

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak  
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya  
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;  
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( YÜKSEK LİSANS TEZİ )**

**AKUT KORONER SENDROMLU HASTALARDA UZUN  
KODLAMAYAN RNA ADAYLARININ ATEROSKLEROZ  
CİDDİYETİ İLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ**

**HİLAL ŞENTÜRK**

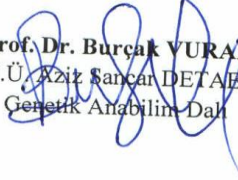
**DANIŞMAN  
DOÇ. DR. AYŞE EVRİM BAYRAK**


**GENETİK ANABİLİM DALI  
GENETİK PROGRAMI**


**İSTANBUL-2018**

**TEZ ONAYI****YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı, Genetik Programında Yüksek Lisans öğrencisi Hilal ŞENTÜRK tarafından Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK'ın danışmanlığında hazırlanan “Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Uzun Kodlamayan RNA Adaylarının Ateroskleroz Ciddiyeti ile İlişkilendirilmesi” başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 14.09.2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Burçak VURAL  
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE  
Genetik Anabilim Dalı

  
Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK  
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE  
Genetik Anabilim Dalı

  
Prof. Dr. Veysel Sabri HANÇER  
İstinye Üniversitesi Tıp Fak.  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

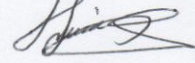
**BEYAN**

iii

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Hilal ŞENTÜRK



## İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bana her konuda yol gösteren, emeğini, bilgisini ve anlayışını esirgemeyen, desteğini hep hissettiğim tez danışmanım, değerli hocam Doç Dr. Ayşe Evrim BAYRAK'a,

Tez projemin incelenmesinde verdikleri destek ve emek için Sayın Prof. Dr. Burçak Vural ve Prof. Dr. Veysel Sabri Hañçer'e,

Tezimde emeği geçen her zaman yanımda olan sevgili arkadaşım Uzm. Bio. Selin Demirer'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca dostluklarını esirgemeyen, beni her zaman motive eden çalışma arkadaşlarım Uzm. Bio. Muhammed Abdulvahid Kalkan, Esra Kaynak, Pınar Köseoğlu, Aybike Sena Özuynuk, İrem Yağmur Diker ve Tuğçe Sudutan'a,

Yüksek lisans eğitimim dahil olmak üzere eğitim hayatımın çoğunda beraber yol aldığımız, güzel anılar biriktirdiğimiz canım arkadaşım Aslıhan Kaygusuz ve kuzenim Gizem Şentürk'e,

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen, yanımda olduklarını her zaman hissettiğim canım babam Ali Şentürk'e, canım annem Dilek Şentürk'e, kardeşlerim Nilay Şentürk ve Miray Elif Şentürk'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2017-27636

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	Xİ
ÖZET .....	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. ATEROSKLEROZ .....	3
2.1.1. Ateroskleroz Oluşumu .....	3
2.1.1.1. Endotel Disfonksiyonu .....	3
2.1.1.2. LDL Oksidasyonu .....	4
2.1.1.3. Lökositlerin Bir Araya Toparlanması .....	4
2.1.1.4. Köpük Hücre Oluşumu .....	5
2.1.1.5. Aterosklerotik Lezyonlar .....	6
2.1.1.5.1. Yağlı Çizgilenme .....	6
2.1.1.5.2. Fibröz Plak .....	6
2.1.1.5.3. Komplike Lezyonlar.....	6
2.2. AKUT KORONER SENDROMLAR.....	8
2.2.1. Tanım ve Sınıflandırılması.....	8
2.2.2. Akut Koroner Sendromların Epidemiyolojisi .....	9
2.2.3. Akut Koroner Sendromların Patogenezi .....	10
2.3. UZUN KODLAMAYAN RNA MOLEKÜLLERİ .....	11
2.3.1. Aterosklerozda Uzun Kodlamayan RNA'lar .....	15
2.3.2. Seçilen Aday lncRNA'lar .....	17
2.3.2.1. BAT5.....	17

2.3.2.2. IL21R-AS1 .....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Hasta Seçimi ve Örneklerin Toplanması .....	21
3.2. MATERYALLER.....	23
3.2.1. Kimyasallar ve Aletler .....	23
3.2.2. Çözeltiler.....	24
3.3. Kullanılan Yöntemler.....	25
3.3.1. Periferik Kandan Total RNA İzolasyonu.....	25
3.3.2. Trizolden RNA İzolasyonu .....	25
3.3.3. RNA saflığı ve miktarının ölçümü.....	26
3.3.4. cDNA Sentezi .....	26
3.3.5. Sentezlenen cDNA'ların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Belirlenmesi .....	27
3.3.6. BAT5 ve IL21R-AS1 Transkriptleri için Kullanılan Primerlerin Kontrolü .....	28
3.3.7. Aday lncRNA'ların Lökositlerde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Belirlenmesi .....	31
3.3.8. BAT5 ve IL21R-AS1 Gen İfadelerinin Kantitatif RT-PZR İle İncelenmesi ...	32
3.3.9. Rölatif Kantitasyon (RK) Hesabı Yapılması .....	36
3.3.10. İstatistiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA .....	51
KAYNAKLAR .....	56
HAM VERİLER .....	71
FORMLAR .....	72
ETİK KURUL KARARI .....	73
PATENT HAKKI İZİNİ .....	76
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	77
ÖZGEÇMİŞ .....	78



## TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı.....	10
Tablo 3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Kullanım Yerleri .....	23
Tablo 3.2 Kullanılan Aletler ve Kullanım Yerleri.....	24
Tablo 3.3 cDNA sentezi için reaksiyon koşulları.....	27
Tablo 3.4 Kullanılan genlere ait primer dizileri .....	28
Tablo 3.5 Her bir örnek için PZR Ortamı.....	32
Tablo 3.6 qRT-PZR reaksiyon koşulları.....	33
Tablo 4.1 Araştırma katılımcılarının merkezlere göre dağılımı .....	38
Tablo 4.2 Araştırma popülasyonun (n=228) vaka/seçilmiş kontrol gruplarının kıyaslaması.....	39
Tablo 4.3 Araştırmaya katılan tüm bireylerin (n=228) AKS gruplamasındaki klinik ve demografik parametreleri.....	40
Tablo 4.4 Araştırmaya katılan erkeklerin (n=174) AKS gruplandırmasındaki klinik ve demografik parametreleri.....	42
Tablo 4.5 Araştırmaya katılan kadınların (n=54) AKS gruplandırmasındaki klinik ve demografik parametreleri.....	43
Tablo 4.6 Araştırmaya katılan tüm bireylerin (n=228) AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarının klinik ve demografik parametreleri .....	44
Tablo 4.7 Aday lncRNA ifade düzeylerinin aterosklerotik hastalar (vaka) ve seçilmiş sağlıklı (kontrol) gruplardaki kıyaslaması .....	45
Tablo 4.8 Aday lncRNA ifade düzeylerinin AKS vaka gruplarında karşılaştırılması....	45
Tablo 4.9 Aday lncRNA ifade düzeylerinin erkek AKS vaka gruplarında karşılaştırılması.....	46
Tablo 4.10 Aday lncRNA ifade düzeylerinin kadın AKS vaka gruplarında karşılaştırılması.....	46
Tablo 4.11 Aday lncRNA ifade düzeylerinin AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarında kıyaslanması .....	47
Tablo 4.12 Aday lncRNA'ların erkek AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarında kıyaslanması.....	48

Tablo 4.13 Aday lncRNA'ların kadın AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarında kıyaslanması.....	48
Tablo 4.14 Gruplandırılmış aday lncRNA ifade düzeylerinin (RK değeri) AKS vaka gruplarında karşılaştırılması .....	49
Tablo 4.15 Gruplandırılmış aday lncRNA ifade düzeylerinin (RK değeri) AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarında kıyaslanması.....	50
Tablo 4.16 Aday LncRNA düzeylerinin Gensini ve SYNTAX skorları arasındaki korelasyon.....	50



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 Ateroskleroz gelişimi şematik olarak özetlenmektedir. ....	5
Şekil 2-2 Akut koroner sendromların sınıflandırılması .....	9
Şekil 2-3 LncRNA sınıflandırılmasının şematik diyagramı (75).....	12
Şekil 2-4 LncRNA etki mekanizmalarının şematik diyagramı (75) .....	13
Şekil 2-5 LncRNA'ların moleküler fonksiyonları (86). ....	13
Şekil 2-6 BAT5'in 16 adet transkript varyantları .....	19
Şekil 2-7 IL21R-AS1'in kromozomal lokalizasyonu .....	19
Şekil 2-8 IL21R-AS1'in dokular arasında ifade düzeylerinin karşılaştırılması .....	20
Şekil 3-1 B-aktin Kontrol PZR Sonucunun %2'lik Agaroz Jel Elektroforezi ve UV ile Görüntülemesi.....	27
Şekil 3-2 BAT5 ileri primer dizisinin NCBI Blast veritabanında homoloji sonucu.....	29
Şekil 3-3 BAT5 geri primer dizisinin NCBI Blast veritabanında homoloji sonucu.....	29
Şekil 3-4 IL21R-AS1 ileri primer dizisinin NCBI Blast veritabanında homoloji sonucu .....	30
Şekil 3-5 IL21R-AS1 geri primer dizisinin NCBI Blast veritabanında homoloji sonucu .....	31
Şekil 3-6 Konvansiyonel PZR Sonucunun %2'lik Agaroz Jel Elektroforezi ve UV ile Görüntülemesi (M: Marker).....	32
Şekil 3-7 qRT-PZR Ürünlerinin %2'lik Agaroz Agaroz Jel Elektroforezi ve UV ile Görüntülemesi (M: Marker).....	34
Şekil 3-8 BAT5 kodlamayan RNA transkriptine ait çoğalma grafiği .....	34
Şekil 3-9 IL21R-AS1 transkriptine ait çoğalma grafiği.....	35
Şekil 3-10 $\beta$ -aktin transkriptine ait çoğalma grafiği .....	35

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

AKS: Akut koroner sendromlar

AMI : Akut miyokard enfarktüsü

BAT5 : B'ye bağlı insan lenfosit antijeni transkript 5

BKİ: Beden kitle indeksi

Cx: Sirkumfleks arter

DKB: Diyastolik kan basıncı

EKG: Elektrokardiyografi

FENDRR: Fetal-lethal non-coding developmental regulatory RNA (Fetal-öldürücü kodlamayan gelişimsel düzenleyici RNA)

Glu: Glukoz

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

HOTAIR: İng., “HOX Antisense Intergenic RNA”

IL21R-AS1: İng., “IL21R antisense RNA 1”

INK4: Siklin bağımlı kinaz inhibitör-2A-CDKN2A

KAH : Koroner arter hastalığı

KPC : Kardiyopulmoner canlandırma

LAD : Sol ön inen arter

LDL: Düşük yoğunluklu lipoprotein

LncRNA : Uzun kodlamayan RNA

MALAT1 : İng., “Metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1”  
(Metastazla İlişkili Akciğer Adenokarsinoma Transkripti 1)

MCP-1 : Monosit kemoatraktan protein 1

MHC : Major doku uygunluk kompleksi

MHRT : İng., “Myosin heavy chain associated RNA transcript” (Miyozin ağır zincir ilişkili RNA transkripti)

MI: Miyokard enfarktüsü

MIAT : İng., “Myocardial infarction-associated transcript” (Miyokard enfarktüsü ile ilişkili transkript)

NSTEMI: ST yükselmesi içermeyen miyokardiyal enfarktüs

PANDA : İng., “p21-associated ncRNA DNA damage-activated” (DNA hasarıyla aktive olan p21 ilişkili kodlamayan RNA))

PRC2: İng., “Polycomb repressive complex 2” (Polikomb baskılayıcı kompleks)

PT: Protrombin Zamanı

qRT-PZR : Kantitatif eş-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

RCA : Sağ koroner arter

RK: Rölatif Kantitasyon

SD: Standart sapma

SKB: Sistolik kan basıncı

SNP: Tek nükleotid polimorfizmi

STEMI : ST yükselmesi içeren miyokardiyal enfarktüs

Tkol: T-kolesterol

TLR2: İng., “Toll-like receptor 2” (Toll benzeri transkript 2)

TÜİK: Türkiye İstatistik Kurumu

UAP: kararsız anjina pectoris

VCAM1: Vasküler hücre adezyon molekülü 1

VCAM2: Vasküler hücre adezyon molekülü 2

VSMC: Vasküler düz kas hücreleri

XIST: İng., “X inactive specific transcript” (İnaktif X’e özgü transkript)

## ÖZET

Şentürk H. (2018). Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Uzun Kodlamayan RNA Adaylarının Ateroskleroz Ciddiyeti İle İlişkilendirilmesi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik A.D. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Akut koroner sendromlar (AKS) tüm dünyada mortalite ve morbiditenin en önemli nedenlerindedir. AKS'nin en önemli nedeni aterosklerozdur. Uzun kodlamayan RNA'lar (LncRNA) 200 nükleotidden daha uzun protein kodlamayan RNA molekülleri olup birçok hücresel süreçte görev aldıkları ve gen ifadesini düzenledikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada AKS vakalarında, iki aday lncRNA'nın anlatım düzeylerinin hem hastalık tanısındaki önemi hem de ateroskleroz ciddiyeti ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu araştırmaya katılan 228 vaka, ST-yükselmeli veya yükselmez miyokard enfarktüsü (MI) geçirmesine ve koroner anjiyografi değerlendirmesindeki ateroskleroz lezyonlarının derecesine ve yerleşimine göre hesaplanan Gensini ve SYNTAX skorlamalarına göre gruplar oluşturularak incelenmiştir. Tüm bireylerin kanından ayrıştırılan lökositlerinden total RNA izole edilmiştir. Literatüre göre seçilen henüz fonksiyonu bilinmeyen BAT5 ve IL21R-AS1 adlı lncRNA'ların ifade düzeyleri, kantitatif RT-PZR ile belirlenmiştir. AKS ile aday lncRNA'ların ilişkisi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Araştırma kapsamında, çalışma popülasyonu akut miyokard enfarktüsü (AMI) geçirmiş hastalar, anjina pektoris ve yüksek skoru olan ancak enfarktüs geçirmemiş hastalar (non-MI) ve seçilmiş kontrol grubu olarak üç gruba ayrıldığında, AMI hastalarında BAT5 kodlamayan RNA transkriptinin ifade düzeyi kontrol hastalarına göre 2.5 kat azalırken ( $p=0.028$ ), IL21R-AS1 adlı lncRNA'nın ifade düzeyinin 1.6 kat arttığı belirlenmiştir ( $p=0.059$ ). Cinsiyete göre ayrılarak karşılaştırıldığında ise erkek hastalarda, BAT5 kodlamayan RNA transkriptinin ifade düzeyinin AMI ve non-MI gruplarında kontrol grubuna göre kıyaslandığında 2.55 kat arttığı belirlenmiştir. Kadın hastalarda, IL21R-AS1 ifade düzeyi kontrol grubuna göre AMI grubunda 2 kat artarken, non-MI grubunda 4.3 kat arttığı belirlenmiştir ( $p=0.040$ ).

Sonuç olarak, ani ölüm riski taşıyan akut koroner sendromda, BAT5 ve IL21R-AS1 kodlamayan RNA ifade düzeylerinin değerlendirilmesinde cinsiyet ve klinik tanı durumunun önem taşıdığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Akut koroner sendromlar, ateroskleroz, uzun kodlamayan RNA'lar, ifade düzeyi, biyobelirteç

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2017-27636

## ABSTRACT

Şentürk, H. (2018). Association of Long Non-coding RNA Candidates With Atherosclerosis In Patients With Acute Coronary Syndrome. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Genetics. Master Thesis. İstanbul.

Acute coronary syndromes (ACS) are among the most important cause of mortality and morbidity. Atherosclerosis is the most important cause of ACS. Long non-coding RNAs (lncRNAs) have functions in many cellular processes and regulate gene expression. In this study, we aimed to determine expression levels of two candidate lncRNAs in prevalence on disease diagnosis and severity of atherosclerosis in ACS cases.

228 cases established groups according to Gensini and SYNTAX scores that calculated according to degree and location of atherosclerotic lesions in coronary angiography evaluation and ST-elevated or non-elevated myocardial infarction (MI). Total RNA was isolated from leukocytes that isolated from blood of all individuals. Expression levels of selected lncRNAs BAT5 and IL21R-AS1 were determined by qRT-PCR. The association between ACS and lncRNAs evaluated statistically.

When study population separated to 3 groups, patients have acute MI, have angina pectoris and high score but not MI (non-MI) and selected control group, expression level of BAT5 of AMI group decreased 2.5 fold ( $p=0.028$ ) and, expression level of IL21R-AS1 increased 1.6 fold ( $p=0.059$ ) than control group. When compared by sex, expression level of BAT5 in male patients increased 2.55 fold in AMI and non-AMI groups compared to the control group. In female patients, expression level of IL21R-AS1 increased 2 fold in AMI group and, 4.3 fold in non-AMI group compared to control group ( $p=0.040$ ).

In conclusion, it was determined that gender and clinical diagnosis is important in evaluation of expression levels of BAT5 and IL21R-AS1 in ACS with risk of sudden death.

Keywords: acute coronary syndromes, atherosclerosis, long non-coding RNAs, expression level, biomarker

This study was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of İstanbul University. Project No. TYL-2017-27636

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ateroskleroz genetik ve çevresel birçok faktörün birlikte etki ettiği (1), arterlerin intima ve media tabakasında oluşan lipid birikimi ile tetiklenen, yavaş ilerleyen enflamatuvar bir hastalıktır (2,3). Aterosklerozun gelişiminde, endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve lökositler önemli rol oynamaktadır (4). Ateroskleroz akut koroner sendromların en temel nedenidir (1). Tüm dünyada ve ülkemizde yüksek ölüm oranlarının nedenleri arasında akut koroner sendromlar gelmektedir (5). Akut koroner sendromlar (AKS), ST elevasyonu (yükselmesi) içermeyen miyokardiyal enfarktüs (NSTEMI), ST elevasyonu (yükselmesi) içeren miyokardiyal enfarktüs (STEMI), kararsız anjina pectoris (UAP) gibi tüm iskemik durumları kapsamaktadır (6). Dünyadaki yıllık hastanelere yatırılma sebeplerinin pek çoğundan AKS'ler sorumludur (7). AKS'lar için invaziv ve invaziv olmayan yöntemler mevcut olmasına rağmen bu tedaviler düşük hassasiğe ve özgünlüğe sahiptir (8). İnvaziv girişimler hastalar için pahalı ve riskli yaklaşımlardır. Bu nedenle bu hastalar için yeni invaziv olmayan tanı ve tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (9).

İnsan genomunda çok sayıda kodlamayan RNA (ncRNA) tanımlanmıştır, genomunun sadece %1.5'u protein kodlayan gen dizilerinden oluşurken (10,11) genomda çok sayıda proteine çevrilmeyen RNA moleküllerinin genleri de mevcuttur. Uzun kodlamayan RNA'lar (lncRNA'lar), 200 nükleotitten daha büyük olan ancak protein kodlamayan bir ncRNA sınıfıdır. Farklı türlerde binlerce lncRNA tespit edilmiştir. lncRNA'ların hem gelişim hem de farklılaşma süreçlerinde gen ifadesi ve diğer hücresel süreçleri kontrol etmede önemli rollere sahip olduğunu bulunmuştur (12,13). Son zamanlarda keşfedilen birçok lncRNA'nın biyolojik süreçlerde çeşitli fonksiyonlara sahip oldukları belirlenmiştir (12,13). Son çalışmalar, çeşitli patolojik durumlarda ifade düzeylerinde değişim olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum lncRNA'ları terapötik hedef ve biyobelirteç olarak ideal adaylar haline getirmektedir (14). Yapılan çalışmalar, lncRNA'ların kalp yetmezliği (14-16), kardiyak hipertrofi (17), kardiyometabolik hastalıklar (18) ve miyokard enfarktüsü (19) gibi kardiyovasküler hastalıkların gelişmesinde rol oynadığını göstermiştir (20-22). FENDRR (İng., "*Fetal-lethal non-coding developmental regulatory RNA*"), ANRIL (diğer ismi, CDKN2B-AS1), MIAT (İng., "*myocardial infarction associated*



*transcript*”) ve MHRT (İng., “*Myosin heavy chain associated RNA transcript*”) gibi lncRNA'lar, miyokardiyal enfarktüs, kardiyomiyopati, kalp yetmezliği ve ateroskleroz dahil olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkili bulunmuştur (13,19,23-26).

Literatürde kardiyovasküler hastalıklarda halen sınırlı sayıda lncRNA'ların ifade düzeyleri ile ilgili çalışma mevcuttur. Bu çalışmada, toplumumuzda sık rastlanan AKS için muhtemel biyobelirteç olarak seçilen lncRNA'ların ifade düzeyleri saptanarak klinik durumları ile ilişkilendirilmesi planlanmıştır.

Bu çalışmanın amacı, AKS hastalarında, 2 aday lncRNA'nın (BAT5 ve IL21R-AS1) ifade düzeylerinin hem hastalık tanısındaki önemi hem de ateroskleroz ciddiyeti ile ilişkisini belirlemektir. Böylece, yaygın bir arteriyal damar hastalığı olan ateroskleroz nedeni ile oluşan AKS tanısı ve takibinde kullanılabilecek muhtemel biyobelirteç niteliğindeki lncRNA'ların düzeyleri belirlenerek klinik önemleri araştırılacaktır. Bu proje ile ani ölüm riski taşıyan akut koroner sendromların tanısı ve takibinde kullanılabilecek yeni aday biyobelirteçler için ön bilgilerin eldesi mümkün olabilecektir. İleri vadede ise, bu lncRNA'ların aterosklerozun patogenezindeki potansiyel önemlerini araştırmaya yönelik *in vitro* çalışmaların yapılması, ayrıca bu moleküllerin tanısal önemini göstermeye yönelik daha kapsamlı araştırmaların yapılması hedeflenmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. ATEROSKLEROZ

Arterlerde meydana gelen ateroskleroz kalp krizi ve inmenin başlıca nedenidir. Yapılan çalışmalarda ateroskleroz oluşumunda çeşitli çevresel ve genetik sebeplerin olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Ateroskleroz lipid birikimi ve fibroz plaklar ile karakterize edilmiş kronik bir oluşumdur. En erken lezyon oluşumu köpük hücreler olarak adlandırılan lipid yüklü makrofajlar ve T lenfositlerinin sub-endothelial olarak birikimi sonucu oluşan sarı renkli yağlı çizgilerdir. Bu yağlı çizgiler insanlarda genellikle yaşamın ilk on yılında aortta, ikinci on yılda koroner arterlerde, üçüncü on yılda ise serebral arterlerde görülmektedir. Bunun nedeni, lezyonların oluşumundaki kan akışı dinamiklerinin farklılıklarıdır. Oluşan bu yağlı çizgiler başlangıçta klinik açıdan çok önemli olmasa da zamanla tüm damar lümenini kapsayacak lezyonlara sebep olurlar (1).

Kronik inflamatuvar bir süreç olan ateroskleroz, endotel disfonksiyonu, dislipidemi adı verilen kan yağlarının normalden fazla miktarda olması ve birçok inflamatuvar hücrelerin rol aldığı bir hastalıktır (27).

#### 2.1.1. Ateroskleroz Oluşumu

##### 2.1.1.1. Endotel Disfonksiyonu

Aterosklerozda endotel disfonksiyonu (hasarı) merkezi bir rol oynamaktadır. Ateroskleroza neden olabilecek neredeyse tüm genetik ve çevresel faktörler endotel hasarına neden olur. Ateroskleroza neden olan risk faktörleri (diyabet, sigara ve diğer tütün ürünleri, yüksek kolesterol, yüksek kan basıncı), endotelin seçici geçirgen yapısını bozarak ayrıca vazodilatatör cevabın azalmasına neden olarak endotelde hasar oluşturmaktadır (28,29). Vazokonstriksiyon ile düz kas hücre migrasyonu ve sitokin miktarının artışı, inflamatuvar hücrelerin birikmesi gibi olaylar, arterler içinde yağ bulunduran tabakaların (aterosklerotik plak) oluşmasına neden olur. Endotel işlev bozukluğu sadece aterosklerotik plağın oluşmasına neden olmakla kalmaz bu plağın büyümesine lezyonun ilerlemesine de neden olur (30,31). Ateroskleroz sürecinde endotelden, makrofajlardan, monositlerden ve trombositlerden birçok kemotaktik ajanlar, trombotik faktörler ve büyüme faktörleri, sitokinler salgılanmaktadır. Bunun sonucunda düz kas hücrelerinde büyüme, bağ doku hücre matriksinde sentez uyarılır

(30). Normal işlev gören endotelde asetilkolin tarafından NO salınımı uyarılır, vazodilatasyon ve kan akımının artmasına neden olur. Ateroskleroz risk faktörleri olan kişilerde oluşan endotel işlev bozukluğu varlığında doğrudan damar düz kas hücreleri uyarılır bu durum da vazokonstriksiyona neden olur. Bu durum “paradoks vazokonstriksiyon” olarak isimlendirilmektedir (32).

### **2.1.1.2. LDL Oksidasyonu**

Ateroskleroz, subendotelde düşük dansiteli lipoprotein birikmesiyle birincil olarak başlar. Dolaşımda yükselen LDL düzeyi subendotelial matrikste birikimi artırır. Sonuçta, lezyon oluşan bölgelerde LDL taşınımı ve tutulumu artmaktadır (33).

LDL makrofajlar tarafından alınarak köpük hücrelerini oluştururlar. Ancak doğal LDL, makrofajlar tarafından köpük hücrelerini üretmek için yeterince hızlı şekilde alınamaz. Bu sebepten dolayı, LDL'nin damar duvarında modifiye olduğu ileri sürülmektedir (34). Daha sonra LDL'nin gerçekten oksidasyon, proteoliz, lipoliz ve agregasyon dahil olmak üzere modifikasyona uğradığı bulunmuştur. Modifiye olan LDL'nin köpük hücre oluşumu yanı sıra enflamasyona da neden olduğu gösterilmiştir. Erken lezyon oluşumu için gerekli en önemli değişikliği lipid oksidasyonu oluşturmaktadır. Okside LDL monosit migrasyonu ile sonuçlanan değişiklikleri başlatmaktadır (35).

LDL, normal koşullarda ApoE'nin taşıdığı LDL reseptörleri sayesinde hücre içine alınır. Ancak okside olmuş LDL reseptörler tarafından tanınmaz. Reseptörler tarafından tanınamayan okside olmuş LDL miktarı artar. Bunun sonucunda makrofajlardaki çöpçü reseptörler, okside olmuş LDL'yi aktif bir biçimde hücre içerisine alır (1,36). Makrofajlardan salınan reaktif oksijen türleri ve lipoksijenaz enzimleri ikinci kez oksidasyona neden olur. İkinci kez oksidasyon makrofajların oksidasyona uğrayarak modifiye olmuş LDL'yi hücre içerisine aktif olarak almaya daha da meyil gösterir (1,37).

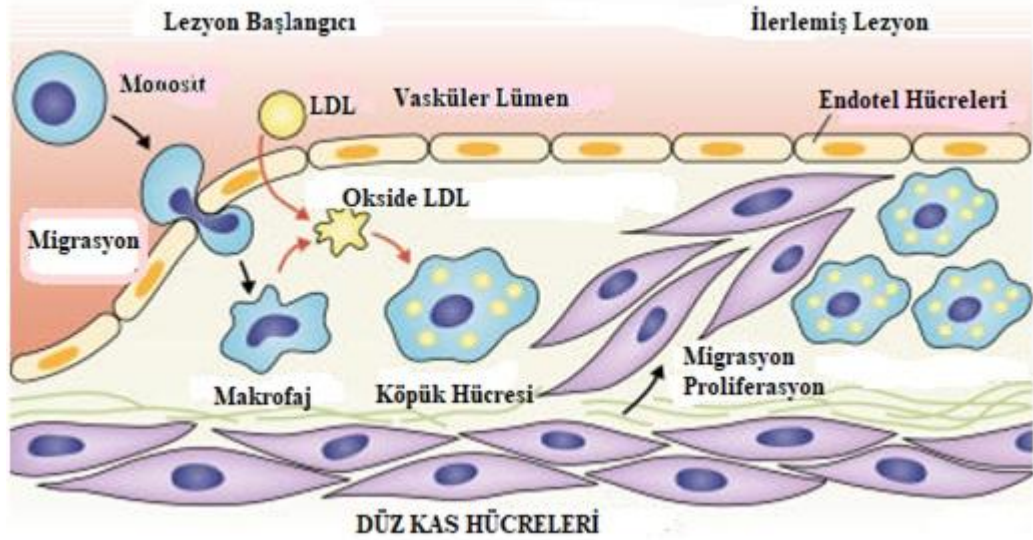
### **2.1.1.3. Lökositlerin Bir Araya Toparlanması**

Normalde endotel hücresi lökosit adezyonuna izin vermezken işlevi bozulmuş endotel hücresinde, lökosit ve monositlerin adezyonu için adezyon moleküllerinin ekspresyonu uyarılmaktadır. VCAM1 (vasküler hücre adezyon molekülü 1) ve VCAM2 (vasküler hücre adezyon molekülü 2) bu adezyon moleküllerinin başında

gelmektedir. İmmüoglobulin üst ailesinin üyesi olan VCAM1 ve VCAM2 dışında selektinler de lökosit adezyonunu stimüle ederler. Adezyon dışında lökositlerin intima tabakası içine girmesini sağlamak için bir sinyale ihtiyaç vardır. Sinyalin oluşumunu MCP-1 (monosit kemoatraktan protein 1) sağlar. MCP-1, endotel ve düz kas hücreleri gibi birçok hücreden salgınır. MCP-1'in salgınımı okside LDL'nin endotel ve düz kas hücrelerini uarması ile gerçekleşir. Tüm bunların ekspesyonu lökosit ve monositlerin çekilip yapışmalarını sağlar. Çekilip yapışan monositler ve lökositler damar lümeninin içinde enflamasyona neden olur (38).

#### 2.1.1.4. Köpük Hücre Oluşumu

İntimada okside olan LDL, makrofajlar tarafından fagosite edilerek köpük hücresi adını alır. Köpük hücre birikimini doğal LDL reseptörleri kontrol edemez. Makrofajlar, normal LDL'yi büyük miktarda fagosite edememelerine rağmen çöpçü reseptörleri yardımıyla okside LDL büyük ölçüde fagosite edebilmektedir. Makrofajlar okside LDL'yi fagosite ettikten sonra LDL'yi parçalarlar ve kolesterol esterleri olarak depo ederler. Kolesterol esterleri hücre içinde yağ damlacıkları oluşturur ve bu durum makrofajlar lipid yüklü köpük hücrelerine dönüşüncüye kadar devam eder. Bu depolama işlemi köpük hücrelerinin apoptozuna kadar devam eder (27).



Şekil 2-1 Ateroskleroz gelişimi şematik olarak özetlenmektedir.

(<http://jem.rupress.org/content/203/4/813.figures-only> sitesinden alıntı yapılmıştır)

### **2.1.1.5. Aterosklerotik Lezyonlar**

Patologlar, aterosklerotik lezyonları daha basit bir şekilde aşağıdaki gibi 3 gruba ayırarak sınıflandırmaktadır (39).

#### **2.1.1.5.1. Yağlı Çizgilenme**

Yağlı çizgilenmeler, en erken aterosklerotik lezyonlardır. Bu lezyonlar çok erken yaşlarda bile aortta görülebilmektedir. İntimiya giren, oksitativ modifikasyona uğrayan LDL, monosit kökenli makrofajlar tarafından aktif bir biçimde hücre içerisine alınması sonucunda oluşan köpük hücreleri adı verilen oluşumlar ve T lenfositleri, yağlı çizgilenmeleri meydana getirir. Köpük hücrelerinin birikimi ile oluşan yağlı çizgiler makroskopik olarak damar lümenini tam tıkamayan sarı renkli çizgiler şeklinde görülür. Yağlı çizgilenmeler bu şekilde semptomsuz olarak kalabilir veya ileri bir aterosklerotik lezyona ilerleyebilir (1,40).

#### **2.1.1.5.2. Fibröz Plak**

Fibröz plaklar, kolesterol esterleri gibi hücre dışı lipid kütlesi ve düz kas hücrelerinin ve bunlardan türeyen ekstraselüler matriks birikimi ile karakterizedir. Makrofajlar ve T hücreleri tarafından salgılanan sitokinler ve büyüme faktörleri düz kas hücrelerinin göçü, proliferasyonu ve hücre dışı matris üretimi için önemlidir (41). Fibröz plaklar damar lümenine doğru büyüyen beyaz renkli lezyonlar olarak görülmektedir. Hücre dışı lipid birikiminin artması ile lezyonlar ilerler (42). Yüksek homosistein, hipertansiyon ve hormonlar dahil olmak üzere çeşitli risk faktörlerinin fibröz lezyonların gelişimine neden olduğu düşünülmektedir. Yükselmiş homosistein seviyeleri endotel hücrelerini zayıflatır ve vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu uyarır (43). Fibröz plaklar damar lümenini önemli bir derecede daraltmalarına rağmen klinik yönden sağlam oldukları sürece bir önem arz etmedikleri düşünülmektedir (42).

#### **2.1.1.5.3. Komplike Lezyonlar**

Amerikan Kalp Birliği lezyonların ilerleme sürecini 8 farklı tipe göre sınıflandırmaktadır (44,45);

Tip 1: Az miktarda lipid oluşumu ve seyrek köpük hücreleri ile karakterize edilmektedir. Yeni doğan bebeklerin %45'inde tip 1 lezyonları bulunmaktadır. Ancak

bu lezyonlar çocukluğun ilk dönemlerinde azalmasına rağmen çocukluğun ileri dönemlerinde tekrar artmaya başlar.

Tip 2: Bu tipteki lezyonlarda köpük hücreleri oldukça artmıştır. Artan köpük hücreleri yağlı çizgilenmeleri meydana getirmektedir. Az miktarda lipid dolu düz kas hücreleri, T lenfosit hücreleri, mast hücreleri bulunmaktadır.

Tip 3: Klasik patoloji tarafından lezyonların aterosklerotik plak olarak adlandırıldığı ilk evredir. Bu evrenin tip 2 den farklı olarak lezyonların daha derin bölgeleri olan T hücrelerinin ve makrofajların altında az miktarda da olsa hücre dışı lipid birikimi söz konusudur.

Tip 4: Hücre dışı lipidlerin artması sonucunda kolesterol havuzu oluşur. Lipidler parçalanmış köpük hücrelerinden veya lipoprotein lipidlerin doğrudan birikiminden kaynaklanabilir. Lezyonlar çoğunlukla hilal şeklindedir. Lezyon damar duvarının kalınlığını artırır. Bu evrede damar boşluğunun özgün hacminin değişmesinden sakınmak için damarda tekrardan bir yapılanma meydana gelir. Damarın dış hatlarının ovalleşmesi anjiyografik görüntülenme yapılmasını zorlaştırmaktadır.

Tip 5: Bu lezyonlar lipid çekirdeğini kaplayan fibröz dokunun artması ile karakterize edilmektedir. Tip 5 lezyonlar genellikle büyük lezyonlardır. Atardamarın yeniden biçimlendirilmesi söz konusu olamaz ve damar lümeni daralır. Anjiyografi ile görüntülenebilen bu lezyonlar klinik yönden anjina pektoris (göğüs ağrısı) sebep olabilirler.

Tip 6: Bu lezyonlar kanama ve trombotik birikinti içeren plaklardır. Lezyonun gelişmesinin asıl nedeni plak yırtılmasıdır. Yırtılan plağın üzerinde trombüs oluşur. UAP ve AMI gibi klinik durumlar bu lezyon tipine bağlıdır.

Tip 7: Bu lezyon ya hiç lipid içermezler ya da az miktarda lipid içerir. Kalsiyum birikintileri ön plandadır.

Tip 8: Bu lezyon da ya hiç lipid içermez ya da az miktarda lipid içerirler. Bu lezyon için kollejen oluşumu ön plandadır. Koroner arterlerde 69 yaş ve üzeri bireylerde yaygın olarak görülen lezyonlar ilerlemiş lezyonlardır. Hastalığın son evresi olduğu düşünülen lezyonlardır (44,45).

## 2.2. AKUT KORONER SENDROMLAR

### 2.2.1. Tanım ve Sınıflandırılması

AKS, Batı toplumlarında önde gelen ölüm nedenleri arasındadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, yaklaşık yedi ölümden bir tanesi, koroner kalp hastalığına sekonder olarak gerçekleşmektedir. Bir milyondan fazla Amerikalı'nın her yıl bir MI yaşadığı tahmin edilmektedir, bu da bir Amerikalı'nın her 24 saniyede bir MI ile karşılaştığı anlamına gelmektedir (46).

AKS'den şüphelenilen hastalarda tanı ve tedavi basamaklarını başlatan başlıca semptom göğüs ağrısıdır. Elektrokardiyografi (EKG) hasta gruplarını ikiye ayırır.

1) Akut göğüs ağrısı (anjina pektoris) ve persistan 20 dakikayı aşan hastalarda ST-segment yükselmesi;

Bu durum ST-elevasyonlu (yükselmeli) AKS olarak adlandırılır ve genellikle tam bir koroner tıkanıklığını yansıtır. Çoğu hasta eninde sonunda STEMI geliştirir. Bu hastalarda tedavinin temel dayanağı, primer anjiyoplasti veya fibrinolitik tedavi ile hemen reperfüzyondur (47).

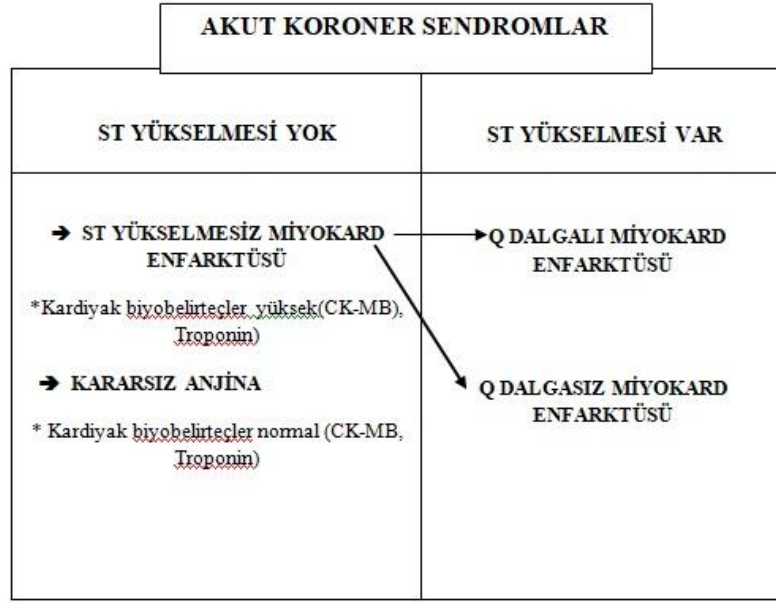
2) Akut göğüs ağrısı olan ancak persistan ST segment yükselmesi olmayan hastalar;

EKG'de, geçici ST segment yükselmesi, kalıcı veya geçici ST-segment çökmesi, T dalgası inversiyonu, düz T dalgaları veya T dalgalarının psödo-normalizasyonu gibi değişiklikler gözlenebilir veya EKG normal olabilir. ST-elevasyonu (yükselmeli) içermeyen AKS'li hastaların (NSTE-AKS) klinik tablosu, semptomları olmayan bireylerden, devam eden iskemiye veya kalp durması ile sonuçlanan bireylere kadar değişebilir (48).

ST segment yükselmesi içermeyen hastalarda miyokard hasarın gelişip gelişmemesine bağlı olarak miyokard infarktüs (NSTEMI) ya da kararsız anjina pektoris (UAP) olarak adlandırılır (49).

EKG'de, ST segment yükselmesinin görülmemesi durumunda miyokard hasarının oluşup oluşmadığını anlayabilmek için kreatinin kinaz miyokardiyal band (CK-MB) ve kardiyak spesifik troponin adında iki adet kardiyak biyobelirteç ölçülmektedir. Bu biyobelirteçlerin seviyelerindeki artış miyokard hasarını işaret eder. ST segment yükselmesi olmayan ancak kardiyak biyobelirteç seviyelerinde artış olan hastalarda, çok büyük ihtimalle Q dalgasız MI gelişir ancak pek azında patolojik olarak

tarif edilebilecek Q dalgaları gözlenebilir. EKG’de ST segment yükselmesi olmayan ve biyobelirteçleri normal seviye gözlenen hastalar için UAP tanısı konulur (50). Şekil 2.2’de akut koroner sendrom sınıfları şematik olarak verilmektedir.



Şekil 2-2 Akut koroner sendromların sınıflandırılması

### 2.2.2. Akut Koroner Sendromların Epidemiyolojisi

Kayıtlara geçen verilere göre NSTEMI-AKS, STEMI-AKS'ye göre daha sık görülmektedir (51). Yıllık insidans 1000 kişide 3'tür, ancak bu ülkeler arasında değişkenlik gösterebilir (52). Yapılan uzun dönem araştırmalarda NSTEMI-AKS'lerin ölüm oranlarının 4 yılda STEMI-AKS'ye göre iki kat arttığı gözlemlenmiştir (53). Ancak bu durumda hastaların yaşları, diyabet ve böbrek yetmezliği gibi hastalıklara sahip olmaları, böylelikle farklı hasta profillerinin oluşması, NSTEMI-AKS hastalarının ölüm oranlarının bu denli artması nedenleri arasında sayılabilir. ABD’de 2009 yılında yapılan istatistiklere göre AKS tanısı konularak taburcu edilen hasta sayısı 1.200.000’dir. Erkeklerde bu hastalığın prevalansı oldukça yüksek bulunmuştur (54,55).

Türkiye’de AKS için oldukça sınırlı data mevcuttur. 2000’li yıllarda yapılan ve 52 merkezin yer aldığı araştırmanın TÜMAR datalarına göre Türkiye’de miyokard enfarktüsü (MI) tanısı ile hastanelere yatış yapan hasta sayısı yılda 220.000’dir. STEMI bunların 100.000’i kapsarken, mortalite tüm MI’lar için %14, STEMI’da ise %11 olarak belirtilmiştir (56,57).



2012 yılındaki bulaşıcı olmayan hastalıklar sebebiyle oluşan ölümlerin 17,5 milyonunun (%46,2) kalp ve damar hastalıkları sebebiyle olduğu belirlenmiştir. Ölümlerin, 7,4 milyonu miyokard enfarktüsü nedeniyle oluşurken, 6,7 milyon inme nedenlidir. 2030 yılında kalp ve damar hastalıkları nedeniyle oluşan ölümlerin 22,2 milyonu bulacağı düşünülmektedir (58).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin, tüm ölümlerin içinde payının gitgide arttığı sonucuna ulaşılmıştır. 1989 yılında yüzde 40 olan kalp hastalıkları, 1993 yılında yüzde 45 (59), 2009 yılında yüzde 40 (60), 2013 yılında yüzde 39,6, 2014 yılında ise yüzde 40.4 (61) ile ölümlerin sebepleri arasında birinci sıraya yerleşmiştir.

Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışmasından elde edilen sonuçların dağılımı (2011) Tablo 2.1’de verilmektedir (62).

**Tablo 2.1** Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı

HASTALIKLAR	KADIN (%)	ERKEK (%)
Anjina Pektoris	9,8	6,4
Akut Miyokard Enfarktüsü	1,1	2,3
Koroner Kalp Hastalığı	2,3	3,8

### 2.2.3. Akut Koroner Sendromların Patogenezi

Koroner arter hastalığının (KAH) altında yatan en büyük neden aterosklerozdur. Tek başına nadiren ölümcül olan ateroskleroz, MI, emboli ve inme gibi hayatı tehdit eden önemli olaylara sebep olmaktadır. Aterosklerotik plağın yırtılması veya erozyonu, plak üzerinde trombus oluşmasına neden olmaktadır. Trombosit aktivasyonu ve agregasyonu ile büyüyen trombus kan akışını engeller, sunulan oksijen miktarı ile gereksinim olunan oksijen miktarı arasında bir denge sağlanamaz ve bunun sonucunda MI ya da doku ölümü gerçekleşir. Damar lümenini tam tıkamayan bir trombus söz

konusu ise klinik tablo NSTEMI olarak gelişirken lümen tam tıkanmışsa STEMI olarak tanısı konulur (4,63).

### 2.3. UZUN KODLAMAYAN RNA MOLEKÜLLERİ

LncRNA'lar, 200 nükleotidden daha büyük, proteine translasyonu yapılmayan yeni bir kodlamayan RNA sınıfıdır. Farklı türlerde binlerce lncRNA tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalar, lncRNA'ların gelişim ve farklılaşma süreçlerinde gen ekspresyonunu ve diğer hücrel süreçleri kontrol etmede çok önemli rolleri üstlendiği belirlenmiştir. Son zamanlarda keşfedilen birçok lncRNA'nın biyolojik süreçlerdeki çeşitli fonksiyonları ortaya konulmuştur (64).

LncRNA'lar genom boyunca transkribe olur. LncRNA'ların RNA polimeraz II tarafından işlenmesi, alternatif kırılması, 3'-poliadenilasyonu ve 5'-şapka basamaklarında görev alması klasik mRNA'larla lncRNA'ların arasında belirgin bir benzerliğin olduğunu gösterir (65). LncRNA'lar mRNA'lardan farklı olarak mRNA'lar açık okuma çerçeveleri içerirken lncRNA'lar içermezler. Bunlar mRNA'lara göre türler arasında daha az korunmuşlardır. LncRNA'ların mRNA'lara göre daha az miktarda ifadesi olmaktadır (66).

LncRNA'lar genomik lokalizasyonlarına göre intergenik, intronik, enhanser, çift yönlü, sens (kodlayan, 5'→3') veya antisens (kalıp, 3'→5') yönelimli olarak alt gruplara ayrılırlar. İntergenik lncRNA'lar (lincRNA'lar), genler arasında yer alan DNA segmentlerinden transkripte edilir (67). Tarihsel olarak, lincRNA'lar işlevsel bir önemi olmadığı düşünülerek "junk genler" olarak adlandırılmıştır (68). Bununla birlikte son çalışmalarda lincRNA'ların, lokalize olduğu bölgelere yakın olan genlerin promotörlerini veya "enhanser"lerini modüle ederek genleri kontrol edebileceği belirlenmiştir (11). İntronik lncRNA'lar, DNA dizilerinde okunmadan atlanan bölüm olan intronlarda transkribe olur. Çeşitli transkripsiyonel mekanizmalar aracılığıyla gen ekspresyonunu modüle ettiği düşünülmektedir. Hem lincRNA'lar hem de intronik lncRNA'lar poli-(A) kuyruğuna sahiptir (69,70). Sens lncRNA'lar, protein kodlayan genlerin sens (kodlayan) zincirlerinden transkribe edilir. Sens lncRNA'ların ekzonları da mevcuttur. Protein kodlayan genleri örtebilir veya kaplayabilirler. Sens lncRNA'ların aksine antisens yönelimde olan lncRNA'lar ise protein kodlayan genlerin antisens (kalıp) zincirlerinden transkribe olmaktadır (71,72). Çift yönlü lncRNA'lar birbirlerine ters yönde transkribe olmaktadır. Protein kodlayanlara benzer işlevlere sahip oldukları

gösterilmiştir (73). “Enhanser” lncRNA’lar genlerin “enhanser” bölgelerinden transkribe olmaktadır (74). Şekil 2.3’de lncRNA’ların genomik lokalizasyonları ve yönelimleri şematik olarak gösterilmektedir.



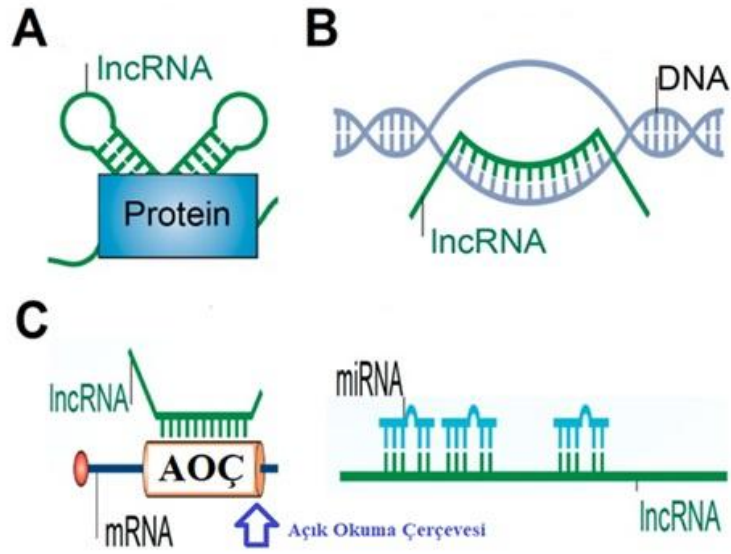
Şekil 2-3 LncRNA sınıflandırılmasının şematik diyagramı (75).

LncRNA'lar ayrıca hücredeki lokalizasyonlarının, nükleus veya sitoplazmada oluşlarına göre ayırt edilebilmektedir. Bazı lncRNA’lar hem sitoplazma hem de nükleusta bulunabilmektedir. LncRNA'ların çoğunluğu nükleusta yer alırken sadece %15’i sitoplazmada bulunur (76-78).

Oldukça yönlü olan lncRNA’lar çeşitli mekanizmalarla gen ifadesini düzenlemektedir (77). LncRNA’lar gen ifadesini, DNA’nın epigenetik modifikasyonu, alternatif kırılma, transkripsiyonel, post-transkripsiyonel gen düzelemeleri, mRNA stabilitesi, RNA işlenmesi ve translasyonu aşamalarında çeşitli mekanizmalar sayesinde regüle edebilir (64,74, 79, 80).

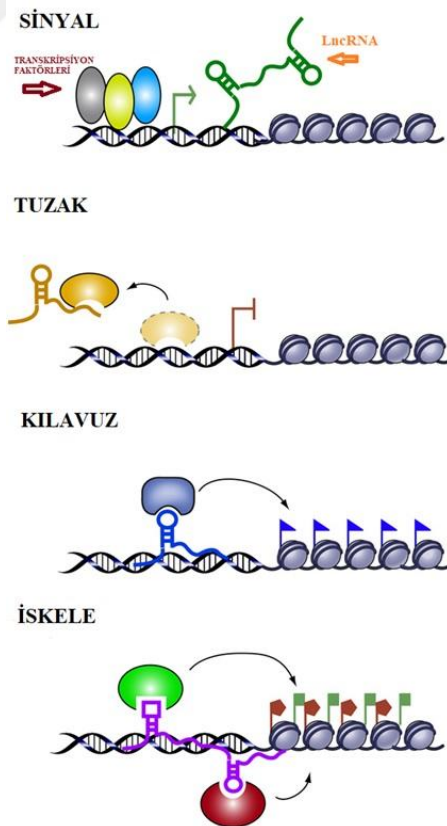
LncRNA'ların DNA, RNA ve proteinlerle etkileşerek genin aktivasyonunu ya da baskılanmasını sağlayabildiği belirtilmiştir (81-85). LncRNA'lar, transkripsiyon faktörleri veya kromatini modifiye edici komplekslerin bileşenleri gibi proteinlerle etkileşime girerek gen ifadesini düzenlemek için moleküler iskeleler olarak hareket edebilir. LncRNA'ların diğer etki mekanizmaları ise, DNA’lar ile tamamlayıcı etkileşimlere girerek promoter bölgeleri gibi spesifik genomik bölgelere proteinleri yönlendirebilir veya proteinlerin spesifik DNA bölgelerine bağlanmasının önlemesi sağlayabilir (81-85).

LncRNA'lar ayrıca mRNA'lar gibi diğer RNA molekülleri ile baz çifti oluşturabilmektedir (Şekil 2.4). Bunun yanı sıra lncRNA'larında mRNA'lar ve miRNA'lar gibi diğer RNA'lar için endojen tuzaklar olarak hareket edebildiği belirlenmiştir (81-85).



Şekil 2-4 LncRNA etki mekanizmalarının şematik diyagramı (75)

LncRNA'ların fonksiyonları, sinyal, tuzak, kılavuz ve iskele olmak üzere 4 farklı model altında gruplandırılmaktadır (86). Şekil 2.5'de LncRNA'ların moleküler fonksiyonları şematik olarak gösterilmektedir.



Şekil 2-5 LncRNA'ların moleküler fonksiyonları (86).

Sinyal lncRNA'ların, gen düzenlenmesinde zamanı ve lokalizasyonu belirleyen moleküller olarak sinyalleme işlevi bulunmaktadır. Ayrıca gen ve allel işlevlerini modüle etmek için de sinyal molekülleri olarak görev yapmaktadır (87). Bazı özel lncRNA'lar, dozaj telafisinde görev almaktadır. Dişi memelilerde bulunan iki X kromozomundan sadece birinin ifade edilmesi böylece erkek ve dişi arasında X kromozomundaki genlerin ifadesi açısından eşitlik sağlanması gerekmektedir. Xist lncRNA'sı, bu süreçte çok önemli bir role sahiptir. Xist lncRNA'sı, X kromozomlarından bir tanesi ile etkileşime girerek allelin gen ifadesi kapasitesini baskılamaktadır. Tsix adındaki antisens lncRNA ile Xist baskılanabilmektedir. Bunun yanı sıra, Jpx adındaki başka bir lncRNA ile de etkisizleştirilebilmektedir (87,88). Xist geninin moleküler sinyalleme yoluyla genomik susturmayı gerçekleştirmesi lncRNA'ların negatif düzenleyici görevi olduğunu göstermektedir (88).

LncRNA'lar hedeflenen proteinlerin işlevlerini aşağı regüle etmek için negatif düzenleyiciler olarak görev yapar (89). Tuzak fonksiyonu gören lncRNA'lar çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ayrılmasını sağlayan bir yem gibi hareket ederek hedef genleri dolaylı olarak düzenleyebilmektedir (90). PANDA (İng., "*p21-associated ncRNA DNA damage-activated*") olarak adlandırılmış bir lncRNA'nın, apoptozun pozitif bir düzenleyicisi olan nükleer transkripsiyon faktörü Y alt-birimi a'nın (NF-YA) inaktive edilmesini sağlayan bir yem gibi tuzak fonksiyonu gösterdiği ortaya çıkmıştır. Hücredeki düşük DNA hasarı seviyesinde p53'e bağlı PANDA aktive olur. PANDA daha sonra hücrelerin apoptoza girmesini önlemek için doğrudan NF-YA'ya bağlanarak NF-YA'nın işlev görmesini engeller. PANDA'nın insan fetal fibroblastlarında deneysel olarak nakavt edilmesinin NF-YA ifadesinde artışa ve buna bağlı olarak hücrel apoptozun artmasına yol açtığı gösterilmiştir (89, 91, 92).

LncRNA'lar kromatin modifiye eden enzimleri hedef genlere yönlendirir ve gen ifadesini yakındaki komşu genler cis, uzaktaki genleri trans düzenleme ile değiştirebilmektedir. Bu lncRNA'ların kılavuz fonksiyonudur (93). KNQ1OT ve Xist bunlara örnek olarak verilebilecek lncRNA'lardandır (94-96).

Benzer şekilde lncRNA'lar, ribonükleoprotein kompleksleri oluşturmak için çoklu proteinleri bir araya getiren iskeleler olarak da işlev görebilir. Örneğin, lncRNA HOTAIR (İng., "*HOX Antisense Intergenic RNA*"), PRC2 (İng., "*Polycomb Repressive*

*Complex 2*”) ve LSD1/CoREST/REST protein kompleksleri (kromatinde histon modifikasyonunda görevli) için bir iskele görevi görür (97).

### 2.3.1. Aterosklerozda Uzun Kodlamayan RNA'lar

Vasküler düz kas hücrelerinin (VSMC) çoğalması ve göçünün aterosklerotik lezyon progresyonu ve restenozdaki en temel olaylardan biri olduğu düşünülmektedir (98,99). Kromozom 9p21 lokusundaki SNP'lerinin ateroskleroz ve miyokard enfarktüsü riskini arttırdığı bildirilmiştir (100,101). 9p21 bölgesine en yakın protein kodlayan gen INK4 (siklin bağımlı kinaz inhibitör-2A-CDKN2A) olup, buna ters yönelimli olarak transkribe olan CDKN2B-AS (ANRIL) genide bir lncRNA ürünü oluşturmaktadır (102,103). Motterle ve arkadaşları (103), 9p21 lokusundaki SNP'lerin VSMC proliferasyonunu teşvik ettiği ve VSMC'lerde p16INK4a ve p15INK4b ifadelerini azalttığını bulmuşlardır. Ayrıca aterosklerotik lezyonlarda, daha düşük seviyelerde p15INK4b'nin ifade edildiği ve daha yüksek seviyede VSMC proliferasyonun olduğu tespit edilmiştir (103).

ANRIL aterosklerozun şiddeti ile yakından ilişkili bir lncRNA'dır. Çeşitli SNP'lerin, hem plak hem de periferik kanda ANRIL transkriptlerinin ifade artışı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (104). Son dönemdeki çalışmalar, lncRNA'ların farklı tipteki lezyonların oluşumuna katıldıkları, düz kas hücrelerinde proliferasyon, migrasyon ve matriks sentezini düzenleyebildiği belirtilmiştir (105).

Endotel hasarı (disfonksiyon), aterosklerozun başlangıcında ve gelişiminde ilk adımı temsil eder. Hasarlanan endotel hücreleri, geçirgenliğin artması ve adezyon proteinlerinin birikimi ile sonuçlanır ve böylece lökositlerin damar duvarlarına migrasyonu uyarılır (106). Yapılan araştırmalar lncRNA'ların ayrıca endotel hücre proliferasyonu, damar oluşumu ve migrasyonunda rol oynadığını göstermiştir (105). Endotel hücrelerinde lncRNA'ların birçok rolü vardır, lncRNA'lar özellikle anjiyogenezde endotel hücre fonksiyonlarını düzenleyebileceği gösterilmiştir (105). İlk olarak akciğer kanserinde tanımlanan MALAT1 (İng., “*metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1*”) adlı lncRNA'nın, daha sonra diğer birçok tümör türünde ifade düzeyinin arttığı belirtilmiştir (107). MALAT1'in aşırı ifadesinin, kanserde proliferasyon ve metastaza neden olduğu belirlenmiştir (108,109). Yapılan son çalışmalar, MALAT1'in endotel hücrelerde hipoksi ve hiperglisemi gibi stresli durumlarda indüklendiğini göstermektedir (19, 110).

Endotel hücrelerinde bulunan anjiyopoetin tie-1 reseptörü, vasküler yapının meydana gelebilmesi için gerekli olup *in vitro* ve *in vivo* olarak anti-sens transkript Tie-1AS lncRNA ile düzenlenmektedir (111, 112). Tie-1AS lncRNA, tie-1 mRNA'ya bağlanır, bu da tie-1 proteininin aşağı regülasyonu ile sonuçlanır ve endotel hücre bağlantılarının düzenlenmesi sağlanır. Tie-1AS lncRNA'nın aşırı ifadesinde, endotel hücre bağlantılarında ve damar yapısında bozuklukların olduğu belirlenmiştir (112).

Yapılan araştırmalarda, MIAT (İng., “*myocardial infarction-associated transcript*”) adlı lncRNA'nın miyokard enfarktüsü (113) ve diyabetik mikrovasküler hastalık (114) ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Deneysel olarak hücrede nakavt edilen MIAT geninin, endotel hücre proliferasyonu, migrasyonu ve damar yapısının oluşumunu engelleyebildiği gösterilmiştir. Yapılan *in vivo* analizler sonucunda, nakavt edilen MIAT geninin diyabet kaynaklı perisit kaybını, kapiller dejenerasyonu ve mikrovasküler sızıntıyı azalttığı gösterilmiştir. Bunun altındaki mekanizmanın miR-150'ye bağlı olduğu ve miR-150'nin de VEGF'nü hedeflediği ve baskıladığı ortaya konmuştur. MIAT, miR-150'yi baskılamak için tuzak olarak çalışarak VEGF'yi düzenlemektedir (114).

Aterosklerotik lezyon, arter duvarındaki lipoproteinlerin, makrofajlardan türetilen köpük hücrelerinin birikiminden oluşur. Makrofajlar aktive olup damar duvarına doğru harekete geçer, kolesterol köpük hücrelerini oluşturur ve daha sonra enflamatuvar faktörler salgılanır ve makrofaj birikimi artar (106). Bu olayda, lipid metabolizması ve doğuştan gelen bağışıklık yanıtı arasında bir bağlantı olduğu öne sürülmektedir. Dolayısıyla, hücrel lipid taşınmasında ve bağışıklıkta yeni hedeflerin bulunması önem taşımaktadır. Sadece makrofaj ile ilişkili birkaç lncRNA tanımlanmış olmasına rağmen, araştırmacılar makrofajlarda ve enflamasyonda önemli düzenleyici rollere sahip olduklarını ortaya çıkarmışlardır (105). Hücrel lipid mekanizması özellikle köpük hücre oluşumu ateroskleroz gelişiminde önemli bir araştırma alanıdır.

Hu ve ark. lncRNA'ların kolesterol metabolizmasında ve enflamasyonda düzenleyici rollerini belirleyebilmek için mikrodizin analizi ile, makrofaj ve makrofaj türevli köpük hücrelerinin ekspresyon profillerini araştırmışlardır (115). Bu çalışmada, lncRNA-DYNLRB2-2 (İng., “*Dynein Light Chain Roadblock-Type 2-2*”) ve lncRNA RP5-833A20.1'nin (diğer adı, NFIA Antisense RNA 1) büyük ölçüde hücrel kolesterol metabolizmasının ve enflamasyonun düzenleyicileri olduklarını

belirlemişlerdir. LincRNA-DYNLRB2-2, hücrel enflamatuvar sitokinleri (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6) azalttığı ve hiperlipidemik stres altında makrofajlarda kolesterol akışını teşvik ettiği bulunmuştur (115). Bir başka uzun kodlamayan RNA olan RP5-833A20.1'in ise, enflamatuvar sitokinleri (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6) arttırdığı ve NFIA yolağı üzerinden miR-382 aracılığı ile kolesterol akışını azalttığı bulunmuştur (22).

LncRNA'ların, enflamasyonu inhibe edebilen veya artırabilen immün yanıtta yeni regülatörler olabileceği de araştırılmıştır (116). Carpenter ve ark. TLR2 (İng., “*Toll-like receptor 2*”) ile uyarılmış makrofajlarda RNA dizilemesi yaparak, COX2 genine proksimal yerleşimli olan lincRNA-Cox2 adlı yeni bir lncRNA'yı tanımlamışlardır. LincRNA-Cox2'nin TLR stimülasyonundan önce ve sonra çeşitli immün genleri düzenlediği sonuçlarına ulaşılmıştır (117).

KAH patogeneğinde rol alan lncRNA'ları bulmaya yönelik yapılan bir transkriptomik araştırmasında, 15 KAH ve 15 kontrole ait plazma ve periferik kan mononükleer hücrelerinde, 33045 lncRNA ile 30215 kodlayan transkripti içeren mikrodizin temelli transkriptom analizi yapılmış ve 86 lncRNA transkriptinin istatistiksel olarak anlamlı olarak farklı ifade edildiği bulunmuştur (118). Farklı ifade edilen bu 86 lncRNA'nın 35'inin azaldığı, 51'inin arttığı tespit edilmiş ve ifadesi artanlar arasından 5 lncRNA (CoroMarker, IL21R-AS1, BAT5, AC107016.1, ve RP11-203B9.4), kantitatif RT-PZR yöntemiyle 20 KAH ve 20 kontrolü periferik kan mononükleer hücrelerinde valide edilmiştir. Sonuçta, CoroMarker lncRNA'nın 2.8 kat, IL21R-AS1 lncRNA'nın 2.2 kat ve BAT5 lncRNA'nın 2 kat arttığı tespit edilmiş ve KAH için biyobelirteç adayları olarak belirlenmiştir (118). Bu tez çalışması kapsamında, ilgili literatür temel alınarak fonksiyonel önemi henüz belirlenmemiş IL21R-AS1 ve BAT5 lncRNA ifade düzeylerinin araştırılması planlanmıştır.

### **2.3.2. Seçilen Aday lncRNA'lar**

#### **2.3.2.1. BAT5**

Cai ve arkadaşları tarafından 33045 lncRNA ile 30215 kodlayan transkript için yapılan transkriptomik analizlerde tanımlanan, BAT5 kodlamayan RNA transkriptinin KAH hasta örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı olarak 2.2 kat artmış ifade edildiği bulunmuştur (118). Bu çalışmada ayrıca, 20 KAH'lı hastanın periferik kan mononükleer hücrelerinde BAT5'in ifade düzeylerini valide etmişler ve yapılan kantitatif RT-PZR



sonucunda, kontrol grubu (n=20) ile kıyaslandığında BAT5'in ifade düzeyinin KAH hastalarında 2 kat arttığını desteklemiştir (118).

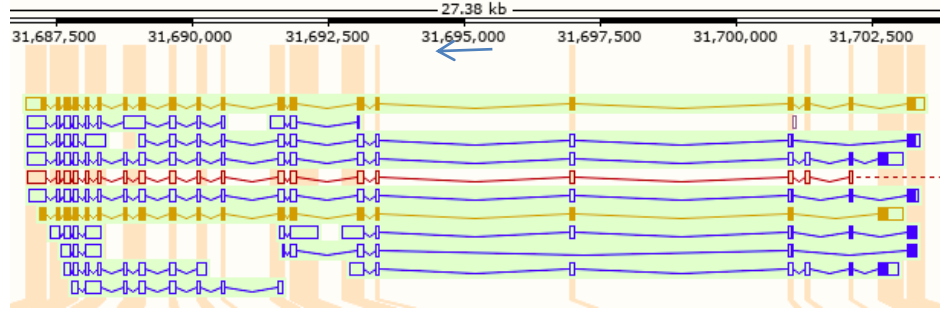
Bu tez çalışmasında aday olarak seçilen BAT5'in NCBI ve ENSEMBL veritabanlarındaki bilgileri incelendiğinde, *BAT5* (B'ye bağlı insan lenfosit antijeni transkript 5, ing., “*HLA-B-Associated Transcript 5*”) olarak adlandırılan genin, diğer isminin *ABHD16A* (İng., “*Abhydrolase Domain Containing 16A*”) olduğu ve insanlarda 6. Kromozoma lokalize olup, 20 ekzona sahip ve 16 adet alternatif kırılma transkript varyantının mevcut olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.6).

*BAT5* geninin kodlayan transkriptinin lipid metabolizmasında rol alan serin hidrolazların ABHD (İng., “ $\alpha/\beta$  hydrolase fold domain”) protein ailesine sınıflandırılmış (118) olduğu belirlenmiş olsa da halen diğer kodlamayan *BAT5* transkript varyantlarının işlevsel karakterizasyonu bilinmemektedir. Serin hidrolazların araştırıldığı çalışmalarda, ABDH proteinlerinin diğer alt-üyeleri ile ilgili işlevi, substratları ve ürünleri belirlenmiş olsa da (119-121) *ABDH16A* olarak *BAT5*'in rolü halen bilinmemektedir. HEK293T hücrelerinde yapılan bir *in vitro* çalışmada, *ABDH12* gibi *BAT5*'inde yüksek etki ile beyin serin hidrolazlarından diaçilgliserol lipaz enzim inhibitörü olarak tetrahidrolipstatin (THL) tarafından inhibe edildiği tespit edilmiştir (120).

Araştırmalarda *BAT5*'in, major doku uygunluk kompleksi (MHC) molekülleri sınıf III içerisindeki bir gen kümesine ait bulunması *BAT5*'in, bağışıklığı düzenleyebileceğine işaret etmektedir (122, 123). İnsanlarda, *BAT5* gen polimorfizminin Kawasaki hastalığı (çocuklukta görülen lenf damarı hastalığı) ve koroner arter anevrizması ile ilişkisi bulunmuştur (124). Domuzlarda yapılan bir çalışmada, *BAT5*'deki tek bir nükleotid polimorfizminin sırttaki yağ kalınlığı ile ilişkisi bulunmuştur (98). *ABHD16A* (*BAT5*) geni tarafından kodlanan 63kD'luk proteinin biyokimyasal ve farmakolojik özelliklerinin karakterize edildiği bir *in vitro* çalışmada, insan *BAT5*'in sadece diaçilgliserol (DAG), triaçilgliserol (TAG) veya lizofosfolipaz aktivitesine sahip olduğu ve hormona duyarlı lipaz inhibitörlerden etkilendiği belirlenmiş olup, *BAT5*'in *in vivo* olarak gliserolipid metabolizmasını düzenleyebileceğini düşündürmüştür (126).

Cai ve arkadaşlarının bir lncRNA olarak tanımladığı *BAT5*'in kodlamayan RNA transkriptinin, koroner arter hastalığında (KAH) artan ifade düzeyleri sebebi ile aday bir biyobelirteç olarak değerlendirilmiştir (118). Sonuçta, çok sayıda transkript varyantı

olan BAT5'in özellikle lipid metabolizması ile ilişkisi ve Cai ve arkadaşlarının elde edilene dayanarak (118), bu araştırma kapsamında incelenmesi planlanmıştır.



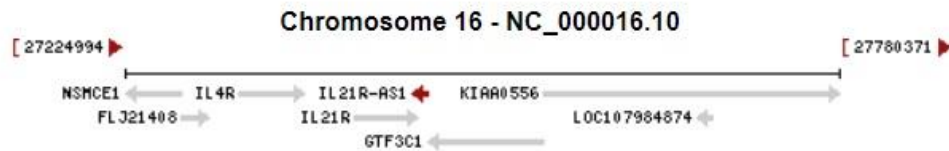
Şekil 2-6 BAT5'in 16 adet transkript varyantları

Şekilde, en üst skala kromozomal lokalizasyonu; sarı transkriptler, protein kodlayan varyantları (2 adet 525 aa ve 558 aa kodlayan) ; içi dolu mavi transkriptler, küçük proteinleri kodlayan varyantları (2 adet 46 aa ve 4 adet 65 aa kodlayan); içi boş mavi transkriptler, kodlamayan varyantları (380 ile 1319 baz çifti arasında 8 adet); kırmızı transkript, AL662899.1 adlı klon-temelli bir ensembl gen transkriptini (22 ekzonlu, 63 aa kodlayan) göstermektedir. Mavi ok transkripsiyon yönüne işaret etmektedir.

([https://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Gene/Splice?db=core;g=ENSG00000204427;r=6:31686949-31703444](https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Splice?db=core;g=ENSG00000204427;r=6:31686949-31703444) sitesinden alınmıştır.)

### 2.3.2.2. IL21R-AS1

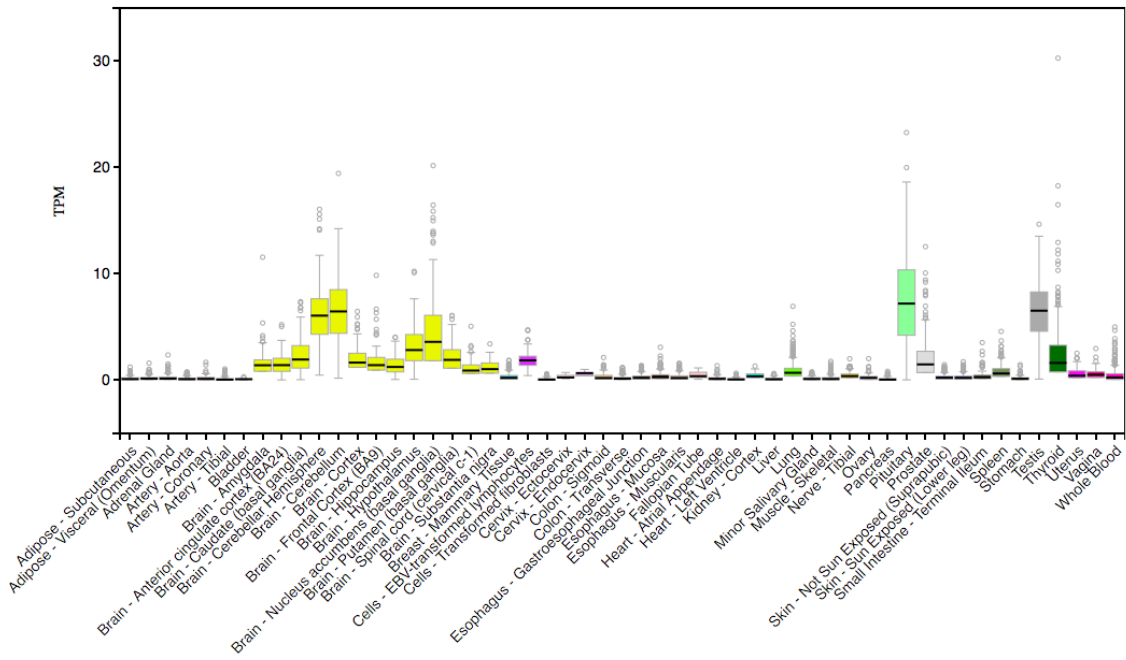
IL21R antisense RNA 1 geni, 16. Kromozomda lokalizedir (Şekil 2.7) ve 3 ekzona sahip olup tek bir transkripti mevcuttur. Gen kimlik nosu: 283888 (İng., "Gene ID") olan bu gen, aynı genomik lokalizasyonda interlökin 21 reseptör (IL21R) geninin 3'- ucunda antisens yönelimli olarak transkribe olmaktadır.



Şekil 2-7 IL21R-AS1'in kromozomal lokalizasyonu

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/283888#gene-expression>) sitesinden alınmıştır.)

IL21R-AS1 adlı lncRNA'nın ilişkili olduğu moleküller ve işlevi halen bilinmemektedir. Dokulara göre ifade düzeyleri karşılaştırıldığında beynin tüm yapılarında (sarı barlar), EBV transforme lenfositlerde (pembe), hipofizde (ing. "Pituitary", yeşil), prostat ve testiste (gri barlar) ve tiroide (koyu yeşil) ifade düzeyinin arttığı Şekil 2.8'de gösterilmektedir.



**Şekil 2-8** IL21R-AS1'in dokular arasında ifade düzeylerinin karşılaştırılması

(<https://www.gtexportal.org/home/gene/IL21R-AS1> sitesinden alınmıştır.)

Cai ve arkadaşlarının yaptığı KAH ile ilişkili transkriptomik çalışmasında, artmış ifade düzeyi olan bir diğer aday lncRNA'lardan biri olan IL21R-AS1 adlı lncRNA'nın 2.5 kat arttığı, daha fazla koroner arter hastasında (n=20) sağlıklı kontrollere göre 2.2 kat artmış ifade düzeylerine sahip olduğu valide edilmiştir (118). Yapısal ve işlevsel rolü ile ilgili yeterince bilgi mevcut olmasa da ateroskleroz patogenezinde düzenleyici role sahip olabilir. Bu araştırma kapsamına, daha geniş bir AKS grubunda IL21R-AS1 ifade düzeylerinin belirlenmesi için aday lncRNA olarak dahil edilmiştir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hasta Seçimi ve Örneklerin Toplanması

Araştırmaya dahil olan hastalar, Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Kliniği, İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü, Kardiyoloji Anabilim Dalı ve Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı ekipleri tarafından çalışma kriterlerine uygun ve bilgilendirilmiş onam ile rızası alınmış vakalardır. Araştırmaya katılan toplam 228 bireyden temin edilen örnekler, Ocak 2016-Aralık 2017 tarihleri arasında toplanmıştır.

#### **Koroner Arter Sendromlu Hasta Grubunun Durumu:**

İlgili kliniklerde AKS tanısında; 20 dakikayı aşan tipik göğüs ağrısı, yeni başlayan şiddetli göğüs ağrısı (Kanada Kardiyovasküler Topluluğu sınıflandırmasına göre en az sınıf III), daha önceden kararlı olan anjina pektorisin kararsız hale gelmesi ve elektrokardiyografide iskemik değişiklikler (iki ya da daha fazla komşu derivasyonda >0.5 mm ST segment çökmesi, iskemik T negatifliği) kriterleri dikkate alınmıştır.

Vakalarda, selektif koroner anjiyografi femoral perkütan yolla gerçekleştirilmiştir. Sol ön inen arter (LAD) ve sirkumfleks arter (Cx) en az dört pozda, sağ koroner arter (RCA) en az iki pozda değerlendirilmiştir. Vakalardaki aterosklerozun yaygınlığı ve plak yükü anjiyografik görüntülerde değerlendirilmektedir ve lezyonların derecesine ve yerleşimine göre Gensini ve SYNTAX skorlamaları ile puanlanmıştır. Bu skorlamada hastanın rüptüre yatkın kulprit lezyonunun derecesi ve lokalizasyonunun yanı sıra diğer aterosklerotik darlık ve plaklarına da puan verilmektedir. Puanlama yapılırken <25 darlıklara 2 puan, %26-50 darlıklara 4 puan, %51-75 darlıklara 8 puan, %76-90 darlıklara 16 puan, %91-99 darlıklara 32 puan ve total oklüzyonlara 64 puan verilmektedir. Daha sonra bu puanlar her bir ana koroner arter ve her bir segment için tanımlanmış olan katsayı ile çarpılmakta ve sonuçlar toplanmaktadır. 20 puan ve üzeri değerler ciddi koroner arter hastalık olarak değerlendirilmektedir (127).

Gensini ve SYNTAX skorları, İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü, Kardiyoloji Anabilim Dalında AKS tanısı alan 68 hasta ile Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalında AKS tanılı cerrahi by-pass orerasyonu yapılan 64 hastada hesaplanmıştır. Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Kliniğinde AKS tanılı 62 hastada bu skorlar hesaplanamamıştır.

### **AKS Grubunun Durumu:**

EKG verilerine göre ST yükselmesi olan miyokard enfarktüsü (MI) geçirmiş vakalar (STEMI), kardiyak biyobelirteçleri yüksek ama ST-yükselmesiz MI vakaları (NSTEMI), kararsız anjina pektoris (UAP) ya da tüm bunların dışındaki seçilmiş kontrolü de kapsayan bireylerin dahil olduğu (diğer) grup olarak 4 alt grupta sınıflandırma yapılmıştır. Diğer grup, Gensini ve SYNTAX skorlarına bakılmadan klinik takip dışı vaka olarak göğüs ağrısı şikayeti ile acile başvurmuş ve aortik veya mitral kapak bozukluğu nedeni ile opere olmak üzere başvuran ancak koroner anjiyografi ile ateroskleroz değerlendirmesi yapılmış bireylerin tümünü kapsamaktadır.

### **Seçilmiş Kontrol Grubunun Durumu:**

İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü, Kardiyoloji Anabilim Dalında takip dışı vaka olarak göğüs ağrısı şikayeti ile acile başvuran ve Gensini ve SYNTAX skoru 4 ve altında olan 12 vaka ile Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalında aortik veya mitral kapak bozukluğu nedeni ile ameliyat olup Gensini ve SYNTAX skoru 8 ve altında olan 20 vaka kontrol grubu olarak (toplamda 32 kişi) değerlendirilmiştir. Seçilmiş gruptaki lncRNA ifade düzeyleri, rölatif kantitasyon hesabında ortalaması alınarak kalibratör olarak kullanılmıştır.

Ateroskleroz daha önce genel bilgilerde detaylı olarak bahsedildiği şekilde erken yaşlarda başlamakta ve tüm arterlerde değişik derecelerde gelişebilmektedir. Bu nedenle bu tez kapsamında, araştırılan 228 vakanın klinik tanı ve risk faktörleri göz önüne alınarak kendi içinde gruplandırılarak istatistiksel incelemeleri yapılmıştır.

### **Vakaların araştırmaya dahil olmama kriterleri;**

Aktif enfeksiyon, malignite, kas iskelet tutulumu olan kronik hastalıklar gibi eşlik eden hastalık öyküsü bulunan, invaziv girişimi kabul etmeyen veya koroner anjiyografi açısından kontrendikasyonu olan, ateroskleroz gelişmiş romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, antifosfolipid sendromu içine alan çeşitli sistemik otoimmün veya kronik inflamatuvar hastalığın bir arada bulunduğu belirlenen, kronik böbrek yetersizliği bulunan, son iki hafta içinde serebrovasküler olay, travma veya cerrahi öyküsü olan, kardiyopulmoner canlandırma (KPC) yapılan, son iki hafta içinde fibrinolitik tedavi ve perkütan koroner girişim geçirmiş hastalar çalışmadan dışlanmıştır.

Tüm vakalardan klinik takip ve tedavilerinin yapıldığı birimlerde EDTA'lı ve kuru tüplere alınan periferik kan örnekleri uygun şartlarda genetik laboratuvarına transfer edilmiştir.

Alınan EDTA'lı tüplerdeki kanlar, soğuk zincirde transfer edilmiş ve en geç 4 saat içinde Gey's solüsyonu ile lökositlerine ayrılmıştır ve trizolde çözülerek RNA izolasyonuna kadar saklanmıştır. Homojenatlardan RNA izole edildikten sonra cDNA sentezi yapılmış ardından kantitatif eş-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) ile uzun kodlamayan RNA adaylarının ifade düzeyleri belirlenmiştir.

## 3.2. MATERYALLER

### 3.2.1. Kimyasallar ve Aletler

Bu çalışmada kullanılmış olan kimyasalların listesi Tablo 3-1'dedir.

**Tablo 3.1** Kullanılan Kimyasallar ve Kullanım Yerleri

<b>Kimyasal Adı</b>	<b>Kullanım Yeri</b>
0.5 M EDTA (Multicell)	Çözelti Hazırlama
1 M Tris (Multicell)	Çözelti Hazırlama
Potasyum Bikarbonat (Merck)	Çözelti Hazırlama
Amonyum Klorür (Merck)	Çözelti Hazırlama
%75'lik etanol (Sigma)	RNA izolasyonu
DEPC (Dietil Pirokarbonat) (Sigma)	RNA izolasyonu
%100'lük izopropanol (Sigma)	RNA izolasyonu
PBS Tablet (BIOMATİK)	RNA izolasyonu
Kloroform (Merck)	RNA izolasyonu
Agaroz (PRONA)	Jel Hazırlama
Trizol (Qiagen)	RNA izolasyonu

Bu çalışmada kullanılmış olan cihazların listesi Tablo 3-2'dedir.

**Tablo 3.2** Kullanılan Aletler ve Kullanım Yerleri

<b>Aletler</b>	<b>Kullanım Yeri</b>
Santrifüj (Heraus)	RNA izolasyonu ve diğer çalışmalar
Mikrosantrifüj (Eppendorf)	RNA izolasyonu ve diğer çalışmalar
Mikropipetler (Eppendorf)	RNA izolasyonu, RT-PZR, PZR ve diğer işlemler
Vortex (Kermanlar)	RNA izolasyonu
LightCycler 480 Cihazı (Roche)	RT-PZR
PZR kabini (Özkara Çelik)	RT-PZR, PZR
Hassas Terazı (Shimadzu)	Çözelti Hazırlama
Spektrofotometre (Thermo Scientific nanodrop 2000)	RNA ölçümü
Mikrodalga fırın (Vestel)	Çözelti Hazırlama
Buzdolapları ve derin donduruculars (+4 °C, -20 °C, -80 °C) (Bosch, Uğur, Thermo)	Solüsyon, örnek muhafaza edilmesi

### 3.2.2. Çözeltiler

#### **10X Gey's Tamponu (155mm NH<sub>4</sub>Cl, 10mm KHCO<sub>3</sub>) Hazırlama**

82.91 g NH<sub>4</sub>Cl

10,01 g KHCO<sub>3</sub>

Tartılır ve beher içine konulur. 1 litre DEPC'li su ile tamamlanır. Manyetik karıştırıcı ile çözülür. Otoklavlanır. Oda sıcaklığında muhafaza edilir.

#### **1X Gey's Tamponu Hazırlama**

Hazırlanan 10X Gey's Bufferdan 100 ml alınır. 1 litre olacak şekilde üzeri DEPC'li suyla tamamlanır. Oda sıcaklığında muhafaza edilir.

#### **50X TAE (Tris-Asetik Asit- EDTA) Solüsyonu**

Tris baz, 242.0 g

Glasiyal Asetik Asit, 57.1 ml

EDTA (0.5M, pH 8.0), 100.0 ml ya da 18.61 gr (karışıma en son eklenir.)

dH<sub>2</sub>O ile 1000 ml'ye tamamlanır. Ve manyetik karıştırıcıda iyice karıştırılarak çözülür. 120°de 15dk otoklavlanır. Oda ısısında saklanır.

### **1X TAE (Tris-Asetik Asit-EDTA) Solüsyonu**

50X'lik TAE solüsyonundan 20 ml alınır. dH<sub>2</sub>O ile 1000 ml'ye tamamlanır. Alt üst edilerek iyice karışması sağlanır.

### **%2'lik Agaroz Jel Hazırlama**

1X TAE'den 50 ml bir beher içerisine alınır. Üzerine hassas terzi yardımı ile tartılan 1g agaroz eklenir. Karıştırılır. Mikrodalga fırında orta sıcaklıkta yaklaşık dört dakika ısıtılıp agarozun iyice çözünmesi sağlandıktan sonra üzerine 2.5 µl EtBr (0,5 µg/ml) eklenir.

### **1X PBS Solüsyonu Hazırlama**

100 ml suyun içinde PBS tableti atılır ve iyice çözünmesi sağlanır.

## **3.3. Kullanılan Yöntemler**

### **3.3.1. Periferik Kandan Total RNA İzolasyonu**

#### **Gey's Buffer İle Hücre Ayırma**

Kan EDTA'lı tüplere alındıktan sonra 4 saat içinde Gey's solüsyonu ile hücre ayırma işlemi yapılmalıdır. İlk olarak gelen kanın iki katı kadar 1X Gey's tamponu kanın üzerine eklenir. Alt üst edilerek karıştırılır. Daha sonra +4°C'de 20 dakika bekletilir. 1500 rpm de 10 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilir. Süpernatant dökülür ve pellet dikkatlice dağıtılır. Dağılan pelletin üzerine ilk gelen kan miktarı kadar Gey's tamponu eklenir. Karıştırılır. 1500 rpm de oda ısısında 10 dakika boyunca tekrar santrifüj edilir.

Pelleti görerek süpernatant dökülür. Pellet dağıtılır. Üzerine 1 ml PBS eklenir. 1500 rpm de 5 dakika boyunca santrifüj edilir. Süpernatant dökülür. Pellet korunur. Pelletin üzerine 800µl trizol (buz üzerinde) ile pellet homojenize edilir. Örnek -80°C derin dondurucuda saklanır.

### **3.3.2. Trizolden RNA İzolasyonu**

Önceden trizolde çözünen vakaların lökosit örnekleri, -80°C'den alınır ve buz üzerinde tüm örnekler çözünmesi beklenir. Örneklerin üzerlerine +4°C'deki



kloroformdan 160 µl eklenir. Mikrosantrifüj tüpler, 15 saniye boyunca vortekslenir. Bu üzerinde 3 dakika bekletilir. 12000 G de +4°C'de 20 dakika boyunca santrifüj edilir. Aköz fazları dikkatlice yeni 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplere alınır. Alınan üst faz kadar 1:1 oranında soğutulmuş %100'lük izopropanol eklenir. İyice çalkalanır. Örnekler -20°C'de gece boyunca bekletilir. Daha sonra 12000g'de 10 dk +4°C'de santrifüj edilir. Pellete dikkat edilerek süpernatant kısmı dökülür. Pelletin üzerine DEPC'li suyla hazırlanmış %75'lik soğutulmuş etanolden 1 ml eklenir. Pelletin dipte kalması dikkat edilerek pellet alt üst edilir. 9000g'de +4°C'de 5 dakika boyunca santrifüj edilir. Süpernatant kısmı dikkatlice alınarak atılır temiz bir filtre kağıdına ters çevrilerek pelletin kuruması sağlanır. Alkolden tamamen arınmış ve kurumuş pelletin üzerine 50 µl RNase Free su eklenir ve iyice çözünmesi için pipetaj yapılır. 20-25 dakika buz üzerinde bekletilir. -80°C derin dondurucuda muhafaza edilir.

### 3.3.3. RNA saflığı ve miktarının ölçümü

İzole edilen RNA'nın konsantrasyonlarının belirlenmesi ve protein ve kimyasal kontaminasyonu olup olmadığının öğrenilmesi için nanodrop cihazı kullanılmıştır. RNA konsantrasyonları, 260/280 ve 260/230 oranları kontrol edilerek not edilir. 260/280 oranı, RNA'daki protein kirliliğini göstermektedir. Bu değer optimal 1,6-2,0 arasında olması önerilmektedir. 260/230 oranı kimyasal kirliliği göstermektedir, yine aynı şekilde 1.6-2.0 aralığında olması önerilir, çok düşük oran ortamda yüksek oranda kimyasal kirliliğin olduğunu göstermektedir.

### 3.3.4. cDNA Sentezi

-80°C'de saklanan total RNA'lar BIORAD iScript™ cDNA Sentez Kiti kullanılarak cDNA sentezi yapılmıştır. cDNA sentezi için kullanılan protokol Tablo 3.3'de verilmiştir.

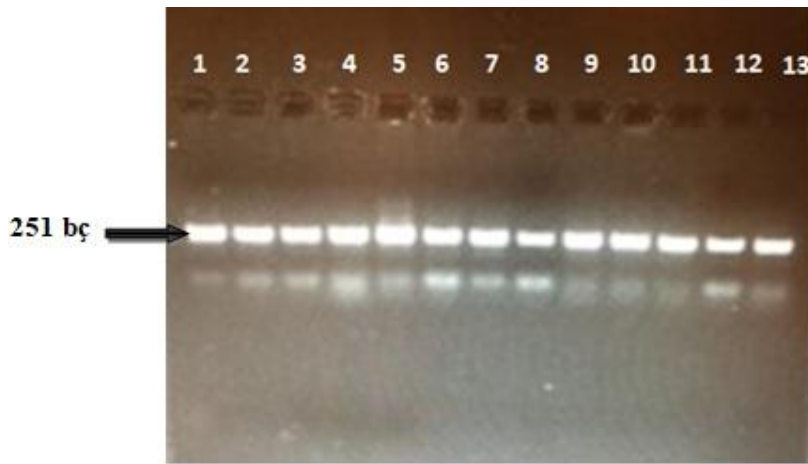
-80°C'den alınan total RNA'lar buz üzerinde bekletilerek çözünmesi sağlanmıştır. İlk aşamada RNA'lar 1000 ng/µl olacak şekilde ayarlandı. Uygun RNA miktarlarının üzerine totalde 15µl olacak şekilde nükleazsız su eklendi. İkinci aşamada ise ters transkriptaz enzimi ve reaksiyon miksinden oluşan karışımdan her bir örnek için 5 µl ilave edildi. Pipetaj yapılarak iyice karışması sağlandı. Hazırlanan bu örnekler; 25°C'de 5 dakika, 42°C'de 30 dakika, 85°C'de 5 dakika, 4°C'de inkübe edilmiştir. Sentezlenen cDNA'lar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

**Tablo 3.3** cDNA sentezi için reaksiyon koşulları

BIORAD iScript™ cDNA Sentez Kiti	
Reaksiyon bileşenleri	Her bir örnek için
5X iScript Reaksiyon miksi ----->	4 µl
iScript ters transkriptaz----->	1 µl
Nükleazsız su ----->	x µl
RNA ----->	x µl

### 3.3.5. Sentezlenen cDNA'ların Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Belirlenmesi

Total RNA'dan sentezlenen cDNA ürünlerinin elde edilip edilmediğini kontrol etmek amacıyla b-aktin kontrol PZR'ı yapılmıştır. Sentezlenen tüm cDNA'ların PZR'ı yapılarak %2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. Böylece PZR ürünlerinin değerlendirilmesi sağlandı. Şekil 3.1'de elektroforez sonucunda UV altında incelenen jelin görüntüsü verilmiştir.



**Şekil 3-1** B-aktin Kontrol PZR Sonucunun %2'lik Agaroz Jel Elektroforezi ve UV ile Görüntülemesi

### 3.3.6. *BAT5* ve *IL21R-AS1* Transkriptleri için Kullanılan Primerlerin Kontrolü

Cai ve arkadaşlarının koroner arter hastalığında (KAH) ilişkili buldukları *BAT5* ve *IL21R-AS1* lncRNA'ların (118) kantitatif RT-PZR ile konfirmasyon çalışmasında kullandıkları primer çiftlerinin (Tablo 3.4) ilgili veritabanlarında kontrolü yapılmıştır.

**Tablo 3.4** Kullanılan genlere ait primer dizileri

GEN ADI	İleri Yönlü Primer F (5'-3')	Ters Yönlü Primer R (5'-3')
<i>BAT5</i>	ATTCCAGCTCCTGGGTTACTTG	TCCGATGTGTTGCTTCCAAGA
<i>IL21R-AS1</i>	CTGGTTCTTGTAGCTCCGTG	CTCACCTTACCCTCATCCTGTG
<i>B-AKTİN</i>	GACCCAGATCATGTTTGAGACC	TGGTGGTGAAGCTGTAGCC

*BAT5* primerleri için Blast veritabanı kullanıldığında, %100 homoloji ile uyumlu olarak aşağıdaki kodlamayan RNA transkript dizisi üzerinde ileri (kırmızı) ve geri (mavi) primerler aşağıdaki şekilde işaretlenmiştir.

#### **Homo sapiens abhydrolase domain containing 16A (ABHD16A), transcript variant 4, non-coding RNA**

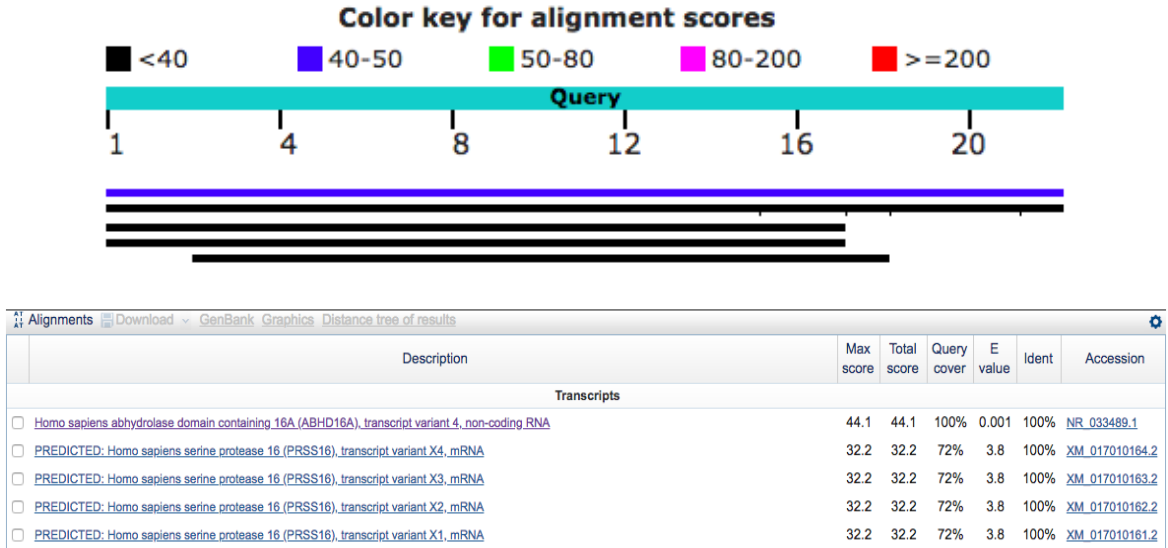
NCBI Referans Dizi: NR\_033489.1

```

1 acacaacacc tcagaggcag ggagggcggg gccggcaggg ggacctgctg ctggaagagc
61 agcggcccga gccggggcca tggcgaagct gctgagctgc gtctaggcc cccggctcta
121 caaatctac cgggagaggg actctgaaag ggccccggcc agcgtccctg agacgccaac
181 ggcagtcact gccccccatt ccagctcctg ggftacttga gttgtccaa agtggtgcc
241 gttttcact atgctgggac attgctgcta cttctggcag gtgtggcctg cctccgaggc
501 attggccgct ggaccaacc ccagtaccgg cagtcatca ccactftgga agcaacacat
561 eggaaccagt cttcagaaaa caagaggcag ctgccaact acaacttga ctccggagc
421 tggccagtcg acttccactg ggaagaacc agcagccgga aggagtctcg agggggccct
481 tcccggggg gtgtggccct gcttcgcca gagcccctgc accgggggac agcagacacc
541 ctctcaacc gggtaagaa gctgccttgt cagatcacca gctacctggt ggcgcacacc

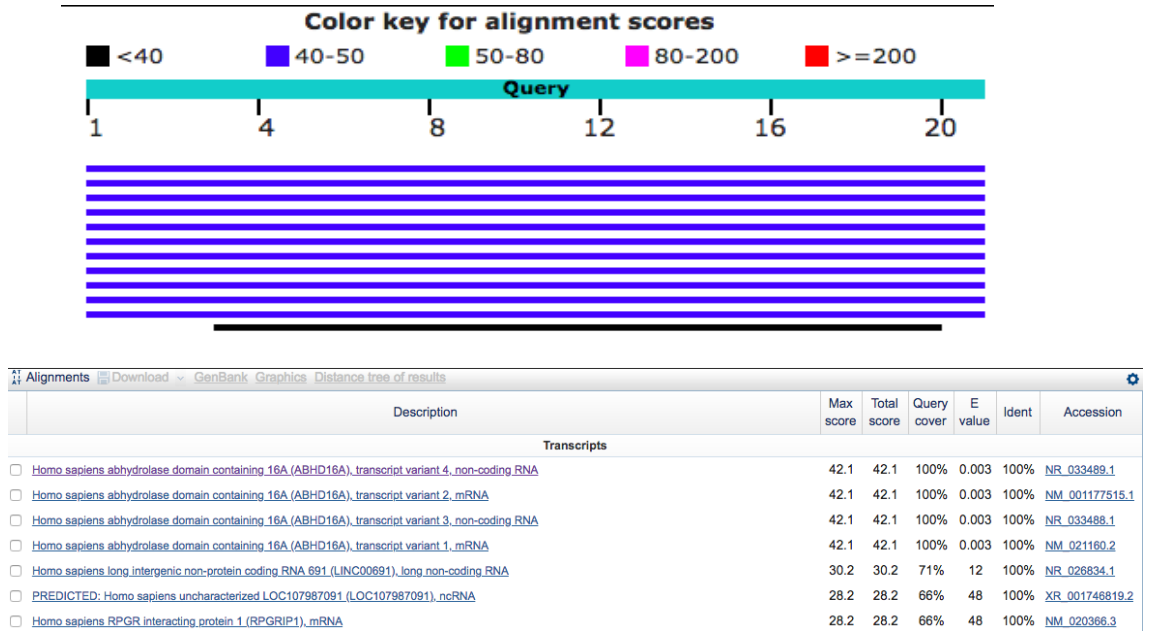
```

*BAT5* ileri primerinin NCBI Blast veritabanında homoloji gösterdiği transkript varyantı (Şekil 3.2), ENSEMBL veritabanında ABHD16A-214 ENST00000495769.5 transkriptine denk gelmektedir.



Şekil 3-2 BAT5 ileri primer dizisinin NCBI Blast veritabanında homoloji sonucu

BAT5 geri primerinin NCBI Blast veritabanında homoloji gösterdiği transkript varyantları Şekil 3.3’de gösterilmektedir.



Şekil 3-3 BAT5 geri primer dizisinin NCBI Blast veritabanında homoloji sonucu

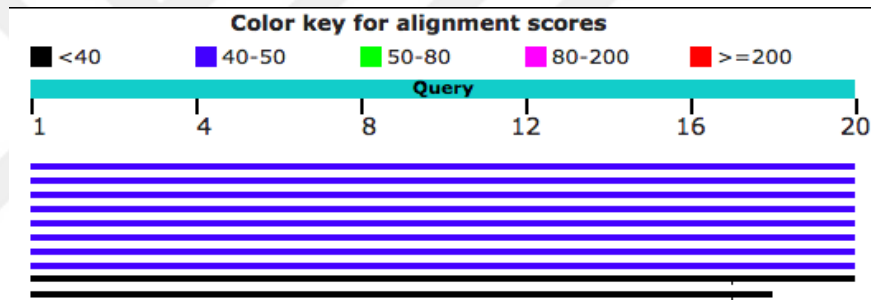
IL21R-AS1 primerleri için Blast veritabanı kullanıldığında %100 homoloji ile aşağıdaki kodlamayan RNA transkript dizisi üzerinde ileri (kırmızı) ve geri (mavi) primerler aşağıdaki şekilde işaretlenmiştir.

**Homo sapiens IL21R antisense RNA 1 (IL21R-AS1), long non-coding RNA**

NCBI Referans Dizisi: NR\_037158.1

1501 ggccgatagg ccgatccctc tcctactgt aagctgagcc ccccagttc tgggctgtcg  
 1561 gccagaagct gggctgggc acaccgtcag actccaccag ctctg**ctggt tctttagct**  
 1621 **ccgtg**agctg cagcctcttg gccgggctcc gtgggggtg gcagctgtac acctccaggg  
 1681 tggagggcac ctctgggctc cagggtccca gctccaggct ggagccagtg aagggtgcac  
 1741 ccaccattt ctgtgagaga gaaaaagaga gactcatagc **acaggatgag ggtaaggtga**  
 1801 **gggtttatt** tcttttact ttattcttt tgagacagtc tggtctgtct gccaggctg  
 1861 gaatgcagtg gtccatctc ggttactgc aacctctgcc tccaggatc aagtattct

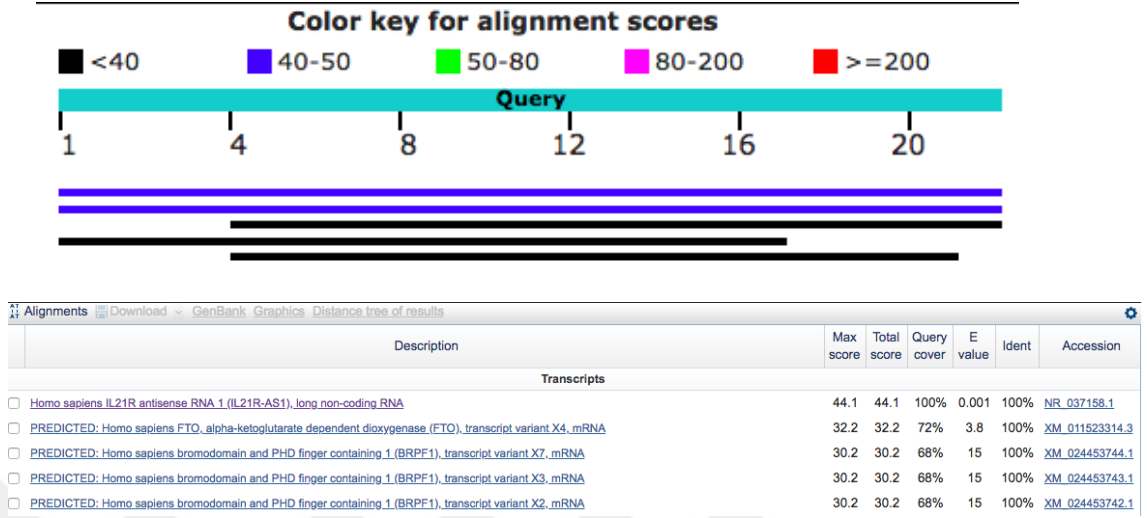
IL21R-AS1 ileri primerinin NCBI Blast veritabanında ilk sırada %100 homoloji gösterdiği transkript (Şekil 3.4), ENSEMBL veritabanında IL21R-AS1-201 ENST00000563191.1 transkriptine denk gelmektedir.



Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<b>Transcripts</b>						
<input type="checkbox"/> Homo sapiens IL21R antisense RNA 1 (IL21R-AS1), long non-coding RNA	40.1	40.1	100%	0.009	100%	NR_037158.1
<input type="checkbox"/> PREDICTED: Homo sapiens interleukin 21 receptor (IL21R), transcript variant X3, mRNA	40.1	40.1	100%	0.009	100%	XM_011545858.3
<input type="checkbox"/> PREDICTED: Homo sapiens interleukin 21 receptor (IL21R), transcript variant X2, mRNA	40.1	40.1	100%	0.009	100%	XM_017023257.2
<input type="checkbox"/> PREDICTED: Homo sapiens interleukin 21 receptor (IL21R), transcript variant X1, mRNA	40.1	40.1	100%	0.009	100%	XM_011545857.3
<input type="checkbox"/> Homo sapiens interleukin 21 receptor (IL21R), transcript variant 3, mRNA	40.1	40.1	100%	0.009	100%	NM_181079.4
<input type="checkbox"/> Homo sapiens interleukin 21 receptor (IL21R), transcript variant 1, mRNA	40.1	40.1	100%	0.009	100%	NM_021798.3
<input type="checkbox"/> Homo sapiens interleukin 21 receptor (IL21R), transcript variant 2, mRNA	40.1	40.1	100%	0.009	100%	NM_181078.2
<input type="checkbox"/> PREDICTED: Homo sapiens zinc finger DHHC-type containing 6 (ZDHHC6), transcript variant X6, mRNA	30.2	30.2	75%	9.1	100%	XM_017016566.2

Şekil 3-4 IL21R-AS1 ileri primer dizisinin NCBI Blast veritabanında homoloji sonucu

IL21R-AS1 geri primerinin NCBI Blast veritabanında ilk sırada %100 homoloji gösterdiği transkript Şekil 3.5’de gösterilmiştir.



Şekil 3-5 IL21R-AS1 geri primer dizisinin NCBI Blast veritabanında homoloji sonucu

### 3.3.7. Aday lncRNA’ların Lökositlerde Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Belirlenmesi

PZR yöntemi ile istenilen DNA bölgesinin in vitro şartlar altında ve çoğaltılması ve kopyalanmasını sağlanmaktadır. Bu çalışmada seçtiğimiz gen transkriptlerinin hem lökositlerdeki ifadesini belirlemek hem de optimizasyonu sağlayabilmek için konvansiyonel PZR yönteminden yararlanılmıştır. Seçtiğimiz 2 vakaya ait cDNA örnekleri kullanılarak uygun PZR koşulları (aşağıda belirtilen) altında hedef genlerin primerleri ile hedef dizileri çoğaltılıp (Tablo 3.5’de verilen miktarlar ile) %2’lik agaroz jelde yürütülmüştür. Böylece hedef genlerin primer dizileri için en uygun sıcaklığın belirlenmesi sağlanmıştır. Şekil 3.6’da agaroz jel elektroforezi sonucu verilmiştir.

PZR Koşulları;

95 °C’de 2 dakika

95 °C’de 1 dakika

59 °C’de 1 dakika

72 °C’de 1 dakika

72 °C’de 7 dakika

10°C’de 10 dakika

30 kez

**Tablo 3.5** Her bir örnek için PZR Ortamı

H <sub>2</sub> O	16 µl
10X BUFFER	2,5 µl
2,5 mM dNTP	1 µl
25 mM MgCl <sub>2</sub>	1,5 µl
2 mM Primer F	1 µl
2 mM Primer R	1 µl
Taq polimeraz	0,15 µl
cDNA	1 µl

**Şekil 3-6** Konvansiyonel PZR Sonucunun %2'lik Agaroz Jel Elektroforezi ve UV ile Görüntülemesi (M: Marker)**3.3.8. BAT5 ve IL21R-AS1 Gen İfadelerinin Kantitatif RT-PZR İle İncelenmesi**

Bu çalışmada vaka örnekleri, lncRNA adaylarının ifade düzeyleri kantitatif eş-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) ile belirlendi. *BAT5* ve *IL21R-AS1* geninin kodlamayan RNA transkriptlerinin ifade düzeyleri tüm araştırma grubunda araştırıldı. Bu lncRNA adaylarının ifade düzeylerinin normalizasyonu için endojen gen olarak  $\beta$ -aktin kullanılmıştır. Tablo 3.4'de genlere ait primer dizileri belirtilmiştir. qRT-PZR için florasan molekül olarak SYBR-Green (BIORAD) kullanılmıştır. Çalışma protokolü, kullanılan SYBR Green kitine göre LightCycler 480 cihazında dizayn edilmiştir. Her bir döngü için koşullar Tablo 3.6'da belirtilmiştir. qRT-PZR protokolü 45 döngüden oluşmaktadır. Yapılan optimizasyon çalışmalarından sonra, seçilen uzun kodlamayan RNA moleküllerinin primerlerine uygun bağlanma ısısı 61°C olarak

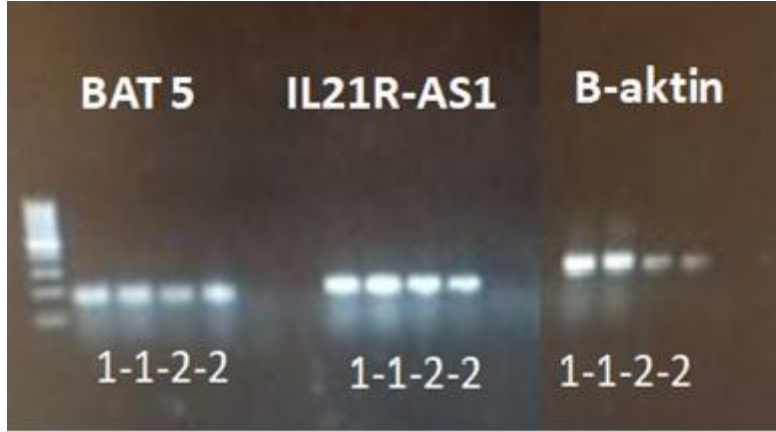
belirlenmiştir. Elde edilen qRT-PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir (Şekil 3.7).

**Tablo 3.6** qRT-PZR reaksiyon koşulları

<b>Program 1: Ön denatürasyon</b>	
Sıcaklık	Süre
95 °C	2 dakika
<b>Program 2: Amplifikasyon</b>	
Sıcaklık	Süre
95 °C	20 saniye
61 °C	10 saniye
72 °C	10 saniye
<b>Program 3: Erime Eğrisi</b>	
Sıcaklık	Süre
95 °C	5 saniye
65 °C	1 dakika
97 °C	-
<b>Program 4: Soğutma</b>	
Sıcaklık	Süre
40 °C	20 saniye

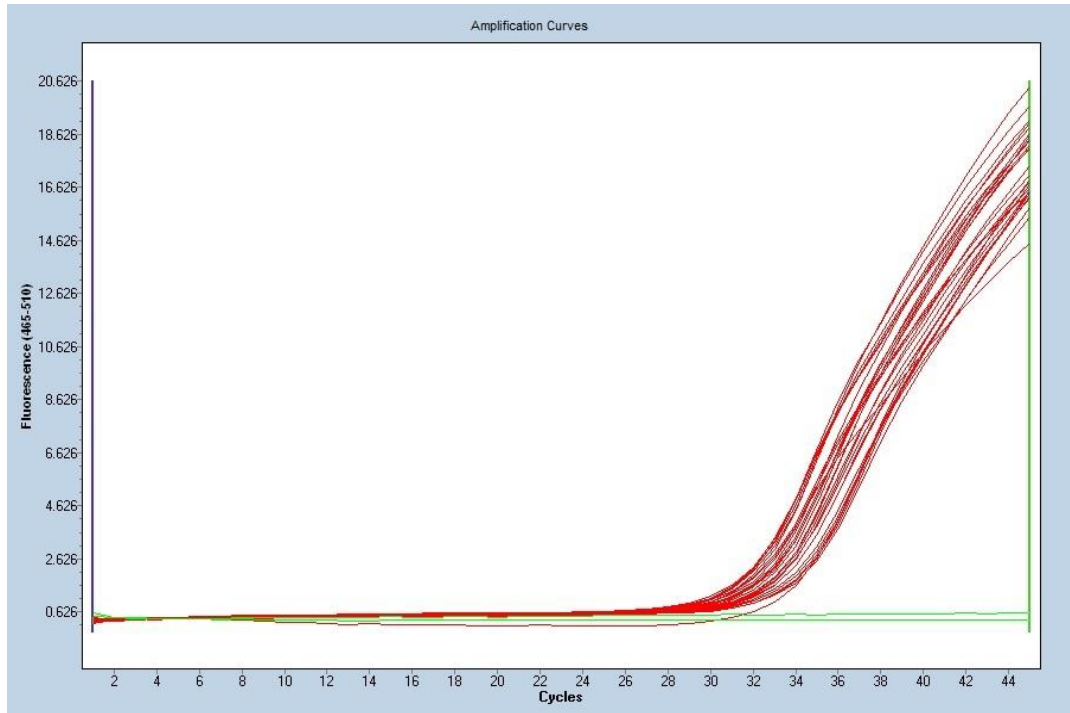
İlgili programın sonlanması ile LC480 cihazında “LC480 Software Release Absolute Quantification analysis” yazılımı ile analiz yapılarak CT değerleri hesaplandı.



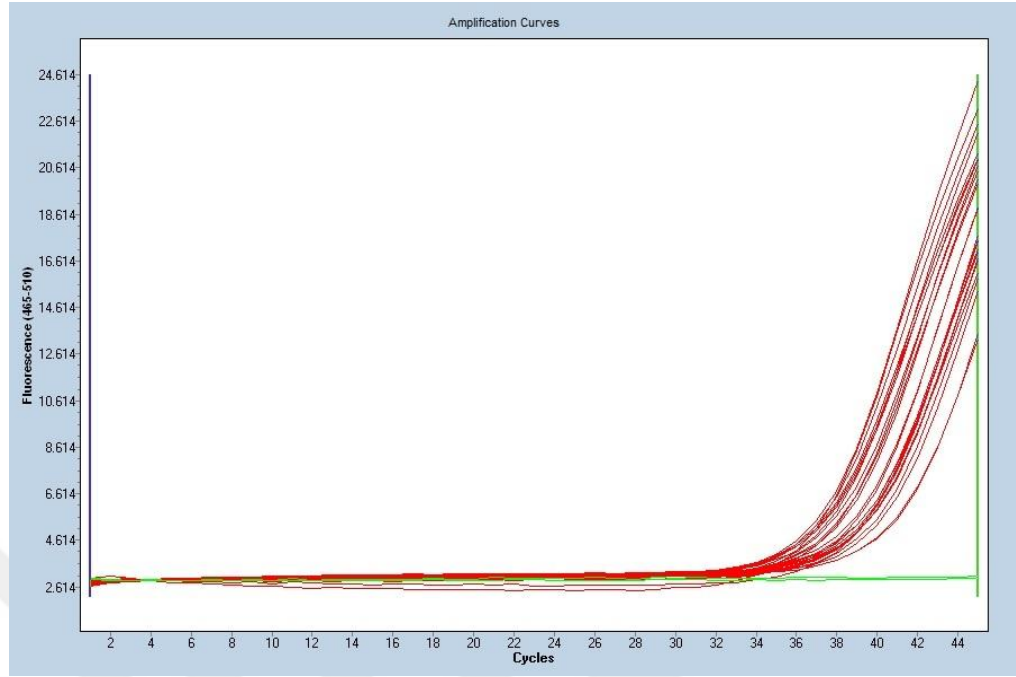


**Şekil 3-7** qRT-PZR Ürünlerinin %2'lik Agaroz Jel Elektroforezi ve UV ile Görüntülemesi (M: Marker)

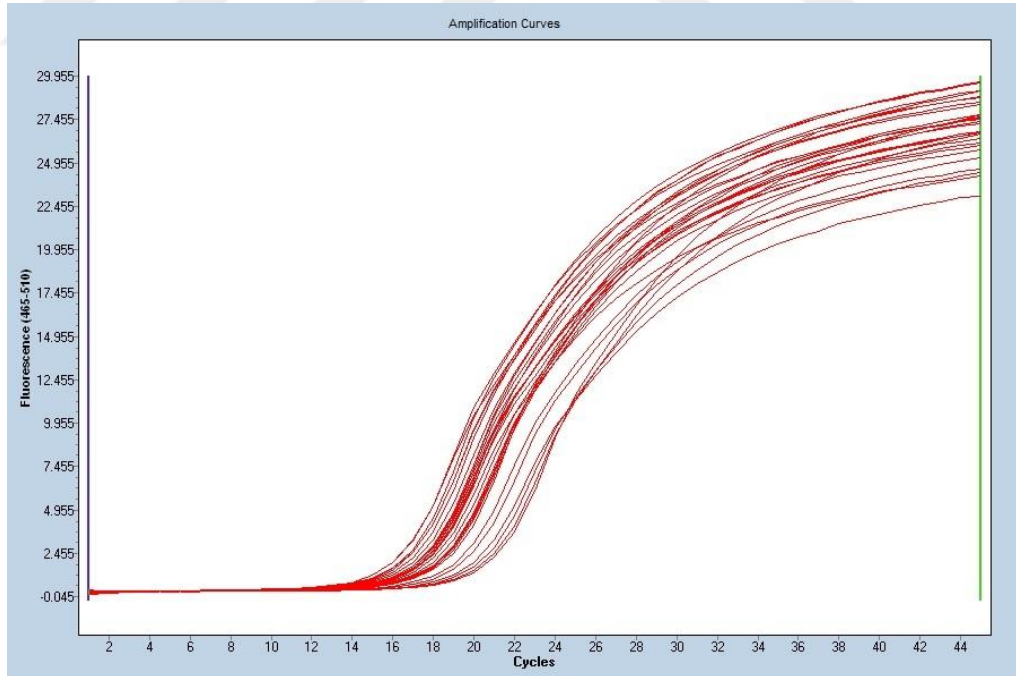
SYBR Green boyası DNA'nın çift zincirli sarmal yapısına bağlanarak, floresan ışığa sağlar. Bu şekilde çoğalma miktarının tespiti sağlanmaktadır. Çoğaltığımız bölgenin hedef bölge olup olmadığını erime eğrisi (Melting curves) analizi ile saptanır. Çalışmamızdaki hedef BAT5, IL21R-AS1 adlı lncRNA'lara ve endojen gen olarak kullanılan  $\beta$ -aktin genine ait çoğalma eğrisi grafiği sırasıyla şekil 3.8, şekil 3.9 ve şekil 3.10'da verilmiştir.



**Şekil 3-8** BAT5 kodlamayan RNA transkriptine ait çoğalma grafiği



Şekil 3-9 IL21R-AS1 transkriptine ait çoğalma grafiği



Şekil 3-10  $\beta$ -aktin transkriptine ait çoğalma grafiği

Rölatif kantitasyon hesabına alınan tüm örneklerin (n=228) B-aktin Ct ortalaması  $18.4 \pm 2.1$ , BAT5 Ct ortalaması  $34.1 \pm 2.7$  ve IL21R-AS1'nin Ct ortalaması  $35.6 \pm 2.7$  olarak belirlenmiştir. Bazı vaka örneklerinde BAT5 lncRNA'nın (n=7) ve IL21R-AS1 lncRNA'nın (n=79) daha nadir ifade edildiği gözlemlenmiş ve Ct değeri  $>40$  olan bu örnekler rölatif kantitasyon hesabına dahil edilmemiştir. Ancak istatistiksel analizlerde, BAT5 ve IL21R-AS1 için nadir ifade edilen örnekler kategorik sınıflandırma ile ayrı bir grup yapılarak değerlendirilmiştir.

### 3.3.9. Rölatif Kantitasyon (RK) Hesabı Yapılması

Her bir vakanın aday lncRNA transkriptleri (BAT5, IL21R-AS1, B-Aktin) için çift çalışılan Ct değerleri, PZR etkinliği için kontrol edildikten sonra excel dosyasına aktarıldı ve delta delta Ct metoduyla ifade düzeyleri hesaplandı. Her bir hedef genin Ct değeri endojen kontrol genin (B-Aktin) Ct değerinden çıkarıldı. Böylece delta Ct değeri bulundu. Seçilmiş kontrol grubunun (n=32) ortalama Ct değeri rölatif hesaplamada kalibratör olarak kullanıldı. Her bir delta Ct değerinden, bu kalibratör ortalama delta Ct değeri çıkartıldı. Böylece delta delta Ct değerine ulaşıldı. Çift çalışılan örneklerin Delta delta CT değerinin ortalaması alınarak bu değer  $2^{\Delta}$  den çıkartıldı. Bu şekilde rölatif kantitasyon değeri olan değişim katsayısı (RK) elde edilmiş oldu.

### 3.3.10. İstatistiksel Analiz

Araştırılan her lncRNA transkripti (BAT5 ve IL21R-AS1) için ayrı ayrı, hasta ve kontrollerdeki ifade düzeyleri, qRT-PCR'da endojen kontrol geni olarak B-Aktin ile kıyaslanarak elde edilen rölatif kantitasyon (RK; değişim katsayısı; "fold change" değerleri) değerleri belirlendi. Araştırma populasyonunda, BAT5 lncRNA için ifade düzeyleri çok az olduğu için hesaplanmayan vakalar (ve n=7) bulunduğundan rölatif kantitasyon değerlerine göre, yok=0, değişmemiş=1 (seçilmiş kontrol örneklerinin RK değeri ortalaması= $5.2 \pm 1$ ) , artmış=2 ( $>6.2$  RK) ve azalmış=3 ( $<4.2$  RK) olarak gruplandırma yapıldı.

Ayrıca, IL21R-AS1 lncRNA için ifade düzeyleri çok az olduğu için hesaplanmayan vakalar (ve n=79) bulunduğundan bu rölatif kantitasyon değerlerine göre, yok=0, değişmemiş=1 (seçilmiş kontrol örneklerinin RK değeri

ortalaması=1.6±1), artmış=2 (>2.6 RK) ve azalmış=3 (<0.6 RK) olarak gruplandırma yapıldı.

Araştırma grupları arasında lncRNA'ların ifade düzeylerinin normalliği, "Shapiro-Wilk" testi kullanılarak incelendi. Buna göre, ifade düzeyleri %95 güvenle normal dağılıma uymadığı belirlendi. Bu sebeple, 2'li gruplarda Mann-Whitney U testi, 2 ve üstü gruplar arasında karşılaştırma için Kruskal-Wallis testi ile analizler yapıldı. Klinik datalardaki sürekli değişkenler içinde normal dağılıma uyan veriler, ANOVA testi ile uymayanlar, Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Hastalar, gruplar arasında kategorik değişkenler  $X^2$  testi ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. lncRNA ifade düzeylerinin sürekli değişkenler ile korelasyonunda Sperman's testi kullanıldı. Korelasyon Katsayısı (r), 0.90-1.00 değer aralığında çok yüksek ilişkisi olduğu şeklinde değerlendirildi.

Analizlerde SPSS yazılımı (20.0 versiyonu, Chicago, IL) kullanıldı ve anlamlılık için  $p<0.05$  değeri kabul edildi.



#### 4. BULGULAR

3 merkezden araştırmaya dahil edilen 228 bireyin genel özellikleri Tablo 4.1’de özetlenmiştir. Çalışmamıza, Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Kliniği’nden 54’ü erkek 8’i kadın olmak üzere 62 kişi, İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsünden 65’i erkek 16’sı kadın toplam 81 kişi, Kardiyoloji Anabilim Dalı ve Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalından ise 55’i erkek 30’u kadından oluşan 85 kişi katılmıştır.

**Tablo 4.1** Araştırma katılımcılarının merkezlere göre dağılımı

<b>Genel Özellikler</b>	<b>Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Kliniği (n=62)</b>	<b>İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü, Kardiyoloji Anabilim Dalı (n=81)</b>	<b>İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı (n=85)</b>
<b>Yaş, yıl</b>	54.03±10.23	55.67±10.83	59.41±9.96
<b>Cinsiyet (E/K), n</b>	54/8	65/16	55/30
<b>AKS sınıflandırması (STEMI/NSTEMI/UAP /diğer), n</b>	60/2/0/0	24/24/21/12	7/13/23/42
<b>Vaka/seçilmiş kontrol</b>	62/0	69/12	65/20

Çalışmamıza katılan Bağcılar Kardiyoloji kliniğindeki MI vakaları dışındaki diğer vakalardaki ateroskleroz yaygınlığı ve plak yükü anjiyografik görüntülerde değerlendirilmiş ve lezyonların derecesine ve yerleşimine göre Gensini ve SYNTAX skorlamaları ile puanlanmıştır. Bu vakalar arasından seçilen aterom plak skoru düşük olan vakalar, seçilmiş kontrol grubuna dahil edilerek aday lncRNA’ların ifade düzeylerindeki değişim katsayıları buna göre hesaplanmıştır. Buna göre, çalışmamız öncelikle vaka ve seçilmiş kontrol grubu olarak ikiye ayrılarak analiz edilmiştir. İki grubun klinik ve demografik özellikleri Tablo 4.2’de verilmiştir. Bu gruplandırmada, vaka grubuna dahil edilenlerin (yüksek skorlu veya MI geçirmiş aterosklerotik hastaların) 158’i (%80.6) erkek, 38’i (%19.4) kadından olmaktadır.

Vaka ve seçilmiş kontrol grupları arasındaki klinik parametrelerin ortalamaları ve istatistik sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir. Çalışmaya katılan AKS’li hastaların yaş ortalaması  $56.7 \pm 10.5$  yıl iken, seçilmiş kontrol grubunun  $56.1 \pm 10.5$  yıl şeklindedir. İstatistiksel açıdan bakıldığında anlamlı bir sonuç bulunmamaktadır ( $p=0.774$ ). Vakalar ile seçilmiş kontrol grubu Gensini ve SYNTAX skoru açısından kıyaslandığında anlamlı bir farklılığa ulaşılmıştır ( $p<0.0001$ ). İstatistiksel açıdan temel biyokimyasal bir belirteç olan troponin seviyesi iki grup için kıyaslandığında da anlamlı bir sonuç gözlenmiştir ( $p=0.0001$ ). Vaka grubunda seçilmiş kontrol grubuna kıyasla plazma HDL ( $p=0.023$ ) ve SKB ( $p=0.030$ ) düzeyleri açısından anlamlı farklılık belirlenmiştir. Bunların yanı sıra BKİ, DKB, plazma lipidlerinden trigliserid, total kolesterol, LDL ile CRP, HbA1c, Glu, PT gibi antropometrik ve biyokimyasal özellikleri açısından anlamlı bir istatistiksel sonuç bulunmamıştır (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2** Araştırma popülasyonun ( $n=228$ ) vaka/seçilmiş kontrol gruplarının kıyaslaması

Özellik	Vaka Grubu ( $n=196$ )	Seçilmiş Kontrol Grubu ( $n=32$ )	P değeri
Cinsiyet (K/E)	38/158	16/16	0.0001
Yaş, yıl	$56.7 \pm 10.5$	$56.1 \pm 10.5$	0.774
BKİ, $\text{kg/m}^2$	$27.7 \pm 3.8$	$26.6 \pm 5.0$	0.235
MI (var/), n	130	0	0.0001
Gensini skor	$51.8 \pm 30.3$ ( $n=123$ )	$3.1 \pm 3.5$ ( $n=25$ )	0.0001
SNYTAX skor	$19.3 \pm 8.9$ ( $n=123$ )	$2.4 \pm 3.3$ ( $n=25$ )	0.0001
Troponin, $\text{ng/mL}$	$1.7 \pm 2.6$	$0.2 \pm 1$	0.0001
DKB, $\text{mmHg}$	$77.4 \pm 11.1$	$78.9 \pm 13.6$	0.547
SKB, $\text{mmHg}$	$123.2 \pm 13.6$	$116.4 \pm 16.8$	0.030
Trigliserid, $\text{mg/dL}$	$172.9 \pm 96.3$	$167.0 \pm 103.6$	0.761
Tkol, $\text{mg/dL}$	$190.1 \pm 47.0$	$194.7 \pm 44.3$	0.631
HDL, $\text{mg/dL}$	$39.0 \pm 10.9$	$44.1 \pm 12.3$	0.023
LDL, $\text{mg/dL}$	$126.1 \pm 41.5$	$124.6 \pm 37.8$	0.852
CRP, $\text{mg/dL}$	$12.2 \pm 21.6$	$9.2 \pm 13.8$	0.490
HbA1c, %	$6.8 \pm 1.9$	$6.5 \pm 1.7$	0.513
Glukoz, $\text{mg/dL}$	$121.8 \pm 43.0$	$117.1 \pm 40.9$	0.594
PT	$6.8 \pm 10.9$	$9.5 \pm 5.2$	0.160

Araştırma grubuna dahil olan 228 bireyin AKS sınıflamasına göre yapılan gruplamanın klinik parametreler açısından karşılaştırmaları Tablo 4.3’de verilmiştir. AKS sınıflandırması; klinik, EKG ve kardiyak biyobelirteçler açısından 4 alt grupta oluşturularak değerlendirilmiştir. 228 vakanın katıldığı bu çalışmada AKS sınıflandırması, EKG verilerine göre ST yükselmesi olan miyokard enfarktüsü (MI) geçirmiş vakalar (STEMI), kardiyak biyobelirteçleri yüksek ama ST-yükselmez MI vakaları (NSTEMI), kararsız anjina pectoris (UAP) tanılı vakalar ya da tüm bunların dışındaki seçilmiş kontrolü de kapsayan sebebi belirsiz göğüs ağrısı şikayeti ile acile başvuran ve aortik veya mitral kapak bozukluğu nedeniyle ameliyat geçirmiş bireylerin dahil olduğu (diğer) grup olarak 4 alt gruba ayrılmıştır. AKS sınıflandırmasına göre, STEMI (yaş; 54.2±10.3), NSTEMI (yaş; 58.3±11.9), UAP (yaş; 58.0±9.4), diğer (yaş; 58.4±10.3) olarak 4 alt gruba ayrıldığında, gruplar arasında SYNTAX skoru yönünden karşılaştırıldığında ANOVA testi sonucuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark varken ( $p=0.024$ ), sınırda bir Gensini skoru farkı belirlenmiştir ( $p=0.077$ ) (Tablo 4.3). AKS grupları, antropometrik ve biyokimyasal özellikleri açısından kıyaslandığında troponin, HDL ve PT değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır (sırasıyla  $p=0.0001$ ,  $p=0.001$ ,  $p=0.003$ ) (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3** Araştırmaya katılan tüm bireylerin (n=228) AKS gruplamasındaki klinik ve demografik parametreleri

<b>Özellik</b>	<b>STEMI</b> (n=91) <b>Ortalama±SD</b>	<b>NSTEMI</b> (n=39) <b>Ortalama±SD</b>	<b>UAP</b> (n=44) <b>Ortalama±SD</b>	<b>Diğer (n=54)</b> <b>Ortalama±SD</b>	<b>P</b> <b>Değeri</b>
<b>Cinsiyet (K/E)</b>	14/77	8/31	12/32	20/34	0.025
<b>Yaş, yıl</b>	54.2±10.3	58.3±11.9	58.0±9.4	58.4±10.3	0.043
<b>BKİ, kg/m<sup>2</sup></b>	27.6±3.6	27.5±3.2	27.2±3.3	27.6±5.2	0.974
<b>MI (var/), n</b>	91	39	0	0	0.0001
<b>Gensini skor</b>	50.4±30.6 (n=30)	48.7±30.9 (n=35)	45.8±27.9 (n=40)	32.8±39.3 (n=43)	0.077
<b>SYNTAX skor</b>	16.6±7.7 (n=30)	17.5±9.0 (n=35)	19.5±9.9 (n=40)	12.7±12.5 (n=43)	0.024
<b>Troponin, ng/mL</b>	3.3±3.1	0.8±1.2	0.1±0.2	0.1±0.8	0.0001
<b>DKB, mmHg</b>	75.0±5.6	79.7±19.4	78.6±6.5	7.1±11.6	0.603
<b>SKB, mmHg</b>	126.2±11.9	123.9±19.0	122.9±12.8	118.2±13.9	0.151
<b>Trigliserid, mg/dL</b>	160.8±89.2	168.6±88.4	183.6±101.9	176.4±108.1	0.688
<b>Tkol, mg/dL</b>	187.3±38.6	180.3±50.6	200.3±49.6	192.7±44.8	0.319
<b>HDL, mg/dL</b>	38.5±8.7	34.3±8.8	44.0±14.1	41.4±11.1	0.001
<b>LDL, mg/dL</b>	126.2±40.9	120.0±39.8	131.2±44.6	125.0±38.8	0.691
<b>CRP, mg/dL</b>	15.9±14.1	15.8±34.4	10.8±18.3	7.3±11.1	0.197
<b>HbA1c, %</b>	7.0±2.1	6.8±1.9	6.5±1.6	6.8±1.8	0.706
<b>Glukoz, mg/dL</b>	129.0±37.8	128.8±45.4	113.3±36.8	117.4±47.1	0.278
<b>PT</b>	4.2±14.7	7.7±6.3	9.1±4.9	10.2±4.4	0.003

Araştırmamıza dahil edilen bireylