

T.C.
UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Dr. RIDVAN EGE HASTANESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
ANKARA



KORONER KALP HASTALIĞI TANI VE TAKİBİNDE
SERUM Lp-PLA₂ ÖLÇÜMÜNÜN YERİ

Klinik Biyokimya Uzmanlık Tezi

Dr. Tannur ÜNAL

Ankara 2010

TEŞEKKÜR

Biyokimya ihtisasım süresince beni destekleyen, tezimin hazırlanmasında eşsiz bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Levent KARACA'ya, Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Konçuy MERGEN ve değerli hocam Sayın Prof. Dr. Selda DEMİRTAŐ'a, saygı ve Őükranlarımı sunarım.

Tezimin metod aşamasında maddi destek sağlayan Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. CoŐkun İKİZLER ve Sayın Fatih DEMİRTAŐ'a, tezime katkılarından dolayı Kardiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Yrd. Doç. Dr. Ebru Akgül ERCAN'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Aycan Fahri ERKAN'a, Biyokimya Anabilim Dalımızın çok değerli personeline ve asistan arkadaşşıma teşekkürlerimi sunarım.

Varlıklarıyla bana güç veren sevgili anne ve babama, anlayışlarından dolayı kardeşlerime çok teşekkür ederim.

Dr. Tannur ÜNAL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	v
TÜRKÇE ÖZET	vii
İNGİLİZCE ÖZET	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ateroskleroz Tanımı ve Önemi	3
2.2. Aterosklerozda Endotel Disfonksiyonu	4
2.3. Aterosklerozda LDL Oksidasyonu.....	6
2.4. Ateroskleroz ve İnflamasyon	7
2.5. Ateroskleroz ve İmmunite.....	9
2.6. Aterosklerozda Plak Rüptürü	10
2.7. Lp-PLA ₂ Enziminin Tanımı ve Aterosklerozdaki Önemi	11
2.8. Lp-PLA ₂ 'nin Endotel Disfonksiyonu ve Plak İnflamasyonu Gelişimindeki Rolü	15
2.9. Lp-PLA ₂ Enziminin Yapısı	16
2.10. Lp-PLA ₂ 'nin Transkripsiyonel Düzenlenmesi.....	18
2.11. Lp-PLA ₂ Analiz Yöntemleri	20
3. MATERYAL VE METOD	21
3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri	21
3.2. Kan Örneklerinin Toplanması ve Hazırlanması.....	22
3.3. Kullanılan Laboratuvar Aletleri	22
3.4. Lp-PLA ₂ Ölçüm Yöntemi	22
3.4.1. Kullanılan kimyasallar	23
3.4.2. İşlem	23
3.5. Diğer Biyokimyasal Testler	24
3.6. Gensini Skor Hesaplanması	24
3.7. İstatistiksel Analizler.....	25

4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ.....	45
7. KAYNAKÇA.....	46
8. EKLER.....	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
AKŞ	: Açlık kan şekeri
ALT	: Alanin aminotransferaz
Apo	: Apoprotein
ARIC	: Atherosclerosis risk in communities
AS	: Ateroskleroz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BKİ	: Beden kitle indeksi
BUN	: Kan üre azotu
CABG	: Coronary artery bypass graft
CRP	: C reaktif protein
dl	: Desilitre
FFA	: Serbest yağ asidi
G-CSF	: Granülosit koloni stimülan faktör
GF	: Büyüme faktörü
GGT	: Gamma glutamil transferaz
GM-CSF	: Granülosit-makrofaj koloni stimülan faktör
gp	: Glikoprotein
Hb	: Hemogloblin
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
ICAM	: Hücre içi adezyon molekülü
IL	: İnterlökin
kg	: Kilogram
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
Lp(a)	: Lipoprotein a
Lp-PLA₂	: Lipoprotein-associated phospholipase A ₂
LT	: Lökotrien
LysoPC	: Lizofosfotidilkolin
m²	: Metrekare
MCP-1	: Monosit kemotaktik protein

M-CSF	: Makrofaj koloni stimulan faktör
MI	: Miyokard infaktüsü
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MM-LDL	: Minimal modifiye LDL
NCEP ATP-III	: National cholesterol education program adult treatment panel
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit
OxLDL	: Okside LDL
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PAI-1	: Plazminojen aktivator inhibitörü-1
PDAF	: Trombosit kaynaklı aktive edici faktör
PG	: Prostaglandin
PPAR-γ	: Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör
PTCA	: Percutan transluminal coroner anjioplasti
sPLA₂	: Sekretuar fosfolipaz A ₂
SR-A	: Scavenger reseptör-A
TF	: Doku faktörü
TG	: Trigliserit
TGF	: Tümör büyüme faktörü
TLR	: Toll like reseptör
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör
TX	: Tromboksan
ÜA	: Ürik asit
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
%CV	: Varyasyon katsayısı

ÖZET

Koroner Kalp Hastalığı Tanı ve Takibinde Serum Lp-PLA₂ Ölçümünün Yeri

Koroner arter hastalığının (KAH) sebep olduğu ölümler dünyada her geçen gün artmaktadır. Miyokard infarktüsü (MI) ve inme geçiren hastalarda ciddi sakatlıkların kaldığı ve bunun önüne geçmek için tedavi edici ve önleyici tedbirlerin geliştirildiği, yapılan birçok araştırmada görülmektedir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, kardiyovasküler hastalık ve inme gelişimi için Lipoproteine bağlı Fosfolipaz-A₂'nin (Lipoprotein-associated phospholipase A₂: Lp-PLA₂) bağımsız bir belirteç olduğunu, hassas plakta gelişen rüptür ile birlikte kanda düzeylerinin yükseldiğini göstermektedir.

Bu çalışma, gelişebilecek aterosklerotik olay için erken dönemde habercil olabilecek bu belirteç ile KAH ilişkisini araştırmak üzere planlanmıştır. Diyabet hastalığı olmadığı bilinen ve anjiyografik inceleme sonucu minimal koroner arter hastalığı saptanan 40 hasta, hasta grubu ve koroner arterleri normal olan 30 hasta, kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

Rutin tetkik amaçlı alınan kanlardan artan serum örneklerinde Lp-PLA₂ kütle düzeyi, Turbidimetric Immuno Assay yöntemi ile ölçüldü.

Lp-PLA₂ kütle düzeyi, koroner arterde lezyonun yerleşim yerine ve stenoz derecesine göre hesaplanan Gensini skor ile karşılaştırıldığında, hasta ve kontrol grubu arasında Lp-PLA₂ düzeyleri bakımından anlamlı bir ilişki bulunmadı ancak, hasta grubunda LDL-kolesterol ve Total-kolesterol düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu. Cinsiyet, aile öyküsü, hipertansiyon, beden kitle indeksi (BKİ), HDL-kolesterol ile Lp-PLA₂ kütle düzeyi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. LDL-kolesterol 130 mg/dl'nin üzerinde bulunan hastalarda ve sigara kullananlarda, Lp-PLA₂ ile pozitif ilişki bulundu. Lp-PLA₂ ile yaş ve GGT negatif ilişkili bulunurken, glukoz ile pozitif ilişkili bulundu. Lp-PLA₂ ≤200 ng/ml ile minör risk grubundaki bireyler (Gensini

skor <20) arasında anlamlı olarak pozitif ilişki bulundu.

Bu bulgular birçok literatürde, artan KAH riski ile Lp-PLA₂'yi bağımsız olarak ilişkilendirse de, Gensini skor ile Lp-PLA₂ düzeyleri arasında bulunan anlamsız sonuca benzer çalışmalar, Lp-PLA₂'nin kısa dönemde gelişen aterosklerotik olaydan ziyade uzun dönemde gelişmeye başlamış lezyonun bir göstergesi olabileceğini veya gelişmiş plağın rüptürü ve sonucunda oluşan distal mikroembolizasyon için bir ön haberci özelliği taşıyabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

SUMMARY

The Importance of serum Lp-PLA₂ levels in diagnosis and follow-up of Coronary Heart Disease

Coronary Artery Disease (CAD) caused deaths are increasing worldwide. MI and stroke are also associated with serious morbidities, that is why, various prophylactic and therapeutic methods have been developed.

Some recent studies indicate that serum Lp-PLA₂ mass level is an independent marker of CAD and stroke. It has been shown that, serum Lp-PLA₂ levels increase in patients who have angiographically reported vulnerable plaques.

The aim of this study is to investigate the relationship between Lp-PLA₂, an early marker of possible atherosclerotic events, and CAD. This study is comprised of 70 individuals, 40 of which are in the patient group, that are known to be non-diabetic and angiographically diagnosed minimal coronary artery disease. Thirty individuals are in the control group that have angiographically documented normal coronary arteries. The serum Lp-PLA₂ mass levels are measured by Turbidimetric Immuno Assay method from the serum samples.

Gensini score, that is measured according to the localization and severity of stenosis, and serum Lp-PLA₂ mass levels were statistically analyzed. Between the patient and control groups, serum Lp-PLA₂ mass levels were not different. On the other hand, in patient group serum LDL and total cholesterol levels were significantly higher. Lp-PLA₂ levels were not correlated with sex, family history of CAD, hypertension, body mass index (BMI), HDL cholesterol. In patients that smoke and serum LDL cholesterol levels were greater than 130 mg/dl, serum Lp-PLA₂ mass level was significantly higher. Serum Lp-PLA₂ levels were negatively associated with age and GGT, but there is positive relationship between serum Lp-PLA₂ and serum glucose levels. There was a positive correlation between Gensini score and Lp-PLA₂ only

when the Gensini score was less than 20 and Lp-PLA₂ was less than 200 ng/ml.

Although these findings suggest independent relationship between serum Lp-PLA₂ and CAD risk as in most literature, there are studies, similar to our study that finds insignificant relationship between Gensini Score and serum Lp-PLA₂ levels. Furthermore, it is thought that serum Lp-PLA₂ could be an indicator of long term possible atherosclerotic events rather than short term or could be an early indicator of a plaque rupture and leading acute distal microembolism.

The positive correlation between Lp-PLA₂ and Gensini score only in patients with a Gensini score less than 20 suggests that Lp-PLA₂ may play a role only in the initiation and very early stages of atherosclerosis. This finding needs to be verified in large scale studies.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Koroner arter hastalığı günümüzde, kadın ve erkeklerde görülen ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. KAH özellikle 1970’li yıllardan sonra sigara kullanımına ve kolesterol düzeylerindeki yükselmelere bağlı olarak hergün artış göstermektedir. Toplumda obezitenin yaygınlaşması ve Metabolik Sendrom sıklığının artması, KAH’nın yaygınlığındaki gerilemeyi daha da yavaşlatmaktadır (1).

Ateroskleroz sistemik bir hastalıktır. Apoptoz, inflamasyon, endotel disfonksiyonu, ekstraselüler matrikste oluşan bozukluklar ve oksidatif stres ile beraber dislipidemi, hipertansiyon, sigara kullanımı, santral obezite gibi majör kardiyovasküler risk faktörlerinin bulunması, endotelde aterosklerotik plak formasyonunu geliştirmektedir. Son dekadlarda görülen tromboembolik olaylarla birlikte zayıf aterosklerotik plak varlığı ilerleyerek rüptürle sonuçlanmaktadır (2).

Aterosklerotik hastalıklarda lipidlerin etkisi, inflamasyon kaynakları ve hastalığın gelişme süreci, yeni tedavi önerileri geliştirmek için devamlı araştırma konusu olmaktadır.

Yapılan çalışmalarda kardiyovasküler hastalıklarda Lp-PLA₂’nin, lezyonun erken evresinde okside LDL (oxLDL) ile güçlü ilişkide olduğu, klinik semptom veren hassas plaktaki rüptür ile birlikte kanda düzeylerinin yükseldiği (3) ve bu belirtecin kardiyovasküler hastalıklarda risk tahmini için kullanılabileceği öne sürülmüştür (4).

Lp-PLA₂’nin aterosklerozun gelişiminde ve gelişmiş aterosklerotik plağın rüptüründe önemli neden ve sonuç göstergesi olduğuna ilişkin araştırma verileri büyük ilgi çekmektedir. Plazma Lp-PLA₂ ölçümleri ile ileri sürüldüğü şekliyle bu bağımsız risk faktörü ve tromboz belirtecini laboratuvarımız koşullarında, koroner anjiyografik sonuçlar ile birlikte irdelemek çalışmamızın amacını oluşturmuştur.

Özellikle erkeklerde revaskularizasyon ve miyokard infarktüsü sonrası ölüm riski için, Lp-PLA₂'nin bağımsız bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir. Lp-PLA₂ monosit, makrofaj, T hücreleri ve mast hücrelerinden salgılanmaktadır. Plazmada lipoproteinlerin üzerinde bulunup, onlarla birlikte sistemik dolaşımda taşınmaktadır (5,3). Ayrıca Lp-PLA₂ inhibitörlerinin enzimin aktivitesini plazmada ve aterosklerotik plakta bloklayıp, aterogeneze önemli bir azalma sağladığı gösterilmiştir (6).

Lp-PLA₂, KAH riskini azaltmada tedavi hedefleri için yol gösterici olabileceğinden, Lp-PLA₂ kütle düzeyi ile diğer biyokimya parametrelerine bakarak, Gensini skor düzeyine göre istatistiksel karşılaştırmaların yapılmasına ve gelecekteki koroner arter hastalığı risk tahmininde bu belirtecin öneminin belirlenmesine karar verilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ateroskleroz Tanımı ve Önemi

Ateroskleroz (AS) büyük, orta ve küçük musküler arterleri tutan, intimal damar duvarında lipid, kolesterol, Ca^{2+} ve hücre kalıntılarının mevcut olduğu, endotel disfonksiyonu ve vasküler inflamasyon ile seyreden bir hastalıktır (7). Koroner arter hastalığı ve ateroskleroz gelişimi için bilinen risk faktörleri 2001 yılında “National Cholesterol Education Program (NCEP)” tarafından yayınlanmıştır. Yapılan çeşitli çalışmalarda bu risk faktörlerine, yeni bulunan bazı faktörlerde eklenmiştir. Bu yeni risk faktörleri; Apolipoprotein B, Apolipoprotein A, trigliserit, trigliseritten zengin lipoprotein kalıntıları ve bozulmuş açlık glukozu olarak belirlenmiştir.

Ateroskleroz için belirlenmiş risk faktörleri NCEP ATP III'e göre tablo 1'de özetlenmiştir (8).

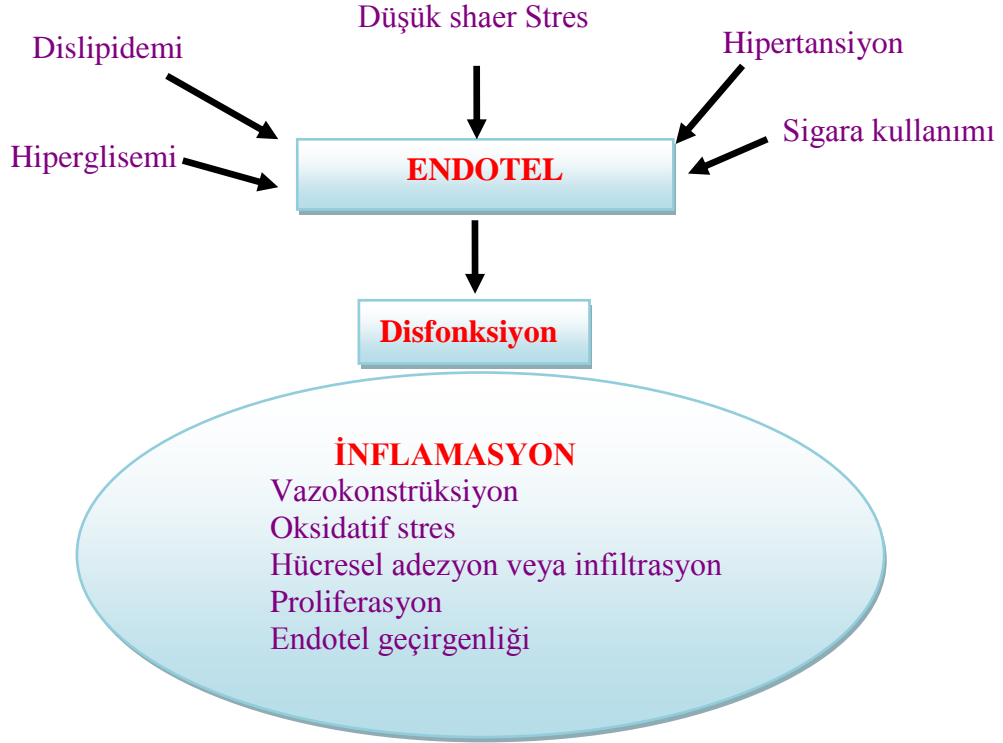
Tablo 1. Ateroskleroz için belirlenmiş risk faktörleri

NCEP ATP III risk faktörleri:
Yaş (Erkek ≥ 45 /yıl, Kadın ≥ 55 /yıl)
Hipertansiyon (kan basıncı $\geq 140/90$ mmHg veya antihipertansif tedavi alan)
Sigara kullanımı
Ailede erken yaşta görülen koroner kalp hastalığı
Serum HDL-kolesterol (HDL < 40 mg/dl)
Serum LDL-kolesterol (LDL ≥ 130 mg/dl)
Diğer risk faktörleri :
Serum lipoprotein (a) ≥ 33 mg/dl
Serum homosistein > 10 μ mol /l
Küçük yoğun LDL partikülleri
Serum VLDL/trigliserit $> 0,3$
Hiperinsulinemi ve insulin direnci
Abdominal obezite
Yüksek serum CRP konsantrasyonu
Yüksek lökosit veya yüksek hematokrit düzeyleri
Antioksidan vitaminlerin eksikliği
Arkus senilis
Klamidya enfeksiyonu
Yüksek plazma fibrinojen, Faktör VII-VIII, plazminojen aktivator inhibitör tip I düzeyleri

* Diabetes Mellitus koroner arter hastalığının risk eşdeğeri olarak değerlendirilmektedir.

Tüm bu faktörler damarlarda plak oluşumuna, şekil değişikliğine, akut veya kronik lüminal tıkanıklığa, kan akımında düzensizliğe ve hedef organa giden oksijen desteğinde azalmaya neden olmaktadır.

Bu oluşumun esas mekanizması şekilde özetlenmiştir (Şekil 1).

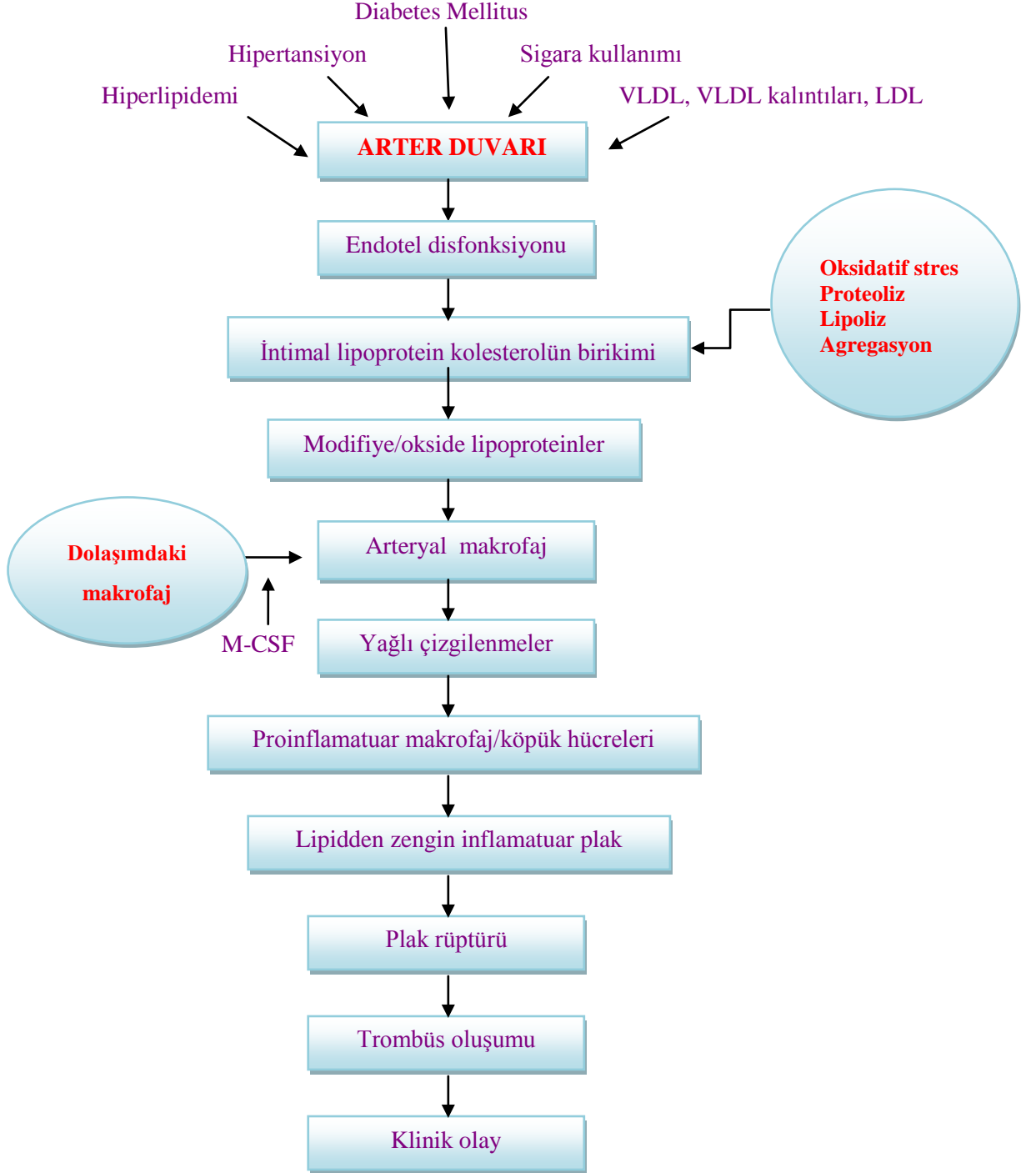


Şekil 1. Endotel disfonksiyonunda risk faktörleri ve arter inflamasyonu.

2.2. Aterosklerozda Endotel Disfonksiyonu

Aterosklerozun başlangıç lezyonu damar endotelinde sarı yağlı çizgilenmelerdir ve bunlar çocukluk çağında oluşmaya başlar. AS gelişiminde ilk basamak endotel disfonksiyonudur ve damar endotelinde gevşetici ve kasıcı faktörlerin dengesinin bozulmasıyla karakterizedir (7). Kişide kardiyovasküler risk faktörlerinin bulunmasıyla birlikte endotel disfonksiyonuna sebep olan hemodinamik faktörlerinde etkisiyle, düzenleyici mekanizmalar harekete geçer. Bu mekanizmalar içinde vazokonstrüksiyon, oksidatif stres, adezyon ve inflamasyon moleküllerinin salınımı yer almaktadır (9).

Endotel disfonksiyonuna neden olan faktörler ve endotel disfonksiyonunun getirdiği sonuçlar özet olarak şekilde gösterilmiştir (şekil 2).



