izomerleri, kısalmış ömür ve erken yaşlanmada ise α -klotho ön plana çıkmış olsa da literatürde iki parametrenin birlikte çalışıldığı araştırmaya rastlanmamıştır. Ayrıca yapılan çalışmalarda ayrı ayrı bakılan bu parametrelerin kendi içinde de uyumsuzluklar göze çarpmaktadır. Bu bağlamda sunulan çalışmada, sigaranın bireylerde serum α -klotho, ADMA ve izomerleri üzerine olan etkisi ve yaşa bağlı ilişkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi ve Evreni

Bu araştırma bir vaka kontrol çalışmasıdır. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Sigara Bırakma Polikliniği ile Aile Hekimliği Polikliniği'ne 01.02.2021-31.03.2021 tarihleri arasında periyodik sağlık muayenesi için başvuran bireyler araştırmanın evrenini oluşturdu. Kontrol ve vaka gruplarında yaş ve beden kitle indeksi benzer tutuldu. Kadınlarda görülen hormonal değişimler ve menopoz gibi faktörler sonucu etkileyeceği için çalışma grubu erkek bireylerden seçildi. Etik kurul onayı alındıktan sonra sigara bırakma polikliniğine başvuran çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan bireyler vaka grubunu oluşturdu. Aile Hekimliği Polikliniği'ne periyodik sağlık muayenesi için başvuran ve sigara içmeyen erkek bireyler de kontrol grubu olarak alındı.

3.2. Araştırmanın Örneklemi

Daha önce yapılmış olan çalışmalarda ülkemizde sigara içme sıklığı %27 olarak bulunmuştur (49,50). Araştırmamızda evrendeki birey sayısı bilinmediği için çalışmaya alınması gereken denek sayısı $n=t^2.p.q/d^2$ formülü kullanılarak hesaplandı (51).

n =Çalışmaya alınacak denek sayısı

t = Evrendeki birey sayısı bilinmediği için serbestlik derecesi ∞ olarak alınmıştır. 0.05 de ∞ serbestlik derecesinde teorik t değeri tablodan bakılarak 1.96 bulunmuştur.

p = Ülkemizde sigara içme sıklığı %27 kabul edildi. p değeri = 0.27 alındı.

q = sigara içmeme sıklığı $(1-p) 1-0.27=0.73$ 'tir.

d = Olayın görülüş sıklığına göre yapılmak istenen \pm standart sapma miktarı ($\pm\%8$ sapma istediğimizden) $d=0.08$ alınmıştır.

$n= (1,96)^2.(0,27 \times 0,73)/(0,08)^2=118$. Çalışmamıza bu hesap doğrultusunda vaka grubunda 60, kontrol grubunda 60 olmak üzere toplam 120 kişi alınması planlandı. Ayrıca %10 hata payı düşünüldüğü ve belirlenen zaman aralığında beklenenden fazla başvuru yakalandığı için vaka grubu 65, kontrol grubu 71 kişi olmak üzere çalışma tamamlandı.

3.3. Dışlanma Kriterleri

- 1- 30 yaş altı, 70 yaş üzeri kişiler
- 2- Psikiyatrik tanısı olanlar
- 3-Türkçe iletişim kurulamayanlar
- 4- Kadın cinsiyeti
- 5- Bilinen kardiyovasküler hastalığı olanlar
- 6- Kronik inflamatuvar hastalığı olanlar
- 7- Periyodik sağlık muayenesi için başvuran ve muayene sırasında hemogram, lipit paneli, kreatin bakılması planlanmayan bireyler
- 8- Sigara bırakma ve periyodik muayene başvurusunda rutin istenen tetkikler (hemogram, lipit paneli, kreatin vb.) ile daha önce tanı konmamış rahatsızlıkları belirlenenler

3.4. Etik Kurul Onayı ve Onam

Çalışma öncesinde Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi etik kurul onayı alındı (Sayı: 2021/3001 Tarih: 08.01.2021). Etik onay sonrası Necmettin Erbakan Üniversitesi'nden BAP onayı alındı (Proje numarası 211518007). Bireylere çalışmanın amacı hakkında kısaca bilgi verilerek Helsinki Deklarasyonu ilkelerine göre sözlü ve yazılı onamları alındı.

3.5. Verilerin Toplanması

3.5.1. Sosyodemografik Bilgi Formu

Bireyi tanıtıcı bilgilerin bulunduğu anket formu, konuyla ilgili literatür taranarak hazırlandı. Form yaş, medeni durum, eğitim düzeyi, çalışma durumu gibi sosyodemografik özelliklerin yanında COVID-19 geçirme durumu ve vaka grubuna sigara kullanım öyküsü ile ilgili sorulardan oluşmaktaydı. Katılımcılara uygulanan bilgi formu Ek-de 2 verilmiştir.

Son bir ay içerisinde yapılmış ya da mevcut muayenesinde planlanmış hemogram, total kolesterol, HDL-kolesterol düzeyi ve kreatin düzeyleri olanlar ve aynı zamanda kriterleri taşıyanlar, onamı alınarak kontrol grubuna dahil edildi. Bu bireylerin başvuru dosyalarından

sonuçları alındı ve forma kaydedildi. Vaka grubunda ise sigara bırakma başvurularına rutin bakılan (hemogram, lipit paneli, kreatin vb.) tetkiklerden yararlandı. Dinlenmiş ve oturur pozisyonda uygun manşon ile kan basınçları ölçüldü. Ayakkabıları çıkartılarak sert zemin üzerinde standart metre ile boyları, fazla kıyafetleri çıkartılarak standart tartı cihazında kiloları ölçüldü. Katılımcıların vücut kitle indeksleri (VKİ) kg/m^2 cinsinden hesaplandı. $\text{VKİ} < 25 \text{ kg/m}^2$ olanlar normal kilolu, $\text{VKİ} = 25-30 \text{ kg/m}^2$ olanlar fazla kilolu ve $\text{VKİ} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ olanlar obez olarak kabul edildi.

3.5.2. Fagerström Nikotin Bağımlılık Testi (FNBT)

Vaka grubunun nikotin bağımlılığı, FNBT ile değerlendirilmiştir. Karl-Olov Fagerström tarafından Fagerström tolerans testinin tekrar gözden geçirilmesiyle oluşturulmuştur. FNBT altı sorudan oluşmakta olup elde edilen toplam puanlara göre nikotin bağımlılığı “çok az (0-2 puan)”, “az (3-4 puan)”, “orta (5 puan)”, “yüksek (6-7 puan)”, “çok yüksek (8-10 puan)” şeklinde beş grupta derecelendirilmektedir (52,77). Testin Türkçe geçerlik ve güvenilirlik çalışması 2004 yılında Uysal ve arkadaşları tarafından yapılmış olup, testin güvenilirliği orta derecede bulunmuş, klinik uygulamalarda kullanılabileceği belirlenmiştir (54). Sunulan çalışmada hastaların dosyalarından elde edilen toplam puanlara göre nikotin bağımlılığı; “az bağımlılık (0-4 puan)”, “orta bağımlılık (5-6 puan)”, “yüksek bağımlılık (7-10 puan)” şeklinde kategorize edildi.

3.5.3. Framingham Risk Puanlaması

Framingham Risk Puanı, bir bireyin on yıllık kardiyovasküler hastalık geliştirme riskini belirlemek için kullanılan bir dizi puanlama sisteminden biridir. Kadınlar ve erkekler için oluşturulmuş iki ayrı skora sahiptir. Çalışmada erkek cinsiyete göre yaş, sigara kullanımı, sistolik kan basıncı, antihipertansif tedavi altında olma durumu, total kolesterol, HDL-kolesterol düzeyi parametreleri ile <https://www.mdcalc.com/framingham-risk-score-hard-coronary-heart-disease> internet sitesi kullanılarak katılımcıların on yıllık kardiyovasküler hastalık riski hesaplandı.

“Düşük risk (10 yıllık koroner kalp hastalığı riski $< 10\%$)”; “Orta risk (10 yıllık koroner kalp hastalığı riski $10-20\%$)”; “Yüksek risk (10 yıllık koroner kalp hastalığı riski $> 20\%$)” olarak değerlendirildi (55).

3.6. Laboratuvar analizi

Katılımcılardan 8 cc venöz kan örneği serum separatör jelli tüplere alındı. Kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum kısmı ayrıldıktan sonra eppendorf tüplerine bölünerek -80°C derecede analize kadar saklandı. Toplanan örnekler soğuk zincirle laboratuvara transfer edildi. Çalışma gününde örnekler çözdürülerek vortekslendi. Tüm örnekler toplandıktan sonra serum ADMA, L-NMMA, SDMA, arjinin ve klotho düzeyleri Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında çalışıldı.

3.6.1. Kütle Spektrometrik Analizler (Serum Metilarjinin Düzeylerinin Tayini)

Kütle spektrometrik analizler, pozitif modda çalışan bir elektro sprey iyon kaynağı (ESI) ile donatılmış ABSCIEX API 3200 triple kuadropol kütle spektrometresi (ABD) ile entegre bir Shimadzu LC-20-AD (Kyoto, Japonya) kromatografi sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Kromatografik ayırım kolon olarak Phenomenex C18 kolon, mobil faz olarak ise mobil faz A ve B'nin gradient elüsyonla uygulanmasıyla sağlandı. Mobil faz A: % 0.1 formik asit içeren HPLC grade su karışımından oluşurken, Mobil faz B ise % 0.1 formik asit içeren metanol karışımından oluşmaktadır. Mobil faz B'nin yüzdesi ise şu şekilde programlandı: 0.1 dak,% 15; 1.0 dak,% 25; 2.0 dak,% 100; 2.10 dak,% 15; 4.90 dak,% 15.

Her analit için belirlenen iyon geçişleri ise şunlardı (öncü iyon / ürün iyon; m / z): ADMA-259.3 / 214; SDMA-259.3 / 228.0; arjinin-231.3 / 70.0; L-NMMA-245.3 / 70.2; d7-ADMA- 266.61 / 221. Ionspray voltage, source temperature, curtain, ion source (GS1) ve ion source (GS2) gaz değerleri ise sırasıyla 5000 V, 350 OC, 20, 40, 60 psi'idi. Analitlerin matriksten ekstrasyonu ve analize uygun hale getirilmesi için uygulanacak ön işlem basamakları ise aşağıda özetlenmiştir.

