

**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**HEMORAJİK VE İSKEMİK İNMELEERDE PARAOKSONAZ VE**  
**ARİLESTERAZ ENZİMLERİNİN AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ**

**TEZ YÖNETİCİSİ**  
**DOÇ. DR. FATMA İNANÇ TOLUN**

**DR. FİDAN BİLGE**  
**UZMANLIK TEZİ**  
**KAHRAMANMARAŞ/2009**

## TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocam Doç. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN'a,

Eğitimim sırasındaki ilgi ve desteklerini esirgemeyen saygıdeğer hocam Doç. Dr. Metin KILINÇ'a ve Öğr. Gör. Doç. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ'a,

Ayrıca tezimin hazırlanmasında büyük katkıları olan Nöroloji Anabilim dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Deniz TUNCEL'e,

Tez çalışmamda istatistiksel analizlerde yardımcı olan Doç. Dr. Hasan Çetin EKERBİÇER'e,

Çalışma arkadaşlarım Uz. Dr. İsmail TORU, Uz. Dr. Seçil ŞİMŞEK İMREK, Arş. Gör. Dr. Yalçın ATLI'ya, diğer bölümlerdeki asistan arkadaşlarıma ve laboratuvarında çalışan tüm personelimize,

Her zaman yanımda olan ve her konuda beni destekleyen eşim Dr. Numan BİLGE'ye, biricik kızım Elif Aydan'a ve çok sevdiğim Annem'e

SONSUZ TEŞEKKÜR EDERİM.

## KISALTMALAR

|                |   |
|----------------|---|
| NINDS:         | National Institute of Neurological Disorders and Stroke |
| SVH:           | Serebrovasküler Hastalık                                |
| WHO:           | Dünya Sağlık Örgütü                                     |
| LDL:           | Düşük Dansiteli Lipoprotein                             |
| HDL:           | Yüksek Dansiteli Lipoprotein                            |
| VLDL:          | Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein                         |
| PON1:          | Paraoksonaz   |
| ARE:           | Ariesteraz  |
| TACI:          | Total Anterior Sirkülasyon İnfarktları                  |
| PACI:          | Parsiyel Anterior Sirkülasyon İnfarktları               |
| POCI:          | Posterior Sirkülasyon İnfarktları                       |
| LACI:          | Laküner İnfarktlar                                      |
| DM:            | Diabetes Mellitus                                       |
| SKA:           | Serebral Kan Akımı                                      |
| PET:           | Pozitron Emisyon Tomografi                              |
| DWI/PWI:       | Diffüzyon/Perfüzyon Manyetik Rezonans                   |
| İH:            | İntraserebral Hemoraji                                  |
| AVM:           | Arteriovenöz Malformasyonlar                            |
| KVH:           | Kardiyovasküler Hastalık                                |
| KAH:           | Koroner Arter Hastalığı                                 |
| PAH:           | Periferik Arter Hastalığı                               |
| EDFR:          | Endotel Kaynaklı Gevşeme Faktörü                        |
| ACE:           | Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim                          |
| ET:            | Endotelin   |
| AII:           | Anjiyotensin  |
| EDHF:          | Endotel Kaynaklı Hiperpolarize Edici Faktörler          |
| PAI-1:         | Plazminojen Aktivatör İnhibitör Tip I                   |
| PDGF:          | Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü                       |
| FGF:           | Fibroblast Büyüme Faktörü                               |
| IGF-1:         | İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü                          |
| IL-1:          | İnterlökin-1  |
| TGF- $\beta$ : | Dönüştürücü Büyüme Faktörü- $\beta$                     |

|                 |   |
|-----------------|---|
| ELAM:           | Endotelyal Lökosit Adhezyon Molekülü              |
| ICAM:           | İntraselüler Adhezyon Molekülü                    |
| VCAM:           | Vasküler Hücre Adhezyon Molekülleri               |
| MCSF:           | Monosit Koloni Uyarıcı Faktör                     |
| MCP-1:          | Makrofaj Kemotaktik Proteini-1                    |
| PECAM-1:        | Trombosit Endotel Adhezyon Molekülü-1             |
| TNF- $\alpha$ : | Tümör Nekroz Faktör- $\alpha$                     |
| IFN- $\gamma$ : | İnterferon- $\gamma$                              |
| mmLDL:          | Minimal Modifiye LDL                              |
| Ox-LDL:         | Okside LDL  |
| MDA:            | Malondialdehid                                    |
| VEGF:           | Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü                |
| Apo B:          | Apoprotein B                                      |
| Apo E:          | Apoprotein E                                      |
| Apo A:          | Apoprotein A                                      |
| PUFA:           | Poliansatüre Yağ Asidi                            |
| IDL:            | Ara Dansiteli Lipoprotein                         |
| LCAT:           | Lesitin: Kolesterol Açıltransferaz                |
| CETP:           | Kolesterol Ester Transfer Protein                 |
| TG:             | Trigliserit                                       |
| PAF-AH:         | Trombosit Aktive edici Faktör Asetil Hidrolaz     |
| TBARS:          | Tiyobarbitürik Asit ile Reaksiyona Giren Maddeler |
| AF:             | Atriyal Fibrilasyon                               |

## İÇİNDEKİLER

|  |      |
|--|------|
| <b>Teşekkür</b> .....  | II   |
| <b>Kısaltmalar</b> .....   | III  |
| <b>İçindekiler</b> .....   | V    |
| <b>Tablo Listesi</b> .....                                       | VIII |
| <b>Şekil Listesi</b> .....                                       | IX   |
| <b>Özet</b> .....  | X    |
| <b>Abstract</b> .....  | XI   |
| <b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....                                    | 1    |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....                                   | 3    |
| <b>2.1. Serebrovasküler hastalık</b> .....                       | 3    |
| <b>2.1.1. İnme insidansı</b> .....                               | 3    |
| <b>2.1.2. İnme prevalansı</b> .....                              | 3    |
| <b>2.1.3. Sınıflandırma</b> .....                                | 4    |
| <b>2.1.4. İnme risk faktörleri</b> .....                         | 4    |
| <b>2.1.4.1. İnme risk faktörlerinin sınıflandırması</b> .....    | 5    |
| <b>2.1.5. İskemik inmenin patofizyolojisi</b> .....              | 6    |
| <b>2.1.6. Hemorajik inme</b> .....                               | 8    |
| <b>2.1.6.1. İntraserebral hemoraji</b> .....                     | 8    |
| <b>2.1.6.1.1. Epidemiyoloji</b> .....                            | 8    |
| <b>2.1.6.1.2. Patofizyoloji</b> .....                            | 9    |
| <b>2.1.6.1.3. Etiyoloji</b> .....                                | 9    |
| <b>2.2. Ateroskleroz</b> .....                                   | 11   |
| <b>2.2.1. Etiyoloji ve risk faktörleri</b> .....                 | 11   |
| <b>2.2.2. Normal arter duvarı</b> .....                          | 11   |
| <b>2.2.3. Aterogenezde rol alan hücreler</b> .....               | 12   |
| <b>2.2.3.1. Endotel hücresi</b> .....                            | 12   |
| <b>2.2.3.2. Düz kas hücreleri</b> .....                          | 14   |
| <b>2.2.3.3. Makrofajlar</b> .....                                | 14   |
| <b>2.2.3.4. Trombositler</b> .....                               | 15   |
| <b>2.2.3.5. T-Lenfositleri</b> .....                             | 16   |
| <b>2.2.4. Ateroskleroz patogenezinde rol alan maddeler</b> ..... | 17   |
| <b>2.2.4.1. Adhezyon molekülleri</b> .....                       | 17   |
| <b>2.2.4.1.1. İntegrinler</b> .....                              | 18   |

|   |    |
|---|----|
| 2.2.4.1.2. Selektinler .....  | 18 |
| 2.2.4.1.3. İmmunoglobulin (Ig) süpergen ailesi.....                               | 18 |
| 2.2.4.2. Sitokinler .....   | 20 |
| 2.2.5. Aterogenezde temel basamaklar.....   | 20 |
| 2.2.5.1. Endotel disfonksiyonu .....  | 20 |
| 2.2.5.2. LDL'nin oksidasyonu .....  | 22 |
| 2.2.5.3. Köpük hücre oluşumu .....  | 22 |
| 2.2.5.4. Lipid Çekirdeği'nin (Lipid Core) oluşumu .....                           | 23 |
| 2.2.5.5. Fibröz başlık (Fibrous Cap) oluşumu .....                                | 23 |
| 2.2.5.6. İmmün mekanizmalar .....   | 25 |
| 2.2.5.7. Plak vaskülarizasyonu .....  | 25 |
| 2.2.6. Aterosklerotik lezyonlar .....   | 25 |
| 2.2.7. Plağın aktivasyonu ve klinik sendromlar .....                              | 28 |
| 2.2.8. Ateroskleroz patogenezini açıklamaya yönelik hipotezler .....              | 29 |
| 2.2.8.1. Hasara yanıt hipotezi .....  | 29 |
| 2.2.8.2. Lipid hipotezi .....   | 30 |
| 2.2.8.3. Monoklonal hipotez.....  | 31 |
| 2.2.9. Aterosklerozda lipidler ve lipoproteinler.....                             | 31 |
| 2.2.9.1. LDL oksidasyonu .....  | 31 |
| 2.2.9.1.1. Metal iyonları .....   | 33 |
| 2.2.9.1.2. Lipoksijenazlar .....  | 33 |
| 2.2.9.1.3. Miyeloperoksidaz .....   | 33 |
| 2.2.9.1.4. Reaktif nitrojen ürünleri.....   | 33 |
| 2.2.9.1.5. Okside LDL'nin biyokimyasal yapısı.....                                | 35 |
| 2.2.9.2. Yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL).....                               | 36 |
| 2.2.9.2.1. HDL'nin LDL oksidasyonuna etkisi ve aterosklerozdaki rolü .....        | 37 |
| 2.3. Paraoksonaz /Ariesteraz (PON1/ARE).....                                      | 38 |
| 2.3.1. Tarihçe .....  | 38 |
| 2.3.2. PON genleri ve proteinleri .....   | 39 |
| 2.3.3. Kimyasal yapısı .....  | 39 |
| 2.3.4. Paraoksonazın sentez ve sekresyonu .....                                   | 41 |
| 2.3.5. Genetik polimorfizm .....  | 42 |
| 2.3.6. Fonksiyonel önemi .....  | 44 |
| 2.3.6.1. Hidrolitik aktivite; organofosfatlara karşı koruma .....                 | 44 |
| 2.3.6.2. Oksidatif veya peroksidatif aktivite; LDL oksidasyonunun önlenmesi ..... | 45 |

|  |    |
|--|----|
| <b>3. MATERYAL VE METOD</b> .....                          | 48 |
| <b>3.1. Olgu seçimi</b> .....                              | 48 |
| <b>3.2. Örneklerin toplanması ve saklanması</b> .....      | 48 |
| <b>3.3. Biyokimyasal analizler</b> .....                   | 48 |
| <b>3.3.1. Paraoksonaz aktivitesinin ölçüm metodu</b> ..... | 48 |
| <b>3.3.2. Arilesteraz aktivitesinin ölçüm metodu</b> ..... | 50 |
| <b>3.3.3. HDL-kolesterol ölçüm yöntemi</b> .....           | 51 |
| <b>3.4. İstatistiksel analizler</b> .....                  | 51 |
| <b>4. BULGULAR</b> .....                                   | 52 |
| <b>5. TARTIŞMA</b> .....                                   | 60 |
| <b>6. KAYNAKLAR</b> .....                                  | 66 |

## TABLO LİSTESİ

|   |    |
|---|----|
| <b>Tablo I:</b> İntraserebral hemorajilerin nedenleri                                       | 10 |
| <b>Tablo II:</b> Kardiyovasküler risk faktörleri  | 11 |
| <b>Tablo III:</b> Endotel hücrelerinden salgılanan maddeler                                 | 13 |
| <b>Tablo IV:</b> Aterosklerotik lezyonların sınıflandırılması                               | 28 |
| <b>Tablo V:</b> PON enziminin farklı populasyonlardaki gen sıklığı                          | 44 |
| <b>Tablo VI:</b> Paraoksonaz aktivitesinin manuel ölçümü                                    | 49 |
| <b>Tablo VII:</b> Arilesteraz aktivitesinin manuel ölçümü                                   | 51 |
| <b>Tablo VIII:</b> Hasta ve kontrol gruplarının fiziksel özelliklerinin karşılaştırılması   | 52 |
| <b>Tablo IX:</b> Hasta grupların klinik bulgularının karşılaştırılması                      | 52 |
| <b>Tablo X:</b> İskemik inme grubunun sınıflandırmaya göre bulguları                        | 53 |
| <b>Tablo XI:</b> Grupların vasküler risk faktörlerine göre dağılımı                         | 53 |
| <b>Tablo XII:</b> Hasta ve kontrol gruplarının biyokimyasal analiz sonuçları                | 56 |
| <b>Tablo XIII:</b> İskemik inme grubunda biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizleri  | 58 |
| <b>Tablo XIV:</b> Hemorajik inme grubunda biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizleri | 58 |
| <b>Tablo XV:</b> Kontrol grubunda biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizleri         | 59 |



## ŞEKİL LİSTESİ

|  |    |
|--|----|
| <b>Şekil 1:</b> Bağlanmış trombositin endotelial hücre inflamasyonuna etkisi                 | 17 |
| <b>Şekil 2:</b> Tip I aterosklerotik lezyonun progresyonu                                    | 26 |
| <b>Şekil 3:</b> Tip II aterosklerotik lezyonların progresyonu                                | 26 |
| <b>Şekil 4:</b> Tip V aterosklerotik lezyonların progresyonu                                 | 27 |
| <b>Şekil 5:</b> Tip VI aterosklerotik lezyonların progresyonu                                | 27 |
| <b>Şekil 6:</b> Lipid peroksidasyonunun temel reaksiyonları                                  | 34 |
| <b>Şekil 7:</b> PON1'in yapısı   | 40 |
| <b>Şekil 8:</b> PON1 enziminin hücrelerden HDL'ye transferi                                  | 42 |
| <b>Şekil 9:</b> İskemik inme grubunda risk faktörlerine göre hastaların dağılım yüzdeleri    | 54 |
| <b>Şekil 10:</b> Hemorajik inme grubunda risk faktörlerine göre hastaların dağılım yüzdeleri | 55 |
| <b>Şekil 11:</b> Kontrol grubunda risk faktörlerine göre hastaların dağılım yüzdeleri        | 55 |
| <b>Şekil 12:</b> Hasta ve kontrol gruplarında PON1 düzeyleri                                 | 57 |
| <b>Şekil 13:</b> Hasta ve kontrol gruplarında ARE düzeyleri                                  | 57 |

## ÖZET

İnme, kalp hastalığı ve kanserden sonra dünyada en sık görülen üçüncü ölüm nedenidir ve morbiditenin ise en sık sebebidir. Bu nedenle risk faktörlerine karşı korunma yöntemlerinin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Hastalığın moleküler mekanizmaları halen tam olarak açıklanamamakla birlikte, LDL düzeylerinin artması ve HDL düzeylerinin azalmasının aterotrombotik beyin infarktlarının oluşum riskini arttırabileceği düşünülmektedir. Paraoksonaz (PON1), antioksidan özelliklere sahip olan ve ateroskleroz riskini azaltabilen HDL ilişkili bir esterazdır. Arilesteraz (ARE) ise, PON1'deki değişimlerden etkilenmeyen asıl proteinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada biz PON1 ve ARE enzim aktivitelerinin inme ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda 36 iskemik, 22 hemorajik inme (intraserebral hemoraji) hastası ve kontrol grubu olarak yaş, cinsiyet ve vasküler risk faktörleri açısından hasta grupları ile eşleştirilmiş 36 gönüllü bireyde PON1, ARE aktiviteleri ile HDL kolesterol analizi yapılarak gruplar karşılaştırıldı. Ayrıca PON1 aktivitesinin diğer biyokimyasal parametreler ile ilişkisi de araştırıldı.

İstatistiksel analizler sonucunda PON1 enzim aktivitesi ve HDL konsantrasyonu açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmaz iken (sırasıyla  $p=0.188$ ,  $p=0.162$ ), iskemik inme grubunda hemorajik inme grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük ARE aktivitesi tespit edildi ( $p=0.022$ ). İskemik inme ve kontrol gruplarında PON1 ile HDL arasında, ek olarak tüm gruplarda PON1 ile ARE arasında pozitif yönde korelasyon saptandı.

Sonuç olarak PON1 aktivitesi ve HDL konsantrasyonu hasta ve kontrol gruplarında benzerdi ve inme için bir risk faktörü olarak belirlenemedi. ARE aktivitesinin ise iskemik inme grubunda hemorajik gruba kıyasla anlamlı düşük olup hasta gruplarında kontrolle farksız olması da inme için bir risk faktörü olmadığını düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** İnme, Paraoksonaz, Arilesteraz, HDL, Risk Faktörleri

## ABSTRACT

Stroke is the third most common cause of mortality after heart disease and cancer, and the most common cause of morbidity in the world. Therefore, the methods of protection against the development of risk factors are important. Molecular mechanisms of disease are still not well clarified. Elevated LDL and reduced HDL cholesterol may increase the risk of atherothrombotic brain infarction. Paraoxonase (PON1), is an HDL-associated esterase which has antioxidant properties and can reduce the risk of atherosclerosis development. Arylesterase (ARE) is considered as the main protein indicator which is not affected by changes in PON1. In this study, we aimed to investigate PON1 activity and ARE activity relationship with stroke.

We evaluated and compared the PON1, ARE activity and HDL levels in 36 ischemic stroke, 22 hemorrhagic (intracerebral hemorrhage) stroke patients and 36 stroke-free age, sex and vascular risk factors matched volunteers. Moreover, the relationship between PON1 activity and other biochemical parameters were also investigated.

Statistical analyses revealed that PON1 activity and HDL levels were not different between groups ( $p=0.188$ ,  $p=0.162$ , respectively), but ARE activity was found significantly lower in ischemic stroke patients compared to hemorrhagic group ( $p=0.022$ ). PON1 activity was positively correlated with HDL cholesterol in ischemic stroke patients and control group. Additionally in all groups, a positive correlation between PON1 activity and ARE was found.

As a result, HDL concentration and PON1 activity were similar between patients and control group and could not be determined as a risk factor for stroke. ARE activity was significantly lower in ischemic stroke patients compared to hemorrhagic group but was not different in patients compared to control group. This suggests that ARE activity could not also be determined as a risk factor for stroke.

**Key Words:** Stroke, Paraoxonase, Arylesterase, HDL, Risk Factors

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ:

İnme (stroke), nörolojik hastalıklar içerisinde geniş oranda görülen, pek çok ülkede kalp hastalığı ve kanserden sonra üçüncü sırada ölüm nedeni olan majör bir sağlık problemidir. Serebrovasküler hastalıkların patogenezi, etyolojisi ve epidemiyolojisinin anlaşılmasında önemli adımlar atılmıştır. Tedavi ve tanıda yeni metodlar gelişmiştir. Amerikan Nörolojik Bozukluklar ve İnme Ulusal Enstitüsü [National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS)] serebrovasküler hastalığı şu şekilde tanımlamıştır; bir beyin bölgesinin, iskemi veya kanama sonucu kalıcı veya geçici olarak etkilenmesi ve/veya beyni ilgilendiren bir ya da daha fazla kan damarının primer patolojisidir (1).

Serebrovasküler hastalık (SVH) genel bir terim olmasına karşın, inme, başlangıcının akut olması nedeni ile sınırlı bir anlam içerir. Dünya Sağlık Örgütü [World Health Organization (WHO)] kriterlerine göre inmenin tanımı şu şekilde yapılmaktadır; ani gelişen, 24 saatten fazla süren ya da bu süre içerisinde ölümlle sonlanan, vasküler nedenden başka bir neden ortaya konulamayan, fokal veya yaygın nörolojik defisitlerdir (2, 3).

Yapılan çeşitli epidemiyolojik çalışmalar sonucu SVH için risk faktörleri incelenmiştir. Yaş, cinsiyet, aile hikayesi, ırk gibi değiştirilemeyen risk faktörleri kontrol altına alınamamakla birlikte, arteriyel hipertansiyon, diyabet, kalp hastalığı, dislipidemiler, sigara kullanımı, doğum kontrol ilaçlarının kullanımı, artmış fibrinojen, karotis arter stenozu gibi risk faktörleri tedavi veya kontrol edilebilmektedir (4).

Ateroskleroz, lipidler ile doldurulmuş orta ve büyük arterlerin sinsice ilerleyen, multifokal, immuno-inflamatuvar bir hastalığıdır. Aterosklerozun en zararlı sonuçları; kalp krizi ve inmedir. Bunlara aterosklerotik lezyon üzerine trombüs oturması sebep olmaktadır. Ateroskleroz yıllarca süren yavaş ve sessiz gelişme sonrasında, aniden lümen içerisinde trombüs gelişimi ile komplike olmaktadır (5).

Artmış plazma düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterol konsantrasyonu, ateroskleroz gelişiminde primer bir risk faktörüdür. LDL-kolesterolün oksidasyonu aterosklerozun başlangıç döneminde anahtar rol oynar ve sonuç olarak makrofaj tarafından alınan LDL köpük hücrelerin oluşumuna yol açar. Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterolün serum düzeyinin artması ise ateroskleroz gelişimini engellemektedir. HDL, kolesterolün ekstrahepatik dokulardan alınması ve karaciğere transportunda görev alır. Bu işlev "Ters Kolesterol Transportu" olarak bilinir. Son yıllarda HDL'nin ters kolesterol transportu dışında başka antiaterojenik özellikleri olduğu anlaşılmıştır. HDL, LDL'nin

oksidasyonunu engellemektedir. Özellikle HDL ilişkili serum enzimlerinin antioksidan etkileri dikkat çekicidir (6, 7).

Paraoksonaz; paraoksonaz, arilesteraz ve diazoksonaz aktivitelerine sahip olan kalsiyum bağımlı esterazdır. İnsan serumunda esasen HDL ile kompleks şeklinde bulunmaktadır. Bakır iyonların ve serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan LDL ve HDL'yi korumaktadır. Bu koruma PON enziminin aktive fosfolipidlere ve lipid peroksid ürünlerine karşı hidrolitik aktivitesinden kaynaklanmaktadır (8).

Çalışmamızda KSÜ Tıp Fakültesi Hastanesine başvuran SVH hastalarında iskemik ve hemorajik SVH ile PON1 ve arilesteraz aktivitesi arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi, PON1 ve ARE aktivitesinin serebrovasküler hastalık etiyopatogenezinde risk faktörü olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER:**

### **2.1. SEREBROVASKÜLER HASTALIK (SVH):**

İnme terimi spesifik olarak serebrovasküler hastalığa bağlı olarak gelişen, ani yerleşimli, fokal nörolojik bir sendromu ifade etmektedir. Serebrovasküler hastalık terimi ise kan damarlarını ilgilendiren patolojik bir süreç sonucu beyinde oluşan tüm bozuklukları anlatmaktadır. Patolojik süreç, damar duvarının herhangi bir lezyonu veya permeabilite değişikliği, lümenin emboli veya trombus ile tıkanması, damarların rüptürü, kan viskozitesinde artış veya diğer kan içeriğindeki değişiklikler, ateroskleroz, hipertansif aterosklerotik değişiklikler, anevrizmal dilatasyon, arterit, gelişimsel malformasyonlar gibi durumlarda gelişir (9).

Vasküler lezyon sonucu beyinde gelişen parankimal değişiklikler de önemlidir. Parankimal değişiklikler infarktla birlikte olan veya olmayan iskemi ve kanama olmak üzere başlıca iki tiptedir (9).

İnme, sosyoekonomik önemi giderek artan bir hastalıktır. İnme, ABD'de 2004 yılındaki verilere göre her 16 ölüm olgusundan birinden sorumludur. İnme ayrıca uzun dönem sakatlığın ana nedenidir ve hastalar, aileleri ve sağlık kurumları için çok büyük emosyonel ve sosyoekonomik sorunlara yol açmaktadır (10).

#### **2.1.1. İnme İnsidansı:**

İnme epidemiyolojisini incelemeye en geçerli verilerden biri insidans (belirli bir zaman periyodunda bir populasyonda ortaya çıkan yeni inme olguları) verileridir. Yaş standardizasyonu yapıldıktan sonra 55 ve üstü yaşlarda total inme insidansı yıllık 4.2-6.5/1000 olarak görülmektedir. Yaşa spesifik inme insidansının dekad artışı ile de progressif bir şekilde yükseldiği gözlenmiştir. Örneğin, 45 yaş altı kişilerde inmenin insidansı 0.1-0.3/1000 kişi/yıl, 75-84 yaş arası 12.0-20.0/1000 kişi/yıl olarak değişmektedir (10). Erkeklerde 55-64 yaş arasında inme insidansı kadınlara göre 2-3 kat fazla iken ileri yaşta bu fark azalmaktadır (11). Kış aylarında inmenin arttığı görülmektedir (12).

#### **2.1.2. İnme Prevalansı:**

İnme prevalansının (belirli bir zamanda bir populasyondaki olguların total sayısı) yaşla birlikte arttığı görülmektedir. Yaşın standardize edildiği prevalans çalışmalarında 65 yaş ve üzerinde 1000 kişilik populasyonda 46.1-73.3 oranda bulunmuştur. Erkeklerde inme prevalansı 58.8-92.6/1000 kişi olup, kadınlarda 32.2-61.2/1000 kişidir (10).

### **2.1.3. Sınıflandırma:**

İnme etiyojisine yönelik ilk sınıflandırmalar, genellikle lezyonun patolojisine göre yapılmış ve tüm inmeler, "iskemik " ve "hemorajik" olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Daha sonraki çalışmalarda yapılan inme sınıflandırmalarında, çeşitli toplumlarda bazı alt gruplar daha sık görülmekle birlikte benzer değerler elde edilmiştir. Başlıca inme alt grupları: Subaraknoid Kanama (%3-10), İntraserebral Hemoraji (% 10-15) ve Serebral İskemi (%60-80) (13).

Banford ve arkadaşları 1991 yılında klinik bulguları ön planda tutarak bir sınıflandırma yapmışlardır (13);

1. Total anterior sirkülasyon infarktları (TACI)
2. Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları (PACI)
3. Posterior sirkülasyon infarktları (POCI)
4. Laküner infarktlar (LACI)

1993 yılında TOAST “Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment” çalışmasında kullanılan sınıflandırmada ise, klinik bulguların yanı sıra etiyojiye de yer verilmiştir (13).

1. Geniş arter ateroskerozu (tromboz veya emboli)
2. Kardiyoembolizm
3. Küçük damar oklüzyonu (lakün)
4. Diğer belirlenen etiyojiler
5. Sebebi belirlenemeyen iskemik inme

### **2.1.4. İnme Risk Faktörleri:**

Akut inme tedavisindeki büyük gelişmelerine rağmen inme nedenli ölümler halen birçok ülkede üçüncü sırada yer almakta ve inmeye bağlı sakatlıklar ise büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu durumda inme risk faktörlerinin epidemiyolojik çalışmalarla belirlenmesi ve önlenmesi önem kazanmaktadır.

### **2.1.4.1. İnme Risk Faktörlerinin Sınıflandırması (13):**

#### **1. Değiştirilemeyen risk faktörleri**

- Yaş
- Cins
- Irk
- Aile öyküsü

#### **2. Değiştirilebilen risk faktörleri**

##### **a) Kesinleşmiş faktörler**

- Hipertansiyon
- Diabetes Mellitus (DM), hiperinsülinemi ve glukoz intoleransı
- Kalp hastalıkları
- Hiperlipidemi
- Sigara
- Asemptomatik karotis stenozu
- Orak hücreli anemi

##### **b) Kesinleşmemiş faktörler**

- Alkol kullanımı
- Obezite
- Beslenme alışkanlıkları
- Fiziksel inaktivite
- Hiperhomosisteinemi
- İlaç kullanımı ve bağımlılığı
- Hormon tedavisi
- Hiperkoagülabilité
- Fibrinojen



- İnflamasyon
- Enfeksiyon
- Migren
- Uykuda solunum bozuklukları

### **2.1.5. İskemik İnmenin Patofizyolojisi:**

Beyin vücut ağırlığının %2'sini oluşturduğu halde metabolik olarak vücuttaki en aktif organlardan biridir ve bu aktiviteyi sağlayabilmek için zengin bir kan akımına gereksinim duyar. Erişkinlerde kardiyak debinin normalde %15-17'i kadarı beyine gider ve bu sayede akciğerler tarafından absorbe edilen oksijenin %20'si kullanılır. Serebral kan akımı (SKA) miktarı 100 gr beyin dokusu için ifade edilir ve normalde ortalama 50 ml/dakikadır. Gri cevherde SKA ortalama 70-80 ml/100gr/dk. iken, beyaz cevherde 30 ml/100gr/dk.'dır. Beyinde kan akımının bir bölgede yetersiz kalması durumunda, yetersizliğin derecesi ve süresine bağlı olarak dokuda reversibl veya irreversibl iskemik değişiklikler oluşur. İskemik dokuda SKA'nın 10-15 ml/100gr/dk'nın altına düşmesi durumunda ise dokuda nekroz oluşur ve fonksiyon kaybı irreversibl hale gelir (14).

Serebral infarkt temel olarak iki fizyopatolojik süreçten oluşur. Birinci süreç, vasküler tıkanmaya sekonder olarak beyin dokusunun oksijen ve glukozdan mahrum kalmasıdır. Diğeri ise enerji üreten süreçlerin çökmesi nedeniyle gelişen ve sonunda hücre membranının parçalanmasına yol açan bir dizi hücrel metabolizma değişikliğidir (9).