Şekil 2. Aterosklerozda endotel disfonksiyonu ve LDL birikimi.

2.3. Aterosklerozda LDL Oksidasyonu:

AS için en önemli adım, erken evrede Apolipoprotein B100 (Apo B100) içeren lipoproteinlerin (LDL, IDL, VLDL) arter intimasında ekstraselüler matriks elemanı olan proteoglikana bağlanmasıdır (10). İntima endotel hücrelerinde LDL-kolesterolün tutulmasıyla oksidasyon, proteoliz, lipoliz ve agregasyon gibi modifikasyon yolları (11) ile oxLDL meydana gelir ki bu da endotel disfonksiyonunu daha da kötüye götürmektedir (12).

Meydana gelen oxLDL'nin modifiye olmasıyla, makrofajlardan inflamatuvar sitokinler ve Büyüme faktörü (GF) salgınır. İntimal kalınlığın artması, damar lümenini daraltıp AS riskini artırır (13). Makrofajın aterosklerotik etkilerinden Granülosit koloni stimülan faktör (G-CSF) ve Granülosit-makrofaj koloni stimülan faktör (GM-CS) gibi hematopoetik sitokinler sorumlu olup (14), özellikle Monosit koloni stimülan faktör (M-CSF) hematopoetik kök hücrelerden ve makrofajlardan sitokin salgınımına yol açmaktadır. Monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) üretilmesi ile monositlerde kimyasal çekim başlamaktadır (15).

Oksidatif modifikasyonlar; lipid hidroksiperoksidazın etkisiyle ve Apo B100 rezidülerinden olan lizinin, aldehitlerle (malondialdehit, 4-hydroxynonenal) etkileşmesiyle gerçekleşip (16), makrofaj ve monositlerdeki scavenger reseptör SR-A (SR-A) ve scavenger reseptör CD36 (CD36) tarafından elektronegatif LDL'nin hücre içine alınımına yol açmaktadır. Hücre içinde bulunan kolesterol, sitoplazmada kolesterol esteri halinde damlacık oluşturarak karakteristik köpük hücrelerini oluşturmaktadır. Köpük hücrelerine dönüşen makrofajlardan, trombosit kaynaklı aktive edici faktör (PDAF), eikozanoidler, interlökinler (IL), fosfolipaz ve metalloproteazlar gibi inflamasyonun lipid ve protein mediatörleri salgınmaktadır. Ayrıca makrofajların oxLDL'yi içine almasıyla, peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama (PPAR γ) salgınmakta ve CD36'nın transkripsiyonu indüklenmektedir. Bu aktivasyona iki majör oxLDL (9 hydroxyoctadecadienoic acid ve 13 hydroxyoctadecadienoic acid) aracılık etmektedir. Köpük hücrelerinde yüksek seviyelerde PPAR reseptörleri tespit edilmiştir (17).

Oksidatif olmayan modifikasyonlara sebep olan proteolitik veya lipolitik enzimler hidrolitik karakterli olup, insan arter intimasındaki hangi hidrolitik enzimlerin intimal lipoproteinleri aterojenik partiküller haline çevirmekle sorumlu olduğu bilinmemektedir.

Okside lipid, nükleer transkripsiyon faktörlerinin güçlü düzenleyicisi olup, aterosklerozda hedef hücrelerin gen ekspresyonuna katılır. LDL'nin düşük orandaki oksidasyonu ile subendotelyal alanda minimal modifiye LDL (MM-LDL) oluşmaktadır. MM-LDL içeriğinde poliansatüre yağ asidi içeren okside fosfolipid bulunmaktadır (18).

2.4. Ateroskleroz ve İnflamasyon:

Ateroskleroz gelişiminde; Hücre içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1), Makrofaj koloni stimulan faktör (M-CSF), MG-CSF (157), CD40 ligand, interlökin-1 (IL-1), interlökin-8 (IL-8), interlökin-18 (IL-18) (158) ve Tümör nekrozis faktör (TNF- α) gibi birçok molekül etki göstermektedir (19). Endotelin-1'in vazokonstrüktör etkisi çok güçlü olup, hücrelerde migrasyon ve gelişmeyi sağlamaktadır. Ayrıca vasküler düz kas hücreleri üzerinde çok güçlü mitojen etkisi bulunmaktadır. OxLDL'nin vazokonstrüktör etkili mediatörlerin üretimini artırabileceği (20), ICAM-1, Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi diğer moleküllerin endotel üzerinde hematopoetik hücrelere bağlanmasından kısmi olarak sorumlu olabileceği düşünülmektedir (21). Aterosklerozun başlangıcında, ICAM-1 ve VCAM moleküllerinin artarak düzenlenmesi önemli bir yere sahiptir (22). P-selectin, trombosit ile endotelyal hücre reseptörleri ve vasküler hücreler arasındaki adezyon için aracılık yapar (23). Adezyon molekülleri, endotelyal hücreler ile lökosit ve trombositler arasındaki etkileşimden sorumludur (24).

Travma ile meydana gelen endotel hasarı trombosit birikimine yol açmakta ve Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) salınımıyla arteriyel intima ve aterosklerotik plakta düz kas hücreleri prolifer olmaktadır. AS lezyonunda vasküler düz kas hücrelerinin yanında immun hücreler ve mediatörlerde yer almakta ve her

biri inflamatuvar mekanizmayı oluşturmaktadır (25). AS patogenezinde inflamasyon esnasında 2 önemli yol aktive olmaktadır, bunlar protein kinaz C ve Nükleer faktör–kappa B yollarıdır. Bu yollar ile Anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) aktive olmakta ve üretilen anjiotensin-II endotel hücrelerin yüzeyinde adezyon moleküllerinin üretimini tetikleyip endotel disfonksiyonuna yol açmaktadır. İnflamasyon belirteçlerinden CRP, IL-1, IL-6, IL-18 erken evrede AS'un değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.

CRP: Koroner arter hastalığında gelişen inflamasyon için önemli bir belirteç olduğu bilinmektedir. İnsanda karaciğerde üretilmekte ve aterosklerozda hassas plak varlığında adezyon moleküllerinin ekspresyonu, Nitrik oksit (NO) indüksiyonu ve fibrinolizin inhibisyonunda rol alıp (26), hücrel immunitenin tepkisine katkı sağlamaktadır.

IL-1: Kardiyovasküler hücreler için güçlü bir aktivatördür. IL-18 bağlacı protein üretimini artırır ve doğal olarak IL-18 inhibitörü olarak etki gösterir. Ayrıca yapılan çalışmalarda Apo E eksikliği saptanan farelerde AS gelişimini spontan olarak önlediği görülmüştür (27).

IL-6: Fibrinojenin kanda yükselen düzeyleri ile birlikte koroner arter hastalığında artan riski gösteren bir akut faz reaktanıdır. IL-6, monositlerden otokrin ve parakrin etki ile salınıp, fibrinojenin damar duvarında birikmesine yol açmaktadır.

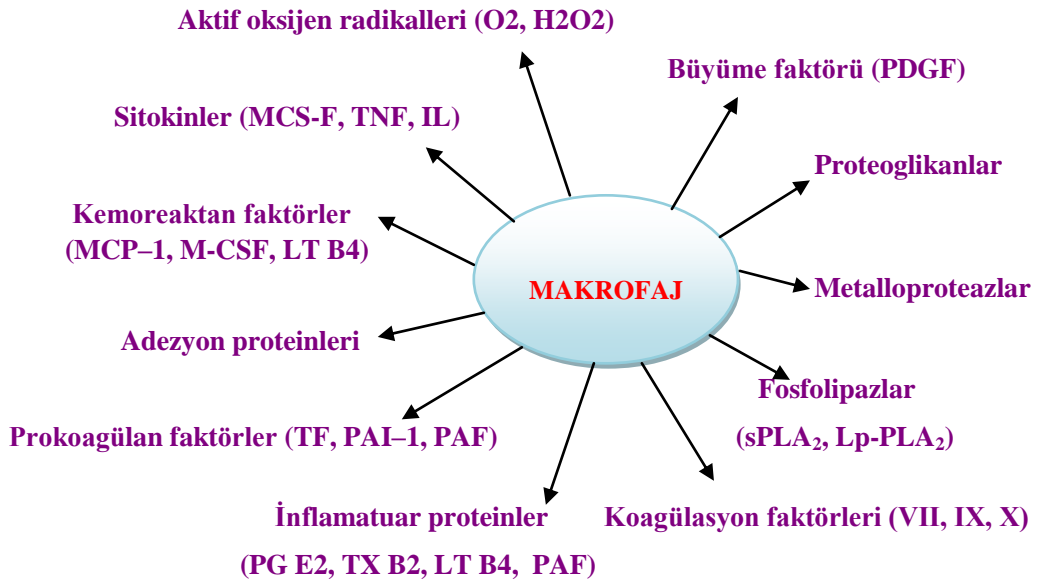
Lp-PLA₂: İmmunolojik aktivasyon ve inflamasyonun etkisiyle beraber yükselen lipid düzeyleri, ateroskleroz gelişimine uzun vadede katkıda bulunmaktadır. Lp-PLA₂, AS ve komplikasyonları ile ilişkili olup vasküler yatağa çok yüksek özgüllüğü olan bir enzimdir. hsCRP değerleriyle birlikte KAH risk değerlendirmesinde kullanılmaktadır (28)

2.5. Ateroskleroz ve İmmunité:

AS patogenezinde immün mekanizmanın yanında kolesterol yüksekliğinin de önemli olduğu çalışmalarla desteklenmiştir. AS'daki inflamasyon mekanizması için doğal immün sistem en erken devreye giren yoldur (29) .

İnflamasyon başlangıcında monositlerden Tümör büyüme faktörü (TGF), CD36, SR-A ve Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi aterojenik mediatörlerin yüksek düzeylerde salındığı ve inflamasyon esnasında IL-1, TNF gibi sitokinlerin yüksek düzeylerde salınıp, Toll-like reseptör (TLR) sayısının arttığı görülmüştür.

Scavenger reseptör oxLDL, apoptotik hücre fragmanları ve bakteriyel endotoksinler gibi antijen karakterli moleküllerin makrofaja giriş kapısı olup, TLR bu moleküllere bağlanmaktadır. Doğal immün sistemin sinyalleri, hücresel aktivasyonla makrofajlardan şekilde görülen sitokinleri, proteazları, sitotoksik oksijen ve nitrojen radikallerini salgılatmaktadır (30) (şekil 3).



Şekil 3. Makrofajdan salgılanan pro-aterojenik, pro-trombotik ve inflamatuvar faktörler.

Mononükleer fagositozda, lökosit adezyon molekülleri tarafından endotel hücreleri aktive olmakta ve protein yapılı mediatörler ile kemokin sitokinler monositlerin intimaya göçünü gerçekleştirmektedir. Monositlerin makrofajlara olgunlaşmasıyla matriks metalloproteinleri gibi mediatörler yüksek düzeyde salınmaktadır (31). Monositlerden salınan histamin, lökotrienler (LT), serin proteazlar ve heparin gibi vazoaaktif moleküller, anjiogenez gelişiminde ve GF'ün aktivasyonunda kofaktör olarak rol almaktadırlar (32). Trombositler, siklooksigenaz yolu ile üretilen prostaglandinler (PG) aracılığıyla trombüsü meydana getirmektedir (33). Myeloperoksidaz, Lp-PLA₂, pentraksin-3, sitokinler (IL-6), proteazlar (matriks metalloproteaz 9) ve CRP edinsel immun sistemde yer alan bazı moleküllerdendir (34).

2.6. Aterosklerozda Plak Rüptürü:

Aterosklerotik plak, köpük hücrelerinde ekstraselüler lipid damlacıklarının ve hücre kalıntılarının birikmesiyle karakterize olup, kollojenden ve düz kas hücrelerinden zengin bir fibröz kılıf ile çevrelenmektedir. Bu lezyona T lenfositleri, makrofaj ve mast hücrelerinin toplanmasıyla kararsız veya rüptüre eğilimli plak oluşumu başlamaktadır (35).

Koroner tromboz oluşumu için plak rüptürü ve endotel hasarı, en önemli sebeplerdir. Plak rüptüründe doku faktörü (Tissue factor: TF) gibi protrombotik mediatörlerin etkisi olduğu biliniyor. Plak rüptürü makrofaj ve immun hücrelerin aktivasyonu, fibröz kılıfın ince olduğu bölgeden gerçekleşmektedir (şekil 4).

Trombüsün içeriği, trombositten veya fibrinden zengin olabilir. PDGF; adezyon molekülleri ve koagülasyon faktörlerinin salınması, kollojenin teşekkül etmesi ve trombositlerin birleşme eğilimine girmesini sağlamaktadır. Bu olaylar esnasında trombosit yüzeyindeki gp 2b/3a reseptörlerinde konformasyonel değişiklikler başlamakta ve bu reseptöre fibrinojenin bağlanmasıyla trombositten zengin plak meydana gelmektedir. Akut koroner sendrom, ST yükselmesi olmayan miyokard infarktüsü ve unstabil angina pektoriste gelişen plak tipi trombositten zengin

trombüstür (36). Fibrinojenden zengin trombüs, trombositlerin yanında eritrositlerin varlığıyla karakterize olup Diabetes Mellitus, periferel vasküler hastalıklar ve hiperlipidemi ile gelişen kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilidir (37).



Şekil 4. Histopatolojik plak rüptürü ve Lp-PLA₂.

2.7. Lp-PLA₂ Enziminin Tanımı ve Aterosklerozdaki Önemi:

Lipoproteine bağlı Fosfolipaz-A₂ (Lp-PLA₂) 50 kD ağırlığında Ca²⁺’a bağımlı olmayan bir serin lipaz’dır (39, 63). Lp-PLA₂ aynı zamanda Trombosit Aktive Eden Faktör - Asetil Hidrolaz (Platelet-activating factor acetylhydrolase: PAF-AH) olarak da adlandırılmaktadır (38).

Fosfolipaz A₂ ailesi 15 gruptan oluşmaktadır. Bunlar 5 alt gruba ayrıldığında; sekretuar fosfolipaz A₂ (sPLA₂), sitozolik fosfolipaz A₂ (cPLA₂), Ca-bağımsız fosfolipaz A₂ (iPLA₂), trombosit aktive edici faktör asetil hidrolaz (PAF-AH veya Lp-PLA₂) ve lizozomal fosfolipaz A₂ olarak adlandırılır (40). Özellikle sPLA₂ ve PAF-AH ateroskleroz ve komplikasyonları ile ilişkili bulduklarından, yapılan çalışmalar bu iki enzim üzerinde yoğunlaşmaktadır (41).

Stabil angina pectoris ve akut koroner sendromu bulunan bireylerde Lp-PLA₂’nin plazmada düzeylerinin arttığı ve bu enzimin koroner arter hastalığı riski ile bağımsız,

pozitif ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. Fakat şu sebeplerle Lp-PLA₂ enziminin aterogenezi önleyici etkisinin de bulunduğu gözlenmiştir;

- 1- LDL'nin oksidatif etkisini engellemesi,
- 2- Adenovirus aracılığıyla Lp-PLA₂, Apo E eksikliği saptanan farelere transfer edildiğinde aterosklerozun azalması,
- 3- Hiperkolesterolemik bireylerdeki rekombinant Lp-PLA₂'nin, elektronegatif LDL'nin vasküler endotel hücrelerindeki apoptotik etkilerini ortadan kaldırması,
- 4- Ateroskleroz ve vasküler hastalıklara sebep olan risk faktörlerinde genetik hasarın etkili olması (42).

Lp-PLA₂, lipolitik enzimler arasında lipoproteinlerdeki aterojenik değişimlere yatkınlığı olan birkaç enzimden biridir. Fosfotidilkolin (lipoproteindeki majör gliserofosfolipid) üzerinde bu enzim hidroliz yaparak, serbest yağ asidi (FFA) ve lizofosfotidilkolin (lysoPC) meydana getirmektedir ki bu iki molekülün kolay okside olmaları ve mononükleer hücrelerde kemotaksisi tetiklemeleri, ateroskleroz sürecinin başlamasına neden olmaktadır (şekil 5). Arter intimasında toplanan lipoproteinlerdeki fosfotidilkolinin azalmasında, Lp-PLA₂ enziminin etkisi olduğu düşünülmektedir (43).

AS'da gelişen inflamasyon, tromboz ve oksidatif stresin klinikte erken dönemde değerlendirilmesi için biyokimyasal belirteçlerin kullanılması gerekmektedir. Bu anlamda Lp-PLA₂'nin standardize edilebilen, maliyeti düşük, doğruluğu iyi, özgüllüğü yüksek, tüm dünyada ulaşılabilir ve uygulanabilir bir belirteç olduğu ileri sürülmektedir (44).

Lp-PLA₂ plakta inflamasyona yol açan nedenlerden olduğundan, klinikte KAH için risk faktörü olarak kullanılmaktadır.

Farklı populasyonlardaki KAH riski ile Lp-PLA₂ düzeyleri arasındaki ilişkinin bağımsız olduğu görülmüştür. Lp-PLA₂ sistemik inflamasyondan ziyade vasküler inflamasyon için yüksek özgüllüktedir. Bu enzim direkt olarak rolünü plak üzerinde,

inflamasyon gelişiminde göstermektedir (45). Lp-PLA₂ düzeylerinin rüptüre eğilimli plakta inflamasyon esnasında arttığı ve dolaşımında da bu plaktan kaynaklı olarak bulunduğu çalışmalarla desteklenmiştir (46). Koroner ve karotid dokularında Lp-PLA₂, ince fibröz kılıflı aterom plağının rüptüre eğilimli bölgelerinde bulunan (47) makrofajların çevresinde ve nekrotik çekirdekte yoğun olarak tespit edilmiştir (48, 90, 108). Aynı zamanda Lp-PLA₂'nin aort (72), meme bezleri (73) ve immatür trofoblastların büyük hücrelerinden kaynaklı olduğu bulunmuştur (74).

Lp-PLA₂ enzimin biyolojik varyasyonu düşüktür ve KAH ile birlikte romatoid artrit, osteoartrit, kronik bronşit ve sinüziti bulunan hastalarda kan düzeylerinin yükselmediği görülmüştür. Oysa hsCRP'de bu tip bir özgülük bulunmamaktadır (49).

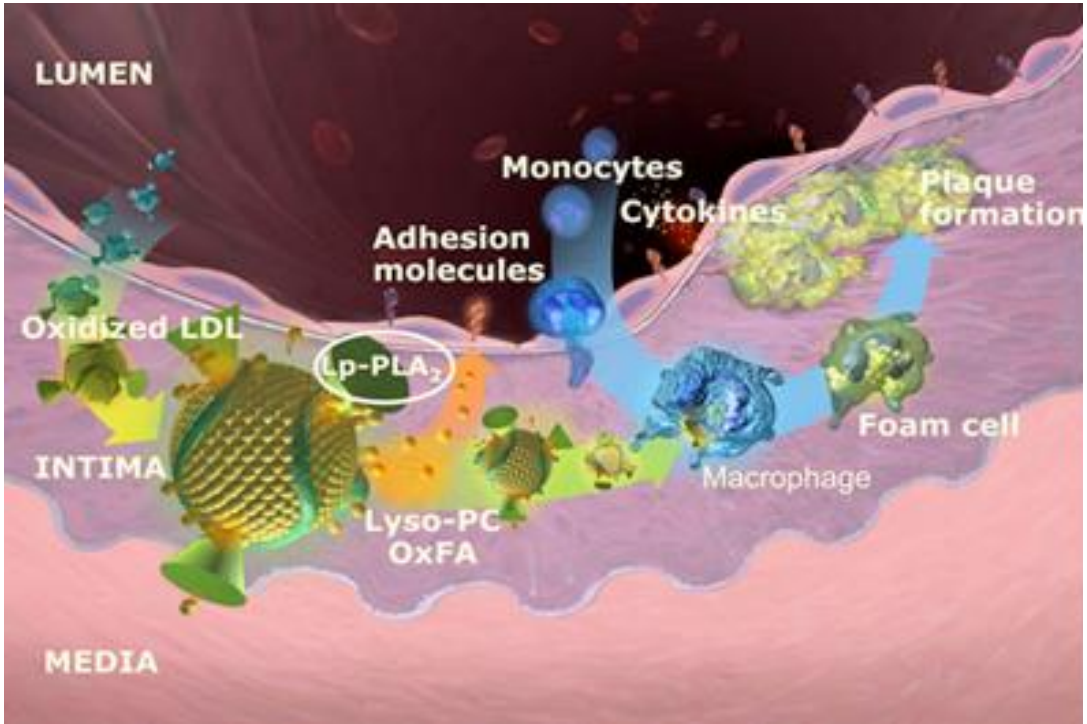
Lp-PLA₂'nin CRP ve diğer belirteçler ile birlikte genel toplum taramasında kullanılması tavsiye edilmiyor. Öncelikli olarak ılımlı veya yüksek kardiyovasküler riski tanımlanan ve ileride çok yüksek riskli gruba girecek olan bireylerin belirlenmesi için öneriliyor. Düşük bulunan Lp-PLA₂ düzeylerindeki az bir artış bile dikkate alınarak, bu hastaların en iyi şekilde tedavi edilebileceği ve düşük risk grubunda kalmalarının sağlanabileceği ileri sürülmektedir (50).

Lp-PLA₂, arteriyel intimada oxLDL üzerinde bulunan okside fosfolipidin hidrolizini yapmaktadır. Bu mekanizma ile üretilen okside yağ asidi ve lizofosfolipidin, endotel adezyon moleküllerinin ve sitokinlerin salınımıyla intimaya monositlerin göç etmesini sağlarlar. Bu sırada monositler makrofajlara farklılaşıp apoptotik köpük hücreleri haline dönüşürler. Bu aktive olan makrofaj ve köpük hücrelerinden, büyük miktarlarda Lp-PLA₂ üretimi olmaktadır (51). Koronerlerde plak bulunmayan durumda bakılan Lp-PLA₂ düzeylerinin düşük olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (52).

Lp-PLA₂ gliserofosfolipidin 2. pozisyonundaki yağ asidini hidroliz etmek suretiyle lizofosfolipid ve araşidonik asid gibi serbest yağ asitlerini oluştururken (53), hücre membranındaki doğal uzun zincirli yağ asitlerine karşı bir enzimatik aktivitesi

bulunmamaktadır (54). Ortama Azetidinone eklendiğinde, oxLDL varlığında gerçekleşen Lp-PLA₂'nin okside fosfolipidi hidrolize etme mekanizması ve sitokin üretimi, ortadan kalkmaktadır. Hücre içi karotid plaklı doku kültüründe LDL okside olduğunda, IL-18 üretiminin arttığı gösterilmiştir. Ayrıca Lp-PLA₂ enzim inhibitörleri IL-18 üretimini azaltmaktadır (55).

G protein bağlayan reseptör (G2A), lizofosfotidilkolin için yüksek afiniteli bir reseptördür. Bu reseptör, lenfoid dokuda ve lenfositlerde sentezlenmektedir. Aynı zamanda insan ve tavşan aterosklerotik lezyonlarındaki monositlerden salgılandığı da gösterilmiştir (56). Bütün bu anlatılanlar aşağıdaki şekilde özetlenmektedir;



Şekil 5. Aterosklerozda plak oluşumu ve Lp-PLA₂'nin rolü, kemotaktik etki ve okside molekül üretimi (BOONE Heart Institute, Preventive Cardiology).

Lp-PLA₂ okside fosfolipidin hidrolizini yaparken, okside olmayan fosfolipide karşı etkisi zayıf kalmaktadır. Lp-PLA₂, dolaşımda ApoB içeren lipoproteinlerin üzerinde yer alır ve Apolipoprotein B100 ile direkt olarak etkileşimdedir. İnsanda özgül

protein-protein etkileşimi, Lp-PLA₂'nin N terminali ile Apo B'nin C terminali arasında olmaktadır (57).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda Lp-PLA₂'nin yaklaşık %80'inin dolaşımında LDL'ye bağlı olduğu, diğer %20'sinin HDL'ye ve remnant lipoprotein partikülüne bağlı olduğu bulunmuştur. Bu partiküller arasındaki dağılım, enzimin glikasyon derecesine göre olmaktadır (58).

2.7. Lp-PLA₂'nin Endotel Disfonksiyonu ve Plak İnflamasyonu Gelişimindeki Rolü:

Endotel disfonksiyonunu araştıran çalışmalarda Lp-PLA₂ enzim aktivitesi hücre içinde ve hücre dışında inhibe edildiğinde, sitokin üretiminin azaldığı görülmüştür (45). Fakat yüksek derecede stenozu olan bireylerde stabil plaklar olmasına rağmen düşük Lp-PLA₂ düzeylerine rastlanabilmektedir (59). Lp-PLA₂'nin fosfotidilkolini hidroliz etmesiyle meydana gelen lizofosfotidilkolin, endotel disfonksiyonunda ve inflamasyonun tetiklenmesinde önemli bir yere sahiptir. Lizofosfotidilkolin endotel fonksiyonunu şu olası mekanizmalarla etkilemektedir;

- 1- Endotelyal NO'in azalarak düzenlenmesi ile,
- 2- Oksidatif stres ve serbest oksijen radikallerinin (ROS) artmasıyla,
- 3- Endotelyal hücrel apoptozu tetikleyerek,
- 4- Endotelyal hasarın meydana geldiği bölgeye endotelyal hücrelerin birikmesini önleyerek gerçekleşecek olan onarma mekanizmasının bloklanmasına sebep olarak (60).

Lp-PLA₂ düzeylerinin bazı kardiyovasküler risk faktörlerinden bağımsız olduğu belirtilmiştir, bu faktörler; yaş, beden kitle indeksi, sistolik ve diastolik kan basıncı ile sigara kullanımınıdır. Atherosclerosis risk in communities (ARIC) çalışmasında, orta yaş amerikan kadın ve erkeklerden koroner arter hastalığı gelişenlerde, Lp-PLA₂ düzeylerinde yükseklik bulunmuştur (61). Bununla beraber yükselen Lp-PLA₂ düzeylerinin statin, niasin gibi lipid düşürücü ilaçlarla düzeltilebildiği fakat, klinik durumun düzelmesiyle beraber hastalarda istenen Lp-PLA₂ düzeylerine ulaşamadığı görülmektedir.

2001 ATP III yönergesinde Lp-PLA₂'den, erken dönemdeki risk faktörü olarak şu maddeler ile söz edilmektedir;

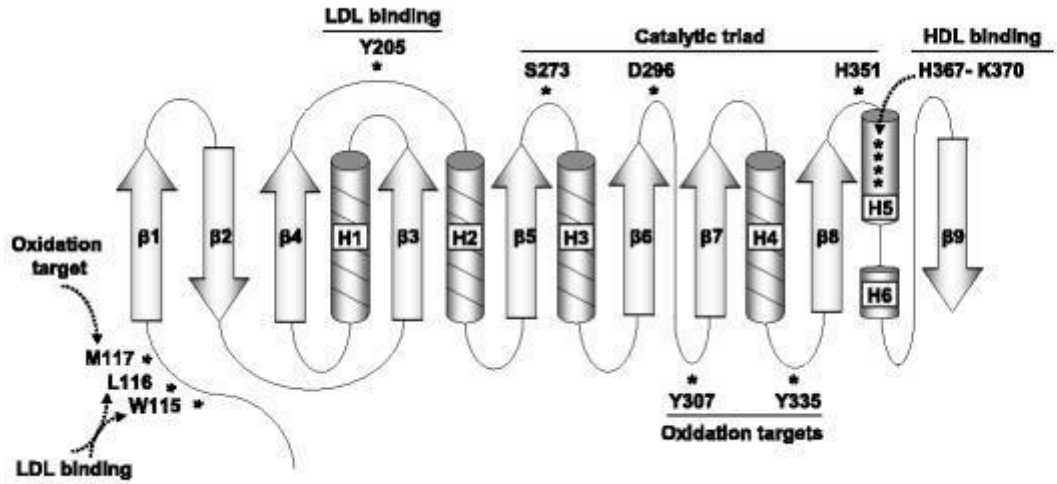
- 1- Diğer majör risk faktörlerinden bağımsız olması, önemini güçlendirmektedir.
- 2- Riskli görülen popülasyonda, yaygınlığı daha yüksektir.
- 3-Klinik laboratuvarlarda iyi standardize edilebilen, yaygın şekilde kullanılabilen ve maliyeti düşük bir testtir. Toplumda referans aralığı kabul edilmiştir ve biyolojik olarak stabil bir enzimdir (62)

2.9. Lp-PLA₂ Enziminin Yapısı:

Bu enzim yapısal olarak nötral lipaz ve serin esterazlara benzeyip, lipaz ve esterazların alfa ve beta hidrolaz konformasyonlarına uyumlu ve lineer yerleşimli serin (S) - aspartat (D) - histidin (H) katalitik üçlüsünü içermektedir. Enzimin yeteneğini ikinci pozisyonundaki yağ açıl gruplarının tipleri belirlemektedir (63).

Lp-PLA₂'nin yapısının belirlenmesi; enzimin kristalizasyonunun yapılması sonrasında bırakılmıştır. Ancak yapısı bilinen proteinlerle yapılan karşılaştırmalı analizlerde önemli kısmı aydınlatılmıştır (64). Karakteristik olarak alfa ve beta hidrolazın tersiyer kıvrımları ve baskın olarak helikal bağlantılı paralel beta tabakaları bulunmaktadır (65). Molekülün çekirdeğinde kümelenmiş bulunan ve katalitik triadı oluşturan S273 - D296 - H351, beta tabakalarının karboksil uçlarında yerleşimlidir. Ester hidrolizinin mekanizmasında, Fenilalanin'in (F274) amid yapısı ve katalitik Serin'in (S273) ani düşüşü etkili olmaktadır (66). Lp-PLA₂'nin LDL'ye bağlanabilmesi için alfa2 ve beta4 tabakalarının oluşturduğu beta kıvrımları içinde yerleşimli bulunan tirozin (Y205) rezidüleri gerekmektedir.

Lp-PLA₂'nin LDL ile bağlanmasında triptofan (W115), lösin (L116), tirozin (Y205) rezidülerinin de rolü büyüktür. Bu rezidülerdeki bir mutasyon veya delesyon LDL'nin enzime bağlanmasını engelleyebilmektedir (67) (şekil 6).



Şekil 6. Lp-PLA₂ enzim tersiyer yapısı

Normalde plazmada Lp-PLA₂ HDL ve LDL ile ilişkidir. Fakat bazı vakalarda Lipoprotein (a) [Lp(a)] yüksekliği sebebiyle bu dağılım değişmektedir. Lp(a) ve LDL benzer partiküllere sahip olmaları yüzünden (68), Lp-PLA₂ Lp(a)'ya bağlanıp taşınabilmektedir. Lp(a)'ya bağlı Lp-PLA₂, hidroliz etkisine bağlı olarak okside fosfolipidlerin inflamatuvar etkilerini engellemektedir. Bu yönüyle Lp(a) inflamasyonu engelleyici bir etki göstermektedir (69).

Northern blot analizlerinde Lp-PLA₂'nin mesenger RNA'sı (mRNA) baskın olarak makrofajlarda bulunmakla beraber timus, tonsil ve plasenta dokularında tespit edilmiştir (70). Ayrıca trombositlerde de saptanan Lp-PLA₂ iki şekilde bulunmaktadır. Hücre içinde bulunan tipi glikozile olmayan şekli ile sitozolde lokalizedir ve total enzim aktivitesinin %75'ini oluşturmaktadır. Hücre membranı ile ilişkide olan tipi ise total enzim aktivitesinin %25'ini oluşturmaktadır. Trombositlerdeki Lp-PLA₂ denovo sentezinde, Lp-PLA₂ mRNA translasyonunun büyük ölçüde trombin oluşumu ve agregasyon esnasında arttığı görülmüştür (156).

Hakkinen ve arkadaşları, ilerlemiş ateroskleroza bulunan aortik doku örneklerinde mRNA salınımının, Lp-PLA₂'nin yükselen düzeyleri ile arttığını ve ani kardiyak ölümü olan bireylerde tromboz ve plak rüptürüne bağlı olarak nekroz geliştiğini görmüşlerdir (71).

Hücre içi çalışmalarda östrojenlerin, plazma Lp-PLA₂ düzeylerini azalttığı, erkek ve dişi ratlarda progesteronun ise tam zıt etki gösterdiği bulunmuştur (75).

2.10. Lp-PLA₂'nin Transkripsiyonel Düzenlenmesi:

Tavşan ve insan plazmasındaki Lp-PLA₂'nin DNA'nın 5' zincir ucundaki bölgeden kaynaklı olduğu saptanmıştır. Promotor bölgenin (transkripsiyonun başlangıç bölgesi) TATA box içermediği, Glisin (G) ve Serin'den (C) zengin olduğu görülmüştür. Promotor bölge karakteristik olarak hücre içi düzenlenmeyi sağlayan genleri etkilemektedir (76, 77).

Transkripsiyon faktörlerinden SP1 ve SP3'un makrofajlardaki Lp-PLA₂ salınımını sağlayan genlerle aynı bölgede bulunması, hematopoetik hücrelerde görülen SP1 artışıyla beraber makrofajlardan Lp-PLA₂ salgılanmasını açıklamaktadır (77).

Lp-PLA₂ (PLA₂ GVII), 12 eksona sahip olup 6p21.2–12 kromozom bölgesinde lokalizedir. Japon, Türk, Kırgız gibi bazı etnik gruplarda Lp-PLA₂'nin kodlandığı bölgelerde bazı varyasyonlar tespit edilmiştir. Enzimin biyolojik aktivitesinde fonksiyonel farklılıklar gözlenmiş ve heterozigot Japonların %27'sinde yükselen Lp-PLA₂ düzeylerinin Val279Phe varyantı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Homozigot bireylerin %4'ünde Lp-PLA₂'in tamamen yokluğu saptanmış ve buna enzimin salgılanması esnasındaki bir defektin sebep olduğu bulunmuştur (78,79). Ala379Val varyantının sonucunda Lp-PLA₂'nin Trombosit aktive edici faktör'e (PAF) afinitesi zayıflamaktadır (80).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda dislipidemik obezlerde, LDL reseptör hasarında ve leptin eksikliğinde plazma Lp-PLA₂ düzeylerinde artış saptanmıştır (81). Statin ve fenofibrat tedavisinin Lp-PLA₂ aktivitesini azaltıp LDL düzeylerinde düşüş yaptığı, fakat makrofajlardan Lp-PLA₂ sentezi ve salınımını etkilemediği görülmüştür (82, 83).

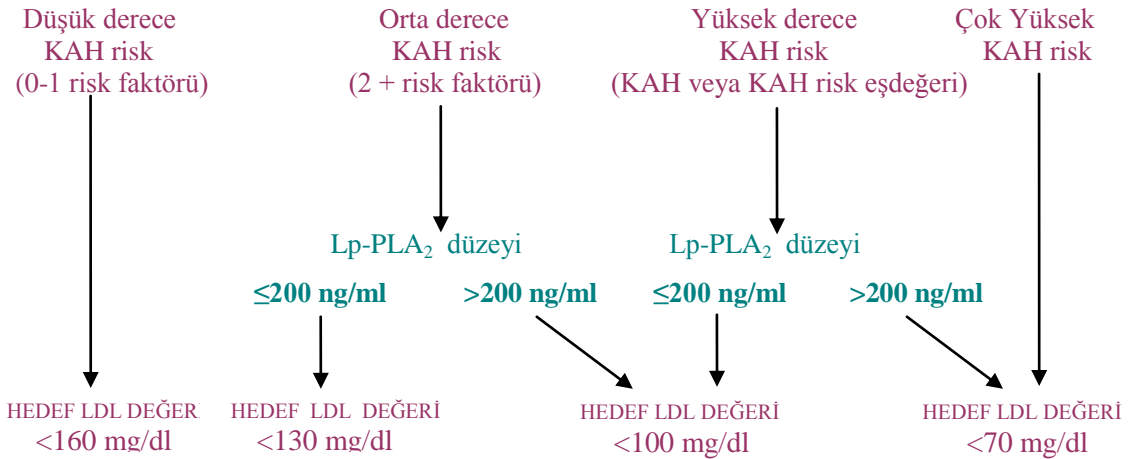
Yapılan çalışmalarda Lp-PLA₂'yi azaltan daraplidip ve rilapladip olarak adlandırılan iki ilacın, koroner aterosklerozu bulunan diyabetik ve hiperkolesterolemik

domuzlarda AS gelişimini geriletği ve özellikle daraplidibin plaktaki nekrotik çekirdekte gerileme sağladığı bulunmuştur (84). Wilensky'nin çalışmasında daraplidip Lp-PLA₂'yi dolaşımında %90 oranında, arter duvarında ise %80 oranında baskılamıştır. Lp-PLA₂'de görülen bu baskılanma, arter duvarındaki okside fosfolipid konsantrasyonunda artış olmaksızın, lizofosfotidilkolin konsantrasyonlarında ki azalmayla açıklanabilmektedir (85).

Lp-PLA₂ ölçümü, yüksek riskli vasküler inflamasyonu bulunan hastaları daha iyi tanımlamak için tavsiye edilmektedir. Böylece bu tanımlanan hastaların, lipid düşürücü tedaviden yararlanmaları sağlanabilir. Lp-PLA₂'nin plazma düzeylerinde görülen çok az bir artış bile plak inflamasyonu ve endotel disfonksiyonunun varlığını gösterebilmektedir.

KAH için yüksek risk taşıyan hastalarda artan LDL kolesterol değerlerinin düşürülmesi önemli olup, özellikle Lp-PLA₂ düzeyi yüksek bulunan hastalardaki LDL kolesterol değerlerinin düşürülmesi daha da önem kazanmaktadır (86).

Bu risk sınıflandırması aşağıdaki şekilde özetlenmiştir (şekil 7).



Şekil 7. Lp-PLA₂ düzeylerine göre LDL düşürücü tedavide tavsiye edilen hedefler (NCEP (National Cholesterol Education Program) Expert Panel on Detection Evaluation and High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III) final report. Circ. 2002;106: 3143-3421).

Lp-PLA₂ testinin düşük riskli popülasyonda kullanılması tavsiye edilmemekle birlikte, risk değerlendirmelerinde yüksek veya ılımlı KAH sahip bireyler için kullanılması tavsiye edilmektedir (87).

2.11. Lp-PLA₂ Analiz Yöntemleri:

Lp-PLA₂ kütlesi ve aktivitesi enzimin salgılandığı dokularda, kan hücresi homojenizatlarında ve plazmada ölçülebilmekte olup kişinin metabolik durumu bu ölçülen değerleri değiştirebilmektedir (88).

Lp-PLA₂ kütlesi ölçümünde enzime özgül otoantikolar kullanılarak, İmmunotürbidimetrik (89) veya Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) metodu ile ng/ml cinsinden kolorimetrik okuma alınabilmektedir (39). Aktivite ölçümünde ise substrat olarak Trombosit Aktive Eden Faktör (PAF) kullanılarak nmol/min/ml cinsinden spektrofotometrik yöntem ile okunabildiği gibi, 1-myristoyl-2-phosphatidylcolin gibi substratlar kullanılarak florojenik veya radyometrik yöntem ile de ölçülebilmektedir (91).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi yerel etik kurulunun 01.06.2009 tarihli oluru alınarak yapılmıştır.

3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Özellikleri:

Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Rıdvan EGE hastanesi kardiyoloji polikliniğinde değerlendirilerek, anjiyografik inceleme kararı alınan klinik durumları stabil 37 erkek ve 33 kadın olmak üzere, toplam 70 hasta çalışmaya dahil edildi.

Hastaların yaşları 34–87 arasında değişmekte idi (kadın yaş ortalaması $55,4 \pm 12,2$ ve erkek yaş ortalaması $53,3 \pm 11$). Tüm hastaların yaş ortalaması $54,5 \pm 11,6$ idi. Anjiyografik inceleme sonucuna göre en az bir damarında plak saptanan 40 (%57) hasta ve damarları sağlam olan 30 (%43) kontrol, çalışma grubunu oluşturdu. Buna göre hasta grubunda yaş ortalaması $60,8 \pm 10,8$ iken kontrol grubunda $46,2 \pm 6,4$ idi.

Diabetes Mellitus hastalığı bulunan, daha önce by-pass (CABG) ameliyatı geçirmiş veya stent (PTCA) uygulanmış bireyler çalışmaya dahil edilmedi. Yaş, cinsiyet, hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara kullanımı, aile öyküsü, BKİ gibi koroner arter hastalığı için risk oluşturan faktörleri bulunduran bireyler, ayrıca değerlendirmeye alındı.

Hastalarda BKİ, kg cinsinden vücut ağırlığının metre cinsinden boy uzunluğunun karesine bölünmesiyle hesaplandı. Dünya Sağlık Örgütü ve uluslararası kılavuz komitelerince kabul edilen sınır değerlere göre BKİ: $25-29,9 \text{ kg/m}^2$ arasında olan bireyler kilo fazlalığı bulunan, BKİ 30 kg/m^2 üzerinde bulunan bireyler obez sınıfta kabul edilmiştir.

3.2. Kan Örneklerinin Toplanması ve Hazırlanması:

Hastalardan rutin inceleme amaçlı 12 saat açlık sonrası jelli tüpe alınan kanlardan rutin biyokimya testleri çalışıldıktan sonra artan serum örnekleri, Lp-PLA₂ kütle düzeyine bakılmak üzere çalışma gününe kadar -80⁰C' de derin dondurucuda saklandı.

3.3. Kullanılan Laboratuvar Aletleri:

—Santrifüj (Nuve NF800)

—Derin dondurucu (-80⁰ C)

—Soğutucu (+4⁰ C)

—Otoanalizörler: ROCHE Olympus AU640 (Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Biyokimya Laboratuvarı), ROCHE COBAS INTEGRA 400 PLUS, Backman Coulter HM

3.4. Lp-PLA₂ Ölçüm Yöntemi:

Lp-PLA₂ kütle düzeyi ölçümü Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Laboratuvarında bulunan ROCHE Olympus AU640 otoanalizörü kullanılarak Turbidimetric Immuno Assay yöntemi ile yapıldı. DiaDexus firmasının PLAC test kiti kullanıldı. Lp-PLA₂ kütlesi (PLAC test), serum veya plazmada Lp-PLA₂'ye yüksek özgüllükte 2 monoklonal antikor (2C10 ve 4B4) kullanılarak ölçüldü (89). Hasta serumundaki Lp-PLA₂ özgül olarak bu antikorlara bağlanmaktadır. Polimerikmikropartiküllere bağlı bu antikorlarla oluşan antijen-antikor kompleksinin verdiği turbidimetrik yoğunluk, serumdaki Lp-PLA₂ kütle düzeyi ile doğru orantılıdır. Bağlanma sonucu meydana gelen turbidimetrik değişiklik 570 nm dalga boyunda okundu. Standartlarla birlikte çizilen kalibrasyon eğrisinden bulunan serumdaki Lp-PLA₂ düzeyleri ng/ml cinsinden değerlendirildi.

3.4.1. Kullanılan kimyasallar:

Lp-PLA₂ standartlar: 50 ng/ml, 100 ng/ml, 250 ng/ml, 500 ng/ml olarak 5 noktalı standart.

Lp-PLA₂ kontroller: 200 ng/ml'den düşük ve 300 ng/ml'den büyük olmak üzere 2 düzeyli kontrol.

R1: Protein stabilizatör (borate tampon solüsyon ve %0,03'lük methylisothiazoline)

R2: HAMA (Human Anti Monoclonal Antibodies), anti Lp-PLA₂ antikor kaplı polimerikmikropartiküller, proClin 300 (yıkama solüsyonu)

3.4.2. İşlem:

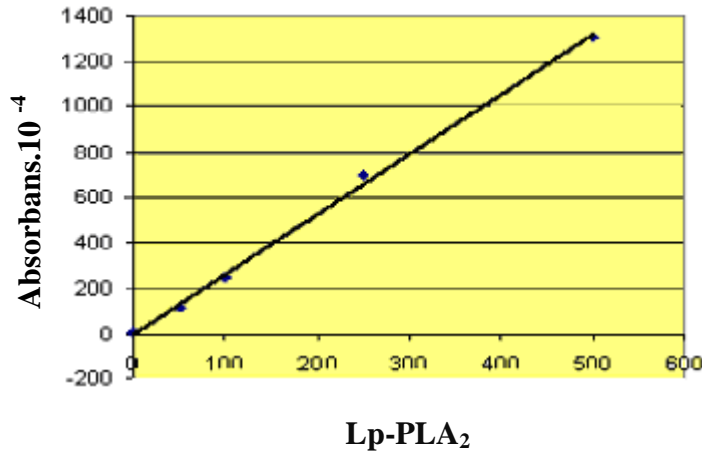
1- 6 µl serum ve standartlar reaksiyon küvetinde 185 µl tampon ile ayrı ayrı dilüe edildi,

2- 37⁰C' de 5 dakika inkübasyona bırakıldı,

3- 60 µl R2 eklendi,

4- 570 nm' de okundu,

5- Absorbansdaki değişim R2 eklendikten sonra başlanarak 5 dakika boyunca okutuldu. Lp-PLA₂ hesaplanmasında standart eğriden yararlanıldı (şekil 8).



Şekil 8. Standartlara göre çizilen kalibrasyon eğrisi.

Lp-PLA₂ testinin; Ölçüm Aralığı: 7-500 ng/ml

Analitik duyarlılığı: 4 ng/ml

Analitik kesinliği (precision): intra-assay %CV= 2,4

inter- assay %CV= 2,1

Total %CV= 3,2

Linearity: 0-472 ng/ml

3.5. Diğer Biyokimyasal Testler:

AKŞ (Hegzokinazlı), ALT (pidoksal-5-fosfatsız), AST (pidoksal-5-fosfatlı), GGT (L-γ-glutamil-3-karboksi-4-nitroanilidli), BUN (glutamat dehidrogenaz, üreazlı), ÜA (ürikazlı), Kreatinin (deproteinizasyonsuz kinetik Jaffe reaksiyonlu), HDL (polianyon ve deterjanlı), TK (kolesterol oksidaz, kolesterol esterazlı), TG (gliserol fosfat oksidazlı) ölçümleri için enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak COBAS INTEGRA 400/700/800 ROCHE kiti kullanıldı. Bu testler ROCHE COBAS INTEGRA 400 PLUS otoanalizörde, hemogram parametreleri Beckman Coulter HMX otoanalizörde çalışıldı.

Hasta gurubunda LDL, kolesterol oksidaz ve kolesterol esteraz ile direkt metodun yanı sıra, Friedwald formülü (Total kolesterol = HDL-kolesterol + LDL-kolesterol + TG/5) kullanılarak da hesaplandı.

Bu ölçümler Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Rıdvan EGE hastanesi rutin biyokimya laboratuvarında analiz edildi.

3.6. Gensini Skor Hesaplanması:

Hastalara endikasyonlarına göre medikal tedavi sonrası klinik stabilizasyon sağlandıktan sonra, “General Electric Koroner Angiografi” cihazı kullanılarak sağ femoral yaklaşımla Judkins tekniği ile selektif koroner anjiyografi ve sol ventrikülografi yapıldı. Koroner arterler sağ ve sol oblik pozisyonlarda kraniyal ve kaudal açılındırmalar yapılarak görüntülendi. Koroner arterlerdeki lezyonlar birbirlerinden bağımsız iki kardiyolog tarafından değerlendirildi. Koroner arter

hastalığının yaygınlığını saptamak amacıyla Gensini Skorlama yöntemi kullanıldı. Bu sisteme göre koroner arterler 15 segmente bölündü. Koroner arterin fonksiyonel önemine, lezyonun yerleşim yerine, sayısına ve stenoz derecesine göre puanlama yapıldıktan sonra, Gensini skoru 1-20 arası hafif koroner ateroskleroz, Gensini skoru 20'nin üzeri şiddetli koroner ateroskleroz olarak tanımlandı (92). Lezyonun derecesine göre 1-32 değerleri arası skorlama yapıldıktan sonra, lokalizasyonuna göre (proksimal, orta ve distal) puanlama işlemi yapıldı (Tablo 2) (93).

Tablo 2. Gensini Skorunda kullanılan lezyon yüzdesi ve çarpım faktörleri.

Lümen darlığı	Skor	Çarpım faktörü
≤%25	1	
%26-50	2	
%51-75	4	
%76-90	8	
%91-99	16	
%100	32	
Sol koroner arter		
Sol ana koronerler		5
Sol ön inen arter		
Proksimal segment		2,5
Orta segment		1,5
Apikal segment		1
1. Diyagonal		1
2. Diyagonal		0,5
Sirkumfleks arter		
Proksimal segment		2,5 (3,5)
Orta segment		1 (2)
Distal segment		1 (2)
Obtus marginal dal		1
Posteriyör inen arter		0,5
Sağ koroner arter		
Proksimal segment		1
Orta segment		1
Distal segment		1
Posteriyör inen arter		1

3.7. İstatistiksel Analizler:

Çalışmadan elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler ‘SPSS for Windows 16 program paketi ile gerçekleştirildi. Niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametreler Student T testi kullanılarak değerlendirildi. Parametrelerin Gensini Skor’u üzerindeki etkilerini analiz etmek için Lineer Regresyon testi kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Koroner anjiyografi sonucunda 3 gruba ayrılan ve koroner arterinde anlamlı daralma saptanan olgulardan, Gensini skoru 20'nin altında minör riskli, Gensini skoru 20 ve üzerinde majör riskli olarak tanımlanan ve damarları sağlam olup kontrol grubu olarak kabul edilen, 40 hasta ve 30 kontrolün çalışmadan elde edilen sonuçları aşağıda özetlenmeye ve irdelenmeye çalışılmıştır.

Hasta ve kontrol grubunun özellikleriyle gruplardan alınan sonuçlar toplu olarak EK-1 ve EK-2'de gösterilmiştir (EK 1-2).

Koroner arter hastalığı risk faktörleri bakımından tüm hastaların durumu değerlendirildiğinde şu sonuçlar elde edilmiştir: Hipertansiyon 32 hastada (%45), hiperlipidemi 26 hastada (%37,1), sigara kullanımı 31 hastada (%44,2), aile öyküsü 31 hastada (%44), beden kitle indeksi yüksekliği 48 hastada (%68,5), HDL düşüklüğü 28 hastada (%40) pozitif olarak saptandı.

- Hasta ve kontrol grupları arasında Lp-PLA₂ düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo 3).
- Total kolesterol ve LDL-kolesterol değerleri, hasta grubunda anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,05$) (Tablo 3).

Tablo 3: Lp-PLA₂ ve lipid değerlerine göre çalışma grubunun istatistiksel bulguları.

	Ortalama ± SD		p
	Kontrol grubu	Hasta grubu	
Lp-PLA ₂ (ng/ml)	167 ± 33,5	172,13 ± 71	p=0,683
TG (mg/dl)	141,5 ± 49,31	153,8 ± 80,8	p=0,462
LDL (mg/dl)	120,5 ± 33,5	139,7 ± 31,5	p=0,029*
TK (mg/dl)	186,3 ± 34,3	207,6 ± 45,7	p=0,049*
HDL (mg/dl)	38,9 ± 9,4	42,4 ± 8,5	p=0,146

*p <0,05 **p<0,01

- Cinsiyete göre erkeklerde Lp-PLA₂ düzeyi ve kadınlarda LDL düzeyi daha yüksek bulunmakla beraber bu yükseklikler istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05) (tablo 4).
- HDL düşüklüğüne göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p>0,05) (tablo 4).
- Beden kitle indeksine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p>0,05) (tablo 4).
- Aile öyküsü bulunan hastalarda Lp-PLA₂ düzeyleri yüksekmiş gibi görünmesine rağmen, aile öyküsü bulunmayan hastalara göre anlamlı bir istatistiksel fark bulunmadı (p>0,05) (tablo 4).
- Hipertansiyonu olan hastalarla, olmayan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (p>0,05) (tablo 4).

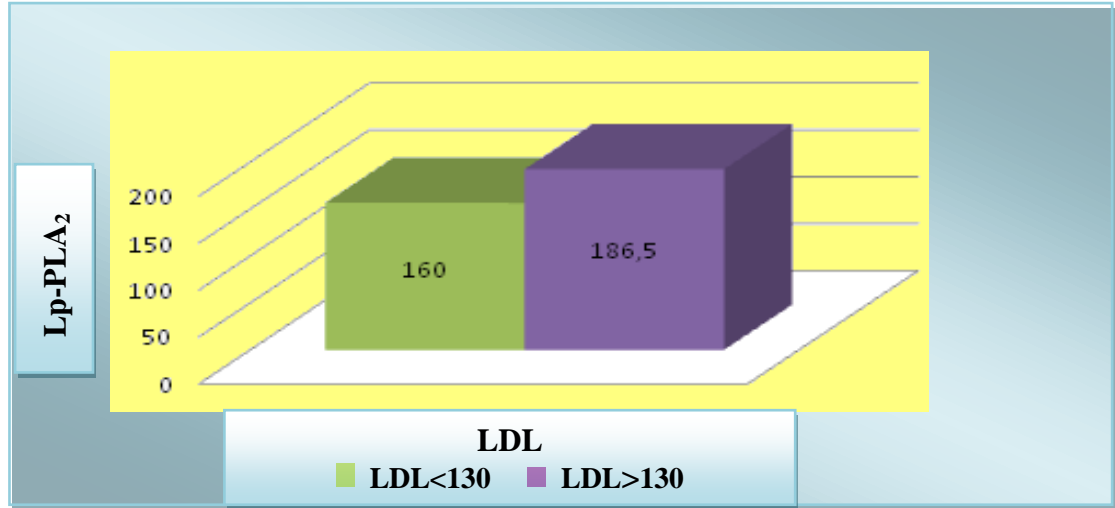
Bütün bu KAH risk faktörlerine göre Lp-PLA₂ değerlerinin istatistiksel bulguları tabloda gösterilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. KAH risk faktörleri ve Lp-PLA₂ (ng/ml) Değerleri Arasındaki İstatistiksel İlişki.

Faktörler / sayı (n)		Lp-PLA ₂ (ng/ml)	p
Cinsiyet	kadın (n=33) erkek (n=37)	165,11 ± 54,34 185,11 ± 67,34	p=0,191
LDL-Kolesterol	>130 (n=26) <130 (n=44)	186 ± 52,68 160 ± 49,33	p=0,047**
Beden kitle indeksi	>25 (n=48) <25 (n=22)	174 ± 54,414 177 ± 77,42	p=0,894
Yaş	<50 (n=30) >50 (n=40)	188,1 ± 53,76 167,4 ± 66,79	p=0,16
Sigara	kullananlar (n=31) kullanmayanlar (n=39)	199,3 ± 62,57 158,1 ± 54,1	p=0,005**
HDL Kolesterol	>40 (n=42) <40 (n=28)	172 ± 53,2 164 ± 52,45	p=0,544
Aile öyküsü	var (n=31) yok (n= 39)	180 ± 67 172 ± 58	p=0,611
Hipertansiyon	var (n=32) yok (n= 38)	172,58 ± 74,15 179,19 ± 50	p=0,671
Gensini skor	>20 (n=12) <20 (n=28)	157,46 ± 53,9 165,74 ± 55,22	p=0,669

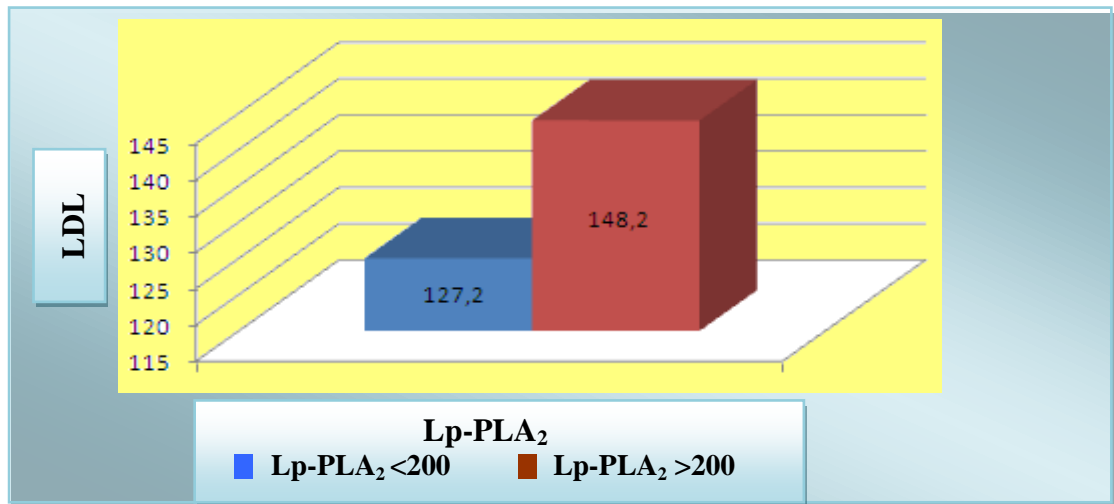
*p<0,05 **p<0,01

- LDL-kolesterol düzeyi 130 mg/dl'nin üzerinde bulunan hastalarda, Lp-PLA₂ düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,05$) (şekil 9).



Şekil 9. LDL kolesterolü 130 mg/dl'nin üzerinde ve altındakilerde Lp-PLA₂ düzeyleri grafiği.

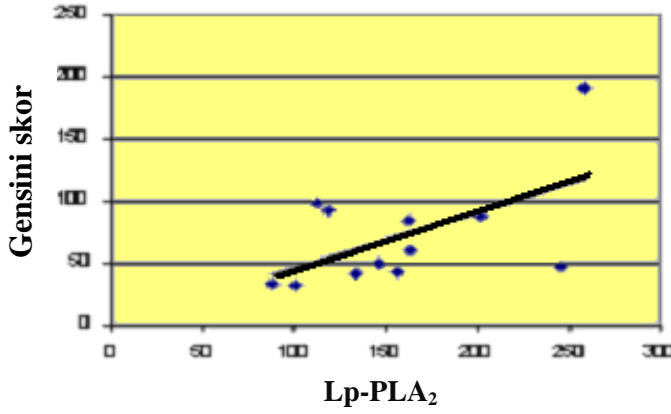
- LDL-kolesterolü 130 mg/dl'nin üzerindeki ve 130 mg/dl'nin altındaki hastalarda, Lp-PLA₂ düzeyi ile Gensini skoru arasında ilişki gözlenmedi (Sırasıyla $p=0,765$, $p=0,297$).
- Lp-PLA₂ referans değerine bakılarak, 200 ng/ml altındaki hastalar ile 200 ng/ml üzerindeki hastaların LDL-kolesterol değerleri karşılaştırıldığında, 200 ng/ml üzerindeki hastalarda anlamlı yükseklik bulundu ($p < 0,05$) (şekil 10).



Şekil 10. Lp-PLA₂ değeri 200 ng/ml üzerinde ve altındakilerde LDL düzeyleri grafiği.

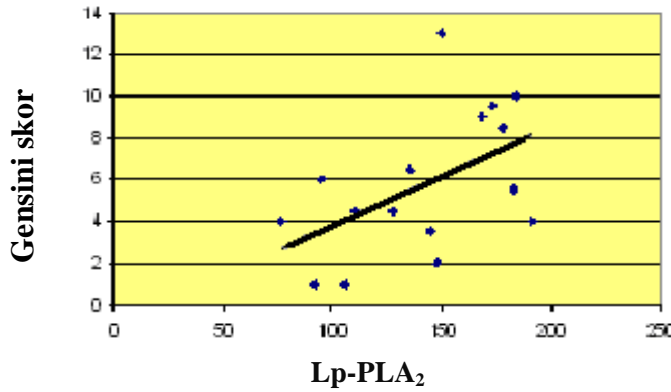
Not: DiaDexus firması tarafından PLAC test kitinde laboratuvar referans değeri; Lp-PLA₂ <200 ng/ml düşük riskli, Lp-PLA₂=200-235 ng/ml sınırda riskli, Lp-PLA₂>235 ng/ml yüksek riskli olarak belirtilmiştir.

- Hasta ve kontrol grubunda Lp-PLA₂ değerleri ile Gensini skor arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$)
- Lp-PLA₂ kütle düzeyi ile Gensini skor arasındaki anlama baktığımızda majör riskli (Gensini skoru 20'den yüksek) hastalar ile Lp-PLA₂ arasında istatistiksel olarak bir anlam bulunmadı ($p=0,063$) (şekil 11).



Şekil 11. Lp-PLA₂ düzeyi ve majör riskli Gensini skor grafiği.

- Lp-PLA₂ düzeyi 200 ng/ml'nin altında bulunanlar ile minör riskli (Gensini skoru 20'den düşük) hastalardaki ilişki anlamlı bulundu ($p=0,042$, $r=0,26$) (şekil 12).



Şekil 12. Lp-PLA₂ düzeyi 200 ng/ml altı ve minör riskli Gensini skor grafiği.

- Hasta grubunda, açlık kan şekeri ile Lp-PLA₂ düzeyi arasında pozitif bağlantı bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 5).
- Lp-PLA₂ ve Gensini skor ile trombosit sayısı, trombosit volümü, trombosit dağılımı, beyaz küre, BUN, AST, ALT, ÜA, LDL, HDL, TG düzeyleri

arasındaki ilişkilere baktığımızda, anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo 5).

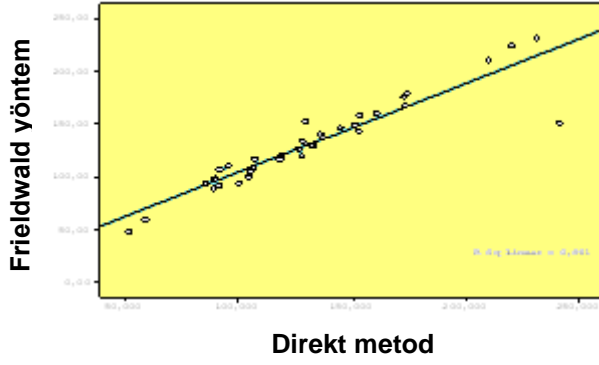
- GGT ile Lp-PLA₂ düzeyi arasında negatif bağlantı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 5).
- GGT ile TG, AST, ALT, ÜA ve Hb ilişkilerinde sırasıyla pozitif olarak anlamlı şu sonuçlar elde edildi: $p=0,006$, $p=0,016$, $p=0,028$, $p=0,027$, $p=0,03$.
- Hemogloblin ve kreatinin ile Gensini skoru ilişkisi pozitif olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 5).

Tablo 5. Hasta grubunda hemogram ve biyokimya değerlerinin istatistiksel bulguları.

Hemogram -biyokimya	Lp-PLA ₂ p değeri	Gensini skor p değeri
Trombosit sayısı	$p=0,168$	$p=0,22$
Trombosit volümü	$p=0,748$	$p=0,869$
Trombosit dağılımı	$p=0,532$	$p=0,626$
Hemogloblin	$p=0,681$	$p=0,026^*$ $r=0,279$
Beyaz küre	$p=0,069$	$p=0,512$
GGT	$p=0,004^{**}$ $r=0,403$	$p=0,838$
AKŞ	$p=0,049^*$ $r=0,251$	$p=0,812$
BUN	$p=0,124$	$p=0,125$
Kreatinin	$p=0,059$	$p=0,029^*$ $r=0,270$
AST	$p=0,056$	$p=0,413$
ALT	$p=0,782$	$p=0,546$
Ürik asit	$p=0,997$	$p=0,453$
LDL kolesterol	$p=0,067$	$p=0,339$
HDL kolesterol	$p=0,732$	$p=0,995$
TG	$p=0,749$	$p=0,604$

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$

- LDL-kolesterolü 130 mg/dl'nin üzerindeki hastalarda, Lp-PLA₂ düzeyi ile Gensini skorları arasında ilişki gözlenmedi (Sırasıyla $p=0,765$, $p=0,297$).
- Hasta grubunda LDL-kolesterol değerleri direkt metodun yanı sıra Friedwald formülü (Total kolesterol = HDL-kolesterol + LDL-kolesterol + TG/5) kullanılarak değerlendirildiğinde direkt yöntem ile güçlü ilişkili bulundu (Şekil 13).

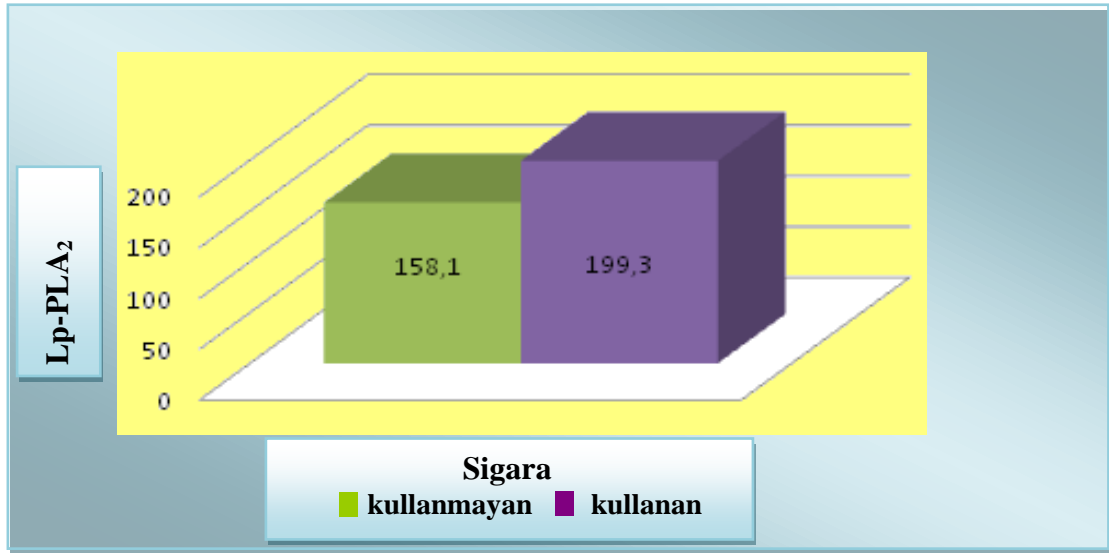


Ortalama \pm SD

Friedwald yöntem	Direkt metod
130,8 \pm 41,2	131,3 \pm 45,6
p=0,044, r=0,861	

Şekil 13. LDL kolesterol Friedwald yöntemi ve direkt metod grafiği.

istatistiksel olarak anlamlı yükseklik bulundu ($p < 0,05$) (şekil 14).



Şekil 14. Sigara kullanan ve kullanmayanlarda Lp-PLA₂ düzeyleri grafiği.

- Sigara kullanan hastalardaki hemoglobin değerlerine baktığımızda, sigara kullanmayan hastalara göre anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$).
- Yaşın risk faktörü olması açısından 50 yaş üzeri ve 50 yaş altı bireyler karşılaştırıldığında istatistiksel olarak Lp-PLA₂ düzeylerinde anlamlı bir fark olmadığı tablo 4’de gösterildi.
- Tüm yaşlara bakıldığında Lp-PLA₂ düzeyi ile yaş arasında kuvvetli negatif ilişki ($p = 0,025$, $r = -0,07$) ve Gensini skoru ile pozitif ilişki ($p = 0,017$, $r = 0,28$) bulundu.
- Ayrıca yaş ile hemoglobin arasında negatif ilişki bulunurken ($p = 0,003$, $r = 0,36$), BUN ile pozitif ilişki bulundu ($p = 0,001$, $r = 0,38$).

Bu alışma Aralık 2008 tarihinde başlatılmış olup, o tarihten günümüze kadar hastalar 6 aylık periyotlarla klinik kontrolden geçirilmektedirler. Klinik durumlarında farklılıkların gözlenmediği kardiyoloji kliniğince rapor edilmektedir.

5. TARTIŞMA

Giriş bölümünde de değinildiği gibi, özellikle batı toplumunda ölümlere en fazla neden olan ateroskleroz tabanlı koroner kalp hastalığı ve iskemik inme üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar, aterosklerozun gelişimi yanında gelişmiş aterosklerozun komplikasyonlarını önlemek, önlenemediği durumlarda ortaya çıkacak hasarın vücut için en az zararlı hale getirilmesine yöneliktir.

Günümüze kadar yapılan gözlemler, kardiyovasküler olayların ve inmelerin %50'sinin aşırı lipid yüksekliliğine bağlı olduğunu, ancak bu grup içinde bile LDL düzeylerinin, MI ve uzun süre engelliliğe neden olan serebral iskeminin bir ön belirteci olmadığını göstermektedir. Bu nedenledir ki çalışmaların büyük çoğunluğu güvenilir bir ön belirteç arayışlarına yönelik olmaktadır.

Kardiyak olayların ve serebral inmelerin çoğunluğu (%68) stenozdan çok, plak yırtılmaları ve tromboz sonucu gelişmektedir (94). Tromboz oluşumunda gelişimin önceden öğrenilmesi çok büyük önem taşımaktadır. Bunun için başlangıçta yüksek duyarlılıkta C-Reaktif Protein (hsCRP) düzeyindeki artışın önemli bir haberci olabileceği önerilmiş ve uygulama alanına konulmuştur (120,126,143,153). Ancak, CRP'nin genel bir inflamasyon belirteci olması, damara özgüllüğü konusunda bir takım tereddütleri de beraberinde getirmekte idi (120,126).

Son dekatta damara özgül inflamasyon belirteci olarak Lipoproteine bağlı Fosfolipaz-A₂ kullanılması önerilmiş, "PLACT-Test" adı altında üretici firma tarafından oldukça iddialı bir şekilde uygulama alanına sokulmuştur. Ancak bu konuda araştırmalar halen sürmektedir.

Şimdiye kadar yapılan araştırma verilerinin çoğunda Lp-PLA₂'nin vasküler inflamasyonun özgül bir belirteci olduğu ve çok sayıda hastayla yapılan epidemiyolojik çalışmalarda inflamasyon belirteçleri ve bilinen kardiyovasküler risk faktörlerinden bağımsız olarak, KAH tahmininde önemli bir yere sahip olduğu ileri

sürülmüştür. Sağlıklı bireylerde, KAH veya inmeli stabil hastalarda yapılan birçok çalışmada benzer sonuçlara ulaşılmıştır. (95,130,131,120,141,143,122,132).

Özellikle bazı fosfolipazların aktiviteleri ateroskleroz ile yakından ilişkili olup, aterogeneizde olası mekanizmanın Fosfolipaz A₂ (PLA₂) aracılığıyla oluşturulan fosfotidilkolin ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Lp-PLA₂, fosfolipidin 2. pozisyonundaki ester bağımlı hidroliz ederek lizofosfotidilkolin ve serbest yağ asidi üretmektedir (99). Bazı çalışmalar, bu ürünlerin proinflamatuvar etki gösterdiğini ve bu nedenle Lp-PLA₂'nin ateroskleroz için önceden haber veren yeni bir belirteç olarak yerini almasını desteklerken, aynı enzimin kalsiyumdan bağımsız olarak okside fosfolipid ve PAF'ın aterojenik etkilerini metabolik yönden önlemesinden dolayı da aterogeneizdeki etkisi tartışılır hale gelmiştir (100).

Lp-PLA₂ enzim aktivitesinin ayrıca, insan aortunda ve meme arterlerinde tespit edilmesi, enzimin fizyolojik rolü konusunda da tartışmaların başlamasına neden olmuştur (103).

Bu çalışmada, fakültemiz uygulama hastanesinde yoğun olarak yapılan koroner anjiyografik incelemelerle birlikte, Lp-PLA₂ ölçümlerimizden elde ettiğimiz sonuçlar ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir.

Sonuçları özet olarak değerlendirdiğimizde; koronerleri hasta olanlarla olmayan grup arasında, plazma Lp-PLA₂ değerleri yönünden anlamlı bir fark bulunmadı. Total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri ise hasta grupta anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Tablo 3). Oysa ARIC çalışma grubunun bulgularına göre LDL-kolesterol düzeyi düşük olan olgularda bile Lp-PLA₂ düzeylerinin anlamlı yüksek olduğu ileri sürülmüştür (130,131).

Bu çalışmalarda, orta yaş kadın ve erkeklerde KAH riski ile Lp-PLA₂ kütle ve CRP düzeyleri 6 yıl boyunca takip edildiğinde, özellikle LDL düzeyi 130 mg/dl altında olan hastalarda Lp-PLA₂ ve KAH önemli derecede ilişkili bulunmuştur (131). Oysa Blake ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada, Lp-PLA₂ düzeyleri hasta

grubunda, kontrol grubuna göre daha yüksek görünse de yaş, cins, ırk, sigara, kilo, LDL, HDL, DM, CRP gibi bilinen risk faktörlerinin düzeltilmesinden sonra bizim bulgumuza benzer olarak Lp-PLA₂ ile KAH arasında anlamlı bir pozitif ilişki bulunamamıştır (128,129,137,107).

ARIC'in LDL ile ilgili bu sonuçlarının önemli olduğunu düşünmekteyiz. Şöyleki: KAH riskinin %50 oranında LDL'ye bağlı olduğunu varsayarsak LDL dışı risk faktörlerine bağlı diğer %50'lik riskin, kardiyovasküler hastalıkta Lp-PLA₂ ölçümü ile önceden tanımının yapılması çok yararlı olabilirdi, ancak bizim bulgularımız ARIC bulgularını destekler nitelikte olmamıştır.

Gerek kontrol gerekse hasta grubunda, LDL-kolesterol düzeyi 130 mg/dl'nin altında olan bireylerde plazma Lp-PLA₂ miktarında anlamlı bir yükseklik saptamadık. Düşük LDL-kolesterolü grupta düşük, yüksek LDL-kolesterolü grupta yüksek Lp-PLA₂ değerleri ile karşılaştık (bkz. Bulgular bölümü şekil 9,10).

Buna karşılık, West of Scotland Coronary Prevention (WOSCOPS) bulgularında kolesterol yüksekliği olan 6595 erkek hastada, Lp-PLA₂ düzeyi en yüksek ¼'lük grupta, en düşük ¼'lük gruba göre, koroner kalp hastalığında 2 kat artmış risk gözlenmiş ve bu çalışmayla Lp-PLA₂ LDL ve diğer inflamatuvar belirteçlerden (CRP, lökosit ve fibrinojen) bağımsız olarak KAH ile ilişkilendirilmiştir (142).

GUSTO IV ve FRISC II çalışmalarında, akut koroner sendromlu hastalar 1 yıl boyunca takip edildiklerinde, Lp-PLA₂ kütlesi en yüksek 1/3'lük grup ile en düşük 1/3'lük grup arasında ölüm oranları açısından bir fark gözlenmemiş; Pravastatin or atorvastatin Evaluation and Infection Therapy–Thrombolysis In Myocardial Infarction (PROVE-IT TIMI) çalışmasında, ortalama 24 ay izlemde Lp-PLA₂ aktivitesi yüksek olan ¼'lük grupta, majör kardiyak iskemik vakaların artışı ile Lp-PLA₂ arasında bağımsız bir ilişki bulunmuştur (137).

Çalışmalardaki uyumsuz sonuçlar, Lp-PLA₂'nin kısa dönemde gelişen kardiyak olayları tahmin etmede etkili bir belirteç olamayacağı, fakat uzun dönemde gelişmeye başlamış duyarlı plağın bir yansıması olabileceğini düşündürmüştür (138).

Lp-PLA₂'nin plazmada LDL-kolesterol ile ilişkili olduğundan bahsedilmişti, ancak Lp(a) düzeyinin plazmada 30 mg/dl üzerinde olduğu durumlarda Lp-PLA₂ Lp(a)'dan etkilenmeye başlamaktadır. Enzimin aterosklerozdaki etkisi, bağlı olduğu lipoprotein tipine göre değişmektedir. Örneğin HDL ile ilişkili Lp-PLA₂'nin, HDL'nin aterogenezi önleyici etkilerine katkıda bulunduğu öne sürülmektedir (105).

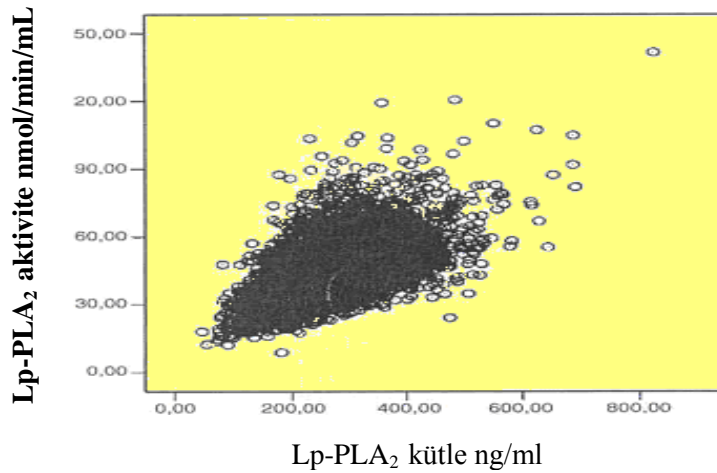
Lp-PLA₂ ve Lp(a) ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada 224 Afrikalı Amerikan ve 336 Kafkas bireyde Apo(a) değerlerine bakılmış ve her iki grupta Lp-PLA₂ değerleri Apo-B, TG, LDL-kolesterol ve Lp(a) değerleri ile pozitif, HDL-kolesterol ile negatif ilişkili bulunmuştur. Kafkas toplumunda Lp-PLA₂ enzim aktivitesi Amerikan toplumuna göre daha yüksek gözlenirken, aterojenik Lp(a) partikülleri üzerinde vasküler inflamasyonun güçlü bir etkisinin olduğu ve bunun etnik kökene bağlı olmadığı ileri sürülmüştür (108).

Yine farklı toplumlarda yapılan çalışmalardan biri Amerikan ve Japon toplumunda planlanmış ve her gruptan 100 katılımcının Lp-PLA₂ düzeyleri karşılaştırıldığında, Amerikalı erkeklerde, Japon erkeklere göre daha yüksek enzim düzeyleri bulunmuştur. LDL-kolesterol düzeyleri 130 mg/dl üzerinde olan Japon erkeklerde, koroner kalsiyum skoru (KKS) ile Lp-PLA₂ arasında ters bağlantı görülmüştür. Her iki grupta LDL ve total kolesterol düzeyleri ile enzim arasında pozitif ilişki bulunurken, Lp-PLA₂ ayarlamaları yapıldıktan sonra kalsifikasyon skorunda bir azalma olmadığı gözlenmiştir (109).

Diyabet gibi dislipidemik durumlarda, lipoprotein partikülleri arasında enzimin dağılımı değişmektedir (104). Artan Lp-PLA₂ düzeylerinin çoğunlukla LDL'nin inflamatuvar etkilerinin artışı ile ilişkili olması, bizim hasta grubunda bulduğumuz kan LDL ve Total kolesterol düzeyleri ile Lp-PLA₂ düzeyleri arasındaki anlamlı pozitif ilişkiyi açıklayabilmektedir. Yapılan çalışmalar da bulgumuzu desteklemektedir.

Lp-PLA₂'nin majör vasküler veya vasküler olmayan hastalık sonuçları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Lp-PLA₂ kütle ve aktivitesi dolaşımdaki inflamatuvar belirteçlerden bağımsız olarak, ateroskleroz ve inflamasyon arasındaki ilişkiyi açıklamamızı sağlayabilir. Bununla ilgili bir çalışmada lipid ve apolipoprotein düzeylerinde ayarlamalar yapıldıktan sonra, KAH riskindeki düşüş ile birlikte Lp-PLA₂ düzeyinin de azaldığı görülmüştür (111).

Lp-PLA₂ enzim aktivitesinin, enzim kütlelerine göre lipid belirteçleri ile daha güçlü ilişkide olması ve ayrıca lipoprotein sınıfları arasında enzimin dağılımının farklı olması, Lp-PLA₂ ölçümünde aktivite mi yoksa kütle mi ölçülmesi gereği tartışmalarını da beraberinde getirmektedir (110). Lp-PLA₂ kütle ve aktivitesi arasında, enzimin etkinliğini göstermesi açısından güçlü ilişki olduğunu ($r=0,57$) ileri süren Malmo Diet ve Kanser çalışmasında, 5402 olguda kardiyovasküler risk faktörleri ile enzimin aktivitesi, külesinden daha güçlü ilişkili bulunmuştur. Enzimin kütle ile lipid arasındaki bağlantı, enzimin aktivitesindeki bağlantı kadar güçlü bulunmazken, hem aktivitede hem kütlede gözlenen artış, karotid intima ve media kalınlığı ile bağlantı göstermektedir. Yine aynı çalışmaya katılan diyabetik bireylerin ve diyabetik olmayan bireylerin Lp-PLA₂ düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (112). Lp-PLA₂ enzim kütle ve aktivitesi arasındaki güçlü ilişkiyi gösteren diğer çalışmalar (şekil 15) bize Gensini skorunu enzimin kütle ile karşılaştırmamızda yol gösterici olmuştur.



Şekil 15. Lp-PLA₂ kütle ve aktivitesi arasındaki ilişki (Atherosclerosis 2006: 190: 388-396)

Genç yetişkinlerdeki Lp-PLA₂ kütlesi ve kalsifiye koroner arter plağı arasındaki ilişki, KAH riskini göstermesi bakımından incelendiğinde, Lp-PLA₂ kütle ve aktivitesinin 266 vakada kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek olduğu ve bu ilişkinin LDL-kolesterol değerlerinden bağımsız olduğu görülmüştür. LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, TG ve CRP gibi diğer değişkenlerde ayarlamalar yapıldıktan sonra, Lp-PLA₂ kütle düzeylerinin subklinik kardiyovasküler hastalık riskini değerlendirmek için kullanılabilir bir belirteç olabileceği belirtilmiştir (149). Bizim enzim kütlesi çalışma kararımız bu ve benzeri çalışmalara dayandırılmıştır. Ancak bizim çalışmamızın sonuçları bu bildiriye kanıtlar nitelik taşımamıştır.

LDL-kolesterolün oksidasyonu ile Lp-PLA₂'nin aterosklerozda etkili olduğu ve sigaranın bu etkiyi daha da kötüye götürdüğü bilinmektedir. Çalışmamızda Lp-PLA₂ ve sigara ilişkisi araştırıldığında, sigara içen hastalarda Lp-PLA₂ düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuş olup (şekil 14, tablo 4), sigara kullanımının Hb değerlerini etkilemediği görülmüştür.

Sigara kullananlarda bulduğumuz Lp-PLA₂ yüksekliğine benzer bir diğer çalışmada, MI veya inme geçirmiş toplam 5840 kişiden sigara kullananlarda ve kadın cinsiyette Lp-PLA₂ enzim aktivitesi ve kütlesi yüksek bulunurken, diyabet ve hipertansiyon bulunan bireylerde düşük Lp-PLA₂ değerleri bulunmuştur. Periferik vasküler hastalık öyküsü bulunanlarda Lp-PLA₂ aktivitesinde artış bulunmuş ve sigara kullanımı bu sonucu değiştirmemiştir. Aynı çalışmada insülin tedavisi alan grupta enzim kütle ve aktivitesinde düşüklük gözlenmiştir (135).

Bir diğer çalışma da endotel fonksiyonlarının asetilkoline tepkisine bakıldığında, sigara kullanmayan 766 hastaya göre 115 sigara kullanan hastada intrakoronar asetilkoline karşı daha fazla vazokonstriksiyon ve epikardiyal endotel disfonksiyon gözlenmiş, bununla beraber sigara kullananlarda Lp-PLA₂ (242 ± 12 ng/ml), lökosit, myeloperoksidaz ve intravasküler adezyon moleküllerinde yüksek değerler bulunmuştur. Sigara kullananlarda mikrovasküler endotelial fonksiyonlar korunurken, epikardiyal koroner endotelial fonksiyon bozukluğu meydana gelmekte ve oksidatif stres ile beraber inflamatuvar belirteçlerin düzeyleri artmaktadır (134).

Bir başka Malmö çalışmasında 6103 birey, bilinen kardiyovasküler risk faktörlerinin Lp-PLA₂ üzerindeki etkilerini araştırmak üzere 10,6 yıl süreyle takip edildiğinde, Lp-PLA₂ aktivite ve kütesinin özellikle sigara içen erkeklerde yaşla birlikte artış gösterdiği bulunmuştur. Lp-PLA₂ ile LDL-kolesterol arasında güçlü ilişki ve glukoz ile zayıf ilişki bulunan bu çalışmada, Metabolik Sendromun Lp-PLA₂ enziminin üzerindeki etkisinden dolayı kardiyovasküler hastalık artışına katkıda bulunduğu iddia edilmiştir (140).

Diğer taraftan plazma Lp-PLA₂ düzeyinin 200 ng/ml üzerinde olduğu bireylerin KAH ve inme riski taşıdığı bildirilmektedir. Lp-PLA₂ değerlerinin 200 ng/ml üzerinde ve altında olduğu hasta gruplarında serum LDL-kolesterol düzeylerine bakıldığında, Lp-PLA₂'nin 200 ng/ml'nin üzerinde seyreden hastalarda LDL-kolesterolün anlamlı olarak yüksek bulunduğunu tespit ettik (şekil 10). Bu bulguyu, Lp-PLA₂'nin plazmada yapısal olarak LDL'ye bağlı olduğunu düşündüğümüzde, mantıklı bir bulgu olarak değerlendirebiliriz.

Ancak düşük serum LDL-kolesterolüne sahip yaklaşık %50 oranındaki koroner kalp hastasının önceden belirlenmesinde Lp-PLA₂'nin yardımcı olacağına ilişkin ARIC bulguları ile bulgularımızın bağdaşmadığını gözlemlemiş durumdayız.

Bilindiği gibi Gensini skoru, koroner damarlardaki plakların büyüklüğüne ve yerleşim yerlerine göre belirlenen sayısal bir yöntemdir. Yirminin üzerindeki sayısal değerlere sahip hastalar majör riskli olarak tanımlanır. Ölçtüğümüz plazma Lp-PLA₂ değerleri ile bu skor arasında ilişki olup olmadığını araştırdığımızda majör riskli grupta anlamlı bir sonuç bulmamamıza karşın düşük riskli grupta anlamlı bir ilişki ile karşılaştık (şekil 11,12). Ancak şunu söyleyebiliriz ki; majör riskli gruptaki ilişki eğrisinin karakteri ve p değerinin anlama yakınlığı, olgu sayısı artırıldığında Lp-PLA₂ değerleri ile Gensini skorlarının ilişki içinde olacağı izlenimini vermektedir. Bu ise Lp-PLA₂'nin, anjiyografik inceleme öncesi anjiyografik bulgular hakkında fikir sahibi olma olanağı verebileceğini düşündürmektedir. Bu yüzden daha fazla sayıda, çok örnekli yeni bir çalışma yürütülmesi önerilmektedir.

Bizim çalışmamızdaki bulgularda, Lp-PLA₂ düzeyi 200 ng/ml altında bulunan bireylerden Gensini skoru 20'den düşük olanlarda plak varlığı ve enzim ilişkisi düzeyi $p=0,016$, $r=0,3$ idi. Diğer taraftan Lp-PLA₂ düzeyi 200 ng/ml üzerinde bulunan bireylerde Gensini skor ile bir ilişki bulmamıza neden olarak, Lp-PLA₂ düzeyi 200 ng/ml üzerinde kitin özgülüğünün azalabileceği olasılığını göstermekteyiz. Biyokimyasal yünden, bu çalışma için bir öz eleştiri yapmamız gerekir ise, uyguladığımız Lp-PLA₂ ölçüm yöntemini araştırmamız öncesi irdelilememiş olmamız ve çalışmada kit kullanıp, üretici firma tarafından irdelenmiş olduğunu peşin olarak kabul etmemizdir.

Ateroskleroz gelişmesinde önemli risk faktörleri olan yaş, cinsiyet, aile öyküsü, HDL-kolesterol düşüklüğü, beden kitle indeksi ve hipertansiyon gibi faktörlerle plazma Lp-PLA₂ düzeyleri arasında istatistiksel bir ilişki olup olmadığı araştırıldığında, hiçbiri ile anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır (tablo 4). İlk bakışta bu bulgu yadırganabilir gibi görünse de Lp-PLA₂'nin bağımsız bir risk faktörü olduğunu belirten araştırmacıları doğrular niteliktedir (154,150,130,131,113,120).

Bir çalışmada klinik bulgu verip, anjiyografi sonucu şiddetli kalp damar hastalığı veya majör kardiyak hastalığı bulunan 504 hasta koroner kalp hastalığı riski ve Lp-PLA₂ ilişkisi araştırılmak üzere 4 yıl takip edildiğinde, 200 ng/ml'den düşük vakaların %95'inde bu süre içinde herhangi bir kardiyak probleme rastlanmadığı, 200 ng/ml'den yüksek hastalarda ise kardiyak riskin arttığı görülmüştür. Bu çalışmada 200 ng/ml değeri, Lp-PLA₂ için risk sınırı olarak kabul edilmiştir (151).

MONICA çalışmasında, 45-65 yaşları arasında ılımlı hiperkolesterolemisi olan 934 erkek, Lp-PLA₂ düzeyleri ve KAH riski arasındaki ilişkiyi değerlendirmek üzere 14 yıl boyunca takip edilmiştir. Total kolesterol/HDL kolesterol, beden kitle indeksi ve hsCRP ayarlamaları yapıldıktan sonra, Lp-PLA₂'nin koroner hastalık risk artışı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca yüksek Lp-PLA₂ (>290.8 ng/ml) ve CRP (>3 mg/l) kombinasyonun, ileride gelişecek koroner hastalıklar için önemli bir risk

faktörü olabileceği ve Lp-PLA₂ düzeylerinin yüksek risk taşıyan kimselerin belirlenmesinde yardımcı olabileceği belirtilmiştir (154).

Yapılan çalışmalarda aterogenezdaki inflamasyonun, özellikle ikinci dekadı geçen bireylerde ve ileri yaşta önemli ölçüde arttığı anlaşılmıştır (95,96). İleri yaşın KAH için bir risk faktörü olmasını göz önüne aldığımızda, yaş ile Lp-PLA₂ arasında beklenilenin tersine negatif ilişki bulunurken, yaş ile Gensini skoru arasında ise anlamlı bir ilişki bulunmadı. Bizim bulgumuzu destekleyen bir çalışma MI geçiren 271 hasta üzerinde yapılmış ve Lp-PLA₂ düzeyi en yüksek olan 1/3'lük grupta bir yıl içindeki ölüm oranının 5 kat attığı bulunmuştur. Lp-PLA₂ düzeylerindeki artışın, ilerlemiş veya rüptüre eğilimli plak varlığında iyi bir belirteç olabileceği belirtilmiştir. 200 ng/ml'den düşük Lp-PLA₂ değerlerinde kardiyovasküler olaylar için yüksek negatifliği tahmin oranı %95 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada, Lp-PLA₂ ile Total kolesterol, LDL-kolesterol ve sigara kullanımı arasında pozitif ilişki, yaş ile bizim çalışmamızın sonucuna benzer şekilde negatif ilişki bulunmuştur. Lp-PLA₂ ile Diabetes Mellitus, hipertansiyon, beden kitle indeksi arasında ise anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (150).

Bir başka çalışmada, daha önceden KAH geçirdiği bilinen 1051 hasta 4 yıl izlenmiş ve bu süre içerisinde 90 hastada MI veya inme geliştiği gözlenmiştir. Lp-PLA₂ düzeyi 223 ng/ml üzerindeki bireylerden en düşük 1/3'lük grupta olanlarda Sistatin-C, lipid ve NT-Pro BNP ayarlamaları yapıldıktan sonra 2 kat artmış KAH riski görülmüştür. Mayo Heart çalışmasında da Lp-PLA₂ için kardiyovasküler risk sınırının 200 ng/ml olduğu açıklanmıştır. Bu çalışmada tekrarlayan KAH ile Lp-PLA₂ aktivitesi arasında önemsenecek derecede bir ilişki olduğu belirtilmiş ve LDL ayarlamaları yapıldıktan sonra Lp-PLA₂ aktivitesinde önemli ölçüde azalma gözlenmiştir (132).

Tsimikas ve arkadaşları, Lp-PLA₂ aktivitesi ile KAH (p=0,004) ve inme/geçici iskemik atak riski (p=0,045) arasındaki ilişkide anlamlı bir artış bulmuşlardır. İnsulin resistansı bulunan bireylerden, yüksek ferritin ve düşük antioksidan seviyelerine sahip olanların da yüksek Lp-PLA₂ düzeylerine rastlamışlardır (116).

Kim ve arkadaşları oksidatif stres ile Lp-PLA₂ ilişkisini ele aldıklarında, oksidatif araşidonik asit derivesi olan 8-Epi-Prostaglandin F₂ α ve Lp-PLA₂ aktivitesinin KAH ile ilişkili olarak arttığını bulmuşlardır (p=0,0001, r=0,27) (118). Bir başka çalışmada ise Lp-PLA₂'nin, vücut sıvılarında okside araşidonik asit derivelerini (PGF gibi) serbestleştirdiği, hastalarda 8-Epi-PG F₂ α ve Lp-PLA₂ artışına okside fosfolipid üretiminin eşlik ettiği ileri sürülmüştür (119).

Daha 2000'li yılların başlarında, makrofajlardaki oxLDL'nin apoptotik ve sitotoksik etkileri üzerinde Lp-PLA₂'nin rolü araştırılmaya başlanmıştır. Lp-PLA₂ inhibisyonu ile lizofosfotidilkolin ve serbest yağ asidi üretiminin azaldığı görülmüş ve enzim aracılığıyla oxLDL'nin hidrolizi ile üretilen bu ürünlerin, aterom plağında makrofaj ölümünden büyük ölçüde sorumlu olduğu belirtilmiştir. Bu mekanizmayla Lp-PLA₂'nin aterosklerozdaki direkt etkisi açıklanmaya çalışılmıştır (105).

Lp-PLA₂ konsantrasyonlarının lipid belirteçleri, inflamatuvar ve homeostatik parametrelerle karşılaştırıldığı bir çalışmada Lp-PLA₂'nin hsCRP, serum amiloid A, Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1), IL-6, ICAM -1, lökosit sayısı, fibrinojen, D-dimer, Lp(a) gibi belirteçlerden bağımsız bir kardiyovasküler risk belirteci olduğu öne sürülmüştür (152).

“National Cholesterol Education Program (NCEP)” tarafından yayımlanan ateroskleroz risk faktörlerinden Klamidya enfeksiyonunun KAH ile ilişkisi şu çalışmada gösterilmiştir. 42 endarterektomi yapılan hasta dokusunda Lp-PLA₂, makrofajlar, IL-6, C. pneumoniae, CD4 ve CD8 immunohistokimyasal metotla boyandığında; ateroskleroz için risk faktörleri (sigara kullanımı, koroner arter hastalığı bulunması, kolesterol yüksekliği, obezite, HT ve aile öyküsü) ile plak içeriği ve serumdaki Lp-PLA₂ düzeyleri arasında ilişki bulunamamış, fakat plak içeriğindeki Lp-PLA₂ ve serum homosistein düzeyleri ile plaktaki makrofajlar ve C. pneumoniae arasında ilişki görülmüştür. C. pneumoniae makrofajları infekte ederek aterosklerozdaki inflamasyonun gelişmesinde birebir rol aldığı için, Lp-PLA₂ üretimi ile de plaklı dokudan inflamatuvar mediatörlerin salınımına yol açtığı öne sürülmüştür (107).

Patolojik olarak ince fibröz kılıf ve fibroadenomu bulup intima kalınlığının azaldığı belirlenen 25 ani ölüm vakasında, kalsifiye plaklı bölgeki Lp-PLA₂'nin belirlenmesi için Lp-PLA₂ antikoru kullanılarak boyama yapılmış ve erken evredeki vakalarda az miktarda boyanma, geç evredeki vakalarda ise yoğun bir boyanma gözlenmiştir. Bundan dolayı da Lp-PLA₂'nin apoptotik makrofajlarla birlikte lokalize olduğu ve buna göre Lp-PLA₂'nin zayıf veya rüptüre plakta makrofajların çevresinden ve nekrotik çekirdekten güçlü bir şekilde salgılandığı sonucuna varılmıştır (90).

Avrupa toplumunda abdominal obezite ve fiziksel aktivitenin KAH insidansına ve inflamasyon belirteçlerindeki değişime katkısının araştırıldığı bir çalışmada, fiziksel aktivite ile CRP, sPLA₂, fibrinojen ve adiponektin arasında doğrusal ilişki bulunmuş ve özellikle hormon tedavisi alan bayanlarda CRP, sPLA₂, adiponektin düzeyleri artarken Lp-PLA₂ düzeylerinde artış olmadığı görülmüştür (148).

Hormon tedavisi alan ve hasta grubunun büyük kısmını Lp-PLA₂ yüksekliği olan iskemik inme geçirmiş ileri yaş kadınların oluşturduğu bir çalışmada, 37 postmenapozal kadının Lp-PLA₂ düzeyleri ile inme ilişkisi incelenmiş ve hormon tedavisi alan grupta Lp-PLA₂ ile inme arasındaki ilişki önemsiz bulunurken, hormon tedavisi almayan kişilerden Lp-PLA₂ ve CRP yüksekliği saptananlarda inme riskinin 2 kat fazla olduğu bulunmuştur (121). Hormon tedavisi alan orta yaş, küçük bir grupta ise Lp-PLA₂ ile ılımlı olarak negatif ilişki saptanmıştır (129).

Rotterdam'da yapılan bir çalışmada, genel toplumda kalp yetmezliği için Lp-PLA₂'nin bir risk faktörü olarak yükselmesinin beklenmediği açıklandı, fakat Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada kalp yetmezliği bulunan 646 hastada Lp-PLA₂ kütle düzeyi ile artmış ölüm riski ilişkili bulunmuş ve 80 yaşından küçük genç gupta, Lp-PLA₂'nin sağ kalımı önemli bir şekilde etkilediği rapor edilmiştir (114). Yine kalp yetmezliğinde enzimin etkisini anlamak için yapılan Cardiovascular Health çalışmasında da Lp-PLA₂'deki yüksekliğin kalp yetmezliğindeki artmış riskle ve sol ventrikül kütlesiyle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (123).

KOENİNG Güney Almanya'da MONICA bölgesinde yaptığı çalışmada, orta yaş sağlıklı erkekleri 14 yıl boyunca izlediğinde 97 erkek hastada en az bir kez KAH geliştiğini ve bu hastalardaki Lp-PLA₂ değerlerinin KAH geçirmeyenlere göre önemli derecede yüksek olduğunu görmüştür (126). Rancho Bernardo ve arkadaşları ise 1077 sağlıklı kadın ve erkeği KAH risk faktörleri ayarlamaları yapıldıktan sonra 16 yıl takip etmiş, ortalama yaşı 72 olan bireylerin 228'inde KAH geliştiğini ve Lp-PLA₂ kütle düzeyi düşük ¼'lük gruba göre yüksek ¼'lük grupta KAH riskinde artış bulduklarını ileri sürmüşlerdir (p<0,05) (127).

Korsetti ve arkadaşları, MI geçirmiş, diyabetik olmayan 766 hastayı trombojenik faktörler ve kardiyovasküler hastalık tekrarlama riski açısından 2 yıl izlediklerinde Lp-PLA₂ yüksek vakalarda Lp-PLA₂'nin tekrarlayan KAH için bağımsız bir belirteç olabileceğini söylemişlerdir (tehlike oranı: 1,9) (95% CI:1,31-2,75) (133).

Bütün bu çalışmalar bize gösteriyor ki Lp-PLA₂ geniş bir araştırmacı kitlesi tarafından önemsenmiş, çok örnekli ve uzun süreli araştırmalara konu olmuştur. Araştırma verileri genel olarak değerlendirildiğinde, çoğunlukla Lp-PLA₂ düzeyinin yüksekliği ile KAH arasında bir ilinti olabileceği görüşü hâkim olsa da, aksi bulgular da dikkati çekmektedir. Bütün bu çalışmalardan aldığımız izlenim, Lp-PLA₂ yüksekliğinin ateroskleroz oluşumuna sebep olma riskinden çok, oluşmuş aterosklerozun tromboenez riskinin bir göstergesi olabileceği yönünde gelişmektedir.

Bizim bulgularımız da, henüz erken olmasına rağmen, bu görüşü destekler niteliktedir. Zira biz koroner plaklı olgularla plaksız olgular arasında kan Lp-PLA₂ miktarı yönünden bir fark bulamadık. Bu yüzdendir ki, çalışmamızı plak stabilitesi ile ilgili prognoz yönüne yoğunlaştırmayı düşünmekteyiz. Bu amaçla iki yıldır hastalarımızı takip etmekteyiz. Özellikle kan Lp-PLA₂ kütle miktarı yüksek olguların kişisel ve dosya düzeyinde yapılan izlenimlerinde, gerek MI gerekse inme yönünden bir gelişimle henüz karşılaşmadık, bunun için sürenin henüz erken olabileceğini düşünmekteyiz.

Araştırmalarımız sırasında Lp-PLA₂ ile serum GGT arasında negatif ilişkiye rastladık. Son zamanlarda; serum GGT düzeylerinin karaciğer hastalığı ve alkol alımı tanısı dışında, memeliler için başlıca antioksidan olan Glutation'un ekstraselüler katabolizmasından sorumlu olduğu düşüncesinden hareketle, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalık göstergesi olduğu ileri sürülmektedir (tablo 5) (155).

Bizim bulgumuz, diğer araştırmacıların sonuçlarına ters düşmektedir. Ancak, Lp-PLA₂'nin oksidatif stres ve antioksidan durumla direkt ilişkisinin olmamasının, bulgunun açıklanmasına yardımcı olacağı düşüncesindeyiz.

Her ne kadar çalışma grubumuza diyabetli olguları almamış olsak da, açlık kan şekeri (AKŞ) ile Lp-PLA₂ düzeyleri arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır (tablo 4).

Tip 2 diyabet hastalığı olan ve kardiyovasküler hastalık için yüksek risk taşıyan 740 erkek 10 yıl süreyle ve 777 kadın 14 yıl süreyle takip edildiğinde erkeklerin 178'inde, kadınların 146'sında KAH geliştiği görülmüştür. Bu gelişimde Lp-PLA₂ ile kan glukoz düzeyindeki ilişki olasılığını bulgularımız desteklemektedir (113).

Bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçların genel bir değerlendirmesini yaptığımızda; plazma Lp-PLA₂ kütle ölçümlerinin kaynakların çoğunda belirtildiği gibi aterosklerozun belirteci niteliği taşıdığına ilişkin kesin yargıya şüphe ile yaklaşılması gerektiğini düşünmekteyiz, ancak Lp-PLA₂'nin KAH ve inme n habercisi olabileceğini söyleyebilmek için geniş kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu şeklinde bir sonuca varmış bulunmaktayız.

6. SONUÇ

Koroner arter hastalığı riskine sahip bireylerde bulunan ileri yaş, kanda total kolesterol ve LDL-kolesterol yüksekliği, hipertansiyon, sigara kullanımı, Diabetes Mellitus, ailede koroner arter hastalığı bulunması ve HDL-kolesterol düşüklüğünün dahil olduğu birçok risk faktörünün önüne geçilmesi bu hastaların korunmasında ilk basamak olarak tavsiye edilmektedir (99).

Aterotrombozun patofizyolojisi ile ilişkili subklinik veya genetik belirteçler, KAH belirtilerinin ön habercisi olarak tedavide yol gösterici olmaktadır. Bu bilgiden yola çıkarak Lp-PLA₂'nin KAH riskini azaltmak için yeni tedavi hedefleri gösterebileceği ve aterosklerotik plaktan üretilen Lp-PLA₂ miktarı ile aterom plak yüzdesinin önemli derecede ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (60).

Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında Lp-PLA₂ düzeyleri ile Gensini skor arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, total kolesterol ve LDL-kolesterol değerleri hasta grubunda anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Lp-PLA₂ kütle düzeyi ile HDL-kolesterol, BKİ, aile öyküsü, hipertansiyon ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı. LDL kolesterol 130 mg/dl'nin üzerinde bulunan hastalarda Lp-PLA₂ düzeyleri, Lp-PLA₂ 200 ng/ml'nin üzerinde olan hastalarda LDL kolesterol düzeyleri, anlamlı olarak yüksek bulundu. Lp-PLA₂<200 ng/ml olan hastalar ile minör riskli grup arasındaki ilişki anlamlı bulundu. Lp-PLA₂ ile sigara kullanımı ve AKŞ pozitif ilişkili, Lp-PLA₂ ile GGT negatif ilişkili bulundu. Yaş ile Lp-PLA₂ düzeyi arasında negatif ilişki, yaş ile Gensini skoru arasında pozitif ilişki bulundu. Ayrıca yaş ile hemoglobin arasında negatif ilişki bulunurken, BUN ile pozitif ilişki bulundu. Hasta grubunda Gensini skoru ile hemoglobin ve kreatinin ilişkisi pozitif olarak anlamlı bulundu.

Bulgularımızın literatürlerdeki uyumsuz sonuçlarla karşılaştırılması için henüz çok erken olduğunu, ileride farklı yöntemlerle yapılacak benzer çalışmaların çok sayıda hasta üzerinde ve bu hastaların uzun dönemde takibi sonucunda ulaşılabilecek bulgularla tekrar değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKÇA

1. Alessandro Menotti, Mariapaola Lanti, Daan Kromhout, Henry Blackburn, Aulikki Nissinen, Anastasios Dontas, Antony Kafatos, Srecko Nedeljkovic and Hisashi Adachi. Forty year coronary mortality trends and changes in major risk factors in the first 10 year of follow up in the seven countries study. *Eur. J. Epidemiol.* 2002; 22:11, 747-754.
2. Rosengren B, Jönsson-Rylander AC, Peilot H, Camejo G, Hurt-Camejo E. Distinctiveness of secretory phospholipase A2 group IIA and V suggesting unique roles in atherosclerosis. *Biochim. Biophys. Acta.* 2006 Nov; 1761(11): 1301-8.
3. Andrew Zalewski, Jeanette J. Nelson, Lisa Hegg, Colin MacPee. Lp-PLA₂; a New kid on the block. *Clinical chemistry.* 2006; 52: 9,1645-1650
4. Margaretha Persson, Jan-Åke Nilsson, Jeanette J. Nelson, Bo Hedblada, Göran Berglund. The epidemiology of Lp-PLA₂: Distribution and correlation with cardiovascular risk factors in a population-based cohort. 2007 February; 190: 2, 388-396.
5. Packard CJ, O'Reilly DSJ, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J, Macphie CH. Lp-PLA₂ an independent predictor of coronary heart disease WOSCOPS Group. *Engl. J. Med.* 2000; 343: 1148-1155.
6. Colin H Macphie. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a potential new risk factor for coronary artery disease and a therapeutic target. *Current Opinion in Pharmacology.* 2001 April; 1: 2, 121-12.
7. Davignon J and Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. 2004; 109. (suppl 1): III27-III32
8. Expert panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adult. Executive Summary of the third report of National Cholesterol Education Program (NCEP). *JAMA.* 2001; 285: 2486-2497.
9. M Naghavi, P Libby, E Falk, SW Casscells, S Litovsky. From vulnerable plaque to vulnerable patient. A call for new definition and risk assessment strategies. 2003; Part I. 108: 1664-1672.

10. Williams Kevin Jon, Tabas Ira. The response to retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995; 15: 551-561.
11. Judith A Berliner, Jay W Heinecke. The role of oxidised lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic. Biol. Med.* 1996; 20: 707-727.
12. Stefan John, Markus Schlaich, Matthias Langenfeld, Horst Weihprecht, Gerd Schmitz, Gottfried Weidinger, Roland E Schmieder. Increased bioavailability of nitric oxide after lipid lowering therapy in hypercholesterolemic patients. A randomized placebo-controlled, double blind study. 1998; 98: 211-216.
13. Judith A Berliner, Mohamad Navab, Alan M Fogelman, Joy S Frank, Linda L Demer, Peter A Edwards, Andrew D Watson, Aldons J Lusis. Atherosclerosis: Basic mechanisms oxidation, inflammation and genetics. 1995; 91: 2488-2496.
14. Metcalf D. Hematopoietic cytokines. *Blood.* 2008; 111: 485-491.
15. Sweet MJ and Hume DA. CSF-1, AS a regulator of macrophage activation and immune responses. *Arch. Immun. Ther. Exp.* 2003; 51: 169-177.
16. Mertens A, Holvoet P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB J.* 2001; 15: 2073-2084.
17. Nagy L, Tontonoz P, Alvarez JGA, Chen H, Evans RM. Oxidised LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPAR *Cell.* 1998; 93: 229-240.
18. Lusis AJ. Arteriosclerosis. *Nature.* 2000; 407: 233-240.
19. Yin Tintut, Jignesh Patel, Farhad Parhami, Linda L Demer. TNF alpha promotes in vitro calcification of vascular cells via cAMP pathway. 2000; 102: 2636-2642.
20. Mathew, Verghese, Cannan, Charles R. MB, Miller, Virginia M, Barber, Dustan A, Hasdai, David, Schwartz, Robert S, Holmes, David R, Lerman, Amir. Enhanced endothelin mediated coronary vasoconstriction and attenuated basal nitric oxide activity in experimental hypercholesterolemia. 1997; 96: 1930-1936.
21. Kaeko Iiyama, Leena Hajra, Motoi Iiyama, Hongmei Li, Maria DiChiara, Benjamin D. Medoff, Myron I Cybulsky. Patterns of vascular cell adhesion molecule-1 and intracellular adhesion molecule-1 expression in rabbit and mouse atherosclerotic lesions and at sites predisposed to lesion formation. 1999; 85: 199-207.

22. Myron I. Cybulsky, Kaeko Iiyama, Hongmei Li, Suning Zhu, Mian Chen, Motoi Iiyama, Vanessa Davis, Jose-Carlos Gutierrez-Ramos, Philip W. Connelly and David S. Milstone. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J. Clin. Invest.* 107, 1255-1262
23. ZM Dong, AA Brown, DD Wagner. Prominent role of P-selectin in the development of advanced atherosclerosis in apo-E deficient mice. 2000; 101: 2290-2295.
24. SC Whitman, P Ravisankar, A Daugherty. IL-18 enhances atherosclerosis in Apo E mice through release of inf-gamma. *Am. Heart. Assoc.* 2002; 90: e34-e38.
25. Libby P, Hansson GK. Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions. *Lab. Invest.* 1991; 64: 5-15.
26. Thomas A Pearson, George A Mensah, R Wayne Alexander, Jeffrey L Anderson, Richard O Cannon, Michael Criqui, Yazid Y Fadl, Stephen P Fortmann, Yuling Hong, Gary L Myers, Nader Rifai, Sidney C Smith, Jr, Kathryn Taubert, Russell P Tracy, Frank Vinicor. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and american heart association. 2003; 107: 499-51.
27. Mary Cushman, Alice M Arnold, Bruce M Psaty, Teri A Manolio, Lewis H Kuller, Gregory L Burke, Joseph F Polak, Russell P Tracy. CRP and 10 year incidence of coronary heart disease in older men and women the cardiovascular health study. 2005; 112: 25-31.
28. Hector M, Garcia-Garcia and Patrick W Serruyus. Phospholipase A2 inhibitors. Current option in lipidology. 2009; 20: 327-332.
29. Göran K Hansson, Peter Libby, Uwe Schönbeck, Zhong-Qun Yan. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. 2000; 91: 281-91.
30. Peter Libby, PM Ridker, A Maseri. Inflammation in Atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009; 54: 23.
31. Guangyu An, Huan Wang, Rong Tang, Tadayuki Yago, J Michael McDaniel, Samuel McGee, Yuqing Huo, Lijun Xia. P-selectin glycoprotein ligand-1 is highly expressed on Ly-6C^{hi} monocytes and a major determinant for Ly-6C^{hi} monocyte recruitment to sites of atherosclerosis in mice. 2008; 17: 3227-37.

32. Jiusong Sun, Galina K Sukhova, Paul J Wolters, Min Shiro Kitamoto, Peter Libby, Lindsey A MacFarlane, Jon Mallen-St Clair, Guo-Ping Shi. Mast cells promote atherosclerosis by releasing proinflammatory cytokines. *Nature Medicine*. 2007; 13: 719-24.
33. Healy AM, Pickard MD, Aruna D Pradhan, Yunmei Wang, Zhiping Chen, Kevin Croce, Masashi Sakuma, Can Shi, Alexandre C Zago, Joseph Garasic, Andrew I Damokosh, Tracy L Dowie, Louis Poisson, James Lillie, Peter Libby, Paul M Ridker, Daniel I Simon. Platelet expression profiling and clinical validation of myeloid related protein 14 as a novel determinant of cardiovascular events. 2006; 113: 2278-84.
34. John Danesh, D Phil, Jeremy G Wheeler, Gideon M Hirschfield, Shinichi Eda, Gudny Eiriksdottir, Ann Rumley, Gordon DO Lowe, Mark B Pepys, Vilmundur Gudnason. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 1387-97.
35. Corti R, Hutter R, Badimon JJ, Fuster V. Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis. *J. Thrombosis and Thrombolysis*. 2004; 17: 35-44.
36. Mrhta SR and Yusuf S. Short and long termoral antiplatelet therapy in acute coronary syndromes and percutaneous coronary intervention. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003; 41: 79S-88S.
37. Ajjan RA and Grant PJ. Role of clotting factors of fibrin structure in predisposition to atherotrombotic disease. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 2005; 3: 1047-1059.
38. Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C, Stafforini DM, Dietsch G, Schimpf B, Hooper S, Le Trong H, Cousens LS, Zimmerman GA. Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature*. 1995; 374(6522): 549-53.
39. Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J, Macphee CH, Suckling KE, Krishna M, Wilkinson FE, Rumley A, Lowe GD. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 2000; 150: 413-9.
40. Schaloske RH. Dennis EA. The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. *Biochim. Biophys. Acta*. 2006; 1761: 1246-1259.

41. Hector M. Garcia, Patrick W, Serruys. Phospholipase A2 inhibitors. 2009; 20: 327-332.
42. Chu-Huang Chen. Platelet –activating factor acetylhydrolase: is it good or bad for you? *Current lipidology*. 2004; 15: 337-341.
43. Bostrom MA, Boyanovsky BB, Jordan CT, Wadsworth MP, Taajes DJ de Beer RC, Webb NR. Group V secretory phospholipase A₂ promotes atherosclerosis: evidence from genetically altered mice. *Atheroscler. thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27: 600- 606.
44. Anna-Maria Kampoli, Dimitris Tousoulis, Charalambos Antoniades, Gerasimos Siasos and Christodoulos Stefanadis. Biomarkers of premature atherosclerosis. *Trends in molecular medicine*. 2009; 15: 7.
45. Amir L, Joseph P, Mc Connell. Lp-PLA₂: A risk marker or a risk factor? 2008; 101: 11F-22F.
46. Jeffrey L. Anderson MD. Lp-PLA₂: An Independent predictor of coronary artery disease events in primary and secondary prevention *Am. J. Cardiol.* 101: 23F-33F.
47. MJ Caslake, J Cooney, E Murray, D Bedford, M. Lp-PLA₂ risk factor for coronary vascular disease in the elderly. *Proceedings from the XIV Internationals symp. On Atheroscl.* 2006 june; 18-22, page 484.
48. Dallit Mannheim, Joerg Herrmann, Daniele Versari, Mario Gössl, Fredric B Meyer, Joseph P McConnell, Lilach O Lerman, Amir Lerman. Enhanced expression of Lp-PLA₂ and lysophosphatidylcholine in symptomatic plaques. *Stroke*. 2008; 39: 1448-1455.
49. Cederholm A, Svenungsson E. PAH-AH and other novel risk and protective factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Reum.* 2004; 50: 2869-2876.
50. Jeffrey L. Anderson MD. Lp-PLA₂: An Independent predictor of coronary artery disease events in primary and secondary prevention. *Am. J. Cardiol.* 101: 23F-33F.
51. Karl Winkler, Bernhard R Winkelmann, Hubert Scharnagl, Michael M Hoffmann, Andrea Busse Grawitz, Markus Nauck, Bernhard O Böhm, Winfried März. PAF-AH activity indicate angiographic coronary artery disease independently of systemic inflammation and other risk factors. 2005; 111: 980-987.
52. Khuseyinova N, Imhof A, Rothenbacher D, Trischler G, Kuelb S, Scharnagl H. Association between Lp-PLA₂ and coronary artery disease: focus on its relationship

- with lipoproteins and markers of inflammation and homeostasis(HELICOR). *Atherosclerosis*. 2005; 182: 181-188.
53. Burke JE, Dennis EA. Phospholipase A₂ biochemistry *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2009; 23: 49-59.
 54. Min JH, Jain MK, Wilder C, Paul L, Apitz-Castro R, Aspleaf DC, Gelb MH. Membrane bound plasma PAF-AH acts on substrate in the aqueous phase. *Biochem.* 1999; 38: 12935-12942.
 55. ShiY, Zhang P, Zhang L, Osman H, Mohler ER, Macphee C. Oksidized LDL induced upregulation of IL-18 in monocytes/macrophages is modulated by Lp-PLA₂: potential mechanism of inflammatory burden in atherosclerosis. 2006; 114:II-24. Abst. 258.
 56. Yoshiyuki Rikitake, Ken-ichi Hirata, Tomoya Yamashita, Kenji Iwai, Seiichi Kobayashi, Hiroshi Itoh, Masanori Ozaki, Junya Ejiri, Masashi Shiomi, Nobutaka Inoue, Seinosuke Kawashima, Mitsuhiro Yokoyama. Expression of G2A, a receptor for lyzoPC, by macrophages in murine, rabbit and human atherosclerotic plaques. *Ather. Tromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 2049-2053.
 57. Diana M Stafforini, Larry W Tjoelker, Sally P A McCormick, Darius Vaitkus, Thomas M. McIntyre, Patrick W Gray, Stephen G Young, Stephen M Prescott. Molecular basis of the interaction between PAF-AH and LDL. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 7018-70124.
 58. Alexandros D Tselepis, Sonia-Athena P Karabina, Dominique Stengel, Remi Piédagnel, M John Chapman, and Ewa Ninio. N-linked glycosylation of macrophage derive PAF-AH is a major determinant of enzyme association with plasma HDL. *J. Lipid Res.* 2001; 278: 3937-3947.
 59. Carlos Iribarren, Myron D Gross, Jeanne A Darbinian, David R Jacobs, Stephen Sidney, Catherine M Loria. Lp-PLA₂ mass and activity with calcified coronary plaque in young adults: the CARDIA study *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 216-221.
 60. R Safaya, H Chai, P Lin, A Lumsden, Q Yao, C Chen. Effect of lysophosphatidylcholine on vasomotor functions of porcine coronary arteries. *J. Surg. Res.* 2005; 126: 182-188.

61. Christie M Ballantyne, Ron C Hoogeveen, Heejung Bang, Josef Coresh, Aaron R Folsom, Gerardo Heiss, A. Richey Sharrett. Lp-PLA₂, hs CRP and risk for incident heart disease in middle aged men and women in the ARIC study. 2004; 109: 837-842.
62. Marshall A Corson, Peter H Jones, Michael H Davitson. Review of the evidence for the clinical utility of Lp-PLA₂ as a cardiovascular risk marker. 2008; Am. J. Cardiol. 101: 41F-50F.
63. Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, Melnyre TM. PAF and related lipid mediators. Annu Rev. Biochem. 2000; 69: 419-45.
64. Wei Y, Swenson L, Castro C, Derewanda U, Minor W, Arai H. Structure of microbial homologue of mammalian PAF: *Streptomyces exfiatus* lipase at 1,9 Å resolution. Structure. 1998; 6: 511-9.
65. Tjioeker LW, Eberhart C, Unger J, Trong HL, Zimmerman GA, Melntyre TM. PAF is a secreted phospholipase A₂ with a catalytic triad. J. Biol. Chem. 1995; 270: 25481-7
66. Derewanda ZS, Ho YS. PAF-AH. Biochim. Biophys. Acta. 1999; 1441: 229-36.
67. Stafforini DM, Tjoelker LW, Mc Cornick SP, Vaitkus D, Melntyre TM, Gray PW. Molecular basis of the interaction between plasma PAF-AH and LDL. J. Biol. Chem. 1999; 274: 7018-24.
68. Scanu AM, Bamba R. Niacin and lp(a): facts, uncertain and clinical consideration. Am. J. Card. 2008; 20: 171-7.
69. Stefan Kiechl, Johann Willeit, Manuel Mayr, Brigitte Viehweider, Martin Oberhollenzer, Florian Kronenberg, Christian J Wiedermann, Sabine Oberthaler, Qingbo Xu, Joseph L Witztum, Sotirios Tsimikas. Oxidised phospholipid, lp(a), Lp-PLA₂ activity and 10 year cardiovascular outcomes: prospective results from the Bruneck study. 2007; 27: 1788-95.
70. Tjioeker LW, Wilder C, Eberhardt C, Stafforini DM, Dietsch G, Schimpf B. Anti inflammatory properties of PAF-AH. Nature. 1995; 374: 549-53.
71. Daniels LB, Barrentt Connor E, Sarno M, Laughlin GA, Bettencourt R, Wolfert RL. Lp-PLA₂ independent predictor of incident coronary heart disease in an apparently healthy older population: the Rancho Bernardo Study. 2006; 114: II-870.
72. Demokritos C Tsoukatos, Isabelle Brochériou, Vassilios Moussis, Christina P Panopoulou, Elena D Christofidou, Stamatis Koussissis, Socratis Sismanidis, Ewa

- Nino, Stavros Siminelakis. PAF-AH and transacetylase activities in human aorta and mammary artery. *J. Lipid Res.* 2008 In Pres.
73. Lee E, Lee SJ, Lee TY, Chang HW. cDNA cloning and expression of biologically active PAF-AH from bovine mammary gland. *Biol. Pharm. Bull.* 2005; 28: 580-3.
 74. Burcher K, Leiser R, Tieman U, Pfarrer C. Platelet-activating factor receptor (PAF-R) and acetylhydrolase (PAF-AH) are co-expressed in immature bovine trophoblast giant cell throughout gestation but not at parturition. *Prostaglandins other lipid mediat.* 2006; 79: 74-83
 75. Miyaura S, Maki N, Byrd W, Johnson JM. The hormonal regulation of PAF-AH activity in plasma lipids. 1991; 26: 1015-20.
 76. Cao Y, Stafforini DM, Melnyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Expression of PAF-AH is transcriptionally regulated by mediators of inflammation. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 4012-20.
 77. Xiaoqing Wu, Thomas M McIntyre, Guy A Zimmerman, Stephen M Prescott, Diana M Stafforini. Molecular characterization of constitutive expression of the plasma PAF-AH gene in macrophages. *Biochem.* 2003; 375: 351-63.
 78. DM Stafforini, K Satoh, DL Atkinson, LW Tjoelker, C Eberhardt, H Yoshida, T Imaizumi, S Takamatsu, GA Zimmerman, TM McIntyre, PW Gray, SM Prescott. PAF-AH deficiency. A missense mutation near the active site of an anti-inflammatory phospholipase. *J. Clin. Invest.* 1996; 97: 2784-2791.
 79. Mitsuaki Ishihara, Tadao Iwasaki, Makoto Nagano, Jun Ishii, Mayumi Takano, Takeshi Kujiraoka, Masahiro Tsuji, Hiroaki Hattori and Mitsuru Emi. Functional impairment of two novel mutations detected in Lp-PLA₂ deficiency patients. *J. Hum. Genet.* 2004; 49: 302-307.
 80. Susanne Kruse, Xiao-Quan Mao, Andrea Heinzmann, Sabine Blattmann, Mark H Roberts, Sandra Braun, Pei-Song Gao, Johannes Forster, Joachim Kuehr, Julian M Hopkin, Taro Shirakawa, Klaus A Deichmann. The Ile198Thr and Ala379 Val variants of plasma PAF-AH impair catalytic activities and are associated with atopy and asthma. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 66: 1522-1530.
 81. Ann Mertens, Peter Verhamme, John K Bielicki, Michael C Phillips, Rozenn Quarck, Wim Verreth, Dominique Stengel, Ewa Ninio, Mohamad Navab, Bharti Mackness, Mike Mackness, Paul Holvoet. Increased LDL oxidation and impaired

- HDL antioxidant defense are associated with increased macrophage homing and atherosclerosis in dyslipidemic obese mice. 2003; 107: 1640-1646.
82. Vasilis Tsimihodimos, Sonia-Athena P Karabina, Afroditi P Tambaki, Eleni Bairaktari, John A Goudevenos, M John Chapman, Moses Elisaf, Alexandros D Tselepis. Atorvastatin preferentially reduces LDL-Lp-PLA₂ in dyslipidemias of type IIA and type IIB. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 306-311.
 83. Christopher P Cannon, Eugene Braunwald, Carolyn H McCabe, Daniel J Rader, Jean L Rouleau, Rene Belder, Steven V Joyal, Karen A Hill, Marc A Pfeffer, Allan M Skene. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N. Eng. J. Med.* 2004; 350: 1495-1504 .
 84. Robert L Wilensky, Yi Shi, Emile R Mohler III, Damir Hamamdzic, Mark E Burgert, Jun Li, Anthony Postle, Robert S Fenning, James G Bollinger, Bryan E Hoffman, Daniel J Pelchovitz, Jisheng Yang, Rosanna C Mirabile, Christine L Webb, LeFeng Zhang, Ping Zhang, Michael H Gelb, Max C Walker, Andrew Zalewski, Colin H Macphee. Inhibition of Lp-PLA₂ reduces complex coronary atherosclerotic plaque development. *Nat. Med.* 2008; 14: 1059-1066.
 85. Emile R Mohler, Christie M Ballantyne, Michael H Davidson, Markolf Hanefeld, Luis M Ruilope, Joel L Johnson, Pharm D, Andrew Zalewski. The effect of drapladip on plasma Lp-PLA₂ activity and cardiovascular biomarkers in patients with stable coronary heart disease or coronary heart disease risk equivalent: the results of a multicenter, randomized, double blind, placebo-controlled study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 51: 1632-1641.
 86. Mitchell SV Elkind, Wanling Tai, Kristen Coates, Myunghee C Paik, Ralph L Sacco. High sensitive CRP, Lp-PLA₂ and outcome after ischemic stroke. *Arch. Intern. Med.* 2006; 166: 2073-2080.
 87. Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, Qizilbash N, Peto R, Collins R. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex and blood pressure: a meta analysis of individual data from 61 prospective studies of 55000 vascular deaths. *Lancet.* 2007; 370: 1829-1839.
 88. Paraskevi D, Tzortzis N, Elizabeth F, Demosthenis BP, Christos P, Christodoulos S, Smaragdi A. Lp-PLA₂, PAF-AH in leukocytes and body composition in healthy adults. *Lipid Health Dis.* 2009; 8:19.
 89. N Dada, NW Kim, RL Wolfert. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2002; 2: 17-22.

90. Frank D Kolodgie, Allen P Burke, Kristi S Skorija, Elena Ladich, Robert Kutys, Addisalem Taye Makuria, Renu Virmani. Lp-PLA₂ protein expression in the natural of human coronary atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006; 26; 2523-2529.
91. Method for detecting Lp-PLA₂ activity and inhibition of Lp-PLA₂ activity. 2004 Apr.; 16. U.S. Provisional Application of Lp-PLA₂ activity. No: 60/563, 078
92. Oishi Y, Wakatsuki T, Nishidakado AT, Ito S. Circulating adhesion molecules and severity of coronary atherosclerosis. *Coron Artery Dis*. 2000; 11: 77-81
93. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am. J. Cardiol*. 1983; 51: 606.
94. Lori Mosca, Lawrence J Appel, Emelia J Benjamin, Kathy Berra, Nisha Chandra-Strobos, Rosalind P Fabunmi, Deborah Grady, Constance K Haan, Sharonne N Hayes, Debra R Judelson, Nora L Keenan, Patrick McBride, MPH[†]; Suzanne Oparil, Pamela Ouyang, Mehmet C Oz, Michael E Mendelsohn, Richard C. Pasternak, Vivian W Pinn, Rose Marie Robertson, Karin Schenck-Gustafsson, Cathy A Sila, Sidney C Smith, George Sopko, Anne L Taylor, Brian W Walsh, MD^{||}; Nanette K Wenger, Christine L. Williams. Evidence based guidelines far cardiovascular disease prevention in women. American Heart Association. 2004; 109: 672-693
95. Manolio T. Novel risk markers and clinical practice. *N. Eng. J. Med*. 2003; 349: 1587-1589.
96. Krause BR. The development of novel antihyperlipidemic drugs: a tough business gets tougher. *Curr. Opin. Investig. Drugs*. 2008; 9: 945-9
97. Suckling K. What is the future for drug development in atherosclerosis and dyslipidemia? *Exp. Opin. Drug. Discov*. 2009; 4: 1-3.
98. Devlin CM, Levnethal AR, Kriakose G, Schuman EH, Willams KJ, Tabas I. Acid sphingomyelinase promotes lipoprotein retention within early atherosclerosis and accelerates lesion progression. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2008; 28: 1723-30.
99. Schaloske RH, Dennis EA. The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. *Biochim. Biophys. Acta*. 2006; 1761: 1246-59.
100. E Ninio. Phospholipid mediators in the vessel wall: involvement in atherosclerosis. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metabol. Care*. 2005; 123-131.

101. Mitsis JV, Vini MP, Stengel D, Ninio E, Tseleps AD. Human platelets secrete the plasma type of platelet-activating factor acetylhydrolase primary associated with microparticles. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26: 1907-13.
102. Jung-Hyun Min, Cheryl Wilder, Junken Aoki, Hiroyuki Arai, Keizo Inoue, Leland Paul, Michael H. Gelb. Platelet-activating factor acetylhydrolases: broad substrate specificity and lipoprotein binding does not modulate the catalytic properties of the plasma enzyme. *Biochemistry.* 2001; 40: 4539-49.
103. Demokritos C Tsoukatos, Isabelle Brochériou, Vassilios Moussis, Christina P Panopoulou, Elena D Christofidou, Stamatis Koussissis, Socratis Sismanidis, Ewa Ninio, Stavros Siminelakis. Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human aorta and mammary artery. *J. Lipid. Res.* 2008; 49: 2240-9.
104. JL Sánchez-Quesada, S Benítez, A Pérez, AM Wagner, M Rigla, G Carreras, L Vila, M Camacho, R Arcelus, J Ordóñez-Llanos. The inflammatory properties of electronegative low-density lipoprotein from type 1 diabetic patients are related to increased platelet-activating factor acetylhydrolase activity. *Diabetologia.* 2005; 48: 2162-9.
105. Constantinos C Tellis, Alexandros D Tselepis. The role of Lipoprotein-associated phospholipase A₂ in atherosclerosis may depend on its lipoprotein carrier in plasma. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009; 1791: 5, 327-338.
106. KLH Carpenter, IF Dennis, IR Challis, David P Osborn, Colin H Macphee, David S Leake, Mark J Arends, Malcolm J Mitchinson. Inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A₂ diminishes the death-inducing effects of oxidised LDL on human monocyte-macrophages. *FEBS letters.* 2001; 505, 357-363
107. Berna Atik, S Claiborne Johnston, Deborah Dean. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited. Association of Carotid Plaque Lp-PLA₂ with Macrophages and Chlamydia pneumoniae Infection among Patients at Risk for Stroke. *PLoS One.* 2010; 5(6): e1102
108. Byambaa Enkhmaa, Erdembileg Anuurad, Wei Zhang, Thomas A Pearson, Lars Björklund. Association of Lp-PLA₂ activity with allele-specific Lp(a) levels in a bi-ethnic population. *Atherosclerosis.* 2010; doi: 10.1016/J.

109. Aiman El-Saed, Akira Sekikawa, Riad Wahid Zaky, Takashi Kadowaki, Tomoko Takamiya, Tomonori Okamura, Daniel Edmundowicz, Yoshikuni Kita, Lewis H Kuller, Hirotsugu Ueshima. Association of Lipoprotein-associated phospholipase A2 with coronary calcification among american and japanese men. *Journal of epidemiology*. 2007; 17: 6, 179-185.
110. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, Holmes SD, Chamberlain P, Macphee CH. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2000; 150: 413–419.
111. Robert Clarke, Martin Shipley, Sarah Lewington, Linda Youngman, Rory Collins, Michael Marmot, Richard Peto. Underestimation of risk associations due to regression dilution in long-term follow-up of prospective studies. *Am. J. Epidemiol*. 1999; 150: 341–353.
112. Maegaretha Persson, Jan-Ake Nilson, Jeanenne J Nelson, Bo Hedblad, Göran Berglund. The epidemiology of lplla2: distribution and correlation with cardiovascular risk factors in a population-based cohort. *Atherosclerosis*. 2006; 190: 388-396.
113. Hatoum IJ, Hu FB, Nelson JJ, Rimm EB. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and incident coronary heart disease among men and women with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2010 May; 59(5): 1239-43.
114. CH MacPhee, KE Moores, HF Boyd, D Dhanak, RJ Ife, CA Leach, DS Leake, K J Milliner, RA Patterson, KE Suckling, DG Tew, DM Hickey. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor acethylhydrolase, generates two bioactive products uring the oxidation of low-densy lipoprotein: use of a novel inhibitör. *Biochem J*. 1999; 338: 479-87.
115. Sander J Robins, Dorothea Collins, Jeanenne J Nelson, Hanna E Bloomfield, Bela F Asztalos. Cardiovascular events with increased lipoprotein associated phospholipase A2 and low-ensty lipoprotein cholesterol: the veterans Affairs HDL intervention trial. *Arterioscler. thromb. Vasc. Biol*. 2008; 28: 1172-1178.
116. Sotirios Tsimikas, Johann Willeit, Michael Knoflach, Manuel Mayr, Georg Egger, Marlene Notdurfter, Joseph L Witztum, Christian J Wiedermann, Qingbo Xu, Stefan Kiechl. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, ferritin levels, metabolic

syndrome, and 10-year cardiovascular and non-cardiovascular mortality: results from the Bruneck study. *European heart j.* 2009; 30: 107-115.

117. Stefan Kiechl, Johann Willeit, Manuel Mayr, Brigitte Viehweider, Martin Oberhollenzer, Florian Kronenberg, Christian J Wiedermann, Sabine Oberthaler, Qingbo Xu, Joseph L Witztum, Sotirios Tsimikas. Oxidized Phospholipids, Lipoprotein(a), Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Activity and 10-Year Cardiovascular Outcomes, Prospective Results From the Bruneck Study. *Arterioscler. Thromb. and Vasc. Biol.* 2007; 27: 1788.
118. Ji Young Kim, Yae Jung Hyun, Yangsoo Jang, Byoung Kwon Lee, Jey Sook Chae, So Eui Kim, Hyun Yang Yeo, Tae-Sook Jeong, Dong Woon Jeon, Jong Ho. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Activity is associated with coronary artery disease and markers of oxidative stress: a case control study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 88: 630-637.
119. Diana M Stafforini, James R Sheller, Timothy S Blackwell, Adam Sapirstein, Fiona E Yull, Thomas M McIntyre, Joseph V Bonventre, Stephen M Prescott, L Jackson Roberts. Release of free F2-isoprostanes from esterified phospholipids is catalyzed by intracellular and plasma platelet-activating factor acetylhydrolases. *J. Bio. Chem.* 2006; 281: 4616-4623.
120. Vijay Nambi, Ron C Hoogeveen, Lloyd Chambless, Yijuan Hu, Heejung Bang, Josef Coresh, Hanyu Ni, Eric Boerwinkle, Thomas Mosley, Richey Sharrett, Aaron R Folsom, Christie M Ballantyne. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 and high sensitivity C-reactive protein improve the stratification of ischemic stroke risk in the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Stroke.* 2009; 40: 376-381.
121. Wassertheil-smoller S, Kooperberg C, McGinn, Kaplan RC, Hsia J, Hendrix SL, Manson JE, Berger JS, Kuller LH, Allison MA, Baird AE. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2, hormone use and the risk of ischemic stroke in postmenopausal women. *Hypertension.* 2008; 51: 1-8.
122. Persson M, Berglund G, Nelson JJ, Hebdlad B. LpplA2 activity and mass are associated with increased incidence of ischemic stroke: a population based cohort study from Malmo, Sweden. *Atherosclerosis.* 2008; 200: 191-198.
123. Yariv Gerberda, Shannon M Dunlayb, Allan S Jaffebc, Joseph P McConnelc, Susan A Westona, Jill M Killiana, Véronique L Rogerab. Plasma Lipoprotein-Associated

- Phospholipase A2 levels in heart failure: association with mortality in the community. *Atherosclerosis*. 2009; 203: 593-598.
124. Raichlin, Eugenia, McConnell, Joseph P, Bae, Jang-Ho, Kremers, Walter K, Lerman, Amir, Frantz, Robert P. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 predicts progression of cardiac allograft vasculopathy and increased risk of cardiovascular events in heart transplant patients. *Transplantation*. 2008; 85: 963-968.
 125. Chris J Packard, Denis SJ O'Reilly, Muriel J Caslake, Alex D McMahon, Ian Ford, Josephine Cooney, Colin H. Macphee, Keith E. Suckling, Mala Krishna, Francis E. Wilkinson, Ann Rumley, Gillian Docherty, John D Burczak, Gordon DO Lowe. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343: 1148-1155
 126. Wolfgang Koenig, Natalie Khuseyinova, Hannelore Löwel, Gerlinde Trischler, Christa Meisinger. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Adds to Risk Prediction of Incident Coronary Events by C-Reactive Protein in Apparently Healthy Middle-Aged Men From the General Population: Results From the 14-Year Follow-Up of a Large Cohort From Southern Germany (2004) American Heart Association. *Circ.* 110: 1903-1908
 127. Lori B Daniels, Gail A Laughlin, Mark J Sarno B, Ricki Bettencourt MS, Robert L Wolfert, Elizabeth Barrett-Connor. Lipoprotein –associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease ün an apperently healthy older population:the rancho bernardo study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 51: 913-919.
 128. Gavin J Blake MB, MRCPI, Nisha Dada BS, Jonathan C Fox, JoAnn E. Manson, Paul M Ridker. A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001; 38: 1302-1306.
 129. Sudhir K. Clinical review: lipoprotein-associated phospholipase A2 a novel inflammatory biomarker and independent risk predictor for cardiovascular disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90: 3100-3105.
 130. Gorelick PB. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and risk of stroke. *Am. J. Cardiol.* 2008; 101: 23F -40F.
 131. Christie M Ballantyne, Ron C Hoogeveen, Heejung Bang, Josef Coresh, Aaron R. Folsom, Lloyd E Chambless, Merle Myerson, Kenneth K Wu, A Richey Sharrett, Eric Boerwinkle. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high sensitivity C

- reactive protein, and risk of incident ischemic stroke in middle-aged men and women in the atherosclerosis risk in communities(ARIC) study. *Arch. Intern. Med.* 2005; 165: 2479-2484.
132. Wolfgang Koenig, Dorothee Twardella, Hermann Brenner, Dietrich Rothenbacher. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Predicts Future Cardiovascular Events in Patients With Coronary Heart Disease Independently of Traditional Risk Factors, Markers of Inflammation, Renal Function, and Hemodynamic Stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2006; 26: 1586-1593.
 133. James P Corsetti, David L Rainwater, Arthur J Moss, Wojciech Zareba, Charles E Sparks. High lipoprotein-associated phospholipase A2 is a risk factor for recurrent coronary events in postinfarction patients. *Clin. Chem.* 2006; 52: 1331-1338.
 134. Shahar Lavi, Abhiram Prasad, Eric H Yang, Verghese Mathew, Robert D Simari, Charanjit S Rihal, Lilach O Lerman, Amir Lerman. Smoking Is Associated With Epicardial Coronary Endothelial Dysfunction and Elevated White Blood Cell Count in Patients With Chest Pain and Early Coronary Artery Disease. *American Heart Association.* 2007; *Circ.* 115: 2621-2627.
 135. Muriel J Caslake, Chris J Packard, Michele Robertson, Josephine Cooney, Jeanette J Nelson, Ian Ford, Allan Gawd, J Wouter Jukema, Peter W Macfarlane, David J Stott, James Shepherd. Lipoprotein-associated phospholipase A2, inflammatory biomarkers, and risk of cardiovascular disease in the Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk. 2010; 210: 1, 28-34.
 136. Herbert D Aronow, WH Wilson Tang, Steven S, Danielle B, Robert W, Steven M, Peter B, Michael W, Eric T. Predictors of lipoprotein-associated phospholipase A2 mass and activity levels among patients with stable and acute coronary syndromes: Acredo biomarker substudy. *JACC.* 2010; 55: 10A
 137. Michelle O'Donoghue, David A Morrow, Marc S Sabatine, Sabina A Murphy, Carolyn H McCabe, Christopher P Cannon, Eugene Braunwald. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 and Its Association With Cardiovascular Outcomes in Patients With Acute Coronary Syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection Therapy–Thrombolysis In Myocardial Infarction) Trial. *American Heart Association.* 2006; 113: 1745-1752.
 138. Wilensky Robert L, Macphee Colin H. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology.* 2009; 20: 5, 415-420.

139. Margaretha Perssona, Göran Berglunda, Jeanenne J Nelsonc, Bo Hedblad. Lp-PLA2 activity and mass are associated with increased incidence of ischemic stroke: A population-based cohort study from Malmö, Sweden. 2008; 200: 1, 191-198.
140. Persson, Margaretha. Lipoprotein-associated phospholipase A2(Lp-PLA2) Impact and role as cardiovascular risk marker. Lund University Faculty of Medicine. Department of Clinical Sciences, Malmö. 2008; ISBN 978-91-86059-52-1.
141. Mitchell SV Elkinda, Wanling Taib, Kristen Coatesa, Myunghee C Paikb, Ralph L Saccoa. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Activity and Risk of Recurrent Stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2009; 27:42–50.
142. Christie M Ballantyne, Ron C Hoogeveen, Heejung Bang, Josef Coresh, PhD; Aaron R Folsom, Gerardo Heiss, A. Richey Sharrett. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂, High-Sensitivity C-Reactive Protein and Risk for Incident Coronary Heart Disease in Middle-Aged Men and Women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *American Heart Association.* 2004;109: 837-842.
143. Mitchell SV Elkind, Vladimir Leon, Yeseon P Moon, Myunghee C Paik, Ralph L Sacco. High-Sensitivity C-Reactive Protein and Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Stability Before and After Stroke and Myocardial Infarction. *American Heart Association.* 2009; 40: 3233.
144. Shahar Lavi, Joseph P McConnell, Charanjit S Rihal, Abhiram Prasad, Verghese Mathew, Lilach O Lerman, Amir Lerman. Local Production of Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ and Lysophosphatidylcholine in the Coronary Circulation Association With Early Coronary Atherosclerosis and Endothelial Dysfunction in Humans. *American Heart Association.* 2007; 115: 2715-2721.
145. Dallit Mannheim, Joerg Herrmann, Daniele Versari, Mario Gössl, Fredric B. Meyer, Joseph P McConnell, Lilach O Lerman, Amir Lerman. Enhanced Expression of Lp-PLA₂ and Lysophosphatidylcholine in Symptomatic Carotid Atherosclerotic Plaques. *American Heart Association.* 2008; *Stroke*39: 1448
146. T Meroño, P Sorroche, LA Gómez Rosso, L Casañas, LE Boero, JA Arbelbide, FD Brites. Proatherogenic disturbances in lipoprotein profile, associated enzymes and transfer proteins in women with iron deficiency anemia. *Clinical Biochemistry.* 2009; 43: 4-5, 416-423.

147. M Möckel, Reinhold Müller, Jörn O Vollert, Christian Müller, Oliver Danne, Ragnar Gareis, Thomas Störk, Rainer Dietz, Wolfgang Koenig. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ for early risk stratification in patients with suspected acute coronary syndrome: a multi-marker approach. *Clinical Research in Cardiology*. 2007; 96: 9, 604-612.
148. Rana JS, Arsenault BJ, Despres JP, Coye M, Talmud PJ, Nino E, Jukema JW, Wareham NJ, Kastelein JJ, Khaw KT, Boekholdt SM. Inflammatory biomarkers, physical activity, waist circumference and risk of future coronary heart disease in healthy men and women. *Eur. Heart J*. 2009 Feb. 18.
149. Carlos Iribarren, Myron D Gross, Jeanne A Darbinian, David R Jacobs, Stephen Sidney, Catherine M Loria. Association of Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Mass and Activity With Calcified Coronary Plaque in Young Adults. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2005; 25: 216.
150. Yariv Gerber, Joseph P McConnell, Allan S Jaffe, Susan A Weston, Jill M Killian, Véronique L Roger. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ and Prognosis After Myocardial Infarction in the Community. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006; 26: 2517.
151. Emmanouil S Brilakis, Joseph P McConnell, Ryan J Lennon, Ahmad Elesber, Jeffrey G Meyer, Peter B Berger. Association of lipoprotein-associated phospholipase A₂ levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up. *European Heart Journal*. 2005; 26: 2Pp, 137-144.
152. N Khuseyinova, A Imhofa, D Rothenbacher, G Trischler, S Kuelba, HScharnagl, W Maerz, H Brenner, WKoenig. Association between Lp-PLA₂ and coronary artery disease: Focus on its relationship with lipoproteins and markers of inflammation and hemostasis. *Atherosclerosis* 2005; 182: 1, 181-188.
153. Karl Winkler, Michael M Hoffmann, Bernhard R Winkelmann, Isolde Friedrich, Günther Schäfer, Ursula Seelhorst, Britta Wellnitz, Heinrich Wieland, Bernhard O Boehm, Winfried März. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Predicts 5-Year Cardiac Mortality Independently of Established Risk Factors and Adds Prognostic Information in Patients with Low and Medium High-Sensitivity C-Reactive Protein (The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study). *American Association for Clinical Chemistry*. 2007; 53: 1440-1447.

154. Wolfgang Koenig, Natalie Khuseyinova, Hannelore Löwel, Gerlinde Trischler, Christa Meisinger. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Adds to Risk Prediction of Incident Coronary Events by C-Reactive Protein in Apparently Healthy Middle-Aged Men From the General Population: Results From the 14-Year Follow-Up of a Large Cohort From Southern Germany. *American Heart Association*. 2004; 110: 1903-1908.
155. Elfriede Ruttman, Larry J Brant, Hans Concini, Günter Diem, Kilian Rapp, Hanno Ulmer. γ -Glutamyltransferase as a Risk Factor for Cardiovascular Disease Mortality An Epidemiological Investigation in a Cohort of 163 944 Austrian Adults. The Vorarlberg Health Monitoring and Promotion Program Study Group. *American Heart Association*. 2005; 112: 2130-2137.
156. John V. Mitsios, Maria P. Vini, Dominique Stengel, Ewa Ninio, Alexandros D. Tselepis. Human platelets secrete the plasma type PAF-AH primarily associated with microparticles, (2006)*Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26 ; 1907.
157. T Rajavashisth, J H Qiao, S Tripathi, J Tripathi, N Mishra, M Hua, X P Wang, A Loussararian, S Clinton, P Libby, and A Lusis. Heterozygous osteopetrotic mutation reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. *J. Clin. Invest.* 1998; 101, 2702-2710.
158. Americo Simonini, Mauro Moscucci, David W. M. Muller, Eric R. Bates, Francis D. Pagani, Marie D. Burdick, Robert M. Strieter. IL-8 is an angiogenic factor in human coronary atherectomy tissue. *Circ.* 101, 1519-1526.

Ek- 1 : Hasta grubu değerlerinin toplam dökümünü

Hasta	Yaş	Cins	AKŞ (mg/dl)	Total K (mg/dl)	TG (mg/dl)	LDL-K (mg/dl)	HDL- K (mg/dl)	Kan B. (mg/dl)	Gensini Skor	Lp-PLA2 (ng/ ml)	BKI	A.Ö.	Sigara	BK	HG	PLT	MPV	PDW	BUN	CR	AST	ALT	ÜA	GGT
M.A.	43	E	87,19	270,7	134,34	202	41,09	HT	2,5	243,9	33	var	evet	6	17	268	7,8	16,2	13,28	0,89	21,01	28,96	5,3	34
M.E.	50	E	103	266	102	200	49,6	HT	18,5	290,2	30	var	evet	10	16	189	9,1	15,8	21,2	0,76	24	31,6	6,9	29
D.D.	49	E	95	171	45	122	44	HT	2	147,9	34	var	hayır	7	14	246	7,4	16,4	23	0,78	22	22	7,3	18
H.B.	76	E	97,5	205,9	160,85	150	43,07	HT	4,5	127,9	26	var	hayır	8	15	235	10,1	16,2	15,96	1	26,76	27,71	6,25	8,2
M.D.	70	E	102	154,3	95	105	35,6	normal	13	150,2	21	yok	hayır	8	14	261	7,5	16,2	17,63	0,63	17,24	29,27	5,4	33
M.A.	43	E	87,19	270,7	134,34	202	41,09	HT	2,5	322	25	yok	hayır	10	15	265	7,3	16,5	23,27	0,69	20,17	28,53	4	19
M.E.	50	E	103	266	102	90	49,6	HT	18,5	424	20	var	evet	6	13	265	8,6	16,3	21,82	0,79	21,41	15,23	4,8	10,7
N.A.	66	K	84,64	186	231	115	32	HT	1	92,1	29	yok	hayır	11	14	253	9,4	15,8	18,87	0,55	17,9	15,8	5,12	33,5
S.A.	70	K	123	336	80	224	37,5	HT	9,5	173,3	31	var	hayır	7	14	201	10,4	16,8	33	0,86	18	19,6	6,4	25
Z.A.	60	K	105	187,4	113	102	57	normal	1	106,1	25	yok	hayır	8	14	151	9,7	16,4	16,38	0,72	19,62	23	4,7	32
S.K.	78	K	99,16	179,8	169,89	108	39,38	normal	4	76,5	28	yok	hayır	8	12	283	8,4	16,4	19,37	0,53	11,6	12	4,2	14
T.E.	72	K	100	200,7	120,26	117	57,35	normal	3,5	144,8	23	yok	hayır	10	14	354	7,3	16,3	17,98	0,6	15,09	17,24	6,05	19,7
S.K.	85	K	93,32	173	114,23	99	49,5	HT	8,5	178	31	var	hayır	9	13	192	8,8	16,2	26,3	0,84	14	26	8,93	15
A.T.	60	E	94,16	139,8	92,73	94	20,88	normal	10	184	24	var	hayır	8	13	180	12,8	16,1	21,68	0,83	18	29	9,55	14,9
M.A.	53	E	105	208,3	109,96	145	34,61	normal	1	188	36	yok	hayır	7	12	208	10,2	15,9	17,59	0,97	13,55	13,25	8,57	21,7
H.D.	48	E	103,86	184,3	163,37	121	33	normal	4,5	110,2	26	var	hayır	5	15	308	8,1	16,1	10,42	0,75	22,43	38,82	6,1	44,3
A.Y.	59	K	100,29	170,2	199	115	54,39	normal	3	191,1	29	var	evet	6	14	274	8,4	16	25,41	0,63	14,62	19,9	5,21	15
B.A.	59	E	99,1	179,8	169,8	108	39	normal	3	191	20	yok	evet	7	14	250	8,6	16,8	15	0,7	19	15	5,3	35
S.K.	39	E	101	193	273	134	32	normal	1,5	233,8	31	yok	evet	8	15	248	8,4	16,3	17,6	0,81	21,52	34,8	5,9	58,2
A.A.	70	E	97,42	172,3	86,6	109	51,22	normal	5,5	182,6	27	yok	hayır	4	14	167	9,5	16,7	12,65	0,55	18,98	17,6	4,8	45
N.S.	51	E	114	207	176	132	41	HT	2	206,4	29	var	evet	10	16	188	9,5	16,4	13,2	1,01	16,8	23,44	4,2	30,6
E.E.	69	K	97	210	200	178	45,99	HT	6	94,8	26	yok	hayır	10	14	276	6,7	15,9	13,4	0,48	14	10,34	6	54,7
Ş.Y.	56	K	168	231	194	154	54	normal	9	168	31	var	evet	7	14	271	8,6	16,3	16,2	0,81	19,11	25,8	5	28,6
E.B.	57	K	88,46	190.	106	120	48	HT	9	85,6	26	yok	hayır	9	13	275	9,2	16,8	15,34	0,75	18,8	20	3,6	42
O.M.	52	E	111	212	117	150	43	normal	4	191	31	yok	evet	9	15	260	7,6	16,6	12	0,7	16	15	6,5	23
Ö.E.	72	E	90	157	121	102	44	HT	13,5	250,8	30	yok	hayır	8	14	230	8,7	16,9	13	0,7	66	117	5,66	24
A.S.	51	K	89	199	208	144	41	HT	6,5	135,4	32	yok	evet	9	15	288	8,9	15,8	12	0,79	34	20	5,98	65
M.Y.	60	E	88	193	141	127	41	normal	5	128	24	yok	evet	19	15	287	7,1	16,8	16	0,7	21	19	5,75	32
A.Ü.	60	E	107,67	248,2	141	182	40,42	HT	92,5	118,5	28	var	hayır	8	17	203	8,8	16,2	22	0,82	21,6	23,4	6	57,7
M.D.	62	E	96	204	136	145	38	normal	48	245,1	21	yok	evet	5	15	166	6,9	19	9,08	0,61	10,04	3,41	5,79	13,3
M.O.	60	E	92	218	381,15	103	39,6	normal	32	100,8	24	yok	hayır	7	16	239	8,1	15,6	15,8	0,86	21,6	25,9	7,09	44,2
M.Y.	69	E	85,8	126,4	106,64	70	40,42	normal	98	113,1	23	var	hayır	8	15	251	7,8	16,6	17,7	0,84	20,27	18,57	5,14	13
K.A.	51	E	111,54	273,8	122,5	105	60,8	normal	50	146,9	21	var	evet	11	15	260	10,2	15,3	18,79	0,94	17,47	9,17	7,15	17,6
R.K.	56	E	104,16	268,8	212	199	43,44	normal	42,5	156,3	20	var	hayır	7	16	262	8,2	15,8	12,24	0,85	35,39	35,82	5,32	22,7
F.M.	52	K	104	224	104	143	40	HT	41,5	133,9	26	var	hayır	10	15	338	7,6	16,6	12,7	0,52	14,9	24,12	4,84	23
A.T.	53	E	79,9	254,4	357,8	154	36,28	HT	84	162,3	24	var	evet	10	17	268	7,8	15,6	20,59	0,87	16,14	23,89	5,2	33,2
R.T.	76	K	93,02	122,2	111,41	153	45	HT	87,5	202,1	23	yok	hayır	6	12	294	8,4	15,8	13,77	0,73	14,51	15,58	5,4	11,7
İ.K.	65	E	110	198,4	116,58	139	41	normal	191	258,3	28	yok	hayır	9	17	174	8,7	16,4	21,22	1,03	14,29	16,16	6,96	21
Y.Ç.	65	E	100	144,9	97,35	110	30	HT	33	88,5	22	var	hayır	7	15	219	10,2	16,8	18,77	0,91	13,84	13,83	6,85	18
H.E.	43	E	100	149	107	86	49	normal	60	163,8	32	var	evet	8	14	287	9,8	15,4	13,9	0,7	17,9	26,4	5,06	28

Hasta	Yaş	Cins	AKŞ (mg/dl)	Total K (mg/dl)	TG (mg/dl)	LDL-K (mg/dl)	HDL- K (mg/dl)	Kan B. (mg/dl)	Lp-PLA2 (ng/ ml)	BKİ	A.Ö.	Sigara	BK	HG	PLT	MPV	PDW	BUN	CR	AST	ALT	ÜA	GGT
C.B.	44	E	175	329	230	175	35	normal	294,8	24	yok	hayır	5,5	16	229	8,5	15,5	35	0,58	27	24	6,85	17
F.T.	37	K	97	161	92	109	41	normal	193,5	26	var	evet	8,4	14,2	242	8,5	15,8	11,8	0,6	13	17	5,6	18
F.D.	36	K	94	273	155	170	46	normal	200,4	25	var	evet	8,1	14,3	302	7,6	15,8	14,2	0,4	10	10	4,84	9,8
Z.A.	46	K	91	216	220	155	36	HT	175	32	yok	hayır	9,2	14,2	281	7,6	16,9	10,4	0,6	20	18	4,38	25
M.Y.	54	E	89	167	107	122	34	normal	188	24	yok	hayır	7,6	13,8	287	7,2	14,9	19	0,6	22	20	7,8	9
A.Y.	52	E	102	197	153	144	34	normal	167	24	var	evet	7,8	14,9	297	8,7	16,4	18	0,7	38	25	5,2	46
F.C.	58	K	81	342	251	117	59	normal	170,3	29	var	evet	7,3	14	262	7,9	16,2	16	0,6	26	26	5,5	28
M.A.	62	K	100	124	112	60	42	HT	93	27	yok	hayır	5,6	13,7	201	7,9	15,9	21	0,65	22	24	7,8	23
M.E.	47	K	102	222	187	60	27	normal	167	32	yok	hayır	12	14	295	8,6	16	15,4	0,7	13	16	5,92	26
S.M.	50	K	100	233	111	157	43	normal	279,9	20	yok	hayır	6,5	12,9	259	8,2	16	12	0,6	12	12	3,7	19
İ.D.	51	K	94	211	165	137	51	normal	151	21	var	evet	9	16,4	240	8,7	16,5	11	0,6	12	10	4,5	16
S.B.	43	K	99	191	162	129	38	HT	188	24	var	evet	5,3	14,4	244	7,4	16,4	12,5	0,65	19	22	4,45	9
A.A.	49	K	84	197	92	141	55	normal	184	27	var	evet	5,8	14	319	8,8	15,8	5	0,64	14	17	5,6	8,44
O.K.	45	E	100	230	133	120	33	HT	206	25	yok	hayır	8,3	15,2	243	7,7	15,4	9	0,8	41	28	4,8	22
H.K.	47	K	99	172	154	99	56	normal	228	23	var	evet	7,9	13,2	298	9,3	15,6	10	0,9	19	17	5,12	6
A.Ö.	38	E	108	110	130	70	23	HT	142	25	yok	hayır	6,5	16,3	116	11,1	18,4	13	0,76	22	15	6,4	13
S.S.	42	K	100	230	182	168	37	normal	124	22	yok	hayır	6,8	13,7	335	7,8	15,4	13	0,7	14	16	4,7	13
A.T.	47	E	102	190	222	128	25	HT	153	24	var	evet	8,1	16,2	296	7,2	15,8	17	1,1	36	56	7,09	120
Ş.Ş.	45	E	99	198	157	121	29	normal	190	25	var	evet	7	14,7	160	8,5	15,4	13,8	0,77	25	24	4,2	11
M.Ö.	40	E	100	156	129	88	43	HT	161	32	var	evet	9,2	16,5	272	7,5	15,7	15	0,82	25	47	4,8	31
D.N.	48	K	93	195	167	126	33	normal	168	28	yok	hayır	4,9	11,5	222	12	16,7	13	0,69	19	15	6,05	29
E.B.	43	K	106	161	38	102	57	HT	228	25	var	evet	5,2	13,4	311	7,4	15,8	7,5	0,5	11	11	5,14	5,8
A.A.	47	K	87	200	112	136	43	normal	111	32	var	evet	7,4	14	311	7,4	15,8	9,5	0,6	23	18	4,84	93
A.Y.	46	E	46	223	215	156	41	normal	159	22	var	evet	7,9	15,5	301	9,3	16,2	9	1,1	15	12	7,15	41
H.H.	46	E	80	202	98	118	65	normal	96	26	yok	hayır	7,9	15,9	258	7,7	15,7	11,7	0,84	27	48	5,32	40
H.C.	40	E	90	157	110	99	40	normal	279	28	var	evet	6,9	15,9	241	8,1	15,8	11	0,8	15	12	8,93	12
M.E.	47	K	102	222	189	60	27	normal	167,5	23	yok	hayır	12	14	259	8	16	15	0,7	16	15	9,55	26
O.E.	32	E	95	154	166	105	31	HT	170	31	yok	hayır	6,1	16,4	163	8,8	16	18,39	1,06	43	85	8,57	52
E.A.	52	K	98	177	132	124	43	HT	167	24	yok	hayır	7,8	14,4	273	8,7	15,7	16	0,6	18	21	5,21	20
B.A.	53	K	88	200	97	121	62	normal	171	29	var	evet	5,9	13,6	208	8,1	15,7	7,3	0,5	18	15	6,96	13