Serum ADMA, SDMA, L-NMMA ve arjinin seviyeleri Onmaz ve ark. tarafından geliştirilen yöntem vasıtasıyla ölçüldü (53). Kısaca 200 µL serum numunesi eppendorf tüplere alınarak üzerine 100 µL iç standard (10 µm d7-ADMA) ve protein presipitasyonu amacıyla 1000 µL metanol karışıma eklendi, ardından 30 saniye vortekslendi ve 13000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. 800 µL süpernatant cam tüplere alınarak 65°C'de azot gazı altında buharlaştırıldı. Türevlendirme için taze olarak hazırlanmış % 5 (%v / v) asetil klorid içeren bütanol solüsyonundan 200 µL ilave edildi. Tüpler ağzı kapalı bir şekilde 30 dakika 65°C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra türevlendirici solüsyon azot gazı ile buharlaştırıldı. Tüperdeki rezidüel,% 0.1 (%v / v) formik asit içeren 200 µL su-metanol (90:10, %v / v)

karışımı içinde çözülerek ABSCIEX API 3200 LC-MS / MS (MDS-Sciex®, Concord, Canada) sistemine 40 µL enjekte edildi.

Yöntemin çalışma içi ve çalışmalar arası %CV değerleri %9,8'den düşük olup, geri kazanım değerleri %94,1 ile %108,9 arasında değişmekteydi.

3.6.2. ELISA Analizi (Alpha Klotho Analizi)

Serum α -klotho düzeylerinin ölçümü spesifik ELİSA test kitleriyle (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, China, catalog number: E3756Hu) üretici prosedürlerine uygun olarak gerçekleştirilmiş ve örneklerle ait absorbans değerleri CLARIOstar microplate reader cihazında ölçülmüştür. Standartlardan hareketle hazırlanan kalibrasyon grafiği yardımıyla her bir örnekteki serum α -klotho konsantrasyonları hesaplanmıştır. Serum α -klotho konsantrasyon değerleri ise pg/mL olarak ifade edilmiştir. Kit'in intra- ve inter-assay %CV değerleri %9,8'den düşük olup, geri kazanım değerleri %94,1 ile %108,9 arasında değişmekteydi.

3.7. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler için çalışmadan elde edilen veriler değerlendirilirken SPSS (Statistical Package For Social Sciences) for Windows 22.0 programı kullanıldı. Sürekli değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart sapma ile, kategorik verilere ait tanımlayıcı istatistikler ise frekans ve yüzde olarak belirtildi. Normal dağılıma uygunluk Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım varsayımını karşılayanlarda ikili gruplarda Independent Samples-T test ve çoklu gruplarda Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) kullanıldı. Normal dağılım varsayımını karşılamayanlarda Mann-Withney U testi ve Kruskal Wallis testi kullanıldı. Gruplar arası farkın olduğu durumda Post-Hoc Tukey testi ile anlamlılık değerlendirildi. Değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemek için korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

A. Sigara içen ve içmeyen bireylerin sosyodemografik özellikleri ve Framingham risk skorlarının karşılaştırılması

Çalışmaya vaka grubunda sigara içen 65 birey ve kontrol grubunda sigara içmeyen 71 birey dahil edildi. Sigara içen bireylerin yaş ortalaması $46,26 \pm 8,72$ (35-70) yıl, sigara içmeyen bireylerin yaş ortalaması ise $47,38 \pm 9,36$ (35-70) yıl bulundu ($p=0,473$). Sigara içen bireylerin %95,4'ü ($n=62$), sigara içmeyenlerin ise %93,0'ı ($n=66$) evliydi ($p=0,548$).

Sigara içen katılımcıların %47,7'si ($n=31$) ortaokul ve altı, %16,9 ($n=11$)'u lise, %35,4 ($n=23$)'ü üniversite mezunuydu. Kontrol grubunun %31,0'ı ($n=22$) ortaokul ve altı, %4,2'si ($n=3$) lise ve %64,8'i ($n=46$) üniversite mezunuydu. Vaka ve kontrol grubunun eğitim düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0,063$). Vaka grubunun %86,2'ü ($n=56$), kontrol grubunun %83,1'i ($n=59$) çalışıyordu ($p=0,622$). Vaka ve kontrol grubunun VKİ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0,348$). Vaka grubunun sistolik kan basıncı ortalaması $127,16 \pm 16,44$ mmHg, kontrol grubunun sistolik kan basıncı ortalaması ise $123,94 \pm 11,74$ mmHg bulundu ($p=0,184$).

Sigara içen katılımcıların Framingham risk skoru ortalaması $11,10 \pm 7,27$ puan, sigara içmeyen katılımcıların Framingham risk skoru ortalaması $6,16 \pm 3,94$ puan hesaplandı. Vaka ve kontrol grubu ile Framingham risk skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,001$).

Sigara içen bireylerde FNBT puanına göre; bağımlılık skoru %12,4'ünün ($n=8$) az, %33,8'inin ($n=22$) orta ve %53,8'inin ($n=35$) yüksek düzeyde olduğu tespit edildi. Ayrıca bireylerin sigara kullanım miktarı $37,01 \pm 22,00$ (5-105) paket/yıl olarak hesaplandı.

Sigara içen ve içmeyen grubun sosyodemografik özellikleri, sistolik ve diyastolik kan basınçları, Framingham risk skorları Tablo 1 ve Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Sigara içen ve içmeyen bireylerin yaş, Framingham risk skoru, sistolik ve diyastolik kan basıncı ortalamalarının karşılaştırılması

	Sigara İçenler	Sigara İçmeyenler		
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	t	p*
Yaş (Yıl)	46,26 ± 8,72	47,38±9,36	-0,719	0,473
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	127,16±16,44	123,94±11,74	1,334	0,184
Diyastolik Kan Basıncı (mmHg)	79,16±10,94	77,90±9,94	0,705	0,482
Framingham Risk Skoru	11,10±7,27	6,16±3,94	3,588	<0,001

*Bağımsız örnekleme t test

Tablo 2. Sigara içen ve içmeyen bireylerin demografik özelliklerinin karşılaştırılması

Parametreler	Sigara İçenler		Sigara İçmeyenler		X ²	p*
	n	%	n	%		
Medeni durum						
Evli olanlar	62	95,4	66	93,0	0,361	0,548
Evli olmayanlar	3	4,6	5	7,0		
Eğitim durumu						
Ortaokul ve altı	31	47,7	22	31,0	13,528	0,063
Lise	11	16,9	3	4,2		
Üniversite	23	35,4	46	64,8		
Çalışma durumu						
Çalışıyor	56	86,2	59	83,1	0,243	0,622
Çalışmıyor	9	13,8	12	16,9		
**VKİ (kg/m²):						
< 25 kg/m ²	25	38,4	20	28,1	2,109	0,348
25-30 kg/m ²	23	35,4	33	46,5		
≥30 kg/m ²	17	26,2	18	25,4		

* Ki kare testi

** VKİ: vücut kitle indeksi

B. Sigara içen ve içmeyen bireylerin hemogram parametreleri:

Sigara içen bireylerin HCT (hematokrit) değerleri ortalaması %48,20±2,96; sigara içmeyen bireylerin HCT değerleri ortalaması %44,69±4,63 idi. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (**p<0,001**). MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration) değerleri ortalaması sigara içmeyen bireylerde 33,23±0,90 pg, sigara içen bireylerde ise 33,66±0,85 pg bulundu. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (**p=0,005**). Sigara içen bireylerin WBC (White Blood Cell) değerleri ortalaması 8,45±1,94 k/μl, sigara içmeyen bireylerin ortalaması 6,91±1,78 k/μl bulundu (**p<0,001**). LYM (Lenfosit) değerleri sigara içen bireylerde 2,64±0,74 k/μl, sigara içmeyen sağlıklı bireylerde 2,12±0,63 k/μl bulundu (**p<0,001**). Sigara içen ve içmeyen sağlıklı bireylerin hemogram parametreleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı bireylerin hemogram parametreleri

	Sigara İçenler	Sigara İçmeyenler		
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	<i>t</i>	<i>p</i> *
HGB (g/ dL)	16,22±8,81	16,05±1,02	-0,156	0,877
HCT (%)	48,20±2,96	44,69±4,63	5,222	<0,001
MCV (fL)	88,41±10,76	85,60±9,93	1,583	0,116
MCH (pg)	29,81±1,52	29,17±1,47	2,461	0,150
MCHC (g / dL)	33,66±0,85	33,23±0,90	-2,844	0,005
MPV (fL)	10,81±7,60	8,68±1,10	2,337	0,021
WBC (k/μL)	8,45±1,94	6,91±1,78	4,819	<0,001
NEU(k/μL)	5,89±6,56	4,01±1,37	2,359	0,020
LYM (k/μL)	2,64±0,74	2,12±0,63	4,381	<0,001
NEU/ LYM	2,37±2,85	2,02±0,82	0,986	0,326
PLT (k/μL)	249,51±66,08	234,73±50,96	1,468	0,145

*Bağımsız örnekleme t testi

C. Sigara içen ve içmeyen bireylerin lipit paneli ve kreatin değerleri

Çalışmaya katılan sigara içen bireylerin trigliserid (TG) düzeyi ortalaması 169,59±95,68 mg/dL, sigara içmeyen bireylerin trigliserid düzeyi ortalaması 137,54±68,92 mg/dL idi. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (**p<0,005**).

Sigara içen katılımcıların LDL kolesterol düzeyi ortalaması (124,73±43,38 mg/dL), sigara içmeyen katılımcıların LDL kolesterol düzeyi ortalamasından (113,69±22,29 mg/dL) daha yüksek bulundu (**p=0,050**).

Vaka grubunda katılımcıların HDL kolesterol düzeyi ortalaması (41,22±8,29 mg/dL), kontrol grubundaki katılımcıların HDL kolesterol düzeyi ortalamasından (48,41±9,04 mg/dL) daha düşük olduğu saptandı (**p<0,001**).

Sigara içen ve içmeyen bireylerin lipit panelleri ve kreatinin değerlerinin karşılaştırması Tablo 4’de gösterilmiştir.

Tablo 4. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı bireylerin lipit paneli ve kreatin değerleri

	Sigara İçenler	Sigara İçmeyenler		
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	t	p*
Total Kol (mg/dL)	197,43±46,27	186,57±26,43	1,659	0,092
TG (mg/dL)	169,59±95,68	137,54±68,92	2,224	0,026
LDL-k (mg/dL)	124,73±43,38	113,69±22,29	1,949	0,050
HDL-k (mg/dL)	41,22±8,29	48,41±9,04	-4,818	<0,001
Kreatinin (mg/dL)	0,96±0,13	0,94±0,12	0,541	0,589

*Bağımsız örnekleme t testi

D. Sigara içen ve içmeyen bireylerin serum ADMA, SDMA, LNMA, arjinin ve α-klotho parametreleri

Sigara içen bireylerde ADMA düzeyi ortalaması 0,43±0,12 µmol/L, sigara içmeyen bireylerde 0,31±0,07 µmol/L idi. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (**p<0,001**). Vaka grubundaki katılımcıların L-NMMA (0,03±0,06 µmol/L), SDMA (0,17±0,04 µmol/L) ve arjinin (64,24±25,08 µmol/L) düzeyi ortalaması, kontrol grubundaki katılımcıların L-NMMA (0,01±0,01 µmol/L), SDMA (0,12±0,03 µmol/L) ve arjinin (81,22±17,28 µmol/L)

düzeyi ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksekti (sırasıyla **p=0,024**; **p<0,001**; **p<0,001**).

Sigara içen erkeklerde α -klotho düzeyi ortalaması 499,73±623,51 pg/mL iken, sigara içmeyen erkeklerde α -klotho düzeyi ortalaması 924,67±887,23 pg/mL idi. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (**p<0,001**).

Sigara içen ve içmeyen sağlıklı bireylerin ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin ve klotho parametreleri Tablo 5’te gösterilmiştir.

Tablo 5. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı bireylerin ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin ve klotho serum seviyeleri

	Sigara İçenler	Sigara İçmeyenler		
Parametreler	Ort±SD	Ort±SD	t	p*
ADMA (µmol/L)	0,43±0,12	0,31±0,07	6,651	<0,001
SDMA (µmol/L)	0,17±0,04	0,12±0,03	6,873	<0,001
L-NMMA (µmol/L)	0,03±0,06	0,01±0,01	2,279	0,024
Arjinin (µmol/L)	64,24±25,08	81,22±17,28	-4,629	<0,001
Klotho (pg/mL)	499,73±623,51	924,67±887,23	-3,204	<0,001

*Bağımsız örnekleme t testi

E. Sigara içen bireylerin bağımlılık puanına göre ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin ve klotho parametrelerinin kıyaslanması

Sigara içen bireyler Fagerström Nikotin Bağımlılık Testi’nden aldıkları puana göre az bağımlı (0-4 puan), orta derece bağımlı (5-6 puan) ve yüksek bağımlı (7-10 puan) olarak gruplara ayrıldı. Bağımlılık düzeyi az olan katılımcıların serum ADMA düzeyi ortalaması (0,32±0,03 µmol/L), orta düzey bağımlıların serum ADMA düzeyi ortalaması (0,43±0,11 µmol/L) ve yüksek bağımlı olanların serum ADMA düzeyi ortalaması (0,45±0,12 µmol/L) olarak bulundu. Az bağımlı olanların serum ADMA düzeyi ortalaması, orta ve yüksek derecede bağımlı olanlardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (sırasıyla **p=0,045**; **p=0,008**).

Sigara içen katılımcıların nikotin bağımlılık düzeyleri ile serum α -klotho düzeyi arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,477$).

Fagerström Nikotin Bağımlılık puanına ile ADMA, SDMA, LNMA, arjinin ve klotho parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Fagerström Nikotin Bağımlılık puanına ile ADMA, SDMA, LNMA, arjinin ve klotho parametrelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Az Bağımlılar (a) Ort±SD	Orta Düzey Bağımlılar (b) Ort±SD	Yüksek Düzey Bağımlılar (c) Ort±SD	<i>p</i> *
ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	0,32±0,03	0,43±0,11	0,45±0,12	0,045^{ab} 0,008^{ac}
SDMA ($\mu\text{mol/L}$)	0,16±0,03	0,16±0,04	0,17±0,04	0,730
L-NMMA ($\mu\text{mol/L}$)	0,01±0,01	0,02±0,01	0,03±0,07	0,624
Arjinin($\mu\text{mol/L}$)	45,92±13,15	5,30±26,24	67,76±25,11	0,080
Klotho(pg/mL)	731,25±819,75	519,77±667,32	434,22±548,70	0,477

*One way ANOVA testi

F. Sigara içen ve içmeyen sağlıklı bireylerin Framingham Risk Skoruna göre ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin ve klotho parametrelerinin kıyaslanması

Sigara içen ve içmeyen gruplar Framingham risk skoruna göre düşük (<%10), orta (%10-20) ve yüksek (>%20) risk olarak üç gruba ayrıldı.

Sigara içen katılımcıların ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin ve klotho düzeyleri ile risk grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=0,237$; $p=0,297$; $p=0,673$; $p=0,754$; $p=0,227$).

Sigara içmeyen bireylerde düşük risk grubunun SDMA değerleri $0,12\pm0,03$ $\mu\text{mol/L}$, yüksek risk grubunun SDMA değerleri $0,19\pm0,04$ $\mu\text{mol/L}$ idi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark mevcuttu ($p=0,014$).

Sigara içen ve içmeyen bireylerde Framingham risk skoruna göre ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin ve klotho parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7. Sigara içen ve içmeyen bireylerde Framingham risk skoruna göre ADMA, SDMA, L-NMMA, arjinin ve klotho parametrelerinin karşılaştırılması

		ADMA ($\mu\text{mol/L}$)	SDMA ($\mu\text{mol/L}$)	L-NMMA ($\mu\text{mol/L}$)	Arjinin ($\mu\text{mol/L}$)	Klotho ($\mu\text{mol/L}$)
		Ort \pm SD	Ort \pm SD	Ort \pm SD	Ort \pm SD	Ort \pm SD
Sigara İçenler	Düşük Risk(a)	0,42 \pm 0,12	0,16 \pm 0,04	0,036 \pm 0,07	63,62 \pm 67,49	369,57 \pm 371,98
	Orta Risk(b)	0,41 \pm 0,12	0,18 \pm 0,04	0,018 \pm 0,01	67,49 \pm 24,98	727,35 \pm 824,01
	Yüksek Risk(c)	0,48 \pm 0,11	0,18 \pm 0,03	0,026 \pm 0,01	61,08 \pm 23,08	607,40 \pm 897,95
	<i>p</i> *	0,237	0,297	0,673	0,754	0,227
Sigara İçmeyenler	Düşük Risk(a)	0,31 \pm 0,07	0,12 \pm 0,03	0,01 \pm 0,01	82,05 \pm 16,86	897,98 \pm 901,77
	Orta Risk(b)	0,33 \pm 0,07	0,13 \pm 0,04	0,01 \pm 0,01	75,53 \pm 21,00	847,88 \pm 741,58
	Yüksek Risk(c)	0,40 \pm 0,05	0,19 \pm 0,04	0,01 \pm 0,01	82,20 \pm 16,54	071,00 \pm 4,24
	<i>p</i> *	0,107	0,014^{ac}	0,370	0,825	0,082

*One way ANOVA testi

G. Katılımcıların yaş, paket/yıl, Fagerström puanı ve Framingham risk skorunun ADMA ve klotho proteini arasındaki korelasyonu

Sigara içenlerin yaşları ile serum α -klotho seviyeleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, negatif yönde orta derecede anlamlı bir ilişki bulundu ($r=-0,293$, $p=0,018$). Doğrusal regresyon analizi yapıldığında serum α -klotho seviyesindeki azalışın %8,6'sı yaşın etkisine atfedildi (Şekil 3).

Sigara içmeyenlerin yaşları ile serum α -klotho seviyeleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, negatif yönde orta derecede anlamlı olmayan bir ilişki bulundu ($r=-0,108$, $p=0,369$). Doğrusal regresyon analizi yapıldığında serum α -klotho seviyesindeki azalışın %1,2'si yaşın etkisine atfedildi (Şekil 3).

Sigara içenlerin yaşları ile serum ADMA seviyeleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, pozitif yönde yüksek derecede anlamlı bir korelasyon bulundu ($r=0,409$, $p=0,001$). Sigara içmeyenlerin yaşları ile serum ADMA seviyeleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, pozitif yönde orta derecede anlamlı bir korelasyon bulundu ($r=0,237$, $p=0,047$).

Sigara içmeyenlerin Framingham risk skoru ile serum ADMA seviyeleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, pozitif yönde orta derecede anlamlı bir ilişki bulundu. ($r=0,278$, $p=0,019$). Sigara içenlerin paket/yıl ile serum ADMA seviyeleri arasındaki korelasyonu incelendiğinde, pozitif yönde orta derecede anlamlı bir ilişki bulundu. ($r=0,267$, $p=0,032$). Sigara içenlerin Fageström bağımlılık puanı ile serum ADMA seviyeleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, pozitif yönde orta derecede anlamlı bir korelasyon bulundu. ($r=0,351$, $p=0,004$). Doğrusal regresyon analizi yapıldığında serum ADMA seviyesindeki artışın %12,3'ü FNBT etkisine atfedildi (Şekil 4).

Katılımcıların yaş, paket/yıl, FNBT'nin ADMA ve klotho arasındaki korelasyonu Tablo 8'de gösterilmiştir.

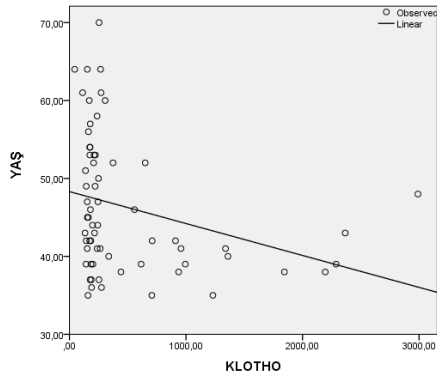
Tablo 8. Sigara içen ve içmeyen bireylerde yaş, paket/yıl, FNBT'nin ADMA ve klotho korelasyonu

	Sigara İçenler				Sigara İçmeyenler			
	ADMA		Klotho		ADMA		Klotho	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Yaş	0,409**	0,001	-0,293*	0,018	0,237*	0,047	-0,108	0,369
Framingham	0,133	0,290	0,153	0,223	0,278*	0,019	-0,048	0,694
Paket/yıl	0,267*	0,032	0,104	0,411	-	-	-	-
FNBT	0,351*	0,004	-0,074	0,556	-	-	-	-

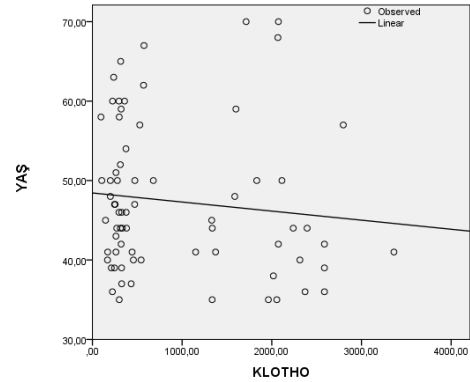
** p<0,001

* p<0,05

$R^2=0,086$
 $p=0,018$



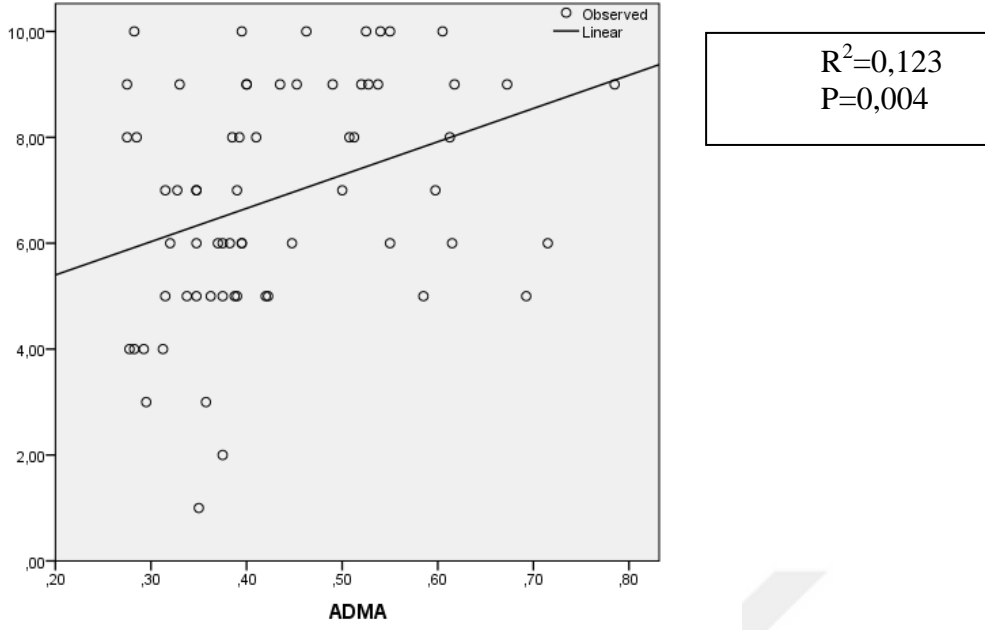
a. Sigara İçenler



$R^2=0,012$
 $p=0,369$

b. Sigara İçmeyenler

Şekil.3 Yaş ile kontrol ve vaka grubunda serum klotho seviyesindeki değişme



Şekil 4. Sigara içenlerde FNBPT puanına göre ADMA seviyesinin değişimi

5. TARTIŞMA

DSÖ verilerinin de gösterdiği üzere yılda yedi milyondan fazla insan sigara dumanına maruz kalarak çeşitli hastalıklara yakalanıp hayatını kaybetmektedir (1). Tütün kullanımı sadece kişiyi ilgilendiren bir alışkanlık olarak düşünülmemeli, dolaylı olarak kişinin çevresini de etkilediği unutulmamalıdır. Tüm bunlar göz önüne alındığında içilen her sigara içen kişi yanında ikinci el ve üçüncü el sigara dumanı maruziyeti nedeniyle yakınında bulunan kişileri de olumsuz yönde etkilemektedir. Sigara kullanımının kanserler, kardiyovasküler hastalıklar, akciğer hastalıkları gibi sayısız pek çok hastalıkla ve yaşlanmayla ilişkili olduğu yukarıda da belirtildiği gibi zaten bilinmektedir (2). Buna rağmen halen bu hastalıklara nasıl neden olduğu tartışma konusudur. Birçok patogenez teorisi mevcut olsa da NOS inhibitörü olan ADMA ve izomerleri ile anti-aging molekül olan klotho, sigara içen bireylerde yeterince incelenmemiştir. Aynı ayrı olarak sigara içenlerde bu parametreler halen yeterli sayıda olmasa da çalışılmıştır fakat bu şekilde birlikte çalışılmamıştır. Aynı olarak bakılan bu parametrelerin de kendi içinde tutarlılığı tartışma konusudur. Sunulan çalışmada ADMA, L-NMMA, SDMA, arjinin ve klotho'nun ilk kez birlikte çalışılması, sigara içen ve içmeyen grupta verilerin karşılaştırılmasının literatüre önemli katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz. Ayrıca araştırma

ile bu parametreler ayrı ayrı incelendiğinde görülen farklılıklar ile literatürdeki çelişkiler gözden geçirilmiştir.

Bulunuşundan bu güne eksikliği erken yaşlanma, kısalmış ömür ve kardiyovasküler hastalıklarla özdeşleşen klotho'nun yaşa bağlı azaldığını ve yaşlanmanın temelinde olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur (4,26,31,82). Semba ve ark. InCHIANTI çalışmasıyla klotho'nun yaşa ve sigaraya bağlı değişimini analiz etmişler ve üç yıllık takiple klotho seviyesinin genç yaşta, kadın cinsiyette, düşük alkol alanlarda, sigara içmeyenlerde, HDL kolesterolü yüksek olanlarda, daha düşük trigliserit seviyesi olanlarda yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir (59). Sunulan çalışmada sigara içmeyen bireylerin yaşları arttıkça serum klotho seviyelerinde azalma olduğu görüldü. Bu yönüyle çalışma sağlıklı bireylerde de yaşla beraber klotho proteinin azaldığını göstermekte olan diğer çalışmalarla benzerdir (8,31). Bununla beraber sigara içen bireylerde yaş ile birlikte klotho proteinindeki azalmanın daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu duruma sigaranın reaktif oksijen radikallerini artırması sonucu telomer uzunluğunun kısalmasına yol açması neden olabilir (5,6).

Literatür incelendiğinde sigara ile klotho proteininin serum düzeyi arasında çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Nakanishi ve ark. 40 yaşın üzerinde sigara içen ve içmeyen gruplarla yaptığı çalışmada, sigara içen bireylerin serum klotho seviyelerini sigara içmeyen bireylerin serum klotho seviyelerinden yüksek bulmuştur. Çalışmada ayrıca yaş ile klotho seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (8). Bir başka çalışmada Kamizono ve ark. sigara bırakmanın klotho seviyeleri üzerindeki etkisini değerlendirmiş ve sigara içen grubun klotho serum seviyelerini sigarayı bırakan gruptan yüksek bulmuştur (58). Bu çalışmalar sigara içenlerde klotho seviyelerinin yüksek olduğunu bildirse de klotho seviyelerinin sigara içicilerinde azaldığını söyleyen çalışmalar da mevcuttur. Lam-Rachlin ve ark. çalışmaları ile ilk kez klotho seviyesinin sigara içenlerde azaldığını göstermiş ve destekleyici çalışmalar da peşi sıra devam etmiştir (16). Li ve ark. yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada, sigara içenlerin ve Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOA) olanların akciğer rezeksiyon dokularının klotho ekspresyonunun içmeyenlere göre azaldığını tespit etmişlerdir (80). Bir başka çalışmada Patel ve ark. sağlıklı sigara içenler ve KOA olan iki grubun kuadriseps kası klotho seviyelerini kıyaslamış, sigara içicilerde klotho seviyelerinin azaldığını bulmuşlardır (56). Stefanie Krick ve arkadaşları da akciğerleri nakil için reddedilen organ bağışçılarından elde edilen solunum yolu materyallerinde klotho düzeyini ölçmüş ve sigara içenlerin klotho ekspresyonlarının düşük olduğunu gözlemlemiştir (57). Sunulan çalışmada ise sigara içen bireylerin klotho serum seviyeleri sağlıklı sigara içmeyen bireylerin klotho seviyelerinden daha düşük bulundu.

Sigara içicilerde klotho seviyeleri yükselir diyen çalışmaların temelinde klotho'nun antienflamatuvar yanıt olarak artıp sigaranın oluşturduğu serbest radikallerden hücreleri korumaya çalışması yatmaktadır(8,58). Sunulan çalışmada bu durumdan farklı olarak sigara nedeniyle klotho seviyesinin azaldığını gözlemledik. Sigaranın oluşturduğu oksijen radikalleri klotho genine etki edip bu proteinin üretimini bozması ve ayrıca bu radikallerin klotho proteinin apoptozisinden ve epigenetik kontrolünden sorumlu enzimleri etkilemesi bu düşüğe sebep olabilir (5,6).

SDMA ve L-NMMA teorik olarak aynı yolak üzerinden ilerlediği için ADMA'ya paralel hareket etmelidir. Schiel ve arkadaşlarının 2003 yılında sigara içen hastalarda yaptığı çalışma gibi araştırmaların birçoğu da bu paralelliği desteklemektedir (18, 60). Sonuç olarak ADMA artışı SDMA ve L-NMMA artışına ve arjinin azalmasına yol açacaktır. Bu bilgilerin ışığında konsantrasyonun daha yüksek olması ve NOS üzerine etkisinin fazlalığı nedeniyle bu çalışmada ADMA üzerinde yoğunlaşmıştır. ADMA bir NOS inhibitörüdür ve bu sebeple artmış kardiyovasküler riskten sorumlu tutulur. Gardiner ve arkadaşları bunu doğrulayıcı olarak sıçanlarda ADMA uygulanmasının, renal vasküler dirençte ve kan basıncında artışa neden olduğunu göstermiştir (61). Bu bilgiler doğrultusunda sigara içicilerde ADMA düzeylerinin yüksek olması tahmin edilebilir fakat önceki çalışmalarda farklı sonuçlarda bildirilmiştir. Eid ve ark. çalışmalarında sigara içenlerde ADMA seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir (62). Buna karşın Sobczak ve ark. ile Campesi ve ark. yaptığı çalışmalara benzer şekilde birçok çalışma ADMA seviyelerinin yükseldiğini raporlamaktadır (63, 64). Sunulan çalışma da ADMA değerleri sigara içen bireylerde sigara içmeyen bireylerden daha yüksek olarak bulunmuştur. Sigara içiminin reaktif oksijen türlerini (ROS) artırdığı birçok çalışmada gösterilmiştir (6). ADMA, dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi tarafından sitrülün ve dimetilamine metabolize edilir. Oksidatif ve nitrozatif stres DDAH enzim aktivitesini azaltırken PRMT-1 enzimatik aktivitesini de artırır. Bu nedenle sigara içen bireylerde artmış ADMA seviyeleri, oksidatif ve nitrozatif strese bağlı olarak azalmış DDAH aktivitesi ve artan PRMT-1 aktivitesinin bir sonucu olabilir (65).

ADMA'nın yaşa bağlı olarak ne yönde değiştiğini irdeleyecek olursak yaşlanma ile yükseldiği bildiren çalışmalar ön plana çıkmaktadır. Örneğin; Choi ve ark. yaşa bağlı ADMA ile Glomerüler Filtrasyon Hızını (GFR) değerlendirmiş ve sonuç olarak yaşa bağlı ADMA seviyelerinin arttığını gözlemlemiştir (66). Sunulan çalışmada da benzer şekilde yaşa bağlı hem sigara içen grupta hem de sigara içmeyen grupta ADMA seviyeleri yüksek olarak bulundu. Yaşa bağlı olarak GFR'nin azalması ADMA'nın atılımını azaltmaktadır. Ayrıca

yaşla birlikte GFR azaldığı için biriken reaktif radikallerin ADMA yıkımından sorumlu enzim olan DDAH a olumsuz etki etmesi ve PRMT-1 enzimini aktive etmesi de ADMA artışına neden olabilir (65,66).

Yapılan çalışmaların çoğunluğu sigara içicilerde sistolik ve diyastolik kan basıncının yükseldiğini göstermektedir (67,83). Fakat bunun tam tersini rapor eden yayınlarda mevcuttur. Örneğin Berglund ve ark. sigara içme alışkanlıkları ile kan basıncı değerleri arasında bir ilişki olmadığını bildirmiştir (68). Benzer şekilde Li ve arkadaşları da sigara içenlerde sistolik kan basıncının içmeyenlere göre daha düşük olduğunu gösteren bir çalışma yayınladı (67). Bir başka örnek ise, Nakanishi ve ark. sigara içenler ile içmeyen bireylerin klotho düzeyleriyle beraber sistolik ve diyastolik kan basınçlarını karşılaştırmış, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamıştır (8). Sunulan çalışmada da benzer olarak kontrol ile vaka grubunun sistolik ve diyastolik kan basınçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Bunun sebebi çalışma grubunun genç yaş bireyleri içermiyor olması, yaş ortalamasının 45 yaş üzerinde olması ve mümkün olduğunca vaka ve kontrol grupların benzer tutulmaya çalışılmış olması olabilir.

Sigara içiminin VKİ üzerine etkisi de tartışmalı sonuçlar barındırmaktadır. Sigara bırakan her bireyin kilo almaması, sigara içme miktarı ile vücut ağırlığının doğrusal bir doz-yanıt ilişkisi içermemesi, yaşam tarzı faktörleri ve sosyodemografik farklılıklar olması, ağır sigara içenlerin hafif sigara içenlere göre daha yüksek VKİ'de olduğunu gösteren çalışmaların olması, bu tartışmaların yersiz olmadığını göstermektedir (69). Sunulan çalışmada da vaka ve kontrol grubu arasında VKİ yönünden farklılık bulunmadı. Bunun sebebi, yukarıda geçtiği gibi grupların benzer tutulması, genç bireyleri içermemesi ve yaşlanmayla beraber hareketliliğin azalması olabilir.

Sigara kullanmak kardiyovasküler hastalıklar üzerinde bağımsız bir risk faktörüdür. Bu yüzden Framingham risk skoru hesaplanırken doğrudan puanlamaya etki eder (55,60). Araştırmaya dahil edilen her iki grupta kronik hastalığı olmayan sağlıklı bireylerden ve benzer yaş grubundaki erkeklerden oluştuğu için beklenildiği gibi sigara içen gruptaki bireylerin Framingham risk skoru içmeyen gruptaki bireylerden daha yüksek bulundu.

Sigara içiminin hemoglobin parametreleri üzerine etkileri konusunda da literatürde farklı sonuçlara rastlanmaktadır. Inal ve ark., beş yıl üzeri sigara içenlerde yalnızca WBC parametresinin anlamlı olarak değiştiğini bulmuşlardır (70). Bir başka çalışmada Malenica ve

ark. WBC, MCV, MCH, hemoglobin parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim gözlemlenmişlerdir (71). Sunulan çalışmada sigara içen ve içmeyen grup arasında HCT, MCHC, WBC, MPV, nötrofil ve lenfosit değerlerinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Sigara içicilerde artan hematokrit değerleri, artan karboksi hemoglobin oluşumunun neden olduğu doku hipoksisinin, eritropoetin salgısının artmasına ve dolayısıyla eritropoezinin artmasına neden olması ile açıklanabilir. Bu durum hemoglobinde, MCHC’de de yükselmeye yol açabilir. Bu çalışmada istatistiksel olarak anlamlı olmasa da sigara içicilerde hemoglobin değerleri sigara içmeyen sağlıklı bireylerden yüksekti. Sigara içenlerde saptanan MPV yüksekliği, sigara içmenin aterosklerotik damarlarda trombosit tüketimini artırmasına yanıt olarak megakaryositlerin daha aktif olan daha büyük trombositler üretmesi ile açıklanmaktadır (71,75). Sigara içmenin lökosit sayısını nasıl arttırdığına dair kesin mekanizma tam olarak açıklığa kavuşturulmasa da, sigaranın neden olduğu lökositoz çeşitli şekillerde açıklanabilir. Bazı yazarlar, lökosit sayısındaki artışın, adrenal bezin çekirdeğinden nikotin kaynaklı katekolamin ve steroid hormonlarının salınımının sonucu olabileceğini iddia etmektedir. Epinefrin ve kortizol gibi belirli endojenik hormonların seviyesindeki artışın lökosit sayısında artışa neden olduğu bilinmektedir. Ek olarak, tütün dumanının solunum yolları üzerindeki tahriş edici etkisi ile ortaya çıkan iltihaplanma da lökosit sayısının artmasına katkıda bulunabilir (71,73,75). Aula ve Qadir de çalışmalarında benzer şekilde sigara içenlerde lökosit, nötrofil, eozinofil, bazofil, lenfosit ve monositlerde önemli artış bulmuşlardır (72). Buna rağmen hemogram analizinde sadece nötrofil artışı ya da hiçbir değişim bulunmayan yayınlarda mevcuttur (71,73).

Sigara dumanı maruziyetinin plazma lipid profilini bozabileceği daha önce birçok kez gösterilmiştir(74,75,79). Mekanizmanın temelinde kabaca sigara dumanına bağlı reaktif oksijen radikallerin hepatositlerde taşıma sistemlerini bozması, metabolizmadan sorumlu Sitokrom p450 enzimlerini etkilemesi ve periferde gerçekteşen kolesterol ester taşıma proteinini olumsuz etkilemesi gibi sebepler olabilir (74,75). Sunulan çalışmada sigara içen bireylerin total kolesterol, trigliserid ve LDL kolesterol değerleri sigara içmeyen bireylerden daha yüksek, HDL kolesterol seviyesi ise daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar önceki birçok çalışma ile paralellik göstermektedir (6,79).

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışmanın hasta toplama aşamasında COVID-19 pandemisinin etkilerinin devam ediyor olması önümüzdeki en büyük engeldi. Çalışma sırasında sokağa çıkma kısıtlaması dahil bir çok pandemi önlemi çalışma gruplarında istenilen sayılara ulaşılmasını engelledi. Sigara bırakmak için başvuranlar kontrol muayenelerine hastanelerin COVID için bir bulaş alanı olmasından korkarak düzenli olarak katılmadı. Sokağa çıkma kısıtlamalarının uzaması ve getirdiği psikolojik sorunlar sigara bırakma oranını düşürmektedir. Bu sebeple istatistiksel olarak yanılmalara neden olacağı için bırakmayı başaranlar çalışmamıza dahil edilmedi. Ayrıca çalışmayı etkilememesi açısından dahil edilen bireylerde COVID-19'a yakalanma durumu sözlü olarak soruldu. COVID-19 hastalığının bazen belirti vermeden sessiz olarak atlatılıyor olması, aşılama durumuna bağlı hastalığın farklı seyri ve objektif olarak hastalığa yakalanıp yakalanmamayı değerlendirip ortaya koyacak tetkiklerden yararlanamamamız (örneğin; antikor testi) çalışmamızın bir diğer kısıtlamasıydı.

6. SONUÇLAR

Vaka-kontrol tipindeki bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Aile Hekimliği ve Sigara Bırakma Polikliniği'ne 01/02/2021-31/03/2021 tarihleri arasında başvuran bireylerle yürütüldü. Çalışma 35-70 yaş aralığında olan, herhangi bir sistemik hastalığı olmayan, ilaç kullanmayan, sigara içen 65 erkek ve sigara içmeyen sağlıklı 71 erkek ile çalışma yapıldı. Sigara içen bireylerin yaş ortalaması $46,26 \pm 8,72$ yıl, sigara içmeyen sağlıklı bireylerin yaş ortalaması ise $47,38 \pm 9,36$ yıldır. Sigaranın ADMA ve izomerleri ile α -klotho düzeyleri üzerine etkisini araştırdığımız bu çalışmada;

- Yaşa bağlı olarak ADMA, L-NMMA, SDMA plazma değerleri her iki grupta da yükselme eğiliminde bulundu. Bu ürünlerin oluşumunda gerekli olan arjinin aminoasiti ise azalma eğiliminde bulundu.
- Yaşa bağlı olarak klotho serum düzeyleri sigara içen grupta azalma eğiliminde idi. Sigara içmeyen sağlıklı grupta ise yaşa bağlı olarak azalsa da anlamlı fark yoktu.
- Sigara içenlerde plazma ADMA, L-NMMA ve SDMA değerleri yükselme eğiliminde bulundu. Yine bu ürünlerin oluşumunda gerekli olan arjinin aminoasiti düzeyi düşme eğiliminde bulundu.
- Sigara içenlerin serum klotho düzeyleri içmeyenlere göre daha düşük saptandı.

- Hemogram parametreleri incelendiğinde sigara içenlerin hematokrit, MCHC, MPV, WBC, nötrofil ve lenfosit değerleri içmeyenlere göre daha yüksekti.
- Sigara içenlerin LDL, TG değerleri sigara içmeyenlere göre yüksek; HDL değeri ise düşüktü.
- Kreatin değeri sigara içen bireyler ile içmeyen bireyler arasında farklılık göstermedi.
- Fagerström bağımlılık puanına göre düşük düzey bağımlılar ile orta düzey bağımlılar arasında ADMA düzeylerinde anlamlı fark mevcuttu. Ayrıca düşük düzey bağımlılar ile yüksek düzey bağımlılar arasında da ADMA düzeylerinde anlamlı fark mevcuttu.
- Sigara içenlerin Fagerström bağımlılık puanı ile serum ADMA seviyeleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, pozitif yönde yüksek derecede anlamlı bir korelasyon bulundu.
- Sigara içmeyenlerin Framingham risk skoru ile serum ADMA seviyeleri arasındaki korelasyon incelendiğinde, pozitif yönde orta derecede anlamlı bir korelasyon bulundu.
- Sigara içmeyen sağlıklı bireylerde Framingham risk puanına göre düşük risk grubunun SDMA değerleri, yüksek risk grubunun SDMA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark mevcuttu.

7. ÖNERİLER

- Sigara içenlerde serum ADMA, L-NMMA, SDMA düzeylerinin artması ve arjinin amino asitinin azalması sigaranın neden olduğu hastalıkların patogeneğinde ADMA yolağının kritik bir rol oynayabileceğine dair kanıt sunmaktadır.
- ADMA konsantrasyonu yüksek olan bireylere L-arjinin verilmesinin bir paradoks ile NOS enzim aktivitesinde artışa neden olduğunu söyleyen yayınlar mevcuttur. Dışarıdan L-arjinin verilmesinin, endotel fonksiyonunu önemli derecede düzelttiği, ADMA'nın zararlı etkilerinin ters çevrildiği gösterilmiştir (76,81). Sigara içicilerde bu şekilde ateroskleroza karşı önlem alınabilir. Fakat bu öneri konusunda daha büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.
- Klotho proteini halen çok yeni sayılabilecek bir proteindir ve literatür bilgisinin henüz tam olarak açıklayamadığı yerler mevcuttur. Çalışma sayısının artırılması ile bu sorun aşılabılır.

- Sigara içenlerde oluşan çeşitli hastalıkların tedavisinde klotho proteinini artırıcı ve ADMA molekülünü azaltıcı tedaviler denenip pratikte nasıl değişimler gözleneceği incelenebilir. Bu hedef tedavi ile umut verici sonuçlar elde edilirse sigara bağımlısı olan kişilerin performans kaybı azalabilir, yaşam kalitesi artabilir.
- Aile hekimleri olarak bireyi doğumundan ölümüne kadar sürekli takip etmekte olduğumuz için oluşabilecek riskleri öngörebilmekteyiz. Sigaranın etkileri oluşmadan, güçlü kanıtları olan bazı parametrelerle takip edilebilmesi ve bunun rutin haline getirilmesi bireylerin sigara bırakmasına olan motivasyonunu artıracaktır. Sunulan çalışmanın bu konuda literatüre katkı sağlayacağını umuyoruz.

8. KAYNAKLAR

- 1) Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2018). Tütün Kontrolü Strateji Belgesi ve Eylem Planı 2018-2023. Erişim tarihi: 19.08.20 Erişim adresi: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/tutun-mucadele-bagimlilik-db/haberler/tutun_eylem_plani/Tutun_Kontrolu_Strateji_Belgesi_ve_Eylem_Plani.pdf
- 2) Watanabe, M. (2016a). Smoking: additional burden on aging and death (1880-7062). Retrieved from
- 3) Çağlayan, E., & Turan, K. (2014). Klotho geni, yaşlanma ve DNA metilasyonu. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 4(3), 182-192.
- 4) Kuro-o, M., Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., Utsugi, T., . . . Kume, E. (1997). Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *nature*, 390(6655), 45-51.
- 5) Babizhayev, M. A., & Yegorov, Y. E. (2011). Smoking and health: association between telomere length and factors impacting on human disease, quality of life and life span in a large population-based cohort under the effect of smoking duration. *Fundamental & clinical pharmacology*, 25(4), 425-442.
- 6) Puls, M., Schroeter, M. R., Steier, J., Stijohann, L., Hasenfuss, G., Konstantinides, S., & Schäfer, K. (2011). Effect of smoking cessation on the number and adhesive properties of early outgrowth endothelial progenitor cells. *International journal of cardiology*, 152(1), 61-69.
- 7) Li, L., Wang, Y., Gao, W., Yuan, C., Zhang, S., Zhou, H., . . . Yao, X. (2015). Klotho reduction in alveolar macrophages contributes to cigarette smoke extract-induced inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Biological Chemistry*, 290(46), 27890-27900.
- 8) Nakanishi, K., Nishida, M., Harada, M., Ohama, T., Kawada, N., Murakami, M., . . . Yamauchi-Takahara, K. (2015). Klotho-related molecules upregulated by smoking habit in apparently healthy men: a cross-sectional study. *Scientific reports*, 5(1), 1-9.
- 9) Mainali, P., Pant, S., Rodriguez, A. P., Deshmukh, A., & Mehta, J. L. (2015). Tobacco and cardiovascular health. *Cardiovascular toxicology*, 15(2), 107-116.
- 10) Olejnik, A., Franczak, A., Krzywonos-Zawadzka, A., Kałużna-Oleksy, M., & Bil-Lula, I. (2018). The biological role of klotho protein in the development of cardiovascular diseases. *BioMed research international*, 2018.

- 11) Hu, T., Chouinard, M., Cox, A. L., Sipes, P., Marcelo, M., Ficorilli, J., . . . Michael, M. D. (2006). Farnesoid X receptor agonist reduces serum asymmetric dimethylarginine levels through hepatic dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 gene regulation. *Journal of Biological Chemistry*, 281(52), 39831-39838.
- 12) Datta, D., Kumar, S. R., Narayanan, M. A., Selvamary, A. L., & Sujatha, A. (2018). Emerging market of tobacco. *International Journal of Community Medicine and Public Health*, 5(6), 2161.
- 13) Proctor, R. N. (2012). The history of the discovery of the cigarette–lung cancer link: evidentiary traditions, corporate denial, global toll. *Tobacco control*, 21(2), 87-91.
- 14) Puri, P., Nandar, S. K., Kathuria, S., & Ramesh, V. (2017). Effects of air pollution on the skin: A review. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 83(4), 415-423. doi:10.4103/0378-6323.199579
- 15) Imura, A., Iwano, A., Tohyama, O., Tsuji, Y., Nozaki, K., Hashimoto, N., . . . Nabeshima, Y.-I. (2004). Secreted Klotho protein in sera and CSF: implication for post-translational cleavage in release of Klotho protein from cell membrane. *FEBS Lett*, 565(1-3), 143-147.
- 16) Lam-Rachlin, J., Romero, R., Korzeniewski, S. J., Schwartz, A. G., Chaemsaitong, P., Hernandez-Andrade, E., . . . Chaiworapongsa, T. (2013). Infection and smoking are associated with decreased plasma concentration of the anti-aging protein, α -klotho. *Journal of perinatal medicine*, 41(5), 581-594.
- 17) Sibal, L., C Agarwal, S., D Home, P., & H Boger, R. (2010). The role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Current cardiology reviews*, 6(2), 82-90.
- 18) Tousoulis, D., K Georgakis, M., Oikonomou, E., Papageorgiou, N., Zaromitidou, M., Latsios, G., . . . Siasos, G. (2015). Asymmetric dimethylarginine: clinical significance and novel therapeutic approaches. *Current medicinal chemistry*, 22(24), 2871-2901.
- 19) Wikipedia contributors. (2021, August 27). Klotho. In Wikipedia, The Free Encyclopedia. Retrieved 11:39, December 29, 2021, from <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Klotho&oldid=1040987541>
- 20) Dixon-Kennedy, M. (1998). *Encyclopedia of Greco-Roman Mythology: ABC-CLIO*.
- 21) Ohyama, Y., Kurabayashi, M., Masuda, H., Nakamura, T., Aihara, Y., Kaname, T., . . . Matsumura, Y. (1998). Molecular cloning of Ratklotho cDNA: markedly decreased expression of klotho by acute inflammatory stress. *Biochemical and biophysical research communications*, 251(3), 920-925.
- 22) Masuda, H., Chikuda, H., Suga, T., Kawaguchi, H., & Kuro-o, M. (2005). Regulation of multiple ageing-like phenotypes by inducible klotho gene expression in klotho mutant mice. *Mechanisms of ageing and development*, 126(12), 1274-1283.
- 23) Tohyama, O., Imura, A., Iwano, A., Freund, J.-N., Henrissat, B., Fujimori, T., & Nabeshima, Y.-i. (2004). Klotho is a novel β -glucuronidase capable of hydrolyzing steroid β -glucuronides. *Journal of Biological Chemistry*, 279(11), 9777-9784.
- 24) Li, S.-A., Watanabe, M., Yamada, H., Nagai, A., Kinuta, M., & Takei, K. (2004). Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain, kidney, and reproductive organs of mice. *Cell structure and function*, 29(4), 91-99.
- 25) Kurosu, H., Yamamoto, M., Clark, J. D., Pastor, J. V., Nandi, A., Gurnani, P., . . . Kuro-o, M. (2005). Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. *Science*, 309(5742), 1829-1833. doi:10.1126/science.1112766
- 26) Saito, Y., Yamagishi, T., Nakamura, T., Ohyama, Y., Aizawa, H., Suga, T., . . . Nagai, R. (1998). Klotho protein protects against endothelial dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun*, 248(2), 324-329. doi:10.1006/bbrc.1998.8943

- 27) Zhu, L., Stein, L. R., Kim, D., Ho, K., Yu, G. Q., Zhan, L., . . . Mucke, L. (2018). Klotho controls the brain-immune system interface in the choroid plexus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115(48), E11388-e11396. doi:10.1073/pnas.1808609115
- 28) Xu, Y., & Sun, Z. (2015). Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging. *Endocr Rev*, 36(2), 174-193. doi:10.1210/er.2013-1079
- 29) Matsumura, Y., Aizawa, H., Shiraki-Iida, T., Nagai, R., Kuro-o, M., & Nabeshima, Y.-i. (1998). Identification of the humanklothogene and its two transcripts encoding membrane and secretedklothoprotein. *Biochemical and biophysical research communications*, 242(3), 626-630.
- 30) Shiraki-Iida, T., Aizawa, H., Matsumura, Y., Sekine, S., Iida, A., Anazawa, H., . . . Nabeshima, Y. (1998). Structure of the mouse klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted protein. *FEBS Lett*, 424(1-2), 6-10. doi:10.1016/s0014-5793(98)00127-6
- 31) Saito, Y., Nakamura, T., Ohyama, Y., Suzuki, T., Iida, A., Shiraki-Iida, T., . . . Nagai, R. (2000). In vivo klotho gene delivery protects against endothelial dysfunction in multiple risk factor syndrome. *Biochemical and biophysical research communications*, 276(2), 767-772.
- 32) Brunet, A., Bonni, A., Zigmond, M. J., Lin, M. Z., Juo, P., Hu, L. S., . . . Greenberg, M. E. (1999). Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell*, 96(6), 857-868. doi:10.1016/s0092-8674(00)80595-4
- 33) Tatar, M., Bartke, A., & Antebi, A. (2003). The endocrine regulation of aging by insulin-like signals. *Science*, 299(5611), 1346-1351. doi:10.1126/science.1081447
- 34) GJ, K. (2002). Dansen TB. Polderman PE. Saarloos I. Wirtz KW. Coffey PJ. Huang TT. Bos JL. Medema RH. Burgering BM. Forkhead transcription factor FOXO3a protects quiescent cells from oxidative stress. *nature*, 419, 316-321.
- 35) Schoorlemmer, J., & Goldfarb, M. (2001). Fibroblast growth factor homologous factors are intracellular signaling proteins. *Curr Biol*, 11(10), 793-797. doi:10.1016/s0960-9822(01)00232-9
- 36) Nabeshima, Y. (2006). Toward a better understanding of Klotho. *Sci Aging Knowledge Environ*, 2006(8), pe11. doi:10.1126/sageke.2006.8.pe11
- 37) Mittermayer, F., Pleiner, J., Krzyzanowska, K., Wiesinger, G. F., Francesconi, M., & Wolzt, M. (2005). Regular physical exercise normalizes elevated asymmetrical dimethylarginine concentrations in patients with type 1 diabetes mellitus. *Wiener klinische Wochenschrift*, 117(23), 816-820.
- 38) Polanska, U. M., Edwards, E., Fernig, D. G., & Kinnunen, T. K. (2011). The cooperation of FGF receptor and Klotho is involved in excretory canal development and regulation of metabolic homeostasis in *Caenorhabditis elegans*. *J Biol Chem*, 286(7), 5657-5666. doi:10.1074/jbc.M110.173039
- 39) Chang, Q., Hoefs, S., van der Kemp, A. W., Topala, C. N., Bindels, R. J., & Hoenderop, J. G. (2005). The beta-glucuronidase klotho hydrolyzes and activates the TRPV5 channel. *Science*, 310(5747), 490-493. doi:10.1126/science.1114245
- 40) Palmer, R. M., Ferrige, A. G., & Moncada, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *nature*, 327(6122), 524-526. doi:10.1038/327524a0
- 41) Ikushima, M., Rakugi, H., Ishikawa, K., Maekawa, Y., Yamamoto, K., Ohta, J., . . . Ogihara, T. (2006). Anti-apoptotic and anti-senescence effects of Klotho on vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 339(3), 827-832. doi:10.1016/j.bbrc.2005.11.094

- 42) Manya, H., Inomata, M., Fujimori, T., Dohmae, N., Sato, Y., Takio, K., . . . Endo, T. (2002). Klotho protein deficiency leads to overactivation of μ -calpain. *Journal of Biological Chemistry*, 277(38), 35503-35508.
- 43) Miyauchi, H., Minamino, T., Tateno, K., Kunieda, T., Toko, H., & Komuro, I. (2004). Akt negatively regulates the in vitro lifespan of human endothelial cells via a p53/p21-dependent pathway. *The EMBO journal*, 23(1), 212-220.
- 44) Valkonen, V.-P., & Laaksonen, R. (2004). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 348(1-2), 9-17.
- 45) Unlu, A., Onmaz, D. E., Abusoglu, S., & Abusoglu, G. (2021). HPLC and LC-MS/MS measurement methods for the quantification of asymmetric dimethylarginine (ADMA) and related metabolites. *Turkish Journal of Biochemistry*, 46(4), 327-347. doi:doi:10.1515/tjb-2020-0150
- 46) Tarnow, L., Hovind, P., Teerlink, T., Stehouwer, C. D., & Parving, H.-H. (2004). Elevated plasma asymmetric dimethylarginine as a marker of cardiovascular morbidity in early diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes care*, 27(3), 765-769.
- 47) Landim, M. B. P., Casella Filho, A., & Chagas, A. C. P. (2009). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis. *Clinics*, 64, 471-478.
- 48) Arlt, S., Schwedhelm, E., Kölsch, H., Jahn, H., Linnebank, M., Smulders, Y., . . . Popp, J. (2012). Dimethylarginines, homocysteine metabolism, and cerebrospinal fluid markers for Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 31(4), 751-758.
- 49) Öntaş E, Aslan D. (2019). Küresel Yetişkin Tütün Araştırması Türkiye 2016 - HÜTF Halk Sağlığı AD Toplum İçin Bilgilendirme Serisi-(2018/2019-63)
- 50) Verma, M., Kathirvel, S., Das, M., Aggarwal, R., & Goel, S. (2020). Trends and patterns of second-hand smoke exposure amongst the non-smokers in India-A secondary data analysis from the Global Adult Tobacco Survey (GATS) I & II. *PloS one*, 15(6), e0233861. doi:10.1371/journal.pone.0233861
- 51) Aksakoğlu G (2001). Sağlıkta Araştırma Teknikleri ve Analiz Yöntemleri. Dokuz Eylül Üniversitesi Rektörlük Matbaası, İzmir. Bloor G, Dawson P (1994). Understanding professional culture in organizational context. *Organization Studies* 15 (2): 275-287.
- 52) Heatherton, T. F., Kozlowski, L. T., Frecker, R. C., & Fagerstrom, K. O. (1991). The Fagerström test for nicotine dependence: a revision of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire. *British journal of addiction*, 86(9), 1119-1127.
- 53) Onmaz, D. E., Isik, K., Sivrikaya, A., Abusoglu, S., Gezer İ, A., Abusoglu, G., . . . Unlu, A. (2021). Determination of serum methylarginine levels by tandem mass spectrometric method in patients with ankylosing spondylitis. *Amino Acids*, 53(9), 1329-1338. doi:10.1007/s00726-021-03046-z
- 54) Uysal, M. A., Kadakal, F., Karşıdağ, C., Bayram, N. G., Uysal, O., & Yilmaz, V. (2004). Fagerstrom test for nicotine dependence: reliability in a Turkish sample and factor analysis. *Tuberk Toraks*, 52(2), 115-121.
- 55) D'Agostino Sr, R. B., Vasan, R. S., Pencina, M. J., Wolf, P. A., Cobain, M., Massaro, J. M., & Kannel, W. B. (2008). General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*, 117(6), 743-753.
- 56) Patel, M., Donaldson, A., Lewis, A., Natanek, S., Lee, J., Andersson, Y., . . . Foley, J. (2016). Klotho and smoking—an interplay influencing the skeletal muscle function deficits that occur in COPD. *Respiratory medicine*, 113, 50-56.
- 57) Krick, S., Grabner, A., Baumlin, N., Yanucil, C., Helton, S., Grosche, A., . . . Salathe, M. (2018). Fibroblast growth factor 23 and Klotho contribute to airway inflammation. *Eur Respir J*, 52(1). doi:10.1183/13993003.00236-2018

- 58) Kamizono, Y., Shiga, Y., Suematsu, Y., Imaizumi, S., Tsukahara, H., Noda, K., . . . Miura, S. I. (2018). Impact of cigarette smoking cessation on plasma α -klotho levels. *Medicine (Baltimore)*, 97(35), e11947. doi:10.1097/md.00000000000011947
- 59) Semba, R. D., Cappola, A. R., Sun, K., Bandinelli, S., Dalal, M., Crasto, C., . . . Ferrucci, L. (2011). Plasma klotho and cardiovascular disease in adults. *J Am Geriatr Soc*, 59(9), 1596-1601. doi:10.1111/j.1532-5415.2011.03558.x
- 60) Schiel, R., Franke, S., Busch, M., Müller, A., Fleck, C., Müller, U., . . . Stein, G. (2003). Effect of smoking on risk factors for cardiovascular disease in patients with diabetes mellitus and renal insufficiency. *European journal of medical research*, 8(7), 283-291.
- 61) Gardiner, S., Kemp, P., Bennett, T., Palmer, R., & Moncada, S. (1993). Regional and cardiac haemodynamic effects of NG, NG, dimethyl-l-arginine and their reversibility by vasodilators in conscious rats. *British journal of pharmacology*, 110(4), 1457-1464.
- 62) Eid, H. M., Arnesen, H., Hjerkin, E. M., Lyberg, T., & Seljeflot, I. (2004). Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. *Metabolism*, 53(12), 1574-1579.
- 63) Campesi, I., Carru, C., Zinellu, A., Occhioni, S., Sanna, M., Palermo, M., . . . Franconi, F. (2013). Regular cigarette smoking influences the transsulfuration pathway, endothelial function, and inflammation biomarkers in a sex-gender specific manner in healthy young humans. *American journal of translational research*, 5(5), 497.
- 64) Sobczak, A., Goniewicz, M. L., & Szoltysek-Boldys, I. (2009). ADMA and SDMA levels in healthy men exposed to tobacco smoke. *Atherosclerosis*, 205(2), 357.
- 65) Zhu, Z. D., Ye, J. M., Fu, X. M., Wang, X. C., Ye, J. Y., Wu, X. R., . . . Duan, J. L. (2019). DDAH2 alleviates myocardial fibrosis in diabetic cardiomyopathy through activation of the DDAH/ADMA/NOS/NO pathway in rats. *International journal of molecular medicine*, 43(2), 749-760.
- 66) Choi, H. R., Lee, S. W., Jeon, D. H., Hur, N. W., Youm, Y., & Kim, H. C. (2019). Association between estimated glomerular filtration rate (eGFR) and asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentrations among the elderly in a rural community: a cross-sectional study. *BMC Geriatr*, 19(1), 370. doi:10.1186/s12877-019-1388-4
- 67) Li, G., Wang, H., Wang, K., Wang, W., Dong, F., Qian, Y., . . . Shan, G. (2017). The association between smoking and blood pressure in men: a cross-sectional study. *BMC Public Health*, 17(1), 797. doi:10.1186/s12889-017-4802-x
- 68) Berglund, G., & Wilhelmsen, L. (1975). Factors related to blood pressure in a general population sample of Swedish men. *Acta medica scandinavica*, 198(1-6), 291-298.
- 69) Piirtola, M., Jelenkovic, A., Latvala, A., Sund, R., Honda, C., Inui, F., . . . Ordonana, J. R. (2018). Association of current and former smoking with body mass index: A study of smoking discordant twin pairs from 21 twin cohorts. *PloS one*, 13(7), e0200140.
- 70) İnal, B., Hacibekiroglu, T., Cavus, B., Musaoglu, Z., Demir, H., & Karadag, B. (2014). Effects of smoking on healthy young men's hematologic parameters. *Northern clinics of Istanbul*, 1(1), 19.
- 71) Malenica, M., Prnjavorac, B., Bego, T., Dujic, T., Semiz, S., Skrbo, S., . . . Causevic, A. (2017). Effect of cigarette smoking on haematological parameters in healthy population. *Medical Archives*, 71(2), 132.
- 72) Aula, F. A., & Qadir, F. A. (2013). Effects of cigarette smoking on some immunological and hematological parameters in male smokers in Erbil city. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 147(624), 1-8.
- 73) Higuchi, T., Omata, F., Tsuchihashi, K., Higashioka, K., Koyamada, R., & Okada, S. (2016). Current cigarette smoking is a reversible cause of elevated white blood cell count: Cross-sectional and longitudinal studies. *Preventive medicine reports*, 4, 417-422.

- 74) Zong, C., Song, G., Yao, S., Guo, S., Yu, Y., Yang, N., . . . Qin, S. (2015). Cigarette smoke exposure impairs reverse cholesterol transport which can be minimized by treatment of hydrogen-saturated saline. *Lipids in health and disease*, 14(1), 1-10.
- 75) Kario, K., Matsuo, T., & Nakao, K. (1992). Cigarette smoking increases the mean platelet volume in elderly patients with risk factors for atherosclerosis. *Clinical & Laboratory Haematology*, 14(4), 281-287.
- 76) Alavi, S. S., Joukar, S., Rostamzadeh, F., Najafipour, H., Darvishzadeh-Mahani, F., & Mortezaeizade, A. (2021). Involvement of Sirtuins and Klotho in Cardioprotective Effects of Exercise Training Against Waterpipe Tobacco Smoking-Induced Heart Dysfunction. *Frontiers in Physiology*, 894.
- 77) Fagerstrom, K. O. (1990). Nicotine addiction and its assessment. *Ear Nose Throat J.*, 69(11), 763-765.
- 78) Sikorski, J. A. (2006). Oral cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibitors: a potential new approach
- 79) Herath, P., Wimalasekera, S., Amarasekara, T., Fernando, M., & Turale, S. (2021). Effect of cigarette smoking on smoking biomarkers, blood pressure and blood lipid levels among Sri Lankan male smokers. *Postgrad Med J.* doi:10.1136/postgradmedj-2021-141016
- 80) Li, Y., Swensen, S. J., Karabekmez, L. G., Marks, R. S., Stoddard, S. M., Jiang, R., . . . De Andrade, M. (2011). Effect of emphysema on lung cancer risk in smokers: a computed tomography-based assessment. *Cancer prevention research*, 4(1), 43-50.
- 81) Scalera, F., Borlak, J. r., Beckmann, B., Martens-Lobenhoffer, J., Thum, T., Täger, M., & Bode-Böger, S. M. (2004). Endogenous nitric oxide synthesis inhibitor asymmetric dimethyl L-arginine accelerates endothelial cell senescence. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 24(10), 1816-1822.
- 82) Kuro-o, M. (2011). Klotho and the aging process. *The Korean journal of internal medicine*, 26(2), 113.
- 83) Dikalov, S., Itani, H., Richmond, B., Vergeade, A., Rahman, S. M. J., Boutaud, O., . . . Dikalova, A. (2019). Tobacco smoking induces cardiovascular mitochondrial oxidative stress, promotes endothelial dysfunction, and enhances hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 316(3), H639-h646. doi:10.1152/ajpheart.00595.2018

Ek-2: SOSYODEMOGRAFİK BİLGİ FORMU, FAGERSTRÖM NİKOTİN BAĞIMLILIK TESTİ, FRAMİNGHAM RİSK SKORU, PARAMETRELER

Değerli katılımcı; Aşağıda size yöneltilen sorular “Sigaranın Serum ADMA, L-NMMA, SNMA, Arjinin Ve α -Klotho Düzeyleri Üzerine Etkisi: Vaka Kontrol Çalışması” adlı konunun araştırılmasını amaçlayan bir çalışmaya veri sağlamak amacı ile oluşturulmuştur. Tüm bilgileriniz saklı tutulacaktır. Katılımınız ve desteğiniz için teşekkür ederiz.

1-) Yaş (Doldurduğunuz yaşı yıl olarak belirtiniz):

2-) Medeni durum: Evli Bekar/Dul

3-) Eğitim düzeyi: Ortaokul ve altı Lise Üniversite

4-) Meslek: Çalışıyor Çalışmıyor

5-) Tanı konulmuş herhangi bir hastalığınız var mı? : Evet : Hayır

6-) Sürekli kullandığınız bir ilaç var mı? : Evet Hayır

7-) Sigara içiyor musunuz? Evet Hayır

8-) Kaç yıldır sigara içiyorsunuz? : Kaç paket sigara içiyorsunuz? :

9-) COVID-19 geçirdiniz mi? Evet Hayır

Fagerström Nikotin bağımlılık Testi:

1. Günün ilk sigarasını sabah uyandıktan ne kadar sonra içersiniz?

- a. İlk 5 dakika içinde (3 puan) b. 6-30 dakika içinde (2 puan)
c. 31-60 dakika içinde (1 puan) d. 1 saatten sonra (0 puan)

2. Sigara içmenin yasak olduğu yerlerde sigara içmemek sizi zorlar mı?

- a. Evet (1 puan) b. Hayır (0 puan)

3. Günün hangi sigarasından vazgeçmek sizin için daha zordur?

a. Sabah ilk içilen sigara (1 puan) b. Diğer zamanlarda içilen sigaralar (0 puan)

4. Günde kaç adet sigara içiyorsunuz?

a. 31 ve daha fazla (3 puan) b. 21-30 adet (2 puan)
c. 11-20 adet (1 puan) d. 10 ve daha az (0 puan)

5. Sabahları günün diğer zamanlarına göre daha fazla sigara içiyor musunuz?

a. Evet (1 puan) b. Hayır (0 puan)

6. Yatmanızı gerektirecek kadar hasta olduğunuz zamanlarda da sigara içer misiniz?

a. Evet (1 puan) b. Hayır (0 puan)

10-) Parametreler:

Boy (cm):	
Kilo (kg):	
Vki (kg/m ²):	
Sistolik/Diastolik Kan Basıncı (mmHg):	
Hemoglobin (g/ dL) :	
Hematokrit (%) :	
MPV (fL) :	MCH (pg) :
MCV (fL):	MCHC (g / dL):

WBC (k/μL)	
NEU (k/μL) :	
LYM (k/μL) :	
PLT (k/μL) :	
Total Kolesterol (mg/dL):	
Trigliserid (mg/dL):	
LDL-k (mg/dL):	
HDL-k (mg/dL):	
Kreatin (mg/dL):	
ADMA (μmol/L):	
SDMA(μmol/L):	
L-NMMA(μmol/L):	
Arjinin (μmol/L):	
α-Klotho (pg/mL) :	

Framingham Risk Skoru :

**KATILIMINIZ İÇİN
TEŞEKKÜR EDERİZ.**