Beyin dokusunun iskemiye toleransı çok sınırlıdır. Beyni besleyen bütün damarlarda kan akımı kesildiği zaman, iskemiye hassas bölgelerde 6-8 dakika içerisinde kalıcı hasar meydana gelir. Fokal iskemide ise geri dönüşsüz zedelenme daha uzun süre (saatler, hatta günler) içerisinde meydana gelir. Bunun nedeni tıkanan damarın beslediği sahada beyin kan akımının kollaterallerce kısmen sürdürülebilmesidir. İnsan beyinde bir damar tıkanmış zaman, sınırlı bir bölgede kan akımı kritik seviyenin altına düşer ve doku nekrozu gelişir. Bu alan iskemik çekirdek olarak adlandırılır. İskemik çekirdeği çevreleyen bölgelerden periferik doğru gidildikçe artış gösteren ve kollateral damar sistemleri tarafından beslenen farklı kan akımı kuşakları mevcuttur. İskemik stres altındaki bu alanlarda henüz infarkt meydana gelmemiştir. Ancak, eğer iskemik durum düzeltilmez ise, bu bölgelerin birkaç saat içerisinde nekroza gitme olasılığı vardır. Kan akımının azaldığı ancak kalıcı hasarın henüz oluşmadığı beyin bölgesine kurtarılabılır doku (penumbra) adı verilir ve bu doku günümüzde tedavi yaklaşımlarının temel hedefini oluşturur (15).

Beyin kan akımının tamamen durması saniyeler içinde nöronal elektriksel aktivitenin kesilmesine ve birkaç dakika içinde enerji durumunun ve kan homeostazının bozulmasına yol açar (16). İskemik hücrede glukoz ve glikojen depoları tükenirken, oksijen yetersizliği mitokondriyal solunumu bozar. Laktat ve hidrojen iyonları birikmeye başlar ve laktik asidoz oluşur. Hidrojen iyonları demire bağlı serbest radikal oluşumunu başlatır ve astroglial zedelenmeyi artırır. Yüksek enerjili fosfatların tükenmesi membran iyon pompasını iflasa götürür. Potasyum hücre dışına çıkarken, sodyum, klor ve su hücre içine girerek membran depolarizasyonunu oluşturur. ATP ve fosfokreatinin kaybı, sodyum-potasyum transport sisteminin iflası reversibl olduğu için dokuda irreversibl yıkım oluşmayabilir. ATP kaybını tam iskemide dahi beyin hücreleri bir saat kadar tolere edebilir. Hücre dışında potasyumun birikmesi ve membran depolarizasyonu voltaj-bağımlı kalsiyum kanallarının açılmasına neden olur ve ekstrasellüler kalsiyum iyonları %95'e yakın oranda hücre içine girer. İskemik nöronda kalsiyumun hücre içine girmesi zedelenmeyi artırır. Kalsiyum fosfolipazı aktive ederek membrana bağlı gliserofosfolipidlerin serbest yağ asitlerine hidrolize olmasına ve sonuçta diğer membran lipidlerinin serbest radikal peroksidasyonuna neden olur. Ayrıca kalsiyum proteaz enzimlerinin aktivasyonuna neden olarak proteinlerin lizisine ve nitrik oksit sentetazın aktivasyonu ile serbest radikallerin çıkmasına neden olur. Tüm bunların sonucunda da irreversibl hücre hasarı meydana gelir ve hücre ölümü gerçekleşir (11, 17, 18).

Krebs siklusunun glikolitik ara ürünlerinden gelişen eksitator nörotransmitterler özellikle de glutamat ve aspartatın rolleri ilginçtir. İskemik hücrelerden salınan bu nörotransmitterlerin nöronları uyardığı, sodyum ve kalsiyumun hücre içine geçişine neden oldukları bulunmuştur. Bu değişikliklerin dönüşümsüz hücre hasarına yol açtıkları ileri sürülmektedir (9).

Akut iskemiden dakikalar ve saatler sonra sitotoksik ödem gelişir ve reversibl olabilir. İskemik ödem ise inmeden 24-72 saat sonra giderek artar ve 5. gün civarında maksimuma varır (19). Global veya fokal serebral iskemi sonrası parankimal dokunun hasarı iskemi sırasındaki kan miktarına ve iskeminin süresine bağlıdır. İskemiye uğrayan doku belirli bir süre sonra reperfüze olduğunda dokular normal fonksiyonlarına dönebilir. Ancak hasarlı doku ile kan karşı karşıya geldiğinde yeni hasarlar veya infarkt gelişebilir. Kan akımı normalleşmesi sırasında olan hasarlanmaya "reperfüzyon hasarı" denir. Reperfüzyon nöronal hasara yol açarak geç dönemde klinik kötüleşmeye yol açabilir (11, 16, 17).

İnsanlarda korunabilir beyin dokusunun gösterilmesi amacıyla pozitron emisyon tomografi (PET) ve Xenon X-ray bilgisayarlı tomografi ve Diffüzyon/Perfüzyon manyetik rezonans (DWI/PWI ) yöntemleri kullanılmıştır. PET ve DWI/PWI verileri, penumbra dokusunun mevcut olduğunu göstermektedir. Deneysel modellerden farklı olarak insan penumbra dokusu daha uzun süre mevcudiyetini koruyabilmektedir. Bu bulgular, iskemik inme tedavisinde, beyni korumaya yönelik önlemlerin ön planda olduğu dinamik bir yaklaşım kavramını ortaya çıkarmıştır. Penumbra dokusunun en geniş olduğu dönem inmeyi takip eden en erken dönem olduğu için tedavi mümkün olan en kısa zamanda başlamalı, ilk 6 saatte muhakkak yapılmalıdır (15).

### **2.1.6. Hemorajik İnme:**

Beyin kanaması iki tiptedir. İntraserebral tipte, kan damardan (genellikle küçük arter) doğrudan beyine geçerek beyin dokusu içinde bir hematoma oluşur ve bazen de ventrikül ve subaraknoid aralığa yayılır. Kan geçişi durduğunda, kan yavaşça yıkılır ve haftalar-aylar süren bir dönem içinde absorbe olur (9).

İkinci kanama tipi Willis poligonundaki büyük arterlerin dallanma bölgelerindeki anevrizmal genişlemelerden kaynaklanır. Kanama hemen tümüyle subaraknoid aralıktadır ve bu nedenle beyinde hemen gelişen fokal etkilenme pek azdır. Kanamanın bu iki ana tipine ek olarak, soluk bir infarktta çoğu kez beyin içine kan sızması alanları (hemorajik infarkt) bulunur (9).

#### **2.1.6.1. İntraserebral Hemoraji:**

Arteriyel veya venöz kanın, ani olarak beyin dokusu içine geçişi ile ortaya çıkan klinik tabloya intraserebral hemoraji (İH) adı verilir. Tüm inmeler içinde, iskemik inmelerden daha az görülmesine karşın, serebral hemorajinin daha ölümcül olduğu bilinir. Serebral hemoraji tiplerinden olan intraserebral hemorajinin mortalite hızı subaraknoid hemorajiye göre 1.5-2 kat daha fazladır (20).

##### **2.1.6.1.1. Epidemiyoloji:**

İntraserebral hemorajinin insidansı ve inmeler içindeki yerinin, ırklar ve coğrafi bölgelere göre farklılıklar gösterdiği belirtilmektedir. Amerika ve Avrupa'daki çalışmalarda İH'nin tüm inmeler arasındaki yeri yaklaşık %10 iken Asya kökenli çalışmalarda %20–25 civarında olduğu gösterilmiştir (21).

### **2.1.6.1.2. Patofizyoloji:**

Serebral otoregülasyon, kronik hipertansiyonlu hastalarda bozular. Bununla birlikte kan basıncında ani bir artış, kanamaya neden olabilir. Uzun süreli kan basıncı artışı penetran arter duvarında lipid ve hiyalin materyalin birikmesine (lipohiyolinosis) ve fazla sayıda mikroanevrizmal oluşumlara yol açabilir. Kapiller, arterioller ve küçük damarların yırtılması kanın beyin parankimi içine sızmasına yol açar. Hematom lokal basıncı artırır. Bu basınçla çevredeki kapiller de doku içine yırtılarak hematomun genişlemesine yol açar (20).

### **2.1.6.1.3. Etiyoloji:**

İntraserebral hemorajili olgular genel olarak değerlendirildiğinde hipertansiyon ve yaş en önemli nedenler içerisinde dikkati çekmektedir. Yaş, spontan İH için kuvvetli bir risk faktörüdür, yaş arttıkça insidansı da artmaktadır (22). Beyazlara kıyasla Amerika-Afrikalılarda daha sık görülmektedir (23). Hipertansiyon İH için en kuvvetli değiştirilebilir risk faktörü olup, Hiroşima ve Nagasaki kohort çalışmasında sistolik kan basıncının artması ile İH riskinin arttığı gösterilmiştir. Sol ventrikül hipertrofisinin de İH riskini 2-7 kat arttırabildiği gösterilmiştir (24).

İntraserebral hemoraji için diğer değiştirilebilir faktörler arasında daha önce geçirilmiş stroke, ağır alkol kullanımı, kokain, antikoagülan ve trombolitik tedavi yer almaktadır. Yaşlılarda spontan lobar hemoraji için bilinen en önemli risk faktörlerden biri de amiloid anjiopatidir (22).

Genel olarak İH oluşumuna yol açan nedenler 4 kategoriye ayrılarak incelenebilir (Tablo1). Hemoraji nedenlerinin en geniş bölümünü vasküler sistem anomalileri oluşturur. Vasküler anomaliye bağlı kanamaların 40 yaş altındaki kişilerde en sık nedeni anevrizma ve arteriovenöz malformasyonlar (AVM), 40-70 yaş arasındaki kişilerde ise küçük perforan arterlerin mikroanjiomalarının rüptürü, daha ileri yaşta ise amiloid anjiopatilerdir (20).

İntraserebral hemorajilerin risk profili iskemik inmelere kısmen farklılık gösterir. İH'nin bilinen en sık nedeni hipertansiyondur. Bunu amiloid anjiopati, vasküler malformasyonlar, ilaç kullanımı ve hematolojik hastalıklar izler. Literatürde bu olgularda yapılan sınırlı sayıda karşılaştırmalı çalışmada, İH'li olgularda azımsanmayacak ölçüde ekstra ve intrakraniyel patolojik ve radyolojik değişikliklerin olduğu bildirilmiş olmasına karşın iskemik inmeli olguların etiyolojik sınıflaması amacıyla sıklıkla araştırılan intra ve

ekstrakraniyel aterosklerotik patolojiler, İH'li olguların takibi sırasında rutin olarak araştırılmamaktadır (25).

| <b>Tablo1: İntraserebral hemorajilerin nedenleri</b>  |
|---|
| <b>Anatomik faktörler:</b><br>Serebral kan damarlarının malformasyonu veya değişiklikleri<br>Küçük damarların lipohyalinosisi veya mikroanevrizması<br>Serebral AVM<br>Amiloid anjiopati<br>Sakküler anevrizmalar<br>İntrakraniyel venöz trombozlar<br>Mikroanjyomlar<br>Dural AVM<br>Septik arteritis ve mikotik anevrizmalar<br>Moyamoya sendromu<br>Arteryal diseksiyonlar<br>Karotikokavernöz fistüller |
| <b>Hemodinamik faktörler:</b><br>Arteryal hipertansiyon<br>Migren   |
| <b>Hemostatik faktörler:</b><br>Antikoagulan veya antitrombosit ilaç kullanımı<br>Trombolitik tedavi<br>Hemofili<br>Lösemi ve trombositopeni  |
| <b>Diğer faktörler:</b><br>İntraserebral tümörler<br>Alkol<br>Amfetamin kullanımı<br>Kokain ve diğer semptomimetik (özellikle propalomin) kullanımı<br>Vaskülit   |

Kim ve arkadaşları, görüntüleme teknolojisinin önemli bir aşaması sayılan MR-A ile asemptomatik, iskemik ve hemorajik inmeli olguları değerlendirilmişlerdir. Bu çalışmada üç temel yapı; proksimal vertebral arter, distal vertebral arter, internal karotid arter ölçümleri asemptomatik, hemorajik inme ve iskemik inme olmak üzere üç grupta da incelenmiştir. Buna göre asemptomatik grupta sırasıyla %3.3, % 0.5 ve % 1.1, hemorajik inmeli olgularda, %19.2, % 7.7, % 7.7, anterior sirkülasyon iskemilerde % 27.3, % 8.3 ve % 25.6 ve posterior sirkülasyon iskemilerinde % 44.4, %36.1, % 16.7 stenoz prevalansı saptanmıştır (26).

## 2.2. ATEROSKLEROZ:

Ortak bir patogenetik yol olan ateroskleroza paylaştan kardiyovasküler hastalıklar (KVH) basitçe serebrovasküler hastalık, koroner arter hastalığı (KAH) ve periferik arter hastalığı (PAH) başlıkları altında incelenmektedir. Ateroskleroz aort, karotis sistemi, koroner arterler ve serebral arterler dahil olmak üzere orta-büyük çaplı arterlerde görülen bir intima hastalığıdır. Karakteristik lezyonu olan kabarık, fibrin ve yağdan oluşan plaklar ateroma (aterom plağı) olarak adlandırılmaktadır. Kliniğe KAH, SVH veya PAH şeklinde yansıyan ateroskleroz kronik, yavaş ve sessiz ilerleyen sistemik bir hastalıktır (27).

### 2.2.1. Etiyoloji ve Risk Faktörleri:

Patogenetik açıdan aterosklerozun multifaktöriyel bir hastalık olduğu ve genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu geliştiği söylenebilir. Lipoprotein metabolizması gibi biyokimyasal metabolizmaların, inflamatuvar yanıtın ve koagülasyon sisteminin kilit rol oynadığı anormallikler söz konusudur. Bu sistemleri düzenleyen genlere ait bazı değişkenlikler (polimorfizm) ateroskleroza eğilimi arttırabilirler. Risk, çevresel risk faktörlerinin genetik yatkınlığa eklenmesi yoluyla değil, çevresel faktörlerinin genetik alt yapıyla etkileşmelerinin sonucunda şekillenir. Özellikle değiştirilebilir risk faktörleri çok önemlidir. Bunlardan en önemlileri sigara kullanımı, hipertansiyon ve hiperkolesterolemidir (27).

| <i>Değiştirilemeyen risk faktörleri</i> | <i>Değiştirilebilir risk faktörleri</i> | <i>Yeni risk faktörleri</i> |
|---|---|-----------------------------|
| Yaş                                     | Diyabet                                 | hsCRP                       |
| Cinsiyet (erkek)                        | Hipertansiyon                           | Lipoprotein(a)              |
| Ailede prematür KVH öyküsü              | Dislipidemi                             | Oksidatif stres             |
|   | Sigara kullanımı                        | Homosistein yüksekliği      |
|   | Obezite                                 | Trombojenik faktörler       |
|   | Sedanter yaşam tarzı                    |                             |
|   | Psikososyal faktörler                   |                             |

Aterosklerozda rol alan hücreler ve aterosklerozun oluşum mekanizmasına girmeden önce normal arter duvarından kısaca bahsetmekte fayda vardır.

### 2.2.2. Normal Arter Duvarı:

Normal arter duvarı üç tabakadan oluşur. En iç, başka deyişle lümeni çevreleyen tabaka intimadır. Tek sıra biçiminde dizilmiş endotel hücreleri, bunları destekleyen subendotelial matriks ve bazal membran intimayı oluşturur. Orta tabakaya media adı

verilir, arter duvarının en geniş tabakasıdır, intima ve adventisyadan internal ve eksternal elastik lamina ile ayrılır. Bu laminalar elastik lifleri arasında pencereler ihtiva ederler. Buralardan hücreler ve diğer substanslar geçebilir. Media tabakası kollajen, elastik lifler ve glikozaminoglikanlardan oluşan matriks içinde konsantrik olarak dizilmiş düz kas hücrelerinden oluşur. En dış tabaka adventisyadır. Gevşek bir bağ dokusundan yapılmış olan tabakadır. Bu bölgede kollajen lifler, elastik lifler, sinir lifleri, fibroblastlar ve bazı düz kas hücreleri bulunmaktadır. Adventisya, arter duvarlarını besleyen küçük kan damarları (vasa vasorum) ve lenfatik kanallar içermektedir ( 28, 29, 30).

### **2.2.3. Aterogenezde Rol Alan Hücreler:**

Ateroskleroz oluşumunda yer alan dört tip hücre belirlenmiştir: endotel hücreler, düz kas hücreleri, trombositler ve makrofaj/monositler (29).

#### **2.2.3.1. Endotel Hücresi:**

Arterlerin iç yüzeyini kaplayan endotel hücreleri kesintisiz bir tabaka oluşturmaktadır. Dolaşımdaki ürünlerin aktif transport ile girişlerini kontrol etmektedir. Kan elementleri ve lipoproteinler için iyi bir bariyer gibi davranmaktadır (30).

Endotel hücreler çok önemli fonksiyonlar görürler:

1. Dolaşım ve damar duvarı arasında selektif geçirgen bir bariyer oluştururlar
2. Antitrombotiktir, çünkü heparan sülfat gibi yüzey molekülleri ve prostasiklin gibi antitrombojenik substansların salınımını yapar
3. Potent vazodilatör, EDRF (nitrik oksidin kükürtlü formu)'nin salınımını yapar. Lokal vasküler tonusun regülasyonunda önemli rol oynar. Potent vazokonstriktör etkilidir
4. Damar düz kas hücresi proliferasyon ve migrasyonunu düzenler
5. Koagülasyon ve fibrinolitik olaylarda modülatör rol oynar
6. İnflamatuar ve immünolojik olaylarda rol oynar
7. Metabolik aktivitesi vardır (lipid oksidasyonundaki rolü). LDL reseptörlerini taşırlar. Aterosklerotik proste LDL'nin bağlanıp iç tabakaya geçtiği kısımlardır
8. Endotel hücrelerinin dayandığı bazal membranı oluşturan proteinleri sentezler (29, 31).

Endotel hücreleri arasındaki bağlar, normalde albuminden daha büyük moleküllerin geçişine izin vermeyecek kadar sıkıdır. Lipoproteinler albuminden çok daha büyük olduğundan, endotel bariyerini ancak plazmolemma vezikülleri aracılığıyla geçebilirler. Bu

mekanizma lipoprotein reseptörlerinden bağımsız olup kandaki lipoprotein düzeyiyle ilişkilidir. Endotelde herhangi bir hasar meydana geldiğinde, bu bariyer özelliği bozulmakta ve lipoproteinlerin subendotelyuma geçişi hızlanmaktadır. Endotel altına lipid geçişini takiben gelişen olaylar aterosklerozun gelişimini hızlandırmaktadır (28).

**Tablo III:** Endotel hücrelerinden salgılanan maddeler (31)

---

1- Vazokonstriktörler

- Angiotensin converting enzim (ACE)
- Endotelinler (ET-1, ET-2, ET-3)
- Angiotensin II (AII)
- Tromboksan A2
- Asetil kolin, araşidonik asit, prostaglandin H2, trombin, nikotin

2- Vazodilatatörler

- Nitrik oksit (NO=EDRF)
- Adrenomedüllin
- Endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktörler (EDHF)
- Prostatiklin (PGI2)
- Bradikinin, asetilkolin, serotonin, histamin, substans P

3- Antitrombotik (homeostaz) maddeler

- Trombomodülin
- Doku plazminojen aktivatör (t-PA)
- Plazminojen aktivatör inhibitör tip I (PAI-1)

4- Büyüme modülatör/mediatörleri

a) Büyüme promotörleri

- Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)
- Fibroblast büyüme faktörü (FGF)
- İnsülin Benzeri büyüme faktörü (IGF-1)
- İnterlökin-1 (IL-1)
- Endotelin
- AII

b) Büyüme inhibitörleri

- Heparin sülfat
- Dönüştürücü büyüme faktörü (TGF- $\beta$ )
- NO
- Bradikinin
- Prostatiklin

5- İnflamatuar mediatörler

Adhezyon molekülleri

- Endotelyal Lökosit Adhezyon Molekülü (ELAM)
- İntrasellüler Adhezyon Molekülü (ICAM)
- Vasküler Hücre Adhezyon Molekülleri (VCAM)

Antijenler

- Major histokompatibilite kompleks 2

6- Oksidasyon-redüksiyon etkileri

---



### **2.2.3.2. Düz Kas Hücreleri:**

Normal arter duvarının media tabakasında yer alan düz kas hücrelerinin esas görevi arter tonusunu sağlamaktır. Aterosklerotik plağın gelişimi sırasında mediadan intimaya geçen bu hücreler, lezyonun fibroproliferatif sürecinde görev alır. Bu yüzden, düz kas hücrelerinin intimada birikmesi, ilerlemiş lezyonun göstergesi kabul edilir (28).

Düz kas hücre kültüründe iki ayrı fenotip tanımlanmıştır. Birinci grup yoğun miyofibriller içeren kontraktıl fenotiptir. Bunlar media tabakasında yerleşiktir, endotelin, katekolamin, anjiotensin II gibi vazokonstriktörler ve PGE, PGI<sub>2</sub>, NO, nöropeptitler, lökotrienler gibi vazodilatatörlere yanıt verirler. Bununla beraber, örneğin PDGF gibi mitojenlere kayıtsızdır (28).

Kontraktıl fenotip uyarıldığında, kontraktıl elemanların azalması, granüllü endoplazmik retikulum ve golgi cisimciklerinde gelişme ile sentetik fenotip oluşur. Bu fenotip aterosklerotik lezyonlarda bulunan gruptur ve kontraktıl fenotipin aksine vazoaktif maddelere yanıtız kalırken, PDGF gibi mitojenler tarafından uyarılarak lezyonun proliferatif aşamasında aktif rol alırlar. Bazı proteinlerin salgılanmasından ve bağ dokusu elemanlarının sentezinden sorumludurlar. Sentetik düz kas hücresi; kollajen, elastin ve glikozaminoglikanları üretir. Endotel hücrelerine benzer şekilde, düz kas hücrelerinde de sentetik durumda LDL reseptörleri belirgin hale gelir ve bu lipidlerin sindirimini kolaylaştırır. Ayrıca sentetik durumdaki düz kas hücreleri, otostimülasyon ve proliferasyona yol açan PDGF gibi kendi mitojenik faktörlerini de üretebilirler (29,32).

Son zamanlarda, aterosklerotik plaklardaki intimal düz kas hücrelerin, kan damarlarının erken gelişme döneminde bulunan düz kas hücreleriyle çok benzer olduğu anlaşılmıştır. Bu durum, intimal düz kas hücrelerinin, aterosklerozda yıkıcı bir rolden ziyade yararlı, tamir edici bir rol oynayabileceğini göstermektedir (33). Bu hücreler ve ürettikleri kollajenden zengin matriks aterosklerotik plakları stabilize edip, onları plak rüptürü ve tromboz gibi önemli sonuçlardan korumaktadırlar (34).

Vasküler düz kas hücreleri (VSMC) ayrıca, kolesterol birikmesine bağlı ateroskleroza özgül lipid dolu hücreler (köpük hücreleri) haline gelebilmektedir (30).

### **2.2.3.3. Makrofajlar:**

Makrofajlar, dolaşımdaki monositlerden türeyen fagositik hücrelerdir. Her inflamatuvar olayda olduğu gibi, aterosklerotik plakta da yoğunlukla bulunurlar. Monositi

kandan intimaya çeken güç, okside LDL pariküllerinin uyarıcılığı ile oluşan bazı kemotaktik maddelerdir. Bunlar arasında en iyi bilineni makrofaj kemotaktik proteini-1 (MCP-1)'dir. MCP-1, endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve makrofaj tarafından salgılanır. MCP-1 geni bulunmayan farelerde, normal hayvanlara göre daha küçük aterosklerotik lezyonlar gelişir. Dokuya geçen monosit, monosit koloni uyarıcı faktör (MCSF)'ün etkisi ile makrofaja dönüşür. Bu moleküller, makrofajların okside olmuş lipidleri hazmetmesini ve makrofaj köpük hücrelerin dönüşmesini sağlayan çöpçü (scavenger) reseptörlerin ekspresyonunu uyarırlar. MCSF de, yine okside LDL'nin uyarıcılığı altında endotel hücrelerince salınır. Makrofajlar bir kez lezyona yerleştikten sonra, kendileri de pek çok biyolojik madde salgılayarak, yeni makrofajların gelmesini, düz kas hücreleri, fibroblast ve monositlerin çoğalmasını ve bağ dokusu sentezini uyarırlar (28, 33, 35).

İntimadaki makrofajlar hücre yüzeyindeki çöpçü reseptörler aracılığıyla modifiye LDL partiküllerini fagosite ederek köpük hücrelerini oluştururlar. Makrofaj köpük hücreleri bir yandan intimal lipidi temizlemeye çalışırken, diğer yandan serbest oksijen radikalleri, proinflatuar maddeler ve büyüme faktörleri salgılayarak intimada vasküler düz kas hücrelerinin çoğalmasını sağlayarak lipidden zengin aterosklerotik lezyon oluşumuna katılırlar. Doğal LDL reseptörlerinin aksine makrofajlardaki bu çöpçü reseptörlerde hücre içi kolesterolle dengelenme olmadığı için makrofajlar ölene kadar modifiye LDL'yi fagosite ederler (27).

Makrofajlar ayrıca matriks yıkıcı enzimler (matriks metalloproteinazlar) ve doku faktörü salgılayarak plak destabilizasyonu ve trombojenik etkiler taşıdıklarından dolayı aterotrombotik olaylarda da rol alırlar (36).

#### **2.2.3.4. Trombositler:**

Aterogenezin hemen her aşamasında lezyon üzerinde trombosit kümeleri veya mural trombüsler görülebilir. Çekirdeksiz hücreler olduklarından protein üretememelerine karşın, trombositler içerdikleri granüllerde ( $\alpha$  granülleri) çok sayıda değişik mitojenler, sitokinler ve vazoaaktif maddeler taşırlar. Endotel hasarında olduğu gibi herhangi bir biçimde tetiklenen trombosit aktivasyonu ve agregasyonu, sonuçta degranülasyona ve bu maddelerin salıverilmesine neden olur. Büyük olasılıkla bu mekanizma aterogenezde rol oynamaktadır. Yüksek katekolamin düzeyi, stres ve sigaranın trombosit agregasyonunu artırarak, bu mekanizmayı hızlandırdığı düşünülmektedir (28).

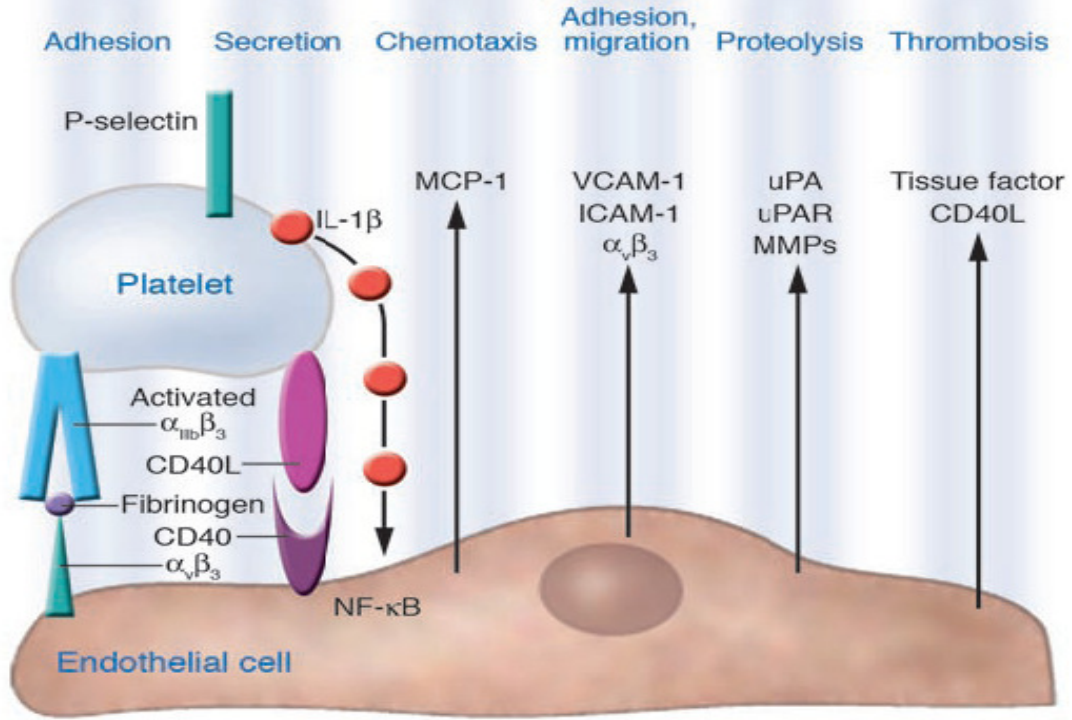
Trombositler aterosklerotik lezyonların başlangıcında da önemli bir rol oynar. Trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinden salınan PDGF damar düz kasının büyümesini uyarır ve

fibroblastlar ile inflamatuvar hücreler için kemotaktiktir (37). Trombositlerin ayrıca endotel hasar yokluğunda intakt endotelial tabakaya direkt olarak da bağlanabilmekte olduğunu gösteren çalışmalar var. Bu bağlanma süresince trombositler aktive olmaktadır (38).

Aktive trombositlerden salgılanan maddeler arasında trombosit faktör-4, IL-1 $\beta$ , CD40 ligand, trombospondin, T hücre sitokini, TGF- $\beta$  ve nitrik oksit de yer alır. Bunlardan CD40 ligand tümör nekroz faktör ailesinde yer alan ve immunomodülatör görevleri olan bir transmembran proteinidir ve ateroskleroz plağı ile ilişkisi bulunmuştur. Aktif trombositlerden salınan CD40 ligand doku faktörü yapım ve sunumunu artırarak trombus oluşumunda rol oynar, hasar bölgesine lökositleri çekmek ve ekstrasvazasyonunu sağlamak üzere adhezyon molekülleri ile kemokinleri sunan ve salgılayan endotel hücrelerini uyararak inflamatuvar yanıtı tetikler. Aktif T lenfositleri, vasküler endotel hücreleri ve makrofajlardan da salgılanmakla birlikte, plazmada ölçülen CD40 ligand (çözünür CD40 ligand) düzeyleri esas olarak trombositlerden kaynaklandığı ve çözümlü CD40 ligand düzeylerinin sağlıklı kişilerde kardiyovasküler olay riskinde artış gösterdiği, akut koroner sendromlarda ise yüksek riskli olan hastaları belirleyebileceği gösterilmiştir. IL-1 $\beta$ , trombosit bağımlı endotelial hücre aktivasyonunun majör mediatörü olarak kabul edilmektedir. IL-1 $\beta$ , endotel hücrelerinden IL-6, IL-8 ve MCP-1 gibi kemotaktinlerin sekresyonunu, aynı zamanda ICAM-1 gibi adhezyon moleküllerinin endotelial ekspresyonunu da arttırmaktadır. Bunlar göz önüne alınarak trombositlerin aterosklerozda sadece trombojenik uyarana yanıt veren hücreler olmadığı ve önemli bir inflamatuvar madde kaynağı olarak aterosklerotik süreçte yer aldıkları kabul edilmektedir (39- 43).

#### **2.2.3.5. T-Lenfositleri:**

Aterosklerotik lezyonlarda hem CD4<sup>+</sup> hem de CD8<sup>+</sup> hücrelerin bulunması, aterosklerozun patogeneğinde bağışıklık sistemine, hatta belki de otoimmüniteye ilişkin bileşenlerin de rol oynayabileceği fikrini doğurmaktadır. Makrofajların bağışıklık sisteminde T-lenfositlere antijen sunan birincil hücreler olduklarının bilinmesi ve aterosklerotik plakta T lenfositlerle yoğun etkileşimlerinin gösterilmiş olması da bu kanıyı desteklemektedir. Yine de bugüne kadar olası antijenlerin gösterilmesi mümkün olmamıştır. Ancak yapılan bazı çalışmalar, okside LDL'nin temel antijenik yapılarından biri olabileceğine ilişkin kanıtlar ortaya koymuştur (28, 44).



Şekil 1: Bağlanmış trombositin endotel hücre inflamasyonuna etkisi (43).

## 2.2.4. Ateroskleroz Patogenezinde Rol Alan Maddeler:

### 2.2.4.1. Adhezyon Molekülleri:

Hücre yüzeylerinde sentezlenen adhezyon proteinleri, immün ve inflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde hücrelerin kendi substratlarıyla veya moleküllerle etkileşimlerini (tanıma ve yapışma gibi) sağlamaktadır. Önemli hücrel adhezyon molekülleri ELAM, ICAM-1 ve VCAM-1 bulunmaktadır. ELAM yalnız epitelyumda, ICAM-1 ve VCAM-1 aynı zamanda monosit, lenfosit ve hepatositlerde sentezlenmektedir (45).

Hücre adhezyon molekülleri, yalnızca antijen sunumu, lökositlerin aktivasyonu, lökositlerin inflamasyon alanına göç etmesi, hedef hücrenin eritilmesi gibi hücre-hücre etkileşimlerini gerektiren immün ve inflamatuvar olaylarda değil, embriyojenez, yara iyileşmesi ve metastaz oluşumu gibi birçok biyolojik olayda da rol oynarlar. Hücre adhezyon molekülleri kabaca;

1) **Endotel hücre yüzeyinde bulunanlar:** E selektin = ELAM-1, VCAM-1, ICAM-1, trombosit endotel adhezyon molekülü-1 (PECAM-1)

2) **Lökositlerce eksprese edilenler:** integrinler (CD11-/CD18) ve lenfosit fonksiyon ilişkili antijen-1 (LFA-1) şeklinde gruplandırabiliriz (46).

Kardiyovasküler patolojide esas olarak 3 grup hücre adhezyon molekülleri önemlidir: integrinler, selektinler ve immunoglobulin süpergen ailesinin üyeleri (47).

#### 2.2.4.1.1. İntegrinler:

Glikoprotein yapısında olan integrinler 2 subüniteden ( $\alpha$  ve  $\beta$  zincirleri) oluşmaktadır. Hücrelerin birbirlerine ya da çevrelerindeki yapılara tutunmalarını sağlarlar. Ayrıca, hücre zarındaki konumları nedeniyle, hücre dışı uyarıların hücre içi olayları başlatmasına aracılık ederler (48).

En geniş dağılıma sahip olan  $\beta$ 1 ailesine ait integrinler fibronektin, kollajen ve laminin gibi matriks proteinlerine hücrelerin adhezyonunu sağlamaktadırlar.  $\beta$ 1 integrin matriks etkileşimi, T-hücre reseptörünün stimülasyonuna neden olarak hücre proliferasyonunu sağlar.  $\beta$ 2 integrinler sadece lökositlerden eksprese edilir ve lökositlerin tutunması ve infiltrasyonunda rol alırlar. Trombositlerin endotel hücrelerine ve endotel altı yapılara tutunmasında rol oynayan reseptörleri  $\beta$ 3 integrin ailesindedir (47, 49).

#### 2.2.4.1.2. Selektinler:

Hücrel adhezyon molekülleri arasında yer alan ve kalsiyuma bağlı moleküller olan selektinler hücre-hücre adhezyonunda işlev görmektedirler. Diğer adhezyon moleküllerinin aksine, proteinler yerine, karbonhidrat ve glikopeptidlere bağlanırlar. Bu ailenin 3 üyesi vardır. Bunlar isimlerini ilk bulunduğu hücre tipine göre (lenfosit, trombosit, endotel hücre) almış olan L, P ve E-selektin molekülleridirler. İnflamasyon sırasında lökositlerin endotel boyunca yavaş ve geriye dönüşümlü yuvarlanmaları selektin ailesi tarafından yönlendirilmektedir (45, 50).

#### 2.2.4.1.3. İmmunoglobulin (Ig) Süpergen Ailesi:

Hücre-hücre adhezyonunda rol alırlar. İnflamatuvar yanıtta hücre migrasyonu ve aktivasyonunu yönlendirmek üzere, hücre yüzeyi ekspresyonlarında belirgin artış olur. Ig üyelerinin ligandlarına bağlanması proteindeki bir veya birden çok Ig alanı ile gerçekleşir. ICAM-1, 2 ve 3, VCAM-1, ve PECAM-1 gibi immunoglobulin molekülleri esasen lökosit adhezyonunda rol alırlar.

İntersellüler Adhezyon Molekülü-1 düzeyleri inflamasyon, enfeksiyon, kanser, HIV enfeksiyonu ve pek çok tümörün karaciğerin metastazında artar. Stimulasyondan 4 saat sonra hücre yüzeyinde eksprese edilmeye başlar, 24 saatte maksimum düzeye ulaşır. Adhezyon molekülü olmanın yanısıra antijen sunumu, T-hücre stimülasyonu ve T- hücre sitotoksitesinde rol alır. ICAM-1; endotel hücreleri, lenfositler, monositler gibi birçok hücrede normalde az miktarda bulunurken, IL-1, Tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), İnterferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) gibi sitokinlerin etkisi ile artar. ICAM-2; endotel hücrelerinde, monositlerde, lenfositlerde bulunur, ancak sitokinlerle arttırılmaz. ICAM-3; endotel hücrelerinde bulunmaz, yalnızca lökositlerde bulunur. İmmün yanıtın başlangıcında rol aldığı düşünülmektedir. T-lenfositlerin adhezyonunda rol alır. ICAM-1 ve 2,  $\beta$ 2 integrinlerle etkileşime girerek lökositlerin dokulardan geçişinde çok önemli görev alırlar (46, 47, 49).

Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü-1; aktif endotel hücrelerinde, doku makrofajlarında, dendritik hücrelerde ve kemik iliği fibroblastlarında bulunur. T lenfositlerin, monositlerin ve eozinofillerin endotel hücrelerine adhezyonu ile görevlidir. VCAM-1 normal endotel hücrelerinde yoktur. İnterlökin-1, TNF- $\alpha$  veya endotoksin ile stimülasyonunu izleyerek, 2 saatte eksprese olur, 24 saatte maksimuma erişir ve 48 saat devam eder. IL-4 ve IFN- $\gamma$  da VCAM-1 ekspresyonuna neden olur. Endotel hücrelerinde VCAM-1 ekspresyonu vücutta kronik inflamasyon alanlarında belirgindir (51).

Trombosit Endotel Adhezyon Molekülü-1; immunoglobulin süpergen ailesinden bir moleküldür. PECAM-1 ilk olarak insan umbilikal ven endotel hücrelerinden klonlanmıştır. Fibroblast, epitel hücresi, kas ve diğer damarsal olmayan hücrelerin yüzeyinde bulunmaz (52). Özellikle endotel hücreleri üzerinde bulunan hücre-hücre adhezyon molekülüdür. Dolaşımdaki trombositler, monositler, nötrofiller ve bazı T lenfositlerin yüzeylerinde bulunur. Endotel hücreleri üzerinde bağlantıyı sağlayan en önemli bileşendir. Endotel hücre kültürlerinde PECAM-1 diffüz olarak endotel hücreleri üzerinde yerleşmiştir. Fakat hücre-hücre ilişkisi kurulunca etkileşmenin olduğu bölgelerde yoğunlaşırlar. PECAM-1 in vivo şartlarda lökositlerin endotelden transmigrasyonunu sağlar. Nötrofillerden proteolitik enzimlerin salınmasını uyararak bu hücrelerin intrasellüler alana geçmelerini de sağlamaktadır (47, 53).

#### **2.2.4.2. Sitokinler:**

Gerek aterosklerozun başlamasında rol alan ve yukarıda sözü edilen adhezyon moleküllerinin endotel yüzeyindeki miktarlarının artmasında, gerekse aterom plağının komplike olmasında sitokinlerin önemli bir yeri olduğu bilinmektedir. IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler, endotel hücresinde VCAM-1 geninin transkripsiyonuna neden olarak aterosklerotik plağın oluşumuna yol açarlar. Aterom plağında bulunduğu gösterilen bir başka sitokin olan MCP-1, daha çok sayıdaki monositi plağın bulunduğu bölgeye çeker (28, 46).

Lezyonda bulunan T-lenfositlerinin salgıladığı IFN- $\gamma$  ise, düz kas hücreleri tarafından kollajen gen ekspresyonunu inhibe etmektedir. Ayrıca, düz kas hücrelerinin proliferasyonunu baskılamaktadır. Buna ek olarak düz kas hücrelerinin apoptozisine neden olarak plağın komplike olmasında rol oynadığına inanılmaktadır (54–56).

İnterlökin-1 ve TNF- $\alpha$  düz kas hücrelerinden interstisiyel kollajenaz ekspresyonunu, IL-1, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  makrofaj köpük hücrelerinden metalloproteinaz salgılamalarını uyarmaktadırlar (56).

#### **2.2.5. Aterogenezde Temel Basamaklar:**

##### **2.2.5.1. Endotel Disfonksiyonu:**

Normal endotelin aterogenezi engelleyen özellikleri vardır. Endotel disfonksiyonu, aterosklerozun patogenezindeki ilk temel basamağı oluşturur. Deneysel modellerde ve insanlarda, plak oluşumunda gözlenen ilk olay, subendotelyal intimada kan kaynaklı lipidlerin ve endotelyum üzerinde lökosit adhezyon moleküllerinin görülmesidir (28).

Türbülant kan akımı, okside LDL-kolesterol, kronik klamidy, sitomegalovirüs ya da helikobakter enfeksiyonları, hiperhomosisteinemi, sigara, diyabetteki ileri glikozillenme ürünleri gibi çeşitli toksik, mekanik, immünolojik veya enfeksiyöz tetik faktörler endotel hasarına neden olarak endotel disfonksiyonuna yol açabilir. Normal koşulların tersine disfonksiyonel endotel koruyucu özelliklerini yitirir ve vazoaktif madde yapımı vazokonstriksiyon lehine artar. Ayrıca lipid geçirgenliği artar, endotel yüzeyinde sunulan adhezyon molekülleri yoluyla inflamatuvar hücrelerin ve trombositlerin tutunmasına ve intimaya inflamatuvar hücre geçişine izin verir, vasküler düz kas hücrelerinde çoğalmayı uyarıcı faktörler salgılar (27).

Endotelyal disfonksiyon, ateroskleroz patogenezinde önemli role sahip bir durumdur. Relaksasyon ve konstriksiyon faktörler, prokoagulan ve antikoagulan maddeler, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar mediatörler arasındaki disbalans sonucu oluşur (57).

Endotelde sentezlenen endotelin ve anjiotensin II vazokonstriksiyon etkisine sahip moleküllerdir. Bunlar düz kas hücre proliferasyonunu stimüle ederek aterosklerotik plak oluşumunda rol alırlar. Aterosklerotik plağın karakteristik hücre bileşenleri olan aktive makrofajlar ve düz kas hücreleri önemli miktarda endotelin üretmektedirler (58, 59).

Endotelyum çok önemli antiinflamatuvar ve antikoagulan özellikleri nedeniyle damar sağlığının korunmasında merkezi bir rol oynar. Bu özelliklerin birçoğu nitrik oksit (NO) molekülü ile kontrol edilir. Bu molekül, 1980'lerde keşfedilmiştir (60). NO, endotel hücreleri tarafından endotelial nitrik oksit sentaz enziminin kontrolü altında arjininden sentez edilir ve vazodilatasyon etkisi dışında bir dizi antiaterojen özelliğe sahiptir. Birincisi, endotel hücreleri üzerinde trombosit agregasyonunun güçlü bir inhibitörü olarak etki eder. İkincisi, süreçte etkili olan genlerin ekspresyonunu (ICAM-1, VCAM-1, P-selektin ve MCP-1 kodlayan genler gibi) ortadan kaldırarak intima içine inflamatuvar hücre toplanmasını azaltabilir. NO'nun arteriyel intimaya lipid girişini azaltabileceğini gösteren bazı bulgular da vardır (33, 57).

Ayrıca NO vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu baskılamakta ve LDL-kolesterolün oksidatif modifikasyonunu engellemektedir (58).

Aterosklerozun saptanabilen en erken belirtisi, farmakolojik veya hemodinamik uyarılara karşı yanıt olarak NO'nun biyoyararlığının azalmasıdır (61). Bunun iki nedeni vardır. Endotelial hücre disfonksiyonuna bağlı olarak NO üretimi azalmış olabilir veya NO yıkımı artmış olabilir (62).

Birçok aterosklerotik risk faktörü, endotel fonksiyonunda bozulmaya ve NO biyoyararlığında azalmaya yol açabilir. Hiperlipidemik hastalarda, NO'ya bağımlı vazodilatasyon azalmıştır. Hastalar lipid düşürücü ilaçlarla tedavi edildiğinde, bu azalma geri dönüşür (63).

Diyabetes mellitusu olan hastalarda, primer olarak NO üretimine bağlı bir şekilde endotelial fonksiyon bozulur. Ancak, NO yıkımının kolaylaşmasına yol açan artmış oksidatif stresin de bir faktör olabileceğini gösteren bulgular vardır. Hipertansiyon ve sigara gibi aterosklerozun diğer risk faktörleri, azalmış NO biyoyararlığı ile ilişkilidir. Sigara içenlerde, endotelial bozukluğun oksijen kaynaklı serbest radikallerle NO yıkımının artmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (33, 64).

Aterosklerozun erken döneminde oluşan endotelial hücre disfonksiyonunun diğer bir sonucu, P-selektin, ICAM-1 ve VCAM-1 gibi yüzeye bağlı selektinler ve adhezyon moleküllerinin ekspresyonudur. Bunlar, dolaşan inflamatuvar hücreleri çeker ve yakalar, subendotelial aralığa göçünü kolaylaştırır (61).



Akım hızı ve akım tipi hücre morfolojisi üzerinde direkt bir etkiye sahip olabilir. Laminar akım bölgelerinde, endotel hücrelerin şekli elipsoid olma eğilimindedir. Bu durum, türbülant akımın, poligonal şekilli hücrelere doğru bir şekil değişikliğini uyardığı damar dallanma noktalarındaki ve kavislerdeki durumunun tersidir. Böyle hücrelerde, LDL kolesterole karşı permeabilite artmıştır ve lezyon oluşumu uyarılabilir (33).

#### **2.2.5.2. LDL'nin Oksidasyonu:**

Kronik hiperlipidemide dolaşımdaki düşük molekül ağırlıklı lipoproteinler subendotelial matrikse girerek oksitlenir. Bu oksitlenmede, lipoprotein yapısındaki apo E proteini çok az değişikliğe uğradığından, oluşan lipoprotein partiküllere de çok az değiştirilmiş LDL (minimally modified LDL; mmLDL) adı verilir. Okside LDL'nin aterosklerozdaki etkileri şu şekilde sıralanabilir:

1. "Çöpçü" reseptörlerce tanınarak makrofajlar ve düz kas hücrelerince fagosite edilir
2. Endotel hücreleri ve düz kas hücrelerine sitotoksik etki gösterir
3. Dolaşımdaki monositler için kemotaktiktir
4. Endotel adhezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1) üretimini uyararak monosit ve T- lenfositlerinin damar duvarına yapışmasını kolaylaştırır
5. Plak içindeki makrofajların motilitesini inhibe ederek, lezyondaki makrofaj sayısının artmasına yardımcı olur
6. Bazı büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgılanmasını uyarır
7. İmmünojeniktir, antikor oluşumunu tetikler (28).

Lipoprotein oksidasyonu aterosklerozun gelişiminin erken evrelerinde anahtar rol oynamaktadır. İn vivo LDL-kolesterolün oksidasyonu enzimatik ve nonenzimatik mekanizmalarla gerçekleşmektedir ve okside LDL (ox-LDL) çeşitli aterojenik özelliklere sahiptir. LDL oksidasyonu in vivo pH gibi lokal çevre faktörlerinden de etkilenmektedir. LDL yapısı da antioksidan ve yağ asidi oranı ve partikül büyüklüğü gibi özellikler açısından önemlidir (65).

#### **2.2.5.3. Köpük Hücre Oluşumu:**

LDL molekülünün ilk modifikasyonu endotel hücresinde olur; mmLDL daha sonra makrofajlardan salgılanan lipooksijenaz, reaktif oksijen türevleri ve malondialdehitin (MDA) etkisiyle tekrar okside edilir. MDA, Apo B proteininin lizin halkasını değiştirerek lipoprotein molekülünü, makrofajlar üzerindeki çöpçü reseptörlerce daha kolay

tanınabilecek yönde şekillendirir. Böylelikle makrofajlar, okside LDL partiküllerini fagosite edip parçalar ve kolesterol esterleri biçiminde depo eder. Hücrenin kolesterol yüklenmesi, “çöpçü” reseptör sayısında bir down regülasyona neden olmadığından, bu depolanma devam eder. Sonuçta köpük hücreleri oluşur. Makrofaj köpük hücreleri, TNF- $\alpha$  ve metalloproteinazlar gibi inflamatuvar sitokinler ve prokoagülan faktörler salgılar. Düz kas hücrelerinin üzerinde de çöpçü reseptörler vardır. Bu hücreler de okside LDL’yi fagosite ederek köpük hücreleri oluştururlar. Erken evredeki lezyonlarda lipid çoğunlukla hücre içindedir. Ancak hücre dışı aralıkta da elektron mikroskopuyla görülebilecek kadar az miktarda lipid damlacıkları bulunur (28, 66).

#### **2.2.5.4. Lipid Çekirdeği'nin (Lipid Core) Oluşumu:**

Lezyon ilerledikçe hücre dışında da lipid birikmeye başlar. Ekstrasellüler lipidin olası iki kaynağı vardır; dolaşımdaki LDL'nin doğrudan doğruya intima tabakasındaki proteoglikanlara bağlanması, ya da köpük hücrelerinin ölmesi sonucu depolanmış olan kolesterol esterlerinin açığa çıkması. Hücre dışı lipidin çoğunluğunun bu ikinci yoldan kaynaklandığı kabul edilmektedir. Köpük hücre oluşumunda rol alan iki hücre tipinin, yani makrofaj ve düz kas hücrelerinin yaşam süresi bilinmemektedir. Ancak ileri lezyonlarda düz kas hücre proliferasyonunun oldukça sınırlı olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık makrofajların aterosklerotik plaklarda çoğaldıkları ve dolaşımdaki monositlerin de sürekli olarak plak içine girdikleri bilinmektedir. Bu yüzden plaktaki makrofaj sayısının kontrolsüz olarak artmasını engelleyen faktörün hücre ölümü olduğu fikri mantıklı görünmektedir. Nitekim ilerlemiş aterosklerozda hücre ölümünün yaygın bir özellik olduğu gösterilmiştir. Makrofajların ölümünde, LDL oksidasyonu sonucunda oluşan peroksitlerin de etkisi olmakla beraber, asıl mekanizma apoptozisdir. Apoptoziste, MCSF-1 gibi büyüme faktörlerindeki azalmanın yanısıra, TNF- $\alpha$ 'nın da rolü vardır. Lipid aterosklerotik çekirdek avasküler, hiposellüler, lapa gibi yumşak ve kollajen desteğinden yoksundur. Aktif plakta lipid çekirdek çevresinde metalloproteinaz üreten makrofaj kümeleri vardır. Metalloproteinazlar bağ dokusunun yıkımından sorumludur. Sonuçta oluşan lipid çekirdek, intima tabakasının bağ dokusu yapısı içinde kolesterol ve hücre yıkım ürünleriyle dolu boşluklardır. Bu aşamada lipid çekirdeğinin üzerinde henüz fibrötik bir tabaka yoktur (28, 34, 67).

#### **2.2.5.5. Fibröz Başlık (Fibrous Cap) Oluşumu:**

Olgunlaşmış aterosklerozda lipid çekirdeğin üzeri fibröz bir başlıkla örtülüdür. Fibröz başlık yoğunlukla düz kas hücreleri ve onların ürettiği bağ dokusundan oluşur.

Fibröz başlıkta, inflamatuvar hücreler de vardır ve özellikle T hücreleri, mast hücreleri ve makrofajların toplanma eğilimi olduğu “omuz” bölgelerinde yoğunlaşmıştır (33). Lezyonun yaşı ilerledikçe düz kas hücrelerinin sayısı da artar. Düz kas hücrelerinin mediadan göçü ve proliferasyonu, PDGF, FGF gibi büyüme faktörlerinin uyarısıyla gerçekleşir. Bu faktörler, aterogeneizde rol alan hemen her hücre tarafından üretilirler. Aynı faktörler, bu hücrelerin bağ dokusu proteinlerini sentezlemesini de uyarırlar. TNF- $\alpha$ 'da güçlü bir bağ dokusu sentezi uyarıcısı olmasına rağmen, bugüne dek bulunan en güçlü düz kas hücresi proliferasyonu inhibitörüdür. TNF- $\alpha$  aktiflenmiş makrofaj ve trombositlerden salgılanır. Stimülatör ve inhibitör bu maddeler arasındaki etkileşim, düz kas hücrelerinin proliferatif cevabını belirler (28).

Mikroskopik olarak, fibröz plaktaki değişikliklerin çoğu intimal tabakada meydana gelir. Bazı lezyonlarda, hücre yıkıntılarının nekrotik çekirdeği, köpük hücreleri ve kolesterol kristalleri görülür. Bazılarında konnektif matriks içinde düz kas hücrelerinden ibaret fibröz bir başlık bulunur. Fibröz plak içindeki köpük hücrelerinin çoğu düz kas orijinlidir (29).

Fibröz başlığın dinamik bir yapı olduğu artık bilinmektedir. Bir yandan düz kas hücreleri tarafından kollajen yapımı sürerken, diğer yandan proteazlar tarafından sürekli bağ dokusu yıkımı olmaktadır. Bu yapım ve yıkım işlemleri arasında çok sayıda sitokin tarafından kontrol edilen bir denge vardır.

Lipid çekirdek ve etrafındaki fibröz başlıktan oluşan ilerlemiş lezyona “fibroaterom” adı verilir. Lipid çekirdek ve fibröz tabakanın lezyondaki miktarı, plağın zedelenebilirliğini, bir başka deyişle, komplikasyon gelişimine ne kadar açık olduğunu belirleyen esas etkidir. Şöyle ki, fibröz başlık ne kadar kalırsa plak o kadar stabil, fibröz başlık ne kadar inceyse yırtılmaya o kadar yatkın ve dolayısıyla plak da komplikasyona o kadar açıktır (28).

Vasküler düz kas hücreleri, damarları tamir etmek ve lezyonun lipidden zengin çekirdeğinde fibröz şapka oluşturmak için gerekli olan glikozaminoglikanlar, elastin ve kollajen izoformları 1 ve 3 gibi matriks proteinlerini büyük miktarlarda üretirler. Fibröz şapka, yüksek düzeyde trombojenik olan lipidden zengin plak çekirdeğini dolaşan trombositlerden ve pıhtılaşma kaskadının proteinlerinden ayırır ve aterosklerotik lezyona yapısal stabilite kazandırır. Düz kas hücreleri bu şapkayı oluşturabilecek tek hücre olduğu için, plak stabilitesini korumak ve aterosklerozun potansiyel olarak fatal trombotik sonuçlarını engellemek açısından temel bir rol oynar (56).

### 2.2.5.6. İmmün Mekanizmalar:

Aterosklerozun prelezyonel ve yağlı çizgiler gibi erken lezyonel aşamalarında T-hücrelerin bulunması fonksiyonel aktif olduklarının göstergesidir. İmmünohistokimyasal çalışmalarda, aterosklerotik plakların tüm gelişme aşamalarında CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T-hücrelerinin varlığı saptanmıştır. Geç dönem plak lezyonlarında CD4<sup>+</sup> hücreler baskındır. Bu hücrelerin görevi olasılıkla interferon- $\gamma$  salgılayarak düz kas hücre proliferasyonunu düzenlemektir (28, 68).

B-lenfositler ise plakların yapısında bulunmamlarına rağmen, çevre adventisyada bol miktarda bulunurlar (69). B-hücrelerin neointimal oluşumları engelleyen mekanizması tam olarak belli değildir. Bazı araştırmacılar bu protektif etkinin IgM aracılı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ox-LDL'ye karşı üretilen antikörlerin neointimal hiperplaziyi engelleyebileceğini gösteren bazı çalışmalar vardır (70).

### 2.2.5.7. Plak Vaskülarizasyonu:

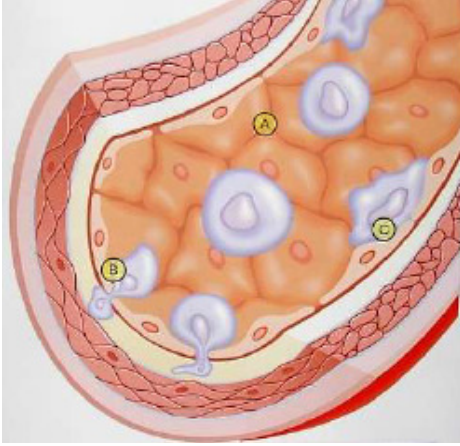
Normal media damarsız bir yapıdır. Ancak intimal kalınlaşma olduğunda, adventisya tabakasından vasa vasorum orijinli lezyonun tabanına doğru yönelen yeni damarlar oluşur. Yeni mikrodamarlar frajil ve geçirgendir. Bu damarlarda yoğun biçimde adhezyon moleküllerinin (VCAM-1, ICAM-1) salınımı olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda plazma proteinlerinin, eritrositlerin ve inflamatuvar hücrelerin lokal ekstrasvazasyonu görülür. Büyük olasılıkla monositlerin lezyona girdikleri bir başka yol da yeni gelişen bu damarlardır (28, 34).

Neoanjyogenetik alanlarda T-lenfositlerin var olması bu hücrelerin plak içi vasa vasorumların gelişim ve olgunlaşmasında önemli rol oynadığının kuvvetli kanıtıdır. Aktive T hücreler anjiogenezi sağlayan faktörlerin, özellikle vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'nin kaynağıdır. Ayrıca T-lenfositler makrofajların kümeleşmesini sağlar. Makrofajlardan salınan sitokinler ve büyüme faktörleri de anjiogenezi uyarmaktadır (71).

### 2.2.6. Aterosklerotik Lezyonlar:

Amerikan Kalp Birliği, aterosklerotik lezyonları histolojik özellikleri dikkate alınarak sınıflandırmıştır (72, 73).

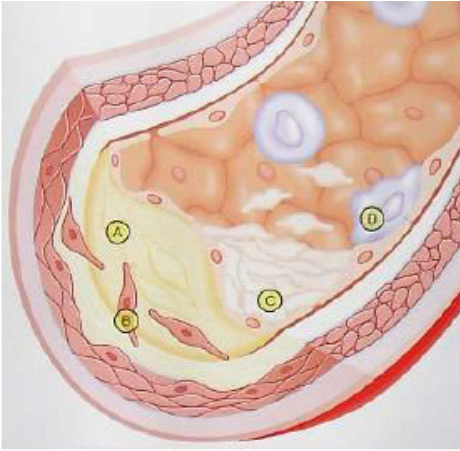
**Tip I (başlangıç değişiklikleri)** minör lipid birikimi ve monositlerin endotel yüzeyine yapışıp arter lümeninden intimaya geçmeleriyle oluşan seyrek makrofaj köpük hücrelerinden oluşur (Şekil 2).



**Şekil 2:** Tip I aterosklerotik lezyonun progresyonu (74)

- A- Endotel geçirgenliği,
- B- Lökosit göçü,
- C- Lökosit adhezyonu.

**Tip II (yağlı çizgiler)** lezyon çoğunluğu monosit kökenli olan lipid yüklü köpük hücrelerinin sağlam endotel altında bölgesel kümelenmesinden oluşan yağlı çizgilerdir. Bu lezyonlarda hafif ekstrasellüler lipid, az miktarda T lenfositleri, mast hücreleri ve lipidle dolu düz kas hücreleri de vardır (Şekil 3).



**Şekil 3:** Tip II aterosklerotik lezyonun progresyonu (74)

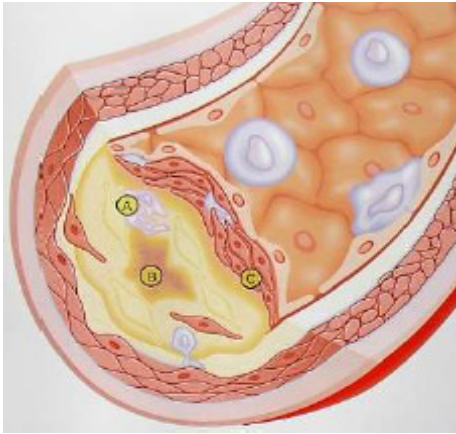
- A- Köpük hücre gelişimi,
- B- Kas hücresi göçü,
- C-Trombosit adhezyon ve agregasyonu,
- D- Lökosit adhezyonu ve girişi.

**Tip III (pre-ateroma)** lezyon ek olarak ekstrasellüler lipid kümeleri içerir. Tip I-III lezyonlar daha ileri lezyonlarının öncülleri olmalarına rağmen klinik semptomlara yol açmazlar.

**Tip IV (ateroma)** lezyonunda ekstrasellüler lipid kümeleri biraraya gelerek bir lipid çekirdek oluşturur. Bu lipid çekirdek endotelial yüzeyden makrofaj ve ince bir düz kas hücre tabakası tarafından ayrılmıştır. Burada mast hücreleri ve lenfositler de mevcuttur. Lipid çekirdek ve lezyon yüzeyi arasındaki bölgede proteoglikan ve makrofaj

köpük hücre ve minimal kollajen ve ince düz kas tabakası içerdiği için fissür oluşturmaya yatkın olabilirler (tip VI lezyon).

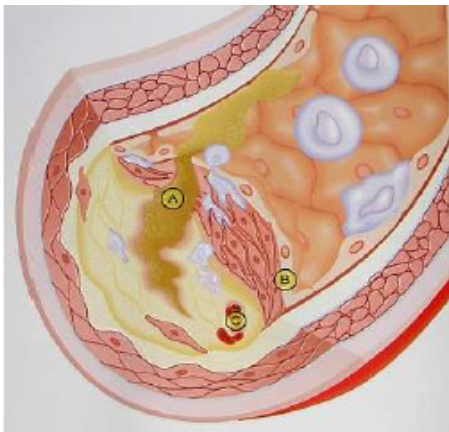
**Tip V** lezyonunda lipid çekirdeği çevreleyen fibröz kapsül oluşur. Bir lipid çekirdek ile fibröz başlık içeren plaklar tip Va (fibroateroma) olarak isimlendirilir. Lipid çekirdek ve lezyonun diğer bileşenlerinin kalsifikasyonu içeren plaklar tip Vb (kalsifik) olarak değerlendirilir. Tip Vc (sklerotik) lezyonunda intimanın yerini fibröz doku almaktadır ve lipid miktarı minimal veya hiç yoktur (lipid core resorpsiyonu) (Şekil 4).



**Şekil 4:** Tip V aterosklerotik lezyonların progresyonu (74)

- A- Makrofaj birikimi,
- B- Nekrotik çekirdek oluşumu,
- C- Fibröz tabaka oluşumu.

**Tip VI:** Tip IV ve tip V (çoğunlukla Va) lezyonlarındaki plak yüzeylerinin erozyonu, fissüre olması, hematom/hemoraji ve tromboz oluşması aterosklerozun morbidite ve mortalitesinden sorumlu olan temel faktörlerdir. Bunlardan bir veya daha fazla komplikasyona sahip tip IV ve tip V lezyonlar, tip VI (komplike lezyonlar) olarak sınıflandırılmıştır. Yüzey bütünlüğünün bozulması tip VIa, hematom veya hemoraji tip VIb ve tromboz varlığı tip VIc olarak isimlendirilmektedir.



**Şekil 5:** Tip VI aterosklerotik lezyonların progresyonu (74)

- A- Plak rüptürü,
- B- Fibröz plak kalınlaşması,
- C- Plak kanaması.

**Tablo IV:** Aterosklerotik lezyonların sınıflandırılması (73)

| Terminoloji ve temel histoloji   | İlerleme evreleri | Esas büyüme mekanizması                   | En erken başlangıç   | Klinik korelasyon                 |
|--|-------------------|---|----------------------|-----------------------------------|
| <b>Tip I (başlangıç) lezyon</b><br>İzole makrofajlar,<br>köpüklü hücreler  | <b>I</b><br>↓     |   | 1. Dekattan itibaren | Sessiz klinik                     |
| <b>Tip II (yağ çizgileri) lezyon</b><br>Ağırlıklı olarak intrasellüler lipid birikimi  | <b>II</b><br>↓    | Esas olarak lipid birikimine bağlı büyüme | 3. Dekattan itibaren |                                   |
| <b>Tip III (intermediyet) lezyon</b><br>Tip II değişiklikler ve küçük ekstrasellüler lipid birikimleri   | <b>III</b><br>↓   |   |                      |                                   |
| <b>Tip IV (aterom) lezyon</b><br>Tip II değişiklikler ve ekstrasellüler lipid çekirdek   | <b>IV</b><br>↓    | Düz kas ve kollajende hızlanmış artış     | 4. Dekattan itibaren | Klinik olarak sessiz ya da aşıkâr |
| <b>Tip V (fibroaterom) lezyon</b><br>Lipid çekirdek ve fibrotik yüzey veya multipl lipid çekirdekler ve fibrotik yüzeyler ya da ağırlıklı kalsifiye ya da ağırlıklı fibrotik | <b>V</b><br>↓     |   |                      |                                   |
| <b>Tip VI (komplike) lezyon</b><br>Yüzey defekti, hematoma-hemoraji, trombus   | <b>VI</b>         | Trombus oluşumu<br>hematom                |                      |                                   |

### 2.2.7. Plağın Aktivasyonu ve Klinik Sendromlar:

Genel olarak erken ateroskleroz, lezyon kendisini iki şekilden birisinde belli edene kadar semptomsuz ilerler. Lipid çekirdeğinin oluşumu ve büyümesi sonucu plak boyutu büyür ve damar lümen alanında azalma olabilir. Egzersiz gibi artan gereksinim durumlarında, bu durum, anjina gibi iskemik semptomların oluşması için yeterli olabilir. Plak fibröz şapkada yırtılma ile prezente olduğunda, durum daha tehlikelidir (trombojenik lipid çekirdeğine maruz kalıma yol açar). Bu durum daha sonra trombosit birikimine ve aktivasyonuna, fibrin birikimine ve intravasküler tromboza neden olur (28, 33).

Plak üzerinde trombüs oluşumu miyokard infarktüsü, geçici iskemik atak, beyin infarktı ve akut iskemik nekroz gibi olaylar izlenir. Plak fissürü, endotelial yüzeyden fibröz şapkaya doğru ilerler ve plağın lipid çekirdeğine kadar varır. Rüptüre karşı hassas olan plaklarda, inflamatuvar hücrelerin vasküler düz kas hücrelerine oranında yükseklikle birlikte ince fibröz şapka olma eğilimi vardır ve bu plaklar, plağın %50'sinden fazlasını kapsayan bir lipid çekirdeği içerirler. Bunların içinde en önemlisi fibröz şapkanın hücreli bileşimidir. Ağır inflamatuvar bir hücre infiltratı ve nispeten az sayıda VSMC içeren plaklarda rüptür riski en yüksek düzeydedir (75).

Plağın fissüre olmasına neden olan etkenler incelendiğinde, plağın fissüre olduğu yerlerde T lenfositleri, aktive makrofajlar ve mast hücrelerinin saptanması inflamatuvar bir mekanizmayı düşündürür. Makrofajların aktive olması, fibröz şapkanın kollajenini sindiren enzimler olan metalloproteinazların salınımına yol açar. Metalloproteinaz (kollajenaz, jelatinaz, stromelizin) denilen enzimler, fibröz başlığın kollajen matriksini parçalar (56, 76). Aktive olmuş T-lenfositlerden IFN- $\gamma$  salgılanır. Bu sitokin düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve kollajen üretimini baskılar. Bunların yanında aktive olmuş makrofajlardan salgılanan IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ile T lenfositlerden salgılanan IFN- $\gamma$  sinerjistik etki göstererek düz kas hücrelerinin ölümüne neden olur (77).

Kan içeriği subendotelial doku ile karşılaştığında trombositler aktive olur. Yüze yapışır ve kümelenmeye başlarlar. Trombositten salınan ADP ve diğer faktörler, diğer trombositlerin aktivasyonunu uyarır ve trombosit içeriğinin salınımına, pıhtılaşma kaskadının aktivasyonuna neden olur. Sonuçta trombüsü çevreleyen ve stabilize eden bir fibrin pıhtısı oluşur (28).

## **2.2.8. Ateroskleroz Patogenezini Açıklamaya Yönelik Hipotezler:**

### **2.2.8.1. Hasara Yanıt Hipotezi:**

Aterosklerotik süreci hangi olayın ya da olaylar dizisinin başlattığı bilinmemektedir. Bu süreci açıklamaya yönelik geliştirilen hipotezler içinde en yaygın kabul gören; hasara yanıt (response to injury) hipotezidir. 19. Yüzyılda Virchow'un aterosklerozu başlatıcı faktörün arter duvarı hasarı olduğunu ileri süren orijinal hipotezi Ross ve ark. tarafından geliştirilmiştir. Buna göre hemodinamik güç dahil birçok faktör (mekanik, homosistein, immünolojik, toksin, hiperkolesterolemi) endotel tabakasının kaybına yol açarak subendotelial dokuyu açığa çıkarır. Bunun sonucunda adhere olan trombositlerden PDGF ve olasılıkla diğer büyüme faktörlerinin salınımı gerçekleşir. Bu



bölgeye toplanan monosit-makrofajlar dolaşımdan kolesterolü alarak köpük hücrelerini oluşturur ve büyüme faktörlerinin etkisi ile düz kas hücrelerinin media'dan intimaya göçü ve poliferasyonu gerçekleşir. Hiperkolesterolemi endotel hasarını oluşturabilen, fakat primer olarak ateroskerozu başlatamayan bir durum olarak değerlendirilmiştir. Ancak, yapılan çalışmalar, erken lezyonların endotel tabakasının morfolojik olarak sağlam olduğu alanların altında da geliştiğini göstermiştir. Ayrıca endotel hasarı ve platelet yapışması her zaman düz kas hücre proliferasyonuna yol açmamaktadır. Bunun gibi bulguları göz önüne alarak hipotez geliştirilmiştir ve yapısal hasardan ziyade, fonksiyonel hasar ön plana çıkarılmıştır. Daha sonra Ross tarafından endotel hasarını oluşturabilen risk faktörleri incelenmiştir ve hiperlipoproteineminin arter inflamasyonunu başlatabileceği kabul edilmiştir, fakat homosisteinemi, enfeksiyon ve hipertansiyon gibi diğer proinflamatuvar faktörler kadar büyük önem verilmemiştir (78, 79).

#### **2.2.8.2. Lipid Hipotezi:**

Aterosklerozun ana sebebi hiperlipemi, özellikle hiperkolesterolemidir. Özellikle LDL ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein ( $\beta$ -VLDL; kolesterolden zengin, elektroforezde  $\beta$ 'dan ziyade Pre- $\beta$  da göç eden fraksiyon) ve lipoprotein (a) bu aterojeniteden sorumludur. Bu hipotezi şu veriler destekler:

1. Arter duvarında kolesterol birikmesi hem deneysel hem insan aterosklerozunun en belirgin bulgusudur
2. Çok çeşitli deney hayvanlarında, plazma kolesterolünü yükselten tedavi ile ateroskleroz oluşturulabilir
3. Plazma kolesterolü yüksek kişiler, erken yaşta KKH yakalanmakta ve erken yaşta ölmektedir
4. Ortalama plazma kolesterol değerleri çok düşük olan Japonların, Amerika'ya göç ettiklerinde diyet alışkanlıklarının değişmesi sonucu plazma kolesterol düzeyleri yükselmekte ve KKH sıklığı artmaktadır
5. LDL reseptör eksikliği olan ailesel hiperkolesterolemili hastalarda, bozukluk sonucu plazma kolesterol düzeyleri artarak erken yaşta ateroskleroz gelişir
6. Plazma kolesterolü diyet ve ilaç tedavisi ile düşürüldüğünde KKH riski de azalmaktadır (79).

### **2.2.8.3. Monoklonal Hipotez:**

Benditt and Benditt tarafından ileri sürülmüştür. Düz kas çoğalmasının ön planda olması bazı plakların tek bir ana hücrenin soyundan oluşuyor gibi gözüktüğünü desteklemektedir. Yani ateroma leyomiyoma benzer bir oluşumdur, düz kas hücrelerin proliferasyonu sonucunda oluşan bir benign tümördür. Başka bir deyişle çoğu tümörlerdeki gibi plaklarda monoklonaldır. Virüs ve karsinojenler gibi mutajen etkenler plak oluşumuna yol açan hücre çoğalmasına neden olabilirler (78, 80).

### **2.2.9. Aterosklerozda Lipidler ve Lipoproteinler:**

Zilversmit ve ark. çalışmalarında şilomikronların ve çok büyük VLDL partiküllerinin subendotelial aralıkta bulunmadığı gösterilmiştir. Diğer taraftan, lipoprotein lipaz enzimi aktif ise, şilomikronlar daha küçük remnant partiküllerine dönüştürülmekte ve arteriyel duvarı geçebilmektedirler (proaterojenik hal almaktadırlar) (78). Lipoproteinlerin arter duvarına geçebilmesi onların molekül büyüklüğünün logaritmasıyla lineer olarak azalmakta olduğu, tavşanlarla yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (81).

Şilomikronlar ve trigliseridden zengin büyük VLDL partikülleri lipoprotein lipaz ile parçalandığında, trigliseridlerin büyük kısmını kaybedip, apolipoprotein B ve E (Apo B ve E) korumaktadırlar. Bunların aterogenezde rolü vardır. VLDL partikülleri modifiye olmadan da makrofajlar tarafından alınabilirler. Bu olay olasılıkla çöpçü reseptörlerden ziyade LDL reseptörleri ile gerçekleşmektedir. LDL en önemli aterojenik lipoproteindir. Koroner arter hastalığı için risk altında olan tüm hiperkolesterolemik hastalarda genellikle yüksek bulunan lipoprotein fraksiyonudur. HDL ise ters kolesterol transportunu gerçekleştiren lipoproteindir ve aterosklerozun negatif risk faktörüdür (78).

#### **2.2.9.1. LDL Oksidasyonu:**

İnsan LDL-kolesterolü 1019-1063 gr/ml dansite aralığında ultrasantrifüjle izole edilen lipoprotein popülasyonu olarak tanımlanır. Her LDL partikülü yaklaşık 1600 kolesterol ester molekülü ve 120-170 trigliserid molekülünden oluşan santral lipofilik çekirdek içerir. Bu çekirdek lesitin, az miktarda sfingomyelin ve lizolesitin içeren yaklaşık 700 fosfolipid molekülü ve 600 serbest kolesterol molekülünden oluşan tek tabaka ile çevrilidir. En dışta 4536 aminoasit birimi içeren Apo B100'den oluşan tabaka bulunur. LDL-kolesterolün total yağ asidi miktarın yarısını poliansatüre yağ asidi (PUFA); özellikle linoleik asit oluşturur. PUFA yapısındaki farklılıklar, farklı LDL örneklerinin oksidasyona

karşı farklı davranmasının temelini oluşturur. LDL'deki PUFA primer olarak  $\alpha$ -tokoferol (her LDL partikülü 6 molekül içerir), daha az miktarda  $\gamma$ -tokoferol, karotenoidler, kriptoksantin ve ubiquinol-10 gibi antioksidanlar ile serbest radikal hasarına karşı korunur (82). LDL büyüklüğüne göre insanlar 2 fenotipe ayrılabilirler:

**Fenotip A kişiler (%75):** Düşük dansiteli, 26-27 nm çapında LDL'ye sahipler;

**Fenotip B kişiler (%25):** 19-22 nm çapında daha küçük ve daha yoğun LDL'ye sahipler. Bu partiküller daha fazla Apo B içerirler ve oksidanlara karşı daha hassastırlar. Ayrıca, LDL reseptörlerine daha az affinite gösterdikleri için daha uzun yarılanma süresine sahiptirler (83).

Son yıllarda aterosklerozun öncül lezyonu erken yağlı çizginin etiyojisi ve bu tip lezyonların şef hücresi olan makrofajların ateroskleroz için ana risk faktörü olan plazma LDL-kolesterolünden hangi mekanizmalarla kolesterol biriktirdiğinin anlaşılmasına odaklanılmıştır.

LDL, oksidasyon, glikozilasyon, asetilasyon veya MDA'nın bağlanması ile modifiye olur. LDL oksidasyonu, LDL yapısındaki doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu ile yıkılarak birçok aldehidin ve diğer peroksidasyon ürünlerinin oluştuğu bir serbest radikal reaksiyonudur. LDL'nin oksidasyonu hücre içinde ve dışında gerçekleşen kompleks bir olaydır. Kolesterol ve poliansatüre yağ asitlerinin her ikisi de serbest radikallerle peroksidasyona karşı oldukça hassastırlar. LDL oksidasyonu, LDL fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile başlar. Oksidasyon, çoklu doymamış yağ asitlerinin konjuge dien, hidroperoksit ve diğer ara ürünlerin oluştuğu bir peroksidasyon dizisi sonucu alkan ve reaktif aldehitlere dönüşmesi olayıdır (83).

LDL'nin oksidasyonu üç safhada gerçekleşir: 1) Antioksidanların miktarının azaldığı lag fazı, 2) Hızlı lipid peroksidasyonunun oluştuğu progresyon (ilerleme) fazı, 3) Hexanal, 4-hidroksinonenal ve malondialdehit gibi aldehitik ürünlerin oluştuğu dekompozisyon fazı (83). Erken aterosklerotik lezyonlarda, makrofajlardan köpük hücrelerinin oluşması doğal LDL'den değil, LDL'nin çeşitli kimyasal reaksiyonlarla oksidasyonundan sonra meydana gelir (82).

Doğal LDL'nin makrofajlara alımında rol oynayan klasik LDL reseptör yolunda hücre içine alınan kolesterol miktarı sınırlıdır. Aşırı miktarda LDL biriktirilebilmesi için LDL'nin modifiye olması gerektiği, LDL'nin kimyasal türevi asetillenmiş LDL'nin makrofajlar tarafından çöpçü reseptörlerle aşırı şekilde alındığı gösterilmiştir. Malondialdehid-LDL'nin de aynı reseptörler tarafından tanındığı tespit edilmiştir (82).

LDL; metal iyonları, lipoksigenaz, miyeloperoksidaz ve reaktif nitrojen ürünleri tarafından okside edilebilmektedir.

#### **2.2.9.1.1. Metal İyonları:**

Cu<sup>2+</sup> gibi serbest metaller in vitro LDL okside edebilmektedirler. Yukarıda sayılan oksidasyonunun üç safhasının sonucu oluşan reaktif aldehitlerin etkisiyle LDL'nin çöpçü reseptörlerine karşı olan affinitesi artmaktadır (84).

#### **2.2.9.1.2. Lipoksigenazlar:**

Endotelial hücrelerin ve monosit/makrofajların ürettikleri 15-lipoksigenaz, PUFA'ları lipid hidroperoksidlerine çevirerek LDL oksidasyonunu sağlamaktadır. LDL-reseptör eksikliği olan farelerde, vasküler endotelde 15-lipoksigenazın aşırı ekspresyonu sonucunda erken aterosklerozun geliştiği saptanmıştır (85).

Hiperglisemi, 12-lipoksigenaz aktivitesini arttırmaktadır. Lipoksigenaz yoluyla araşidonik asitten oluşan 12-hidroksieikozatetraenoik asitin artması, aterogenezin erken anahtar role sahip olan monositlerin endotelyuma adhezyonunun artmasıyla sonuçlanır (86).

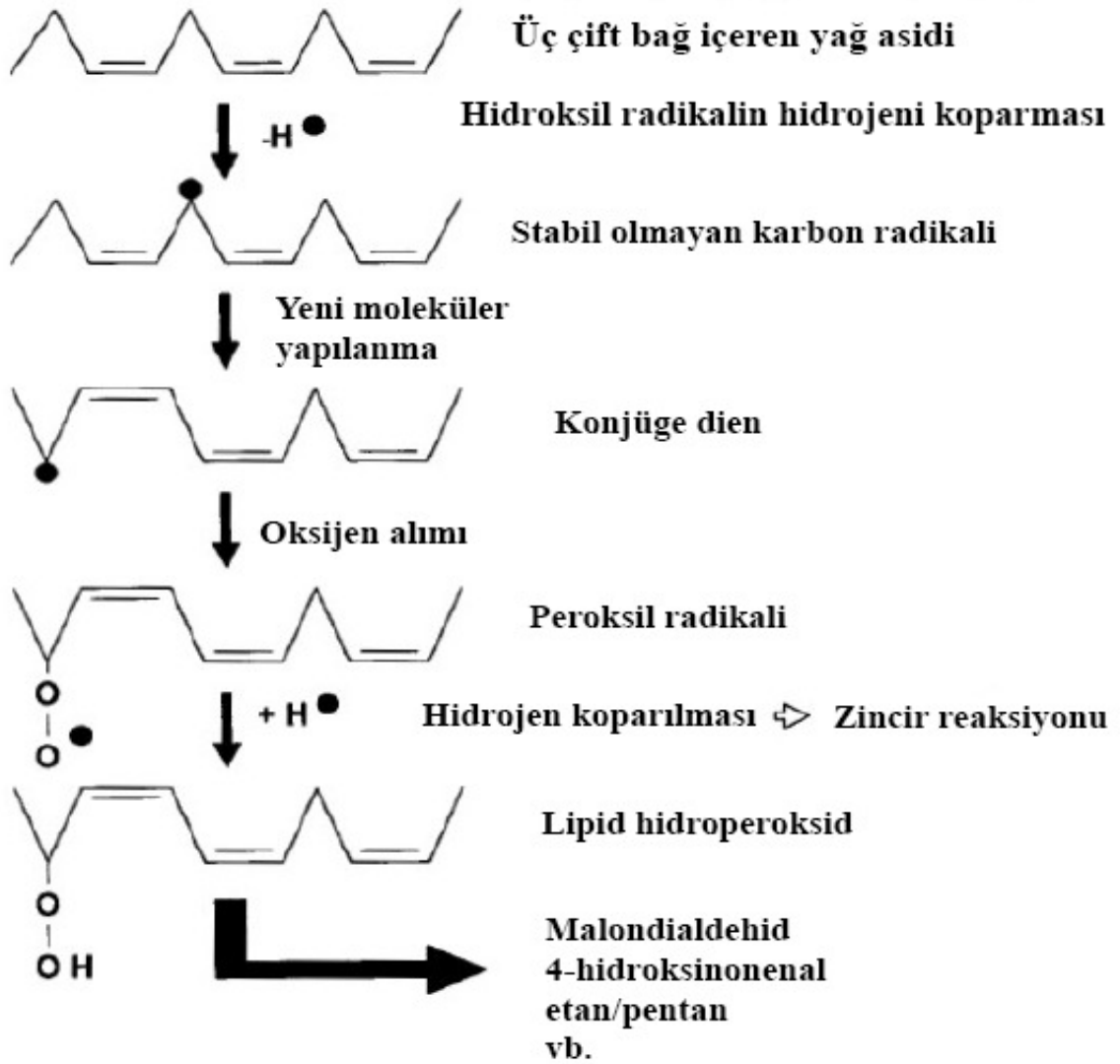
#### **2.2.9.1.3. Miyeloperoksidaz:**

Aktive fagositlerden salınan miyeloperoksidaz, hipoklorik asit (HOCl), kloraminler, tirozil radikalleri ve nitrogen dioksit (NO<sub>2</sub>) gibi reaktif ürünlerin oluşumunu sağlar. Bunlar da LDL'nin antioksidanlarını, lipidlerini ve proteinlerini okside etmektedir. LDL aterojenik forma dönüşüp, makrofajlarca alınarak köpük hücrelerin oluşumuna yol açar (87).

#### **2.2.9.1.4. Reaktif Nitrojen Ürünleri:**

NO çeşitli vasküler hücrelerden salınan bir serbest radikaldir. Bakır aracılı oksidasyonu ile hücre kaynaklı LDL oksidasyonunu inhibe etmektedir. NO, aerobik şartlarda nitrite dönüşür ve nitrit düşük konsantrasyonlarda miyeloperoksidazın LDL'yi okside etmesini baskılar (88). NO, alkoksil ve peroksil radikalleri temizleyerek antioksidan etki gösterir. NO radikali süperoksit anyonu ile etkileşerek peroksinitrit anyonunu (ONOO<sup>-</sup>) oluşturmaktadır. Bu da LDL'yi okside eden hidroksil radikaline OH<sup>-</sup> dönüşmektedir. Peroksinitrit aynı zamanda NO sentaz (NOS)'ın temel kofaktörü olan tetrahidrobiyopterinini de okside ederek NO sentezini baskılamaktadır (84). Artan peroksinitrit üretimine bağlı stimüle edilen NOS (iNOS) ekspresyonu insanlarda koroner

arterlerin aterosklerotik plaklarında artmış apoptotik hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır (89).



Şekil 6: Lipid peroksidasyonunun temel reaksiyonları (65).

Bir kez tetiklenen LDL oksidasyon süreci, serbest radikallerce yönetilen lipid peroksidasyon zincir reaksiyonudur. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin PUFA'lardaki çift bağlara saldırmasıyla başlar. Bu olay sonucunda metilen gruplarından hidrojen atomu koparılır (anahtar basamak). Stabil olmayan karbon radikallerinin yeni moleküler yapılandırılması sonucunda konjüge dien gibi daha stabil konfigürasyon oluşmaktadır. Konjüge dien çok hızlı bir şekilde moleküler oksijen ile etkileşir ve peroksil radikaller oluşur. LDL'nin PUFA peroksil radikali komşu PUFA'dan hidrojen atomunu

koparabilmektedir. Bu da zincir reaksiyonunu devam ettirmektedir. Lipid hidroperoksitleri kısa zincirli aldehidlere parçalanır (malonildialdehid, 4-hidroksinonenal gibi) (Şekil 6). Bu reaktif aldehidler Apo B100'ün ε-amino gruplarına bağlanabilmektedirler. Sonuç olarak proteinin net negatif yükü artmaktadır. Klasik LDL reseptörleri Apo B100'ün lizin, arginin ve histidin kalıntılarının pozitif yüklerinin spesifik domenini tanımaktadır. Bu domendeki değişiklikler ApoB/E reseptörlerine bağlamayı engeller ve Apo B100 üzerindeki yüzey negatif yükün artması çöpü reseptörler tarafından tanınmasını sağlar (65).

#### **2.2.9.1.5. Okside LDL'nin Biyokimyasal Yapısı:**

LDL endotel altı bölgeye geçişini takiben, başlangıçta ılımlı oksidatif sürece girer, öncelikle “az” modifiye LDL oluşur. Ox-LDL'den farkı, ılımlı lipid peroksidasyonu gerçekleşmiş olmasına rağmen LDL reseptörü tarafından tanınabilmesidir. “Az” modifiye LDL monositlerin endotel hücreye adhezyonunu ve makrofajlara farklılaşmasını uyarır. Makrofajlar “az” modifiye LDL'nin oksidasyonunu hızlandırır ve artık normal LDL reseptörlerince tanınmayan ox-LDL formu oluşur. Ox-LDL artık doğal LDL reseptörü tarafından tanınmaz, bunun yerine hücre içi kolesterol içeriği ile düzenlenmeyen yakalayıcı reseptör sistemi ile alınır. Makrofajlar ox-LDL'den büyük miktarda kolesterol esterleri biriktirdikçe köpük hücreye dönüşür. “Az” modifiye LDL yağlı çizgi oluşumu ile ilgili iken, ox-LDL lezyonun ilerlemesinde etkilidir (82).

Ox-LDL “çöpü” reseptörlerce tanınarak makrofajlar ve düz kas hücrelerince fagosit edilir. Endotel hücreleri ve düz kas hücrelerine sitotoksik etki gösterir ve dolaşımdaki monositler için kemotaktiktir. Endotel adhezyon moleküllerinin üretimini uyararak monosit ve T lenfositlerinin damar duvarına yapışmasını kolaylaştırır ve plak içindeki makrofajların motilitesini inhibe ederek lezyondaki makrofaj sayısının artmasına yardımcı olur. Arteriyel endotel hücreleri için sitotoksik olup nitrik oksit salınımını ve buna bağımlı endotel kaynaklı vazodilatasyonu inhibe eder. Ox-LDL, endotel hücrelerinden, düz kas hücrelerinden ve makrofajlardan PDGF ekspresyonunu uyararak düz kas hücrelerinin migrasyonunu sağlar. Aynı zamanda FGF'nin ekspresyonunu uyararak düz kas hücrelerinin proliferasyonuna yol açar. Ox-LDL makrofajlar tarafından metalloproteinaz sentezini uyarır, endotelial ve düz kas hücrelerinin apoptozisini sağlar. Trombosit adhezyonunu ve prokoagülan aktiviteyi artırır, fibrinolizi baskılar. Böylece trombogenezde önemli role sahiptir. Ayrıca immünojeniktir, antikor oluşumunu tetikler ve bazı büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin salgılanmasını uyarır (82, 84).

### 2.2.9.2. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL):

Lipoproteinler arasında ateroskleroza karşı koruyucu olduğu bilinen tek lipoprotein HDL'dir. En küçük molekülü, en yüksek oranda protein içeren ve trigliserid (TG) içeriği en az olan lipoproteindir. Apo AI ve AII HDL'nin temel apoproteinleridir. HDL ayrıca Apo C ve özellikle Apo E içermektedir. HDL hem karaciğer hem bağırsak tarafından sentez edilip salgılanır. Bağırsaktan gelen yeni salgılanmış HDL Apo C ve E içermeyip, sadece Apo A içerir. Yani Apo C ve E karaciğerde sentezlenip bağırsak HDL'sine bu plazmaya girdiği zaman aktarılır. HDL'nin temel işlevi, şilomikron ve VLDL metabolizması için gereken Apo C ve E için bir depo olarak davranmaktır. Yoğunluklarına göre HDL, HDL2 (d=1,063-1,125 g/ml) ve HDL3 (d=1,125-1,27 g/ml) olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. HDL3 molekülüne (175 kDa) göre daha büyük olan HDL2 (360 kDa), daha fazla miktarda Apo AI içermektedir. Apoprotein depo ve dağıtımı ile antioksidan deposu fonksiyonu bulunan HDL yapısında diğer lipoproteinlerden çok daha fazla tür ve miktarda antioksidanlar (A vitamini, E vitamini, β-karoten, transferrin, seruloplazmin ve paraoksonaz) yer almaktadır. Okside lipoproteinler ateroskleroz gelişimine zemin hazırladıkları için bu antioksidanlar, lipoproteinlerin (özellikle LDL) oksidasyonunu engellemektedir. Dokulardan karaciğere ters yönde (reverse) kolesterol taşınmasında HDL önemli rol oynamaktadır. Ters kolesterol taşınımı birden fazla basamak içerir. Bunlar sırasıyla; serbest kolesterolün hücrelerden HDL'ye aktarımı, HDL'de serbest kolesterolün lesitin: kolesterol açıltransferaz (LCAT, EC-2.3.1.43) enzimi tarafından esterleştirilmesi ve ester kolesterolün, kolesterol ester transfer protein (cholesterol ester transfer protein, CETP) aracılığı ile Apo B içeren lipoproteine (VLDL, LDL, ara dansiteli lipoprotein, "intermediate lipoprotein", IDL) transferidir. Karaciğer ve ince bağırsakta enterositler tarafından sentezlenen HDL öncülleri (nascent HDL), eksositozla dolaşıma verilir. HDL partikülü sentezlendiği zaman disk şeklinde, proteinden zengin fosfolipid çift tabakalı bir partiküldür. Diskoid yapıda olan HDL partikülü ekstrahepatik dokulardan ve damar endotelinden, LCAT aktivitesiyle serbest kolesterolü alır ve bu aktivite sürdükçe, diskoidal HDL, küresel HDL'ye dönüşür. Ester kolesterol periferik dokulardan karaciğere HDL ile taşınmaktadır. Diske bağlanan LCAT ve aktivatörü Apo AI, dokulardan geçerken HDL molekülünün membranındaki kolesterolü almasını sağlamaktadır. Toplanan kolesterol LCAT ile esterleşmekte ve yüzey fosfolipidleri lizolesitine dönüştürülmektedir. Polar olmayan kolesterol esterleri çift katmanın hidrofob iç kısmına geçerken lizolesitin plazma albüminine aktarılır. Böylece hücre membranları ile HDL arasında serbest kolesterol için bir konsantrasyon gradiyentinin oluşması sağlanır. Tepkime devam ettikçe küre şeklinde,

yalancı miçel yapısında HDL<sub>3</sub> oluşur. HDL<sub>3</sub> partikülleri hücre yüzeyinden serbest kolesterolü alır; ayrıca, şilomikronlar ile VLDL'nin hidrolizi sonucu açığa çıkan serbest kolesterol, fosfolipidler ve apolipoproteinler HDL'ye transfer edilir. Böylece kolesterol esterlerinden daha zengin hale geçen HDL partikülü daha büyük ve daha küresel yapıda olan HDL<sub>2</sub>'ye dönüşür. HDL<sub>2</sub> kolesterol esterlerini, CETP aracılığı ile trigliserit (TG)'ten zengin lipoproteinlere transfer ederek, karşılığında TG alır. HDL<sub>2</sub>'nin almış olduğu TG'ler hepatik trigliserid lipaz tarafından hidroliz edilir ve HDL<sub>2</sub>, HDL<sub>3</sub>'e dönüşerek periferden kolesterol toplamaya hazır hale gelir. HDL<sub>2</sub>, dokulardan kolesterolü temizleyip diğer lipoproteinlere aktardığı için koroner ateroskleroz insidansı ile ters ilişkilidir. Karaciğer, HDL kolesterol esterlerinin son yıkım noktasıdır. HDL'den ayrılan apo AI en sonunda böbrek tarafından yıkılır (90, 91, 92).

#### **2.2.9.2.1. HDL'nin LDL Oksidasyonuna Etkisi ve Aterosklerozdaki Rolü:**

Navab ve ark. (93, 94) çalışmalarına göre, LDL'nin içerdiği biyolojik aktif lipidler 3 basamakta oluşmaktadır. Birinci basamakta, LDL'nin linoleik ve araşidonik asit metabolitleri ve hidroperoksitler ile etkileşmesi gerçekleşmektedir. İkinci basamak, kısmen oksitlenmiş LDL'nin subendotelyal aralığa geçmesi ve ilaveten arter duvar hücrelerinde oluşan reaktif oksijen ürünleri ile kaplanmasıdır. Üçüncü aşama LDL fosfolipidlerinin nonenzimatik oksidasyonu sonucunda, monositlerin bağlanması, kemotaksisi ve makrofajlara dönüşmesini başlatan spesifik okside fosfolipidler oluşumunu kapsar. Normal HDL ve major proteini AI (Apo AI) mm-LDL oluşmasının bu üç basamağını da engellemektedir. İn vitro LDL'nin Apo AI ile inkübasyonu, LDL'yi oksidasyona karşı dirençli hale getirmektedir ve kemotaktik aktivitesinin kısıtlanmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda Apo AI, LDL'yi in vivo oksidasyona karşı korumaktadır (84).

Paraoksonaz, HDL-bağımlı enzim olup, lipid peroksidlerinin, kolesterol linoleat hidroperoksidlerini ve hidrojen peroksidlerini hidrolize ederek LDL oksidasyonunu engellemektedir. Paraoksonaz HDL'yi de oksidasyona karşı dirençli hale getirmekte olup revers kolesterol transportunun devamlılığını sağlamaktadır. mm-LDL paraoksonazın ekspresyonunu inhibe eder (84, 95).

Yapılan çalışmalar gösteriyor ki, HDL'ye bağımlı bir diğer enzim olan LCAT da LDL'de okside lipidlerin birikmesini önlemektedir (96). mm-LDL'nin varlığında plazma LCAT aktivitesi inhibe olmaktadır, böylece HDL metabolizması ve ters kolesterol transportu bozulmaktadır. Düşük HDL kolesterol düzeyleri lipoprotein oksidasyonu ve endotel disfonksiyonu ile bağlantılıdır. Vitamin E'nin en potent antioksidan formu olan  $\alpha$ -



tokoferol, lipoprotein yapısında bulunmaktadır; damar hücrelerine girişi aterosklerozun erken evrelerinde endotel disfonksiyonunu önlemektedir (97). Plazma fosfolipid transfer proteini, HDL'den endotelyal hücrelere  $\alpha$ -tokoferol'un aktarılmasını sağlar. Bu transferin endotel hasarının önlenmesinde iki yararlı rolü vardır: membrana bağlı fosfolipidler için antioksidan etkisi ve vasküler endotel hücrelerin normal gevşeme fonksiyonu korunmasıdır (84).

HDL, ox-LDL'nin indüklediği endotel hücrelerinin ICAM-1 ve VCAM-1'in aşırı ekspresyonunu direkt olarak inhibe etmektedir (98).

Son zamanlarda HDL'nin revers kolesterol transportundaki önemli görevi vurgulanmaktadır. İn vitro deneyler, genetik ve populasyon çalışmaları, hayvan çalışmalarında HDL kolesterol düzeylerinin revers kolesterol transportunun antiaterojenik etkilerini yansıtmadığını ortaya koymuştur. HDL metabolizmasının ve revers kolesterol transportunun önemli belirleyicileri ox-LDL tarafından inaktive edilen paraoksonaz ve LCAT enzimleridir. Bunların inaktivasyonu revers kolesterol transportunu bozmaktadır. Böylelikle, LDL oksidasyonunun önlenmesi revers kolesterol transportunda ve aterosklerotik plak regresyonunda HDL'nin aktif rolünün diğer yararlı parçasıdır (84).

### **2.3. PARAOKSONAZ /ARİLESTERAZ (PON 1/ARE):**

Paraoksonaz, hem arilesteraz (E.C.3.1.1.2) hem de paraoksonaz [arildialkil fosfataz; organofosfat hidrolaz; paraokson hidrolaz; (E.C.3.1.8.1)] aktivitesine sahip bir ester hidrolazdır (99).

#### **2.3.1. Tarihçe:**

Paraoksonaz, ilk olarak 1953 yılında Aldridge (100) tarafından *p*-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak teşhis edilmiştir. Paraokson, metil paraokson ve klormetil paraoksona yüksek derecede seçicilik gösterdiği için, paraoksonaz olarak adlandırılmıştır. 1985'lere kadar paraoksonazın nörotoksik olan organofosfatlar üzerine etkisi incelenmiş, saflaştırılması yapılmış ve detoksifikasyondaki rolü araştırılmıştır (101). 1985 yılında Mackness ve ark. ilk olarak HDL-ayırımı için santrifüj rotorunu geliştirirken, HDL-kolesterol ayırımı esnasında lipoprotein fraksiyonunda arilesteraz aktivitesine rastlamışlardır (102). 1988 yılında Mackness ve ark. (103), PON1'in HDL üzerinde Apo AI'e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini ve 1991 yılında LDL üzerindeki lipoperoksit birikimini azalttığını bulmuşlardır (104). Sonraki yıllarda, farklı kardiyovasküler hastalıklarda enzim aktiviteleri incelenmiş, lipoproteinlerle ve lipid peroksidasyonu ile ilişkisi araştırılmış ve enzimin aminoasit dizisi belirlenmiştir.

Paraoksonaz (PON1, arildialkilfosfataz) ve arilesteraz (ARE) her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılansa da, yapılan çalışmalar sonucu insan serumunda tek gen ürünü enzimin hem ARE hem de PON1 aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (105). PON1 ve ARE aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan esteraz grubundaki enzimlerdir. PON1'in polimorfik değişim gösterdiği bilinmesine karşın ARE enzimi genetik polimorfik bir değişim göstermemektedir. Yine iki enzimin doğal substratları farklı olmasına karşın PON1 enzimi ARE'nin doğal substratı olan fenil asetatı hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. Ayrıca PON1 ve ARE'nin iyi bilinen ortak özellikleri organofosfatları, aril ve ve alkil halojenürleri hidroliz etme yeteneğidir. PON1 enzimi antioksidan işlevde de bulunmaktadır. ARE ise, PON1'deki değişimlerden etkilenmeyen asıl proteinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (106).

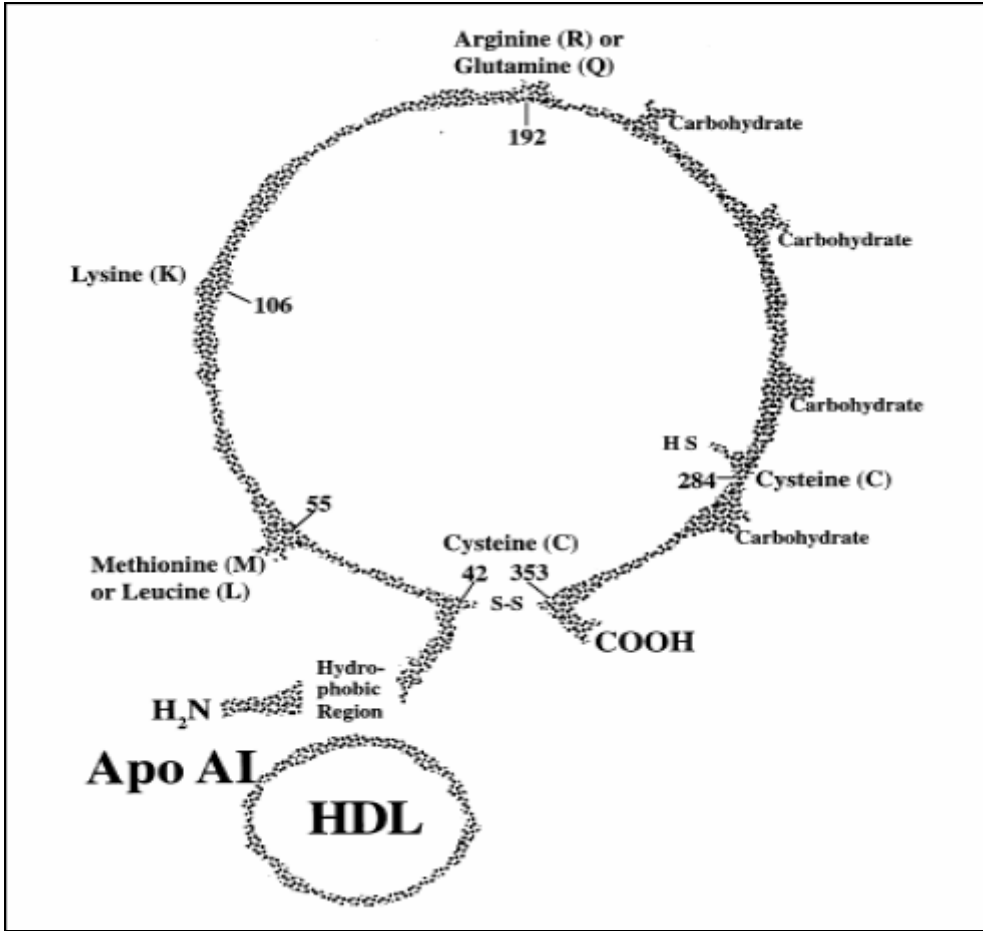
### **2.3.2. PON Genleri ve Proteinleri:**

Memeli türleri arasında geniş bir dağılıma sahip olan PON proteinleri, balıklarda, kuşlarda ve eklembacaklılar gibi omurgasızlarda mevcut değildir (96). İnsanlarda ve farelerde aynı kromozom üzerinde, birbirine komşu üç ayrı PON geni (PON1, PON2, PON3) bulunmaktadır. Farelerde altıncı kromozom üzerinde yerleşen PON geninin, insanlarda yedinci kromozomun uzun kolunda, q21.3 bölgesinde yerleştikleri bildirilmektedir. Üç PON proteininin aminoasit dizileri arasında yaklaşık % 53 oranında homoloji bulunmaktadır ve dokulardaki ekspresyonları ve dağılımları birbirinden farklılık gösterir (107). PON2 ve PON3'ün 105. pozisyonda lizin rezidüsü bulunmadığından paraoksonu hidroliz etmedikleri öne sürülmüştür (108). PON1'e ait mRNA'nın karaciğer yanı sıra böbrek, kalp, beyin, ince bağırsak ve akciğer dokularında da bulunduğu gösterilmiş ve PON1'in, bu dokuların hepsinde endotelial tabakada lokalize olduğu, immünohistokimyasal yöntemlerle tayin edilmiştir. Hemen hemen tüm dokularda görülen ve PON1 mRNA'ya göre, dokular arasında daha geniş bir dağılım gösteren PON2 geninin protein ürünleri henüz bilinmemektedir. Son yıllarda tavşan karaciğeri ve serumundan saflaştırılan ve bir laktonaz olduğu tanımlanan PON3 gen ürününün, en çok plazmada, HDL yapısında bulunduğu bildirilmektedir (99).

### **2.3.3. Kimyasal Yapısı:**

Paraoksonaz 43-45 kDa ağırlığında, 354 amino asit içeren ve glikoprotein yapısında olan, kalsiyum bağımlı bir esterazdır. Her molekül toplam ağırlığın % 15.8'ini oluşturan üç karbonhidrat zinciri içerir. İzoelektrik noktası 5.1'dir. Aminoasit içeriği yüksek miktarda

bulunan lösin dışında bir özellik göstermez. Yapısında bulunan üç sistein aminoasidinden 284. pozisyonundaki serbest iken, diğer ikisi (Cys 42-353) arasında disülfid bağı bulunur. Protein yapısında bulunan tek disülfid bağı, polipeptid zincirinin siklik yapıda olmasına neden olmaktadır. Serbest sistein, substrat tanınması ve bağlanması için gereklidir. 284. pozisyonundaki sisteinin, LDL'yi oksidasyondan korumada önemli bir fonksiyona sahip olmasına karşın organofosfatların hidrolizinde bir etkisi gözlenmemiştir. Enzim aktivitesi sülfhidril bileşikleri ile inhibe olurken bu inhibisyon sistein ile geri döner (99, 105, 109).



Şekil 7: PON1'in yapısı (99).

Maksimum PON1 aktivitesi için kalsiyum gereklidir. Bu özellik PON'ı  $Co^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$  kullanan diğer "A" esteraz enzimlerinden ayırır. Üç boyutlu yapıda  $\beta$ -tabakaların merkezinde  $7,4 \text{ \AA}$  aralıklı iki adet kalsiyum iyonu bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi yapısal kalsiyum olup yapıdan uzaklaştırılması, tersinmez denatürasyona neden olmaktadır. Diğer ise katalitik etkinlikte rol alan kalsiyumdur. Kalsiyum, direkt katalitik reaksiyonda yer alarak veya aktif alanın uygun konformasyonda tutulmasını sağlayarak etkisini göstermektedir. Ayrıca paraoksonun "P=O" bağı polarize ederek fosforun

nükleofilik saldırıya yatkınlığını sağlar ve böylece dietilfosfatın aktif alandan ayrılmasını kolaylaştırır. Kalsiyum iyonunun aktivitede oynadığı önemli rolden dolayı enzim aktivitesinin ölçümünde serum ya da EDTA'sız plazma kullanılır. EDTA bir kalsiyum bağlayıcı olduğundan, varlığı PON1'i inhibe etmektedir (105, 107, 110).

KC'de sentezlenen ve dolaşıma verilen PON1'in HDL yapısında yer aldığı bilinmektedir. PON1, hidrofobik terminal N-terminal bölgesi aracılığı ile HDL-lipidlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri, Apo AI ve Apo J (klusterin) proteinleri de içerdiğinden, Apo AI ve Apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (99, 111).

#### **2.3.4. Paraoksonazın Sentez ve Sekresyonu:**

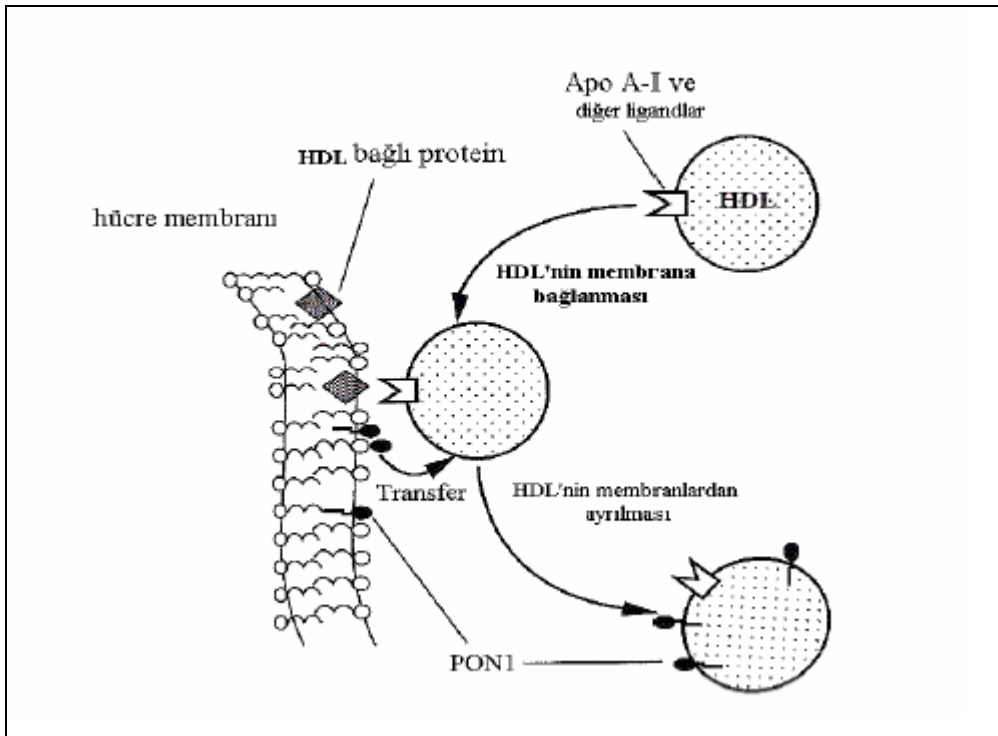
İnsanlarda PON1'in sentez ve sekresyonunun karaciğerde olduğu düşünülmektedir. Enzim aktivitesi fetüs karaciğeri, dalağı ve erişkin karaciğerinde gösterilmiştir. Sıçanlarda ise özellikle karaciğer, akciğer, kalp, böbrek, ince bağırsak ve plazmada bulunmaktadır (112).

Serum PON1 aktivitesi, yeni doğanlarda ve prematüre bebeklerde yetişkin düzeyinin yaklaşık yarısı kadardır. Erişkin düzeyine doğumdan yaklaşık bir yıl sonra ulaşmakta ve hayat boyu değişmeden aynı düzeyde kalmaktadır (105). Erkek ve kadınlar arasında serum HDL konsantrasyonlarında bariz bir fark olmasına karşın insan serum PON1 aktivitesi yaş ve cinse bağlı değişkenlik göstermez (105, 113).

Serum düzeyleri zaman içinde stabil iken, enzimatik aktivite bireyler arasında 10–40 kat değişkenlik göstermektedir (109, 114). Bu değişkenliğin bir nedeni PON geninin kodlama ve promotör bölgelerinde çok sayıda polimorfizm göstermesidir. Bir diğer faktör ise beslenme şeklidir. Proaterojenik diyetin PON1 aktivite ve derişiminde önemli bir azalmaya neden olduğu saptanmıştır (107). Sigara içiminin PON1 derişimi ve aktivitesini azalttığı ve bu etkinin geri dönüşümsüz olduğu saptanmıştır. Sigara kullanımının enzimin serbest tiyol gruplarını modifiye ederek, PON1 enzim aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (115). Serum PON1 düzeyleri ayrıca akut faz reaktanları, gebelik, alkol, statin tedavisi ve Apo AI metabolizmasını etkileyen bozukluklardan etkilenir (116).

Karaciğerde sentezlenen PON1 enzimi dolaşımda HDL yapısında yer almaktadır. Sentezlendikten sonra PON1 insan hepatosit (Huh-7) hücrelerinin hücre membranının dış yüzeyinin içinde yer aldığı gösterilmiştir (117). Enzimin membrandan salınımı uygun alıcı yokluğunda gerçekleşemez. Yapılan çalışmalarda bu alıcının lipid kompleks olduğu gösterilmiştir. Alıcı lipid kompleksin yapısı değişken olabilir, fakat fosfolipidler en önemli

komponentidir. Bu fosfolipid kompleksler PON1'in hücrelerden salınımını başlatır. HDL en optimal alıcı olarak görülmektedir. "Desorpsiyon" mekanizmasına göre PON1 hücrelerin eksternal membranına yerleşmekte olup, oradan da HDL'ye lipoprotein hücre membranı ile geçici birleşmesi neticesinde transfer edilmektedir. HDL'nin membranla etkileşmesinin reseptör aracılı olduğu düşünülmektedir. Bu reseptörün çöpçü reseptör B1 olabileceğine inanılmaktadır. Apo AI HDL'nin temel yapısal peptididir. PON1 ile Apo AI'in yakın bağlantısı, bu apolipoproteinin PON1 sekresyon sürecinde önemli olabileceğini düşündürmektedir (118).



**Şekil 8:** PON1 enziminin hücrelerden HDL'ye transferi (118)

### 2.3.5. Genetik Polimorfizm:

PON1 aktivitesi genetik olarak belirlenmektedir. Enzimin iki aminoasit polimorfizmi vardır. Bunlardan biri 55. pozisyonda metionin ile lösin (M/L) aminoasitlerinin yer değiştirmesiyle, diğeri 192. pozisyondaki arginin ve glutamin aminoasitlerinin yer değiştirmesinden (R/Q) meydana gelir (110). PON1 promotor bölgesinde bu polimorfizmlerden başka bilinen beş tane daha polimorfizm bulunur (119). Populasyonlardaki polimorfik dağılım bireyler arasında farklılığa neden olur. PON1 geni tek otozomal lokus üzerinde allel A (Q) ve B(R) olarak ifade edilir. A allel (A genotip/düşük aktiviteli izoenzim/Glu varyantı) pozisyon 192'de glutamin içeren paraoksonaz enzimini şifrelerken, B allel (B genotip/yüksek aktiviteli izoenzim/Arg

varyantı) pozisyon 192'de arginin bulunan bir proteini şifreler (109). PON1'in 55. pozisyonda lösin (L genotip) yerine metionin (M genotip) gelmesinin aktivite üzerine etkisinin çok az olduğu belirtilmiştir (120). Paraoksonaz enzim aktivitesindeki polimorfizm, PON1<sub>192</sub>R izoformu, paraoksonu PON1<sub>192</sub>Q formundan daha hızlı hidroliz ederken, PON1<sub>192</sub>Q izoformu diazokson ve soman'ı daha hızlı hidroliz eder (121).

Paraoksonaz allozimlerin kantitatif ve kalitatif olarak farklı olduklarının keşfi ile fenotipleme metodları geliştirilmiştir. 1984'te La Du BN ve ark. dual substrat metodu diye adlandırdıkları bu metoda göre (122); İki izoenzimin tuz ve pH'ya farklı yanıtlarına göre iki fenotip tanımlamıştır. Tuza yanıt veren B(R) allozim paraoksona karşı daha yüksek enzim aktivitesine sahiptir. Paraoksonaz aktivitesi 1M NaCl ile stimüle edildiğinde düşük aktiviteli form (A veya Q) inhibe olur, yüksek aktiviteli form (B veya R) inhibe olmaz, aksine aktivitesi maksimum düzeye ulaşır. Bu analizde trimodal dağılım izlenir. Geniş-düşük aktivite piki "düşük aktiviteli homozigotları-AA", ılımlı yüksek aktivite piki "heterozigotları-AB", en küçük aktivite piki ise "yüksek aktiviteli homozigotları-BB" temsil eder. En yaygın homozigot-AA (QQ), ikincisi heterozigot-AB (QR), en az olanı homozigot-BB (RR)'dir. Bu genetik polimorfizm serum protein konsantrasyonunu da etkiler. Homozigot BB bireyler homozigot AA bireylere göre daha yüksek enzim konsantrasyonuna sahiptirler (109). Paraoksonun Q ve R izoenzimleri için ayırt edici bir substrat olmasına karşın fenilasetat ayırt edici bir substrat değildir, her iki izoenzim tarafından da benzer hızlarda hidroliz edilir. Bu nedenle, 1 M NaCl varlığında ölçülen ve tuzla uyarılmış PON1 aktivitesini veren değer, fenilasetat ile ölçülen ARE aktivite değerine bölünmesi ile elde edilen oran (TSPON1/ARE) fenotip tanımlanmasında kullanılır (122,123).

Yüksek seviyedeki PON1'den saflaştırılmış PON1<sub>192</sub>RR ve PON1<sub>55</sub>LL'nin paraokson hidrolitik aktivitesi en yüksekken, PON1<sub>192</sub>QQ ve PON1<sub>55</sub>MM de bu aktivite en düşüktür. R allelin kodladığı proteinin paraokson hidroliz aktivitesi Q allele göre sekiz kat yüksektir. Aktivitenin ara basamağı heterozigotlardır (124). Diğer yandan paraoksonaz alloenzimlerin oksidasyondan LDL'yi koruma kapasitesi paraokson hidrolitik aktivitesi ile tamamen terstir. Böylece, PON1<sub>55</sub>MM / PON1<sub>192</sub>QQ alloenzim bulunan bireylerin HDL ve PON1 ile ilişkili olarak en büyük koruma kapasitesine sahip olmalarının yanında, bu alloenzimler diazokson ve soman ve sarin gibi sinir gazlarını hidroliz etmede de aktif rol üstlenirler (125,126).

Paraoksonaz polimorfik dağılımı büyük interetnik değişkenlik gösterir. Karakaya ve ark. (127), yukarıda anlatılan tipte trimodal dağılımı Türk populasyonunda da

göstermiştir. Türk popülasyonunda oldukça düşük oranda görülen RR alleli; doğu popülasyonlarından düşük, Avrupa ırkına yakın değerler göstermiştir. Düşük aktivite görülen Q alleli Avrupa, Kanada ve Amerika’da yüksek, Avustralya Aborijin, Zambiya ve Zimbabve’de düşüktür. Avrupa popülasyonlarında bimodalite ve %53 düşük aktivite izoformu izlenir ve Avrupa’dan uzaklaştıkça bu oran azalır. Afrika ve doğu ülkelerinde dağılım unimodaldır, bu ırklarda düşük aktiviteli genotip saptanmamıştır (109).

**Tablo V:** PON enziminin farklı popülasyonlardaki gen sıklığı (109).

|                          | Popülasyon | R(B) allel | Q(A) allel | M allel | L allel |
|--------------------------|------------|------------|------------|---------|---------|
| Karakaya ve ark.(1991)   | Türk       | 0,37       | 0,63       | -       | -       |
| Mackness ve ark. (1995)  | İngiliz    | 0,38       | 0,62       | 0,28    | 0,72    |
| Serrato ve ark.(1995)    | Amerika    | 0,31       | 0,69       | -       | -       |
| Antikainen ve ark (1996) | Fin        | 0,26       | 0,74       | -       | -       |
| Garin ve ark. (1997)     | Kafkas     | 0,24       | 0,76       | 0,38    | 0,62    |
| Sanghera ve ark.(1997)   | Asya yerli | 0,43       | 0,57       | 0,20    | 0,80    |
|                          | Çin        | 0,58       | 0,42       | 0,96    | 0,04    |
| Mackness ve ark. (1997)  | İngiliz    | 0,38       | 0,62       | 0,57    | 0,43    |
| Heijmans ve ark.(1999)   | Hollanda   | 0,28       | 0,72       | 0,37    | 0,63    |
| Cascorbi ve ark.(1999)   | Alman      | 0,27       | 0,73       | 0,33    | 0,67    |
| Aynaçoğlu ve ark.(1999)  | Türk       | 0,31       | 0,69       | 0,28    | 0,72    |
| Mackness ve ark. (2000)  | İngiliz    | 0,33       | 0,67       | -       | -       |
|                          | Fransız    | 0,24       | 0,76       | -       | -       |
| Sözmen ve ark.(2000)     | Türk       | 0,22       | 0,78       | -       | -       |

### 2.3.6. Fonksiyonel Önemi:

#### 2.3.6.1. Hidrolitik Aktivite; Organofosfatlara Karşı Koruma:

Paraoksonaz KC’de sentezlenen bir esteraz olup, paraokson gibi organofosfat bileşiklerinin, fosfonik, fosfinik asit esterlerinin ve aromatik karboksilik asit esterlerinin hidrolizinde rol oynar. Paration insektisidinin bir kataboliti olan paraokson hidrolizini gerçekleştiren bir enzim olarak bulunmuştur. Paraokson asetilkolinesteraz enzimini geri dönüşümsüz inhibe ettiğinden dolayı insanlar için toksiktir (128).

Serum paraoksonaz enziminin, diazokson, sarin, soman gibi organofosfat türevlerini detoksifiye ettiği pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Son yıllarda PON1’in ayrıca laktonaz ve farmakolojik ajanları da hidroliz ettiği gösterilmiştir (108).

### 2.3.6.2. Oksidatif veya Peroksidatif Aktivite; LDL Oksidasyonunun Önlenmesi:

PON1'in ikinci biyolojik fonksiyonu antiaterojenik aktiviteye sahip olmasıdır. Serum PON1 plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerini oksidasyonunu önlemede rolü olduğu düşünülmektedir. PON1 enzimi eksik olan fareler diyet ile indüklenen ateroskleroza duyarlı hale gelir. Bu enzimin plazmada her zaman HDL ile birlikte bulunmasının HDL'nin antiaterojenik etkilerine önemli katkısı vardır. Peroksidasyona uğramış olan lipidler bu enzim tarafından metabolize edildiğinden, lipid peroksitlerin hem HDL'de hem de LDL'de birikimi önlenir. Bu özelliği nedeniyle, HDL'nin LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu etkisinden PON1 sorumludur ve bu açıdan A ve E vitaminlerinden daha etkilidir (104, 129).

Yüksek dansiteli lipoprotein, LDL'yi oksidasyondan koruyabilme yeteneğine sahiptir. Çeşitli mekanizmalar bu koruyucu rolün açıklanmasında önem kazanmaktadır. HDL ile ilişkili enzimlerin [PON1, LCAT, Trombosit Aktive edici Faktör Asetil Hidrolaz (PAF-AH)] oksidatif modifikasyonlara karşı lipoproteinleri koruduğuna inanılmaktadır. Paraoksonaz; LDL-kolesterolü bakır (Cu) iyonunun ve serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan korumaktadır (108).

Serum PON1'in ateroskleroz sürecinin başlangıç evresinde LDL fosfolipidlerini oksidasyona karşı korumada önemli olduğu ilk olarak 1991 yılında Mackness ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada gösterilmiştir. Bu araştırmacılar, HDL'nin bakırla inkübe edilen LDL'de lipid peroksit oluşumunu %90 oranında inhibe ettiğini; HDL'den saflaştırılan PON1'in tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddelerin (TBARS) düzeylerini ve lipoperoksit oluşumunu önlediğini göstermişlerdir (104).

Yüksek dansiteli lipoprotein yapısında bulunan PON1 enzimi, mm-LDL'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterebilir. Paraoksonaz, okside LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitleri ve spesifik okside fosfolipidleri hidroliz eder (108).

Paraoksonaz, lipid peroksitlerin yanı sıra hidrojen peroksit üzerine de etkilidir. Aterogenez sırasında arter duvarı hücrelerince üretilen majör toksik oksijen metaboliti olan hidrojen peroksit, oksidatif koşullarda daha potent ürünlere dönüşerek LDL oksidasyonuna neden olur. PON1'in okside LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitlerini ve hidroksitleri indirgemesi nedeni ile peroksidaz benzeri aktivitesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, lipopolisakkarid inaktivasyonu yolu ile bakteriyel endotoksinlere karşı koruma sağlamaktadır (107).



Paraoksonazın, HDL'yi oksidasyondan koruduğunu gösteren çalışmalarda saflaştırılmış PON1'in HDL'ye eklenmesi ile doza bağımlı olarak oksidasyonun lag fazının uzadığı, HDL'de lipid peroksit ve aldehid birikiminin %95'e kadar azaldığı gösterilmiştir (130). Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil hücrenin yapısındaki lipidler de lipid peroksidasyonuna uğramaktadır. Paraoksonaz lipid peroksitlerinin aterojenik etkilerini nötralize eder, hücre membranlarını koruyucu etki gösterir (131).

Düşük dansiteli lipoprotein oksidasyonu esnasında oluşan okside fosfolipidlerden okside kolesterol esterleri, lizofosfatidilkolinler PON enzimidaki serbest sülfhidril grubu ile (sistein 284'deki) etkileşime girer ve enzimin inaktive olmasına yol açarlar (108). LDL oksidasyonu esnasında PON1'in inaktive olduğuna ilişkin görüşler araştırmalarla desteklenmiştir. LDL'yi oksidasyona karşı koruyan paraoksonaz enzimi okside LDL oluşumu esnasında zamana bağlı olarak inaktive olmaktadır. Bu olay, paraoksonazın serbest sülfhidril grubu ile lipid peroksidasyonunun bazı ürünleri arasında bir ilişki sonucunda meydana gelebilir. LDL'deki okside kolesteril araşidonat veya okside araşidonat içeren fosfolipidler ile PON 1'in sistein 284 bölgesindeki bulunan serbest sülfhidril grubu arasındaki etkileşim ile ilişkili olabilir. Oksidatif sistemdeki  $Cu^{+1}/Cu^{+2}$  iyonlarının oksidasyon esnasında, PON1'in paraoksonaz/arilesteraz aktivitesi için gerekli olan Ca iyonunun yerine geçmesinin PON1'in kısmen inaktivasyonundan sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca,  $H_2O_2$ 'nin PON1'in güçlü inaktivatörü olduğu da gösterilmiştir (132).

Son zamanlarda mm-LDL'nin Apo J/Paraoksonaz oranının artmasına neden olduğu ve bu olayın okside LDL tarafından PON1 inaktivasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca flavonoidlerin; LDL'nin endojen antioksidanlarının yıkımını engellediği, LDL'nin hücre aracılı oksidasyonunu inhibe ettiği ve HDL ilişkili enzim olan PON1'in aktivitesini koruduğu gösterilmiştir. Paraoksonaz organofosfat hidrolizini gerçekleştirebilmek için Ca gerektirirken; lipid peroksidasyonundan koruyucu antioksidan aktivitesi için Ca gerektirmez (132,133).

Trombosit Aktive edici Faktör Asetil Hidrolaz ve PON1'in aynı ortamda bulduklarında mm-LDL'deki aktif lipidleri tek başlarına gösterdikleri etkinin toplamı bir etki ile yittiklerini göstermiştir. LDL'nin  $Cu^{+2}$  iyonu ile uyarılmış oksidasyonunda PAF-AH; Apo B100 modifikasyonunu ve konjüge dien oluşumunu inhibe eder, ancak TBARS oluşumu üzerine etkisi yoktur. Paraoksonaz ise hem lipid peroksit oluşumu hem de TBARS üretimini inhibe etmektedir. Paraoksonazın yokluğunda PAF-AH ve LCAT; LDL'yi oksidasyondan korumada çok etkili değildirler. Oksidatif stres altında, HDL

kolesterol de oksidasyona maruz kalmaktadır. HDL kolesterol, lipid peroksitlerin serumdaki en önemli taşıyıcısıdır. HDL yapısındaki kolesterol ester hidroperoksitler, LDL'de bulunanlara oranla daha hızlı ancak daha az reaktif hidroksitlere indirgenmektedir. HDL'nin oksidatif modifikasyonu; ters yönde kolesterol taşıma fonksiyonunda bozulmalara yol açar. Paraoksonaz, HDL'yi oksidasyondan koruyarak HDL kolesterolün ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimini yavaşlatmaktadır (108).

### **3. MATERYAL VE METOD:**

#### **3.1. Olgu Seçimi:**

Çalışmaya Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji kliniğine başvuran 36 iskemik, 22 hemorajik inme (intraserebral hemoraji) tanısı alan hasta alındı. Kontrol grubu olarak anamnezinde SVH olmayan 36 gönüllü birey dahil edildi.

Nöroloji kliniğine akut inme ile başvuran hastaların ilk 1 hafta içinde değerlendirilmesi yapıldı. Hastalar inme tipine göre iskemik ve hemorajik olarak gruplara ayrıldı. İskemik inmesi olan hasta grubu inmenin lokalizasyonunu ve klinik bulguları ön planda tutularak: 1-Total anterior sirkülasyon infarktları, 2-Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları, 3-Laküner infarktlar ve 4-Posterior sirkülasyon infarktları olarak gruplandırıldı. Hastaların nörolojik muayenelerine göre NIH inme skoru, Barthel indeksi ve Glaskow koma skalası hesaplanarak kaydedildi. Hastaların demografik özellikleri ve diğer aterosklerotik risk faktörleri (Diabetes Mellitus, hipertansiyon, dislipidemi, sigara, koroner arter hastalığı gibi) kaydedildi. Kontrol grubundaki bireyler de benzer vasküler risk faktörlere göre (hipertansiyon, diyabet, koroner arter hastalığı, sigara) hasta grupları ile eşleştirildi.

#### **3.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması:**

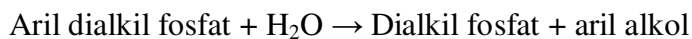
Hastalardan 6-8 ml. venöz kan düz biyokimya tüpüne alınıp, pıhtılaşması tamamlandıktan sonra 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum kısmı porsiyonlara ayrılıp eppendorf tüpleri içinde -70°C'deki derin dondurucuya konularak çalışma zamanına kadar saklandı.

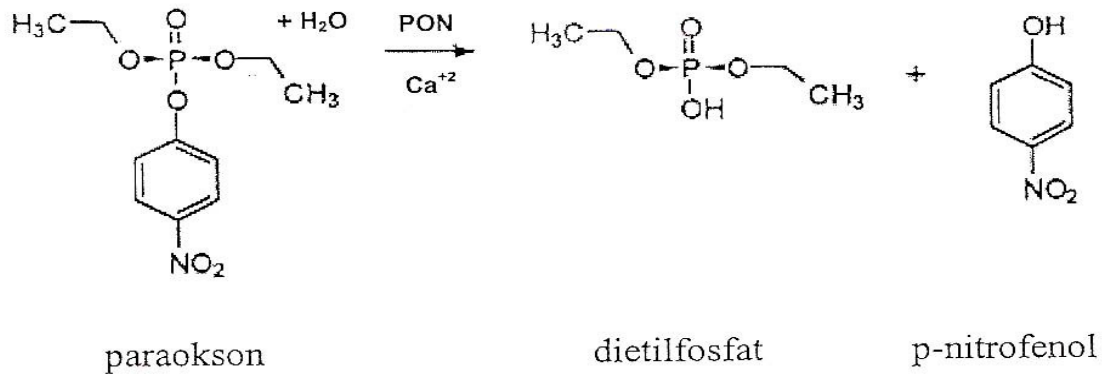
#### **3.3. Biyokimyasal Analizler:**

Paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi spektrofotometrik yöntemle "Rel Assay Diagnostics" marka kit kullanarak manuel olarak ölçüldü.

##### **3.3.1. Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçüm Metodu:**

Paraoksonaz'ın katalizlediği reaksiyon aşağıda görüldüğü gibidir.





Örnekteki paraoksonaz enzimi reaksiyon ortamındaki paraokson substratını hidroliz eder. Açığa çıkan ürünün absorbans artışı, absorbans spektrumuna uygun dalga boyunda kinetik olarak izlendi. Nonenzimatik hidroliz değeri, örnek değerinden çıkarılarak enzimatik aktiviteye ait net değerler hesaplandı. Sonuçlar dakikada bir mikromolar substratın hidrolizine eşit olan Ünite/Litre cinsinden ifade edildi.

**Tablo VI:** Paraoksonaz aktivitesinin manuel ölçümü.

|                         |  |
|-------------------------|--|
| <i>Örnek volümü</i>     | 50 µL                                      |
| <i>Reagent 1 volümü</i> | 1000 µL (Reagent 1: Tampon ve aktivatör)   |
| <i>Reagent 2 volümü</i> | 50 µL (Reagent 2: Substrat ve koruyucu)    |
| <i>Dalga boyu</i>       | 412 nm veya buna en yakın uygun dalga boyu |
| <i>Okuma noktası</i>    | Kinetik (rate-up) ölçüm                    |

Manuel çalışma Shimadzu UV.1601 spektrofotometre cihazında gerçekleştirildi. Paraoksonaz'ın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenol'ün 412 nm deki dakikalık absorbans oluşumu kaydedildi. Molar absorpsiyon katsayısı 17000 (ε) alınarak aktivite için 1 ünite, 1 mikromol p-nitrofenol/ml serum/dk olarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$IU / lt (\mu\text{mol} / \text{dk}/L) = \frac{\Delta A/\text{dk} \times T.V (\text{ml}) \times 10^6}{\epsilon \times \text{Işık yolu} \times N.V (\text{ml})} = \frac{\Delta A/\text{dk} \times (T.V \times 10^6)}{\epsilon \times \text{Işık yolu} \times N.V}$$

**A:** Absorbans

**$\Delta A/\text{dk}$ :** Dakikalık absorbans artışı

**T.V:** Deney tüpündeki toplam sıvı miktarı

**$10^6$ :** Sonuçları  $\mu\text{mol} / \text{dk}/L = U/L$ 'ye çevirme katsayısıdır.

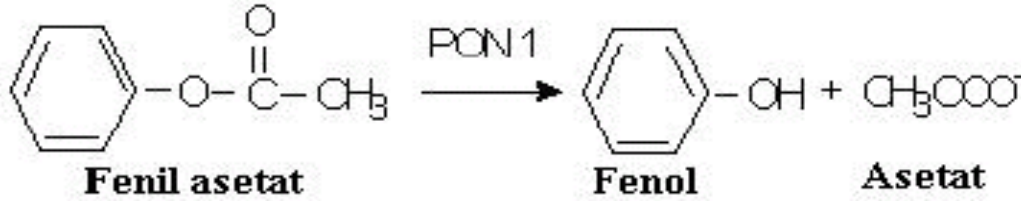
**$\epsilon$ :** Ekstinsiyon katsayısı: Reaksiyon sonunda okunan maddenin molar absorbtivite katsayısı olup sabit bir değerdir.

**Işık yolu:** Okuma küvetinin çapı (cm cinsinden)

**N.V:** Reaksiyona katılan numune hacmi.

### 3.3.2. Arilesteraz Aktivitesinin Ölçüm Metodu:

Arilesteraz aktivitesi ölçümleri için substrat olarak paraokson yerine fenilasetat kullanıldı.



Örnekteki PON 1 enzimi reaksiyon ortamındaki fenilasetat substratını fenole ve asetik asite dönüştürür. Açığa çıkan fenol'ün spektrofotometrede 270 nm dalga boyundaki dakikalık absorbans oluşumu takip edildi.

Bu çalışmada numune 20 kat saf su ile dilüe edilerek çalışıldı. Bu dilüe edilen örnekten 25 mikrolitre alınıp üzerine 750 mikrolitre birinci ayıraç eklendi. Bu karışıma 25 mikrolitre substrat çözeltisi eklenip, absorbans artışı 60 saniye boyunca Shimadzu UV.1601 spektrofotometresinde kinetik modda izlendi.

**Tablo VII:** Arilesteraz aktivitesinin manuel ölçümü.

|                         |   |
|-------------------------|---|
| <i>Örnek volümü</i>     | 25 µL (saf su ile 20 kat seyreltilmiş)                |
| <i>Reagent 1 volümü</i> | 750 µL (Reagent 1: Tampon, stabilizatör ve koruyucu)  |
| <i>Reagent 2 volümü</i> | 25 µL (Reagent 2: Substrat, stabilizatör ve koruyucu) |
| <i>Dalga boyu</i>       | 270 nm  |
| <i>Okuma noktası</i>    | Kinetik (rate-up) ölçüm                               |

Sonuçlar yine paraoksonazdaki enzim aktivitesi formülüne göre hesaplandı ve kU/L olarak değerlendirildi. Molar absorpsiyon katsayısı 1310 ( $\epsilon$ ) alınarak arilesteraz aktivitesi için 1 ünite, 1 mikromol fenol/ml serum/dk. olarak tanımlandı.

### **3.3.3. HDL-kolesterol Ölçüm Yöntemi:**

HDL-kolesterol ölçümü, hızlandırıcı selektif deterjan yöntemi kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri Dade Behring RxL max (Siemens) otoanalizöründe Dimension Dade Behring reaktifi kullanılarak çalışıldı.

Yöntem kolesterol oksidazın (KO) non-HDL esterlenmemiş kolesterol ile tepkimesinin hızlandırılmasına ve spesifik bir deterjan kullanılarak HDL'nin selektif olarak çözüldürülmesine dayanmaktadır.

### **3.4. İstatistiksel Analizler:**

Tüm istatistiksel hesaplamalar Windows SPSS 9.05 kullanılarak yapıldı. İstatistiksel değerlendirme yapılırken Ki-kare, Kruskal-Wallis testi, Mann Whitney U testi, Spearman korelasyon testi kullanıldı. Kantitatif değerler ortalama  $\pm$  standart sapma (ort  $\pm$ SS) olarak belirtildi. İstatistiksel olarak  $p < 0.05$  anlamlı olarak değerlendirildi. Anlamlı değerler sayısal ifade, kalın karakterlerle verildi. Tablolarda anlamlı değerlerin olduğu tablo hanesi rengi koyu olarak verildi.

#### 4. BULGULAR:

Çalışmaya KSÜ Tıp Fakültesi Nöroloji servisine başvuran yaşları 44 ile 84 arasında değişen 58 inme hastası olan bireyler dahil edildi. Bunlardan 36 olgu iskemik inme, 22 olgu ise hemorajik inme (intraserebral hemoraji) hastaları idi. Vasküler risk faktörlere göre eşleştirilen, SVH geçirmeyen 46-82 yaş arası 36 bireyden kontrol grubu oluşturuldu.

**Tablo VIII:** Hasta ve kontrol gruplarının fiziksel özelliklerinin karşılaştırılması

|   | <b>İskemik inme grubu (n=36)</b> | <b>Hemorajik inme grubu (n=22)</b> | <b>Kontrol grubu (n=36)</b>  | <b>p değeri</b> |
|---|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------|-----------------|
| <b>Yaş (ort ± SS)</b><br>(min-med-maks) | 67,44 ± 10,71<br>44 - 68 - 84    | 63,54 ± 9,32<br>45 - 63,5 - 79     | 64,25 ± 9,52<br>46 - 62 - 82 | 0.225           |
| <b>Cinsiyet</b>                         |                                  |                                    |                              |                 |
| Erkek                                   | 19 (%52,8)                       | 10 (%45,5)                         | 16 (%44,4)                   | 0.753           |
| Kadın                                   | 17 (% 47,2)                      | 12 (%54,5)                         | 20 (%55,6)                   |                 |

(SS: standart sapma, yaş karşılaştırmasında Kruskal-Wallis varyans testi, cinsiyet karşılaştırmasında Ki-kare testine göre değerlendirilmiştir).

Tablo VIII'de görüldüğü gibi gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak herhangi bir fark yoktu.

**Tablo IX:** Hasta grupların klinik bulgularının karşılaştırılması

|   | <b>İskemik inme grubu (n=36)</b> | <b>Hemorajik inme grubu (n=22)</b> | <b>p değeri</b> |
|---|----------------------------------|------------------------------------|-----------------|
| <b>NIH inme skoru</b><br>(ort ± SS)<br>(min-med-maks)       | 13,58 ± 10,85<br>1,0-9,5-34,0    | 21,22 ± 10,72<br>4,0 - 23,0 - 34,0 | <b>0.012</b>    |
| <b>Bartel indeksi</b><br>(ort ± SS)<br>(min-med-maks)       | 12,14 ± 6,35<br>0,0-15,0-18,0    | 7,64 ± 6,17<br>0,0-7,0-18,0        | <b>0.010</b>    |
| <b>Glaskow koma skalası</b><br>(ort ± SS)<br>(min-med-maks) | 13,44 ± 2,79<br>6,0-15,0-15,0    | 11,86 ± 3,52<br>3,0-13,0-15,0      | <b>0.031</b>    |

(SS: standart sapma, independent Mann-Whitney U testine göre değerlendirildi).

Tablo IX'da görüldüğü gibi iki hasta grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi. İskemik inme grubunda NIH inme skoru değeri anlamlı düşük, Bartel indeksi değeri anlamlı yüksek ve Glaskow koma skalası değeri anlamlı yüksek bulunmuştur (sırasıyla p=0.012, p=0.010, p=0.031).

**Tablo X:** İskemik inme grubunun sınıflandırmaya göre bulguları

|   | <b>İskemik inme grubu (n = 36)</b> |            |
|---|------------------------------------|------------|
|   | <b>n</b>                           | <b>(%)</b> |
| <b>İskemik klinik sınıflandırma</b>       |                                    |            |
| Total anterior sirkülasyon infarktları    | 1                                  | (%2,8)     |
| Parsiyel anterior sirkülasyon infarktları | 14                                 | (%38,9)    |
| Laküner infarktlar                        | 12                                 | (%33,3)    |
| Posterior sirkülasyon infarktları         | 9                                  | (%25)      |
| <b>TOAST sınıflandırılması</b>            |                                    |            |
| Büyük arter ateroskleroza                 | 18                                 | (%50)      |
| Küçük damar hastalıkları                  | 12                                 | (%33,3)    |
| Kardiyoembolik                            | 6                                  | (%16,7)    |

**Tablo XI:** Grupların vasküler risk faktörlerine göre dağılımı

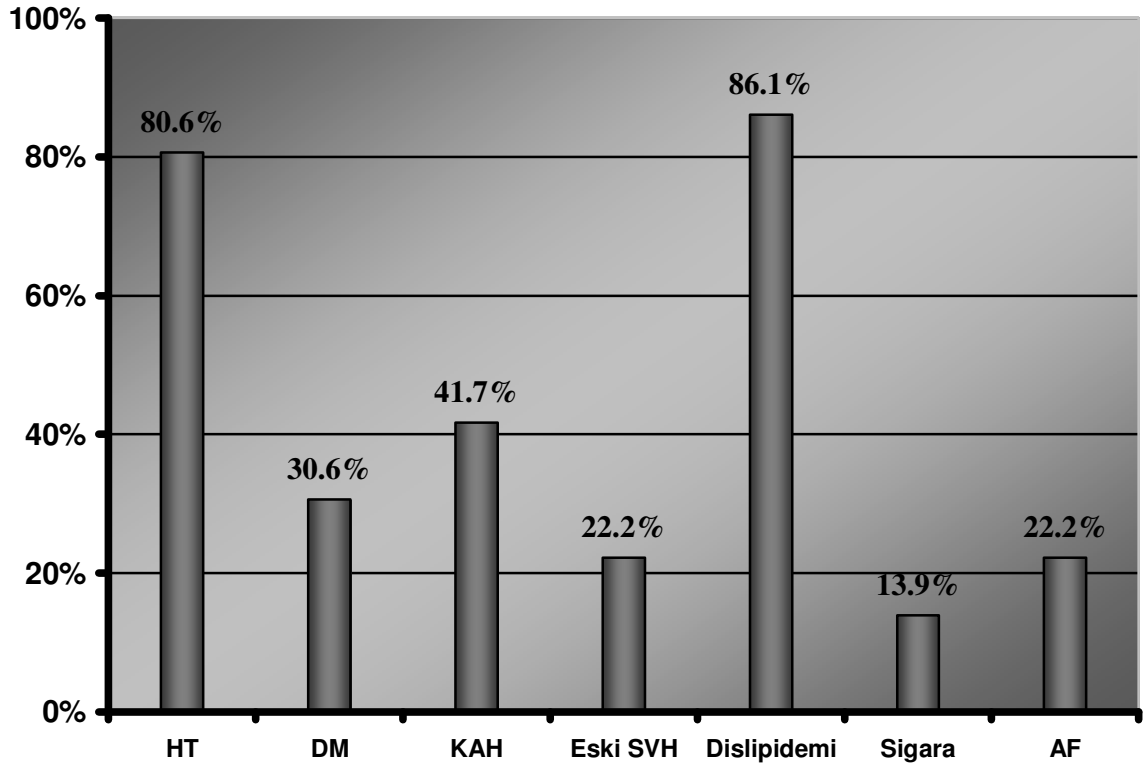
|                    |     | <b>İskemik inme grubu (n = 36)</b> | <b>Hemorajik inme grubu (n = 22)</b> | <b>Kontrol grubu (n = 36)</b> | <b>p değeri</b>    |
|--------------------|-----|------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------|
|                    |     | <b>n (%)</b>                       | <b>n (%)</b>                         | <b>n (%)</b>                  |                    |
| <b>HT</b>          | var | 29 (%80,6)                         | 19 (%86,4)                           | 24 (% 66,7)                   | 0.177 <sup>a</sup> |
|                    | vok | 7 (%19,4)                          | 3 (%13,6)                            | 12 (%33,3)                    |                    |
| <b>DM</b>          | var | 11 (%30,6)                         | 8 (%36,4)                            | 12 (%33,3)                    | 0.900 <sup>a</sup> |
|                    | vok | 25 (%69,4)                         | 14 (%63,6)                           | 24 (% 66,7)                   |                    |
| <b>KAH</b>         | var | 15 (%41,7)                         | 6 (%27,3)                            | 7 (%19,4)                     | 0.114 <sup>a</sup> |
|                    | vok | 21 (%58,3)                         | 16 (% 72,7)                          | 29 (%80,6)                    |                    |
| <b>Eski SVH</b>    | var | 8 (%22,2)                          | 9 (%40,9)                            | -                             | 0.129 <sup>b</sup> |
|                    | vok | 28 (%77,8)                         | 13 (%59,1)                           |                               |                    |
| <b>Dislipidemi</b> | var | 31 (%86,1)                         | 15 (%68,2)                           | 31 (%86,1)                    | 0.161 <sup>a</sup> |
|                    | vok | 5 (%13,9)                          | 7 (%31,8)                            | 5 (%13,9)                     |                    |
| <b>Sigara</b>      | var | 5 (%13,9)                          | 2 (%12,1)                            | 4 (%11,1)                     | 0.850 <sup>a</sup> |
|                    | vok | 31 (%86,1)                         | 20 (%90,9)                           | 32 (%88,9)                    |                    |
| <b>AF</b>          | var | 8 (%22,2)                          | -                                    | -                             |                    |
|                    | vok | 28 (%77,8)                         |                                      |                               |                    |

(a: iskemik inme grubu, hemorajik inme grubu ve kontrol grubu arasındaki fark, b: iskemik inme grubu ile hemorajik inme grubu arasındaki fark, Ki-kare veya Fisher ki-kare testine göre değerlendirilmiştir)

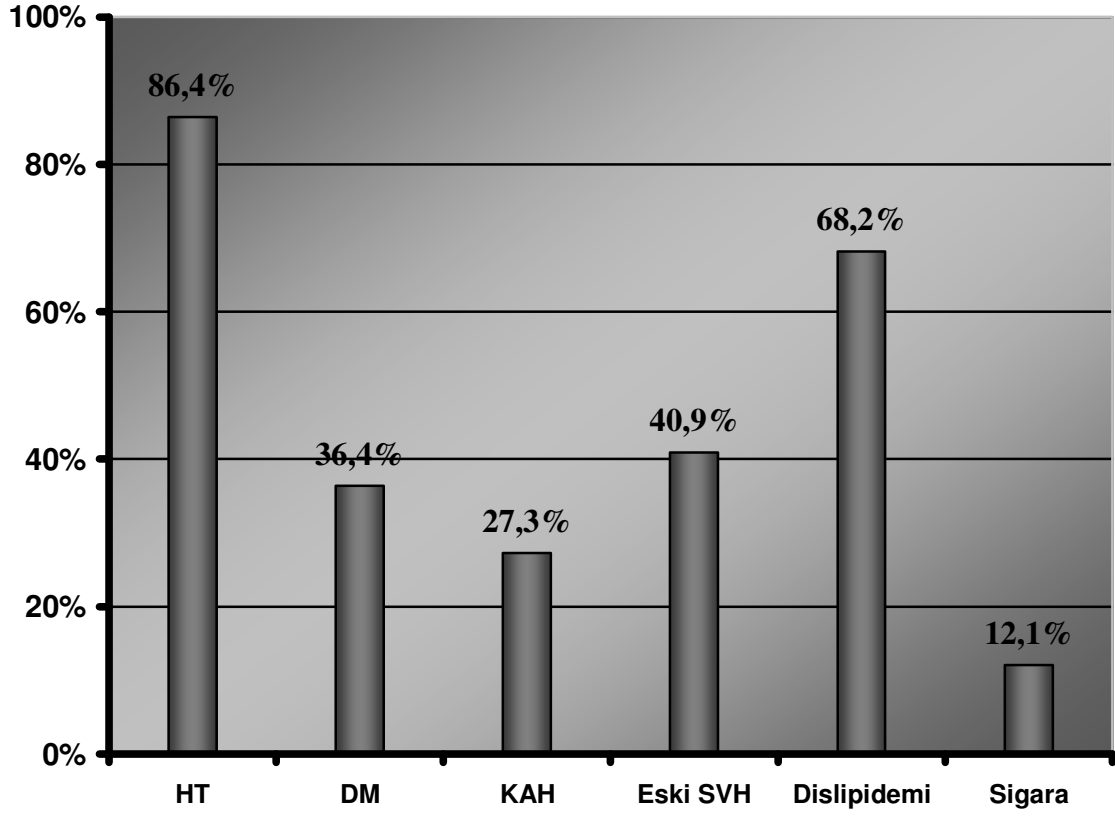


Lipidemi durumu NCEP ATP III kriterlerine göre mg/dl olarak total kolesterol<200, LDL-kolesterol<130, trigliserid<150 ve HDL-kolesterol>40, bulunan olgular normolipidemi olarak değerlendirildi. Bu kriterlerden birinin farklı olması ise dislipidemi olarak değerlendirildi (134).

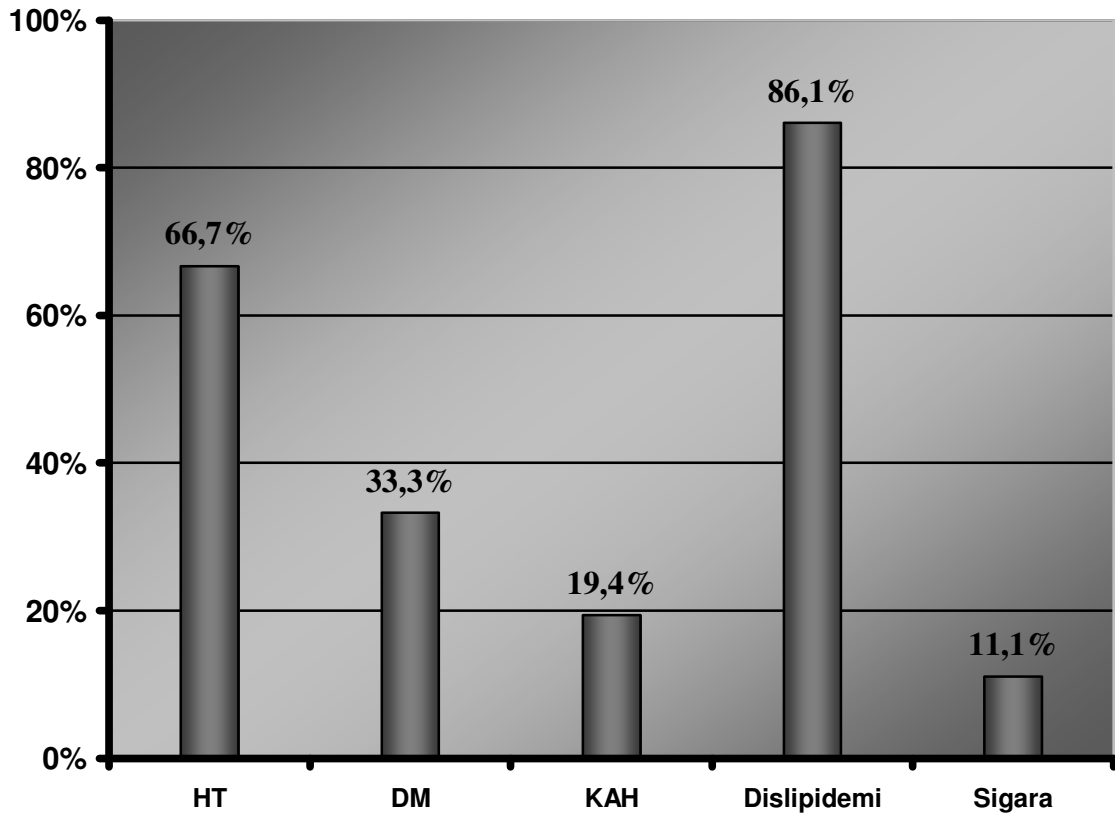
Yukarıdaki tablo XI'de görüldüğü gibi vasküler risk faktörlerine göre analiz sonuçları değerlendirdiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.



Şekil 9: İskemik inme grubunda risk faktörlerine göre hastaların dağılım yüzdeleri



Şekil 10: Hemorajik inme grubunda risk faktörlerine göre hastaların dağılım yüzdeleri



Şekil 11: Kontrol grubunda risk faktörlerine göre hastaların dağılım yüzdeleri

**Tablo XII:** Hasta ve kontrol gruplarının biyokimyasal analiz sonuçları

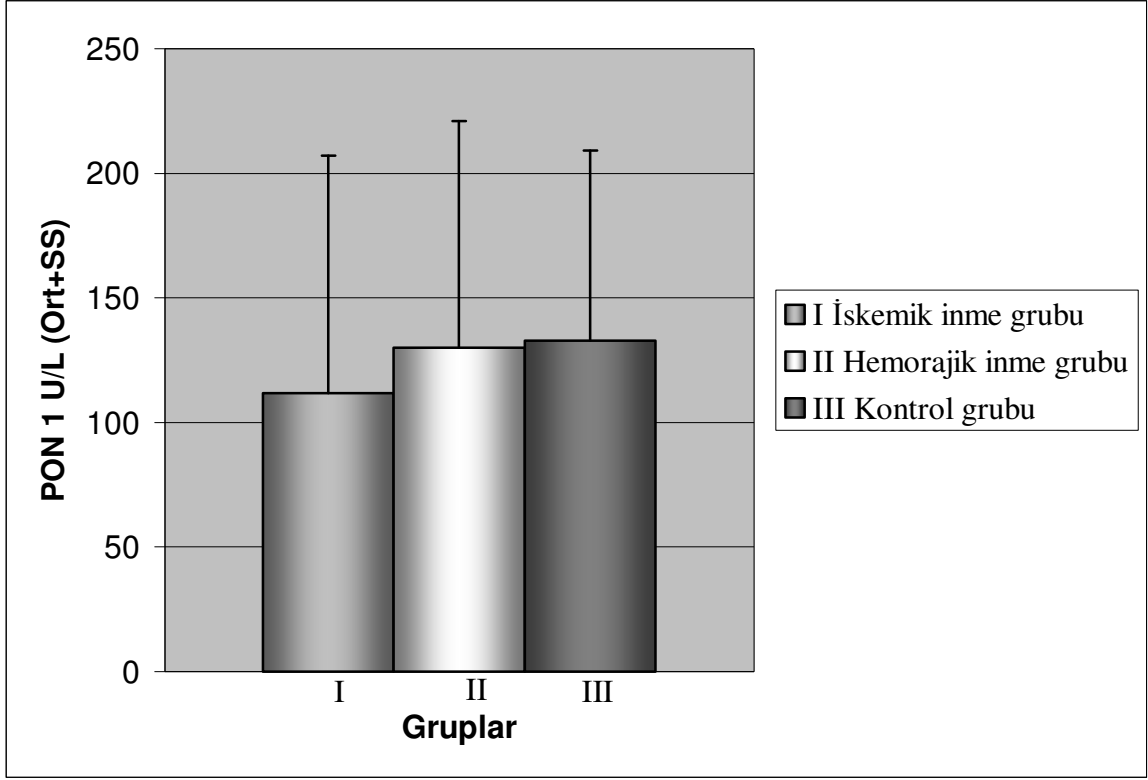
|   | <b>İskemik inme grubu (n = 36)</b>      | <b>Hemorajik inme grubu (n = 22)</b>    | <b>Kontrol grubu (n = 36)</b>           | <b>p değeri</b>          |
|---|---|---|---|--------------------------|
| <b>PON 1 (U/L)</b><br>(ort.±SS)<br>(min-med-maks) | 111,73 ± 95,44<br>(22,90-72,59-338,64)  | 130,04 ± 90,92<br>(26,53-98,48-333,33)  | 132,77 ± 76,45<br>(34,42-118,92-318,19) | 0.188 <sup>a</sup>       |
| <b>ARE (kU/L)</b><br>(ort.±SS)<br>(min-med-maks)  | 138,72 ± 48,48<br>(28,48-141,78-233,47) | 175,48 ± 55,22<br>(94,29-167,08-327,03) | 167,38 ± 61,28<br>(52,18-161,73-349,55) | <b>0.022<sup>b</sup></b> |
| <b>HDL (mg/dl)</b><br>(ort.±SS)<br>(min-med-maks) | 33,58 ± 8,02<br>(22,0-31,5-60,0)        | 39,0 ± 13,60<br>(9,0-42,0-66,0)         | 35,61 ± 9,35<br>(22,0-34,0-66,0)        | 0.162 <sup>a</sup>       |
| <b>PON 1/HDL (IU/(mg/dl))</b><br>(ort.±SS)        | 3,22 ± 2,54<br>(0,58-2,40-8,85)         | 3,99 ± 4,25<br>(0,52-2,55-19,77)        | 3,74 ± 1,97<br>(0,93-3,55-8,20)         | 0.230 <sup>a</sup>       |
| <b>PON 1/ARE (U/kU)</b><br>(ort.±SS)              | 0,75 ± 0,53<br>(0,23-0,57-2,10)         | 0,73 ± 0,49<br>(0,19-0,61-2,05)         | 0,83 ± 0,44<br>(0,19-0,76-1,90)         | 0.345 <sup>a</sup>       |

(SS: standart sapma, a: iskemik inme grubu, hemorajik inme grubu ve kontrol grubu arasındaki fark, b: iskemik inme grubu ile hemorajik inme grubu arasındaki fark).

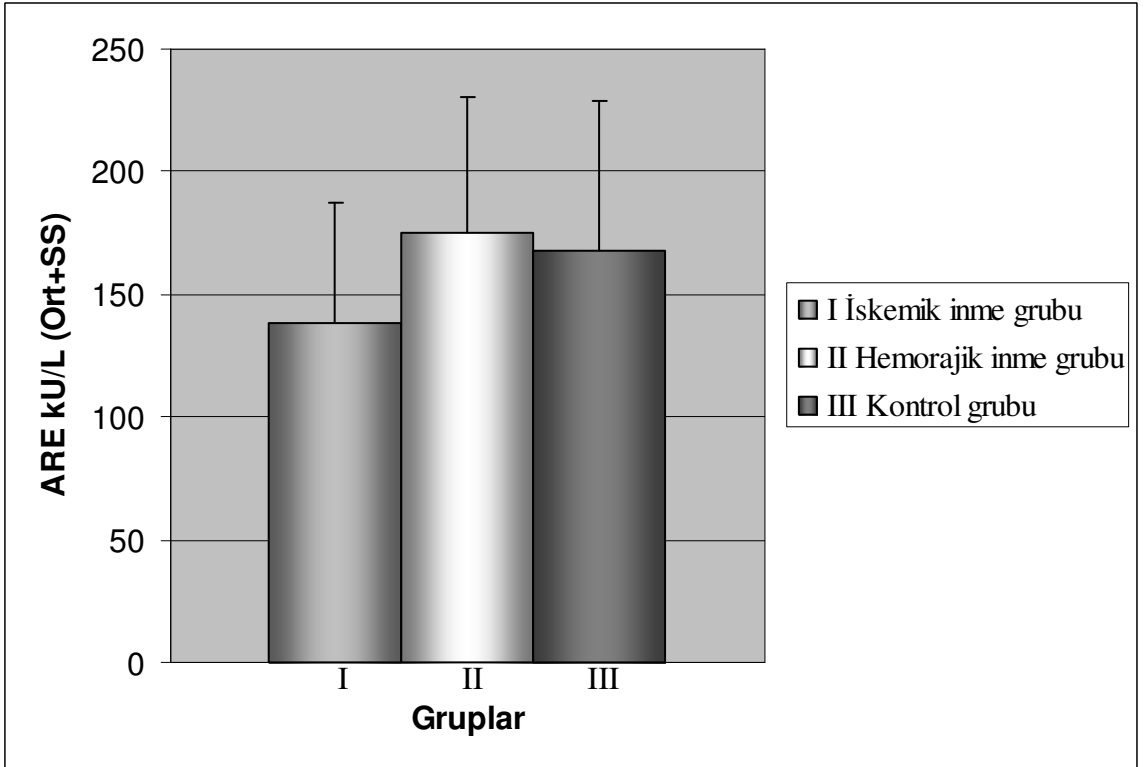
Üç grup karşılaştırması Kruskal-Wallis varyans analizi metoduna göre yapıldı. Ardından anlamlı fark bulunduğu durumlarda farkın kaynağını saptamak için post-hoc test olarak independent Mann-Whitney U testi uygulandı.

Tablo XII’de görüldüğü gibi kontrol grubu ile iskemik inme ve hemorajik inme hasta grupları arasında PON1, HDL, PON1/HDL ve PON 1/ARE de ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (sırasıyla p=0.188, p=0.162, p=0.230, p=0.345). Hemorajik inme grubunda ise iskemik inme grubuna kıyasla ARE istatistiksel olarak anlamlı yüksek olarak bulunmuştur (p=0.022).

İskemik inme grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ARE’nin kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamsız yüksek bulunmuştur (p=0.051). Hemorajik inme ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise ARE’de istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p=0.608).



Şekil 12: Hasta ve kontrol gruplarında PON1 düzeyleri



Şekil 13: Hasta ve kontrol gruplarında ARE düzeyleri

**Tablo XIII:** İskemik inme grubunda biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizleri

|              | <b>PON 1</b>                           | <b>ARE</b>                             | <b>HDL</b>                             |
|--------------|--|--|--|
| <b>PON 1</b> |  | <b>r = 0,669**</b><br><b>p = 0.000</b> | <b>r = 0,457**</b><br><b>p = 0.005</b> |
| <b>ARE</b>   | <b>r = 0,669**</b><br><b>p = 0.000</b> |  |  |
| <b>HDL</b>   | <b>r = 0,457**</b><br><b>p = 0.005</b> |  |  |

(\*\* ileri düzeyde anlamlı korelasyon şeklinde değerlendirilmiştir;  $p < 0.01$ ).

Yukarıdaki tablo XIII'de görüldüğü gibi iskemik inme grubunda PON1 ile ARE arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı, güçlü pozitif korelasyon ( $r=0,669$ ,  $p=0.000$ ), PON1 ile HDL arasında ileri düzeyde anlamlı orta düzeyde pozitif korelasyon ( $r=0,457$ ,  $p=0.005$ ) bulunmuştur.

**Tablo XIV:** Hemorajik inme grubunda biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizleri

|              | <b>PON 1</b>                          | <b>ARE</b>                            |
|--------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| <b>PON 1</b> |                                       | <b>r = 0,511*</b><br><b>p = 0.015</b> |
| <b>ARE</b>   | <b>r = 0,511*</b><br><b>p = 0.015</b> |                                       |

(\* anlamlı korelasyon şeklinde değerlendirilmiştir;  $p < 0.05$  ).

Tablo XIV'te görüldüğü gibi hemorajik inme grubunda PON1 ile ARE arasında istatistiksel olarak anlamlı güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r=0,511$ ,  $p=0.015$ ).

**Tablo XV:** Kontrol grubunda biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizleri

|              | <b>PON 1</b>                          | <b>ARE</b>                            | <b>HDL</b>                            |
|--------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| <b>PON 1</b> |                                       | <b>r = 0,384*</b><br><b>p = 0.021</b> | <b>r = 0,353*</b><br><b>p = 0.035</b> |
| <b>ARE</b>   | <b>r = 0,384*</b><br><b>p = 0.021</b> |                                       |                                       |
| <b>HDL</b>   | <b>r = 0,353*</b><br><b>p = 0.035</b> |                                       |                                       |

(\* anlamlı korelasyon şeklinde değerlendirilmiştir;  $p < 0.05$  ).

Tablo XV’de görüldüğü gibi kontrol grubunda PON1 ile ARE arasında istatistiksel olarak anlamlı orta düzeyde pozitif korelasyon ( $r=0,384$ ,  $p=0.021$ ), PON1 ve HDL arasında anlamlı orta düzeyde pozitif korelasyon (  $r=0,353$ ,  $p=0.035$ ) bulunmuştur.

## 5. TARTIŞMA:

İnme, çeşitli risk faktörlerine sahip olan heterojen bir hastalıktır; dünyada üçüncü sırada ölüm nedeni olup, yetişkinlerde sakatlığın önde gelen sebebidir. Bu nedenle risk faktörlerine karşı korunma yöntemlerinin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Tüm inmelerin büyük bir kısmını iskemik inmeler oluşturmaktadır. Bunları sırasıyla intraserebral ve subaraknoidal kanamalar izler (135).

Hastalığın moleküler mekanizmaları halen tam olarak açıklanmamakla birlikte, LDL düzeylerinin artması ve HDL düzeylerinin azalması aterotrombotik beyin infarktlarının riskini arttırabilmektedir (136). Özellikle iskemik inmelerin patogeneğinde altta yatan en önemli neden karotid arterlerin aterosklerotik değişiklikleridir (135).

Son yıllarda ateroskleroz patogeneğinde rol oynayan genetik ve çevresel faktörler üzerindeki çalışmalar, araştırmacıların odak noktası haline gelmiştir. Ateroskleroz, hayatın erken evrelerinde başlayarak orta yaş ve sonrasında KAH ile sonuçlanan bir hastalık olarak tanımlanmaktadır ve endüstrileşmiş toplumlarda ölüm nedenlerinin başında yer aldığı rapor edilmiştir (137).

Bu nedenle arterosklerozun sebebi, epidemiyolojisi, patogenezi ve mümkün olduğunca erken teşhis ve tedavisi üzerinde yıllardır yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Günümüzde artık ateroskleroz gelişiminden tek başına kolesterolün sorumlu olduğu fikri yetersiz kalmış, bunun yerine kolesterolün dağılımı ve taşınmasının daha önemli olduğu düşüncesi önem kazanmıştır. Özellikle lipoprotein metabolizması bu konuda büyük önem taşımaktadır. Bunlardan, bilhassa LDL, ox-LDL'ye dönüştüğü zaman aterojenik özellik kazanır (83).

Yüksek dansiteli lipoprotein kolesterolün serum düzeyinin artması ise ateroskleroz gelişimini engellemektedir. HDL, kolesterolün ekstrahepatik dokulardan alınması ve karaciğere transportunda görev alır. HDL'nin revers kolesterol transportu dışında başka antiaterojenik özelliklerinin de olduğu anlaşılmıştır (6, 7). HDL metabolizmasının ve revers kolesterol transportunun önemli belirleyicileri ox-LDL tarafından inaktive edilen paraoksonaz ve LCAT enzimleridir (84).

Paraoksonaz, HDL bağımlı esterazdır. Enzimin antiaterojenik rolü oksidasyon önleme ve lipid peroksidlerin hidrolizini yapma yoluyla gerçekleşmektedir. İn vitro ölçümler paraokson (paraoksonaz aktivitesi) ve fenilasetat (arilesteraz aktivitesi) substratları kullanılarak yapılmaktadır. Arilesteraz aktivitesi PON1 enzim miktarının göstergesi olarak kabul edilmiştir (138).

Bu çalışma PON1 ve ARE aktivitelerinin inme için önemli risk faktörü olup olamayacağını araştırılması için ele alınmıştır. Bu amaçla çalışmaya alınan hemorajik ve iskemik inme tanısıyla yatırılan hastalarda paraoksonaz, arilesteraz aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Kontrol grubumuzdaki bireylerin yaş ortalaması 64,25 (46-82) yıl, hasta grubunda olanların yaş ortalaması ise iskemik inme grubu için 67,44 (44-84), hemorajik inme grubu için 63,54 (45-79) yıl olarak bulunmuştur. Kontrol ve hasta grupları yaş ve cinsiyet yönünden incelendiği zaman istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile PON1'in LDL oksidasyonunu önlediği gösterilmiştir ve kardiyovasküler hastalıklar için koruyucu bir faktör olup olamayacağı tartışmaya açılmıştır. Suchocka ve ark. yaptığı bir çalışmada insan serum paraoksonazını; PON3 diye adlandırdığı bir etkiye sahip olduğunu, paraoksonu hidrolize etmeyip çok az arilesteraz aktivitesine sahip olduğunu ve laktonazları, özellikle de statinleri, substrat olarak kullanıp, LDL'yi oksidasyondan korumada PON1'den daha güçlü olduğunu rapor etmişlerdir (139).

Jakubowski yaptığı bir çalışmada PON1'in aynı zamanda homosistein tiyolaktonaz aktivitesine sahip olduğunu ve homosistein tiyolaktonu detoksifiye ederek aterosklerozun risk faktörü olan proteinlerin homosisteinilasyonunu engellediğini rapor etmiştir (140). Kerkeni ve ark. yaptığı bir çalışmaya göre, PON1 yalnızca paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesine sahip olmayıp aynı zamanda koroner arter hastalığı için başka önemli bir risk faktörü olan homosisteinemili hastalarda homosisteinden oluşan homosistein tiyolaktonu hidroliz ederek hücrelerdeki homosistein tiyolaktonunun neden olduğu protein modifikasyonundan hücreleri ve özellikle endotel hücrelerini koruduğunu rapor etmişlerdir (141). Dolayısıyla in vivo koşullarda PON1'in gerçek substratı hala bilinmemektedir.

Paroksonaz ve arilesteraz aktiviteleri farklı araştırmacılar tarafından kontrol grubunda farklı bulunmuştur. Mackness ve ark. (104) Paraoksonaz aktivitesini 119,4 U/L Ayub ve ark. (142) 221,50 U/L, Juretic ve ark.(128) 251 U/L, Karakaya ve ark.(127) 321,29 U/L olarak bulmuşlardır. Bulunan normal değerlerin farklı oluşunun nedenleri; enzim aktivitesinin tayini için kullanılan metodun, enzim aktivitesi hesaplanırken kullanılan ekstinksiyon katsayısının, kontrol grubunun yaşlarının, kontrol grubu seçimi için kullanılan kriterlerin ve popülasyonların farklı olması gibi olabilir (139). Biz çalışmamızda paraoksonaz aktivitesini kontrol grubunda 132,77 U/L, arilesteraz aktivitesini 167,38 kU/L olarak bulduk. Kontrol grubu ile inme grupların enzim aktiviteleri dikkate alındığında,



iskemik inmeli hasta grubunun PON1 değerleri istatistiksel olarak anlamsız, ARE değerlerinin hemorajik grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür.

Paraoksonaz genetik polimorfizminin iskemik inmedeki rolü ile ilgili birkaç olgu-kontrol çalışması ve PON1 aktivitesinin inmedeki rolünü ele alan az sayıda çalışmaların yayınlanmasına rağmen, literatürde henüz PON1 enziminin inmedeki durumu ortaya konulmamıştır. Ayrıca literatür taramasında hemorajik inmede PON1 enzim aktivitesi ile ilgili bir çalışmaya rastlamadık.

Kim ve ark. yaptığı bir çalışmada azalmış PON1 aktivitesinin iskemik inme hastalarında risk faktörü olarak belirlemişlerdir (143). Çalışmada 120 inme hastası ile 120 kişilik sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında PON1 aktivitesinin anlamlı derecede düşük olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca grupların lipid parametreleri karşılaştırıldığında HDL-kolesterol de iskemik inmeli hastalarda anlamlı düşük bulunmuştur.

Demirdöğen ve ark. iskemik inme hastaların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında PON1 ve ARE aktivitelerinin istatistiksel olarak anlamsız düşük, HDL-kolesterol değerlerinin ise anlamlı düşük olduğunu bulmuşlardır (144).

Bir başka çalışmada Aydın ve ark tarafından 65 akut iskemik strok hastası ile 84 sağlıklı kontrol grubunda PON1 aktivitesini, MDA ve redükte glutatyon düzeylerini araştırmışlardır. Biyokimyasal parametrelerinin ölçümlerini inme olayının birinci ve beşinci gününde yapmışlardır. Ayrıca lipid profili kontrol grubunda ve strok anında hastalarda bakılmıştır. Hasta grubunda PON1 aktivitesinin hem birinci hem de beşinci günde kontrol grubuna kıyasla anlamlı düşük olduğunu, MDA düzeylerini anlamlı yüksek, HDL-kolesterol düzeylerinin ise farklı olmadığını rapor etmişlerdir (145).

Shiavon ve ark. yaptığı çalışmada 126 akut iskemik strok grubu ile 22 sağlıklı kontrol grubunu incelemişlerdir. Çalışmada PON1 genotipi, aktivitesi, lipid parametreler ve homosistein ölçümü yapılmıştır. Sonuç olarak PON1 genotipi açısından eşit kontrol grubuna kıyasla PON1 aktivitesi hasta grubunda anlamlı düşük bulunmuştur (146).

Paraoksonaz enzim aktivitesinin diabetes mellitus, hiperkolesterolemi, KAH gibi pek çok hastalıkta düştüğü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (8,147). Sigaranın da paraoksonaz aktivitesini düşürdüğü bildirilmiştir (148). Sonuç olarak inme risk faktörlerinin her biri enzim aktivitesini etkilemektedir. Bu yüzden PON1 ve ARE aktivitelerinin inme ile ilişkisinin olup olmadığını araştırmak için kontrol grubu olarak inme geçirmeyen, fakat vasküler risk faktörleri açısından inme hastaları ile eşit derecede olan bireyleri aldık. Ayrıca literatür taramasında aynı kontrol grubu ile yapılan çalışmalara rastlamadık.

Biz çalışmamızda iskemik inme hastalarında PON 1 ve ARE aktivitelerinin kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda anlamsız düşük bulduk, hemorajik inme grubunu kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda da istatistiksel anlamsız düşük bulduk. Ayrıca iskemik inme grubunu hemorajik inme grubuyla karşılaştırdığımızda PON1 aktivitesi istatistiksel olarak anlamsız düşük, ARE aktivitesi ise anlamlı düşük idi. Paraoksonaz aktivite oranı (PON1/ARE) açısından gruplar arasında bir fark yoktu. Bu bulgularımız Demirdöğen ve ark. çalışmalarını ile uyum göstermektedir. İskemik inme hastalarının kontrole karşı PON1 ve ARE aktivitelerinde anlamlı bir fark bulamamızın nedeni kontrol grubundaki bireylerin zaten PON1 enzim aktivitesini düşüren vasküler risk faktörlere sahip olması ve incelediğimiz vaka sayısının az olması olabilir.

Ateroskleroz iskemik inme patogenezi oluşturan temel nedendir. İntraserebral kanamanın risk faktörleri arasında major olanı hipertansiyondur (22). Bu yüzden iskemik olgularda PON1 aktivitesinin daha düşük olması muhtemeldir.

ARE aktivitesi enzimin protein miktarını yansıtan bir parametredir. Bulgularımız çerçevesinde PON1 enziminin miktarı iskemik inme hastalarında kontrol grubuna kıyasla anlamsız düşük iken, hemorajik hastalarda hemen hemen aynı idi. ARE aktivitesi ise iskemik inme hastalarında hemorajik hastalara kıyasla anlamlı düşük iken kontrol grubuna kıyasla anlamsız düşük idi ki bu da iskemik olgularda hem enzim miktarının, hem de aktivitesinin düşük olduğunu, hemorajik olgularda ise enzim miktarının daha yüksek olduğunu düşündürmektedir.

Bir diğer konu HDL kolesterolün inme için bir risk faktörü olup olmadığıdır. Yapılan çalışmalarda düşük HDL kolesterolün özellikle erkeklerde iskemik inme ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (13). Her iki cinsi kapsayan "Copenhagen City Heart Study" çalışmasında HDL kolesterol düzeyinin her 1mmol/L artması iskemik inme vakalarını %47 oranında azalttığı bulunmuştur (149). Üç prospektif çalışmada, erkeklerde düşük HDL kolesterol seviyesi, özellikle 30-35 mg/dL altında olanlarda artmış iskemik inme oranı dikkat çekicidir (4).

Biz çalışmamızda iskemik inme grubunu kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda HDL-kolesterol düzeylerinde bir azalma saptadık, fakat istatistiksel olarak anlamsızdı. Hemorajik inme hastalarında da iskemik gruba kıyasla anlamsız yüksek idi. HDL kolesterol konsantrasyon başına düşen PON1 enzim aktivitesini (PON1/HDL) karşılaştırdığımızda gruplar arasında herhangi bir anlamlı fark bulunmadı.

Holme ve ark. yaptığı bir AMORIS çalışmasında 148.000 iskemik ve hemorajik inme hastasında lipoprotein bileşiklerinin inme riski ile bağlantısını araştırmışlar. Yüksek Apo B/apo A1 oranının, trigliseridlerin ve non-HDL kolesterol düzeylerinin, azalmış HDL-kolesterol ve total kolesterol/HDL oranının nonfatal ve fatal iskemik inme riski ile bağlantılı olduğunu, hemorajik inmenin ise artmış aterojenik lipoprotein düzeyleriyle (kadınlarda yüksek Apo B/apo A1 oranının artmış fatal hemorajik inme riski dışında) bağlantılı olmadığını rapor etmişlerdir (150).

Buna benzer bir şekilde Simundic ve ark çalışmasında 70 akut iskemik inme hastası ile 68 inmesiz kontrol grubu incelenmiştir. Hastaların lipid parametrelerinin içerisinde trigliserit ve HDL-kolesterol düzeyleri anlamlı düşük olarak bulunmuştur (151).

Feretti ve ark. çalışmalarında 49 iskemik inme hastaları ile anamnezinde SVH olmayan 50 sağlıklı gönüllü bireyde PON1 aktivitesini ve plazma lipidlerini araştırmışlardır. Hasta grubunda kontrole kıyasla trigliseridlerin anlamlı yüksek, HDL kolesterolün ve PON1 aktivitesinin anlamlı düşük olduğunu rapor etmişlerdir (152).

Bir diğer çalışmada Russman ve ark. 191 iskemik strok hastasında HDL kolesterolün inme öncesi, inme sırasında ve inme sonrasında araştırmışlardır. Bulguları çerçevesinde inme anında HDL kolesterolün inme öncesi değerlerine göre %18 oranında azaldığını ve inme sonrası 3 ay içinde eski düzeylere yükseldiğini bulmuşlardır (153).

Farklı çalışmalarda düşük veya daha yüksek serum HDL-C düzeyleri bildirilmesinin nedenleri arasında preanalitik etkenler, analiz metodunun farklı olması, çalışma gruplarının alışkanlıklarının ve demografik özelliklerinin farklı olması olabilir. Bekletilmiş örneklerde yapılan ölçümlerde lipoprotein içeriği değişebilir ve in vivo durumu yansıtmayabilir. Ayrıca bizim çalışmada incelediğimiz olgu sayısının az olması HDL değerlerinde anlamlı bir fark bulamamızın nedeni olabilir.

Çalışmamızda yapılan korelasyon analizlerinde iskemik inme hastalarında PON1 aktivitesi ile HDL arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu da Kim ve ark çalışması ile uyum göstermektedir (143). Fakat farklı olarak biz çalışmamızda kontrol grubunda da benzer korelasyon tespit ettik. Bunun nedeni kontrol grubumuzun farklı olması olabilir. Feretti ve ark. inme hastalarında HDL ile PON1 arasında bir ilişki bulamamışlardır (152).

Çalışmamızın sonuçlarını şu şekilde özetleyebiliriz:

1. Hasta ve kontrol grupta paraoksonaz aktivitesi yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

2. İskemik inme hastalarında hemorajik inme grubuna kıyasla anlamlı düşük ARE aktivitesi saptanmıştır. Bu da iskemik inme hastalarında enzim miktarının düşük olabileceğini düşündürmektedir.

3. HDL-kolesterol açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu.

4. PON1/HDL oranının da farklı olmadığını tespit edilmiştir. Dolayısıyla HDL'nin konsantrasyonu başına düşen PON1 aktivitesinin önemi belirlenemedi.

5. Yapılan korelasyon analizleri sonucunda, PON1 aktivitesi ve HDL konsantrasyonu arasında iskemik inme ve kontrol grubunda korelasyon saptanmıştır. Bu sonuca dayanarak PON 1 aktivitesinin HDL bağımlı olduğunu düşünebiliriz.

6. Ayrıca her grupta PON1 ile ARE arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu bulgu enzim aktivitesinin enzim miktarı ile bağlantılı olduğunu desteklemektedir.

Sonuç olarak PON1 aktivitesi ve HDL konsantrasyonu hasta ve kontrol gruplarında benzerdi ve inme için bir risk faktörü olarak belirlenemedi. ARE aktivitesi ise iskemik inme grubunda hemorajik gruba kıyasla anlamlı düşük olup hasta gruplarında kontrolle farksız olması da inme için bir risk faktörü olmadığını düşündürmektedir. İnme hastalarında PON1, ARE aktivitesinin ve HDL kolesterol konsantrasyonunun önemini saptamak için daha fazla sayıda ve daha geniş populasyonlarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

## 6. KAYNAKLAR:

1. Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of Cerebrovascular Diseases III. **Stroke**. 1990; 21: 637-676.
2. Hatano S. Experience from a multi center stroke register: a preliminary report. **Bull World Health Organ**. 1976; 54: 541-553.
3. WHO MONICA Project Principal Investigators. The World Health Organization MONICA project (Monitoring Trends and Determinant in Cardiovascular Diseases): a major collaboration. **J Clin Epidemiol**. 1988; 41: 105-114.
4. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, et al. Primary Prevention of Ischemic Stroke. AHA/ASA Guideline. **Circulation**. 2006;113:e873-e923.
5. Enar R. Ateroskleroz – Aterotromboz. **Ateroskleroz; Koroner, Serebral, Periferik Arter Tutulumu Sempozyum Dizisi**. 2006; 52: 9 – 27.
6. Navab M, Berliner JA, Subbanagounder G, et al. HDL and the Inflammatory Response Induced by LDL-Derived Oxidized Phospholipids. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**. 2001; 21: 481-488.
7. Singh IM, Shishehbor MH, Ansell BJ. High-Density Lipoprotein as a Therapeutic Target: A Systematic Review. **JAMA**. 2007; 298(7): 786-798.
8. Gur M, Aslan M, Yildiz A, et al. Paraoxonase and arylesterase activities in coronary artery disease. **Eur J Clin Invest**. 2006; 36(11): 779-787.
9. Ropper AH, Brown RH. **Adams and Victor's Principles of Neurology**. (Çeviri Ed. Emre M). 8. baskı. Güneş Kitabevi. 2006: 660-746.
10. Kumral E. Serebrovasküler Hastalıkların Epidemiyolojisi. (Ed. Balkan S). **Serebrovasküler Hastalıklar**. Güneş Kitabevi. 2009: 37-46.
11. Kumral K, Kumral E. Santral Sinir Sisteminin Damarsal Hastalıkları. **Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları**. Yücesahil. 1993; No: 72, 4-446.
12. Shinkawa A, Veda K, Hasua Y. Seasonal Variation in Incidence In Hisayama, Japan. **Stroke**. 1988; 21: 1262-1267.
13. Utku U, Çelik Y. İnmede Etyoloji, Sınıflandırılma ve Risk Faktörleri. (Ed. Balkan S). **Serebrovasküler Hastalıklar**. Güneş Kitabevi. 2009: 51-62.
14. Balkan S. Serebral vasküler anatomi. (Ed. Balkan S). **Serebrovasküler Hastalıklar**. Güneş Kitabevi. 2009: 1-8.
15. Ay H, Dalkara T. İskemik penumbra ve terapötik zaman aralığını etkileyen faktörler. Ed. Balkan S. **Serebrovasküler Hastalıklar**. Güneş Kitabevi. 2009: 29-34.

16. Cerebrovascular Disease. In; Adams RD, Victor M, Ropper AH. **Principles of Neurology**. 6th ed. USA: Mc Graw Hill Co, 1997; ch. 34: 777-873.
17. Gilroy J. Cerebrovascular Disease. In **Basic Neurology**. 3rd ed. USA: Mc Graw Hill Co, 2000; ch: 225-277.
18. Flynn CJ, Farooqui AA, Horrocks LA. İschemia and Hypoxia. İn Siegel G, Agranoff B, Albers RW, et al. **Basic Neurochemistry**. 4.Th ed. Raven Press New-York. 1989:783-795.
19. Barone FC, Feuerstein GZ. Inflammatory Mediators and Stroke: New Opportunities for Novel Thearapeutics. **J Cereb Blood Flow**. 1999; 19; 819-843.
20. Özdemir Ö, Özbabalık D, Özdemir G. İntraserebral Hemoraji. (Ed. Balkan S). **Serebrovasküler Hastalıklar**. Güneş Kitabevi. 2009: 147-159.
21. Sacco RL, Ellenberg JH, Mohr JP, et al. Infarcts of undetermined cause: The NINCDS Stroke Data Bank. **Ann Neurol**. 1989; 25: 382-390.
22. Sacco RL, Benjamin EJ, Broderick JP, et al. Risk factors panel, American Heart Association Prevention Conference IV. **Stroke**. 1997; 28: 1507-1517.
23. Broderick JP, Brott T, Tomsick T, et al. The risk of subarachnoid and intracerebral hemorrhages in blacks as compared with whites. **N Engl J Med**. 1992; 326: 733-736.
24. Lin CH, Shimizu Y, Kato H, et al. Cerebrovascular diseases in a fixed population of Hiroshima and Nagasaki, with special reference to relationship between type and risk factors. **Stroke**. 1984; 15: 653-660.
25. Bıçakçı Ş, Özeren A, Bıçakçı K ve ark. İntraserebral kanamalarda risk faktörleri profili ve MR-anjiyografi bulguları. **Türk Serebrovasküler Hastalıklar Dergisi**. 2007; 13(3): 87-90.
26. Kim SH, Lee JS, Kwon OK, et al. Prevalence study of proximal vertebral artery stenosis using high-resolution contrast-enhanced magnetic resonanceangiography. **Acta Radiol**. 2005 ; 3: 314-21.
27. Başarıcı İ, Süleymanlar G. Ateroskleroz Patogenezi. (Ed. Balkan S). **Serebrovasküler Hastalıklar**. Güneş Kitabevi. 2009: 17-26.
28. Şentürk T, Güllülü S. Aterosklerozun patogenezi. (Eds. Cordan J, Yeşilbursa D, Baran I). **Kardiyoloji**. 2005: 247-250. Bursa.
29. Gök H. Ateroskleroz. **Klinik kardiyoloji**. Nobel TıpKitapevleri LTD. ŞTİ. 2002: 201-214.

30. Kökoğlu E. Koroner arter hastalıkları ve lipid metabolizması bozuklukları ile ilişkisi (Eds. Onat T, Emerk K, Sözmen EY). **İnsan Biyokimyası**. Palme Yayıncılık. 2002: 346-354.
31. Torun E, Bayram F. Endokrin bir organ olarak endotel ve endotelinin hipertansiyondaki rolü. **Erciyes Tıp Dergisi**. 2004; 26 (3):126-131.
32. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. **Nature**. 1993; 362: 801-809.
33. Weissberg PL, Rudd JHF. Aterosklerotik biyoloji ve hastalık epidemiyolojisi. (Ed. Topol EJ). **Textbook of Cardiovascular Medicine**. 2005: 3-11.
34. Falk E. Pathogenesis of Atherosclerosis. **J Am Coll Cardiol**. 2006; 47: C7-C12.
35. Gosling J, Slaymaker S, Gu L, et al. MCP-1 deficiency reduces susceptibility to atherosclerosis in mice that overexpress human apolipoprotein B. **J Clin Invest**. 1999; 103:773-778.
36. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**. 2002; 420: 868 –74.
37. Kristensen SD. The platelet-vessel wall interaction in experimental atherosclerosis and ischaemic heart disease with special reference to thrombopoiesis. **Dan Med Bull**. 1992; 39 (2):110-27.
38. Massberg S, Brand K, Grüner S, et al. A Critical Role of Platelet Adhesion in the Initiation of Atherosclerotic Lesion Formation. **J Exp Med**. 2002; 196(7): 887–896.
39. Phipps RP. Atherosclerosis: the emerging role of inflammation and the CD40-CD40 ligand system. **Proc Natl Acad Sci USA**. 2000; 97 (13): 6930-2.
40. Henn V, Slupsky JR, Gräfe M, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction on endothelial cells. **Nature**. 1998; 391 (6667): 591-4.
41. André P, Nannizzi-Alaimo L, Prasad SK, et al. Platelet-Derived CD40L. The Switch-Hitting Player of Cardiovascular Disease. **Circulation**. 2002; 106: 896-899.
42. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al; CAPTURE Study Investigators. Soluble CD40 Ligand in Acute Coronary Syndromes. **NEJM**. 2003; 348 (12): 1104-11.
43. Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. **J Clin Invest**. 2005; 115: 3378–3384.
44. Salonen JT, Yla Hertkuala S, Yamamoto R, et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis. **Lancet**. 1992; 339: 883-887.
45. Aslan D. Epitel doku ve endotel. Doku özel metabolizmaları. (Eds. Onat T, Emerk K, Sözmen EY). **İnsan Biyokimyası**. Palme Yayıncılık. 2002: 617-623.

46. Terekeci MH, Şahan B, Top C. Hücre Adezyon Molekülleri. **Nobel Med.** 2008; 4(1): 4-10.
47. Hillis GS, Flapan AD. Cell adhesion molecules in cardiovascular disease: a clinical perspective. **Heart.** 1998; 79: 429–431.
48. Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signalling in cell adhesion. **Cell.** 1992; 69: 11–25.
49. Erdem F, Alper D. Adhezyon Molekülleri. **T Klin Tıp Bilimleri.** 1997; 17: 75-77.
50. Bevilacqua MP, Nelson RM. Selectins. **J Clin Invest.** 1993; 91: 379–87.
51. Schmid-Schonbein GW. Analysis of inflammation. **Annu Rev Biomed Eng.** 2006; 8: 93-131.
52. Newman PJ, Berndt MC, Gorski J, et al. PECAM-1 (CD31) cloning and relation to adhesion molecules of the immunoglobulin gene superfamily. **Science.** 1990; 247: 1219-1222.
53. Behar E, Chao NJ, Hirake DD, et al. Polymorphism of adhesion molecule CD31 and its role in acute graft versus host disease. **N Engl J Med.** 1996; 334: 286-291.
54. Rekhter M, Zhang K, Narayanan A, et al. Type I collagen gene expression in human atherosclerosis: Localization to specific plaque regions. **Am J Pathol.** 1993; 143: 1634-1648.
55. Hansson GK, Jonasson L, Holm J, et al. Gamma interferon regulates vascular smooth muscle proliferation and Ia expression *in vivo* and *in vitro*. **Circ Res.** 1988; 63: 712-719.
56. Libby P. Molecular bases of acute coronary syndromes. **Circulation.** 1995; 91: 2844-50.
57. Poredos P. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease. **Pathophysiol Haemost Thromb.** 2002; 32: 274-277.
58. Davignon J, Ganz P. Role of Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. **Circulation.** 2004; 109: III-27 – III-32.
59. Kinlay S, Behrendt D, Wainstain M, et al. The role of endothelin-1 in the constriction of human atherosclerotic coronary arteries. **Circulation.** 2001; 104: 1114–1118.
60. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature.** 1987; 327: 524-6.
61. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. **N Engl J Med.** 1999; 340: 115–126.
62. Li H, Forstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. **J Pathol.** 2000; 190 (3): 244-54.



63. Martinez-Gonzalez J, Raposo B, Rodriguez C, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibition prevents endothelial NO synthase downregulation by atherogenic levels of native LDLs: balance between transcriptional and posttranscriptional regulation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 2001; 5: 804–809.
64. Bonetti PO, Lerman LO and Lerman A. Endothelial Dysfunction. A Marker of Atherosclerotic Risk. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** Published online Dec 12, 2002: 1-9.
65. Young IS, McEneny J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. **Biochemical Society Transactions.** 2001; 29(2): 358-362.
66. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, et al. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. **Circulation.** 1998; 98: 1487–1494.
67. Ball RY, Stowers EC, Burton JH, et al. Evidence that the death of macrophage foam cells contributes to the lipid core of atheroma. **Atherosclerosis.** 1995; 114:45-54.
68. de Boer OJ, Becker AE and van der Wal AC. T lymphocytes in atherogenesis-functional aspects and antigenic repertoire. **Cardiovascular Research.** 2003; 60(1): 78-86.
69. Houtkamp MA, de Boer OJ, van der Loos CM, et al. Adventitial infiltrates associated with advanced atherosclerotic plaques: structural organization suggests generation of local humoral immune responses. **J Pathol.** 2001; 193: 263–9.
70. Hansson GK. The B cell: a good guy in vascular disease? **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 2002; 22: 523–524.
71. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 2005; 25: 2054–61.
72. Sary HC, Chandler AB, Glagov S, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. **Arterioscler Thromb.** 1994; 14: 840–856.
73. Sary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 1995; 15: 1512–1531.
74. (Ed. Dursun AN). **Kardiyoloji Miniatlas.** 1. Baskı. AND Danışmanlık, Eğitim, yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti. 2003:155-162.
75. Davies MJ. Stability and instability: two face of coronary atherosclerosis. **Circulation.** 1996; 94: 2013-2020.

76. Tearney GJ, Yabushita H, Houser SL, et al. Quantification of Macrophage Content in Atherosclerotic Plaques by Optical Coherence Tomography. **Circulation**. 2003; 107: 113-9.
77. Geng YJ, Wu Q, Muszynski M, et al. Apoptosis of vascular smooth muscle cells induced by in vitro stimulation with interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1 beta. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 1996; 16: 19-27.
78. Steinberg D. Thematic review series: The Pathogenesis of Atherosclerosis. An interpretive history of the cholesterol controversy, part III: mechanistically defining the role of hyperlipidemia. **Journal of Lipid Research**. 2005; 46: 2037-2051.
79. Kurt İ, Arslan N. Ateroskleroz Patojenezinde Lipoproteinlerin Rolü ile İlgili Yeni Görüşler. **T Klin Tıp Bilimleri**. 1993; 13: 137-141.
80. Benditt EP, Benditt JM. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. **Proc. Natl. Acad Sci. USA**. 1973; 70:1753.
81. Stender S and Zilversmit DB. Transfer of plasma lipoprotein components and of plasma proteins into aortas of cholesterol-fed rabbits. Molecular size as a determinant of plasma lipoprotein influx. **Arteriosclerosis**. 1981; 1: 38-49.
82. Jialal I, Devaraj S. Low density lipoprotein oxidation antioxidants and atherosclerosis. A clinical biochemistry perspective. **Clin Chem**. 1996; 42:498-506.
83. Kurban S, Mehmetoğlu İ. Okside düşük dansiteli lipoprotein antikorları ve klinik önemi. **Türkiye Klinikleri J Med Sci**. 2005; 25: 73-84.
84. Mertens A, Holvoet P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. **The FASEB Journal**. 2001; 15: 2073-84.
85. Harats D, Shaish A, George, J, et al. Overexpression of 15-lipoxygenase in vascular endothelium accelerates early atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2000; 20: 2100-2105.
86. Hedrick CC, Kim MD, Natarajan RD, et al. 12-Lipoxygenase products increase monocyte: endothelial interactions. **Adv Exp Med Biol**. 1999; 469: 455-460.
87. Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2000; 20: 1716-1723.
88. Carr AC, Frei B. The nitric oxide congener nitrite inhibits myeloperoxidase/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Cl<sup>-</sup>-mediated modification of low density lipoprotein. **J Biol Chem**. 2001; 276: 1822-1828.

89. Esaki T, Hayashi T, Muto E, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and Fas/Fas ligand correlates with the incidence of apoptotic cell death in atheromatous plaques of human coronary arteries. **Nitric Oxide**. 2000; 4: 561-571.
90. Değer O, Örem A. Lipidlerin taşınması ve depolanması. Lipitler. (Eds. Onat.T, Emerk K, Sözmen EY). **İnsan Biyokimyası**. Palme Yayıncılık. 2002: 328-342.
91. Mayes PA. Lipid taşınması ve depolanması. **Harper'ın Biyokimyası**. (Eds. Murray R, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW), Appleton & Lange, Çevirenler Dikmen N, Özgünen T, 24. baskı, Barış Kitabevi. 265-282.
92. Serdar Z, Dirican M, Yeşilbursa D ve ark. Koroner arter hastalığında lesitin: kolesterol açiltransferaz ve kolesterol ester transfer protein aktivitelerinin araştırılması. **Cerrahpaşa Tıp Dergisi**. 2002; 33(3): 171-178.
93. Navab M, Hama SY, Cooke CJ, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. **J Lipid Res**. 2000; 41: 1481-1494.
94. Navab M, Hama SY, Anantharamaiah GM, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. **J Lipid Res**. 2000; 41: 1495-1508.
95. Navab M, Hama-Levy S, Van Lenten BJ, et al. Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio. **J Clin Invest**. 1997; 99: 2005-2019.
96. Vohl MC, Neville TA, Kumarathasan R, et al. A novel lecithin-cholesterol acyltransferase antioxidant activity prevents the formation of oxidized lipids during lipoprotein oxidation. **Biochemistry**. 1999; 38; 5976-5981.
97. Desrumaux C, Deckert V, Athias A, et al. Plasma phospholipid transfer protein prevents vascular endothelium dysfunction by delivering alpha-tocopherol to endothelial cells. **FASEB J**. 1999; 13: 883-892.
98. Theilmeier G, De Geest B, Van Veldhoven PP, et al. HDL-associated PAF-AH reduces endothelial adhesiveness in apoE-/- mice. **FASEB J**. 2000;14: 2032-2039.
99. Başkol G, Köse K. Paraoksonaz: biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. **Erciyes Tıp Dergisi**. 2004; 26(2):75-80.
100. Aldridge W N. An enzyme hydrolyzing diethyl p-nitro phenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. **Biochem J**. 1953; 53: 117- 124.
101. Brophy VH, Jampsa RL, Clendenning JB, et al. Effects of 5' regulatory-region polymorphisms on paraoxonase gene (PONI) expression. **Am J Hum Genet**. 2001; 68:1428- 1436.

102. Mackness MI, Hallam SD, Peard T, et al. The separation of sheep and human serum "A"-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. **Comp Biochem Physiol B**. 1985; 82: 675-677.
103. Mackness MI, Walker CH. Multiple forms of sheep serum A-esterase activity associated with the high-density lipoprotein. **Biochem J**. 1988; 250: 539- 545.
104. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. **FEBS Lett**. 1991; 286:152–154.
105. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. **Gen. pharmac**. 1998; 31(3): 329–336.
106. Çelik M, Gülcü F, Ozan G ve ark. Organik solventler ile çalışan işçilerde paraoksonaz I ve arilesteraz aktivite düzeyleri. **Türk Biyokimya Dergisi**. 2005; 30(2): 194- 199.
107. Bayrak T, Bayrak A, Demirpençe E ve ark. Yeni bir kardiyovasküler belirteç adayı: paraoksonaz. **Hacettepe Tıp Dergisi**. 2005; 36: 147-151.
108. Ekmekçi ÖB, Donma O, Ekmekçi H. Paraoksonaz. **Cerrahpaşa Tıp Dergisi**. 2004; 35: 78- 82.
109. Azarsız E, Sözmen EY. Paraoksonaz ve klinik önemi. **Türk Biyokimya Dergisi**. 2000; 25(3) : 109 -119.
110. Gülcü F, Gürsü MF. Paraoksonaz ve arilesteraz aktivite ölçümlerinin standardizasyonu. **Türk Biyokimya Dergisi**. 2003; 28(2): 45-49.
111. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, et al. Human serum Paraoxonase/Arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 1999; 19: 2214-2225.
112. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, et al. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. **Curr Opin Lipidol**. 1996; 7: 69-76.
113. Geldmacher-von Mallinckrodt M, Diepgen TL, Duhme C, et al. A study of the polymorphism and ethnic distribution differences of human serum paraoxonase. **Am J Phys Anthropol**. 1983; 62: 235-241.
114. Fere N, Camps J, Fernandez-Balart J, et al. Regulation of serum paraoxonase activity by genetic, nutritional and lifestyle factors in the general population. **Clin Chemistry**. 2003; 49: 1491-1497.
115. James RW, Leviev I, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. **Circulation**. 2000; 101: 2215-2257.

116. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, et al. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. **Biochemical Pharmacology**. 2005; 69 : 541–550.
117. Deakin S, Leviev I, Gomarashi M, et al. Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. **J Biol Chem**. 2002; 277: 4301-4308.
118. James R W, Deakin S P. The importance of HDLs for paraoxonase-1 secretion stability and activity. **Free radical biology**. 2004; 37:1986-1994.
119. Aslan M, Kosecik M, Horoz M, et al. Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. **Atherosclerosis**. 2007; 191: 97-402.
120. Mackness M, Durrington P, Mackness B. Paraoxonase 1 activity, concentration and genotype in cardiovascular disease. **Curr Opin Lipidol**. 2004; 15: 399–404.
121. Mackness M, Mackness B. Paraoxonase 1 and atherosclerosis: Is the gene or the protein more important? Serial review. (Eds. Aviram M, Davies JA). **Free Radical Biology**. 2004; 37:1317-1323.
122. La Du BN, Eckerson HW. The polymorphic paraoxonase/arylesterase isozymes of human serum. **Fed Proc**.1984; 43: 2338-2341.
123. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, et al. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. **Am J Hum Genet**. 1983; 35(2): 214-27.
124. Ombres D, Pannitteri G, Montali A, et al. The Gln-Arg192 Polymorphism of Human Paraoxonase Gene Is Not Associated With Coronary Artery Disease in Italian Patients. **Atheroscler Throm Vasc Biol**. 1998; 18: 1611-1616.
125. Garin MCB, James RW, Dussoix P, et al. Paraoxonase polymorphism Met-Leu 54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme: a possible link between the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. **J Clin Invest**. 1997; 99: 62–64.
126. Agachan B, Ergen H A, Karaali Z E, et al. PON1 55 and 192 Polymorphism and Its Effects to Oxidant-Antioksidant System in Turkish Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. **Physiol Res**. 2005; 54: 287-293.
127. Karakaya A, Suzen S, Sardas S, et al. Analysis of the serum paraoxonase/arylesterase polymorphism in a Turkish population. **Pharmacogenetics**. 1991; 1:58-61.
128. Juretic D, Tadjanovic M, Rekić B, et al. Serum Paraoxonase Activities in Hemodialyzed Uremic Patients: Cohort Study. **Croatian Medical Journal**. 2001; 42(2): 146-150.

129. Rousselot DB, Therond P, Beaudoux JL, et al. High density lipoproteins and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. **Clin Chem Lab Med.**1999; 37: 939-49.
130. Aviram M, Rosenblat M, Bisgair CI. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein (HDL) oxidation and preserves its functions: a possible peroxidative role for paraoxonase. **J Clin Invest.** 1998; 101: 1581-90.
131. Aviram M, Hardak E, Vaya J, et al. Human serum Paraoxonase (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. **Circulation.** 2000; 101: 2510-17.
132. Aviram M, Rosenblat M, Scott B, et al. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. **Free Rad Biol & Med.** 1999; 26: 892-904.
133. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and Atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 2001; 21: 473-80.
134. NCEP Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA.** 2001; 285: 2486– 2497.
135. Virmani R, Ladich ER, Burke AP, et al. Histopathology of carotid atherosclerotic disease. **Neurosurgery.** 2006; 59: 219-27.
136. Tirschwell DL, Smith NL, Heckbert SR, et al. Association of cholesterol with stroke risk varies in stroke subtypes and patient subgroups. **Neurology.** 2004; 63: 1868-1875.
137. Ağaçhan B, Yılmaz H, Öztürk O ve ark. Aterosklerozda apolipoprotein E, okside-LDL ve lipid profili ilişkisinin araştırılması. **FÜ Sağlık Bil Dergisi.** 2005; 19(3): 193-197.
138. Christidias DS, Liberopoulos EN, Kakafika AI, et al. Effect of paraoxonase 1 polymorphisms on the response of lipids and lipoprotein-associated enzymes to treatment with fluvastatin. **Archives of Medical Research.** 2007; 38: 403-410.
139. Selek Ş. Anjiyografi ile koroner arter hastalığı teşhisi konulan hastalarda yüksek dansiteli lipoprotein enzimleri olan paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerinin ve lipid oksidabilirliğinin araştırılması. **Uzmanlık Tezi.** Harran Üniversitesi. Şanlıurfa. 2006.
140. Jakubowski H. Calcium-dependent Human Serum Homocysteine Thiolactone Hydrolase. **Biol Chem.** 2000; 275( 6): 3957-3962.
141. Kerkeni M, Addad F, Chauffert M, et al. Hyperhomocysteinemia paraoxonase activity and risk of coronary artery disease. **Clin Biochem.** 2006; 39 (8): 821-825.

142. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, et al. Serum paraoxonase after myocardial infarction. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 1999; 19: 330-335
143. Kim NS, Kang K, Cha MH, et al. Decreased paraoxonase-1 activity is a risk factor for ischemic stroke in Koreans. **Biochemical and Biophysical research Communications.** 2007; 364: 157-162.
144. Demirdöğen BC, Türkanoglu A, Bek S ve ark. Paraoxonase/ arylesterase ratio, PON1 192Q/R polymorphism and PON1 status are associated with increased risk of ischemic stroke. **Clin Biochem.** 2008; (41): 1-9.
145. Aydin M, Gencer M, Cetinkaya Y, et al. PON1 55/192 Polimorfizm, Oxidative stress, Type, Prognosis and Severity of Stroke. **IUBMB Life.** 2006; 58(3): 165-172.
146. Schiavon R, Turazzini M, De Fanti E, et al. PON1 activity and genotype in patients with arterial ischemic stroke and in healthy individuals. **Acta Neurol Scand.** 2007; 116: 26-30.
147. Hofer SE, Bennetts B, Chan AK, et al. Association between PON 1 polymorphisms, PON activity and diabetes complications. **J Diabetes Complicatios.** 2006; 20(5): 322-328.
148. Isik B, Ceylan A, Isik R. Oxidative stress in smokers and non-smokers. **Inhal Toxicol.** 2007; 19(9): 767-769.
149. Lindstrom E, Boysen G, Nyboe J. Influence of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, and triglycerides on risk of cerebrovascular disease: the Copenhagen City Heart Study [published correction appears in BMJ. 1994;309:1619]. **BMJ.** 1994; 309: 11-15.
150. Holme I, Aastveit AH, Hammar N, et al. Relationships between lipoprotein components and risk of ischemic and haemorrhagic stroke in the Apolipoprotein MOrtality RISK study (AMORIS). **J Intern Med.** 2009; 265: 275-287.
151. Simundic A, Nicolac N, Topic E, et al. Are serum lipids measured on stroke admission prognostic? **Clin Chem Lab Med.** 2008; 46(8):1163-1167.
152. Feretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, et al. Lipid peroxidation in stroke patients. **Clin Chem Lab med.** 2008; 46(1): 113-117.
153. Russman AN, Schultz LR, Zaman IF, et al. A significant temporal and quantitative relationship exist between high-density lipoprotein levels and acute ischemic stroke presentation. **J of the Neurological Sciences.** 2009; 279: 53-56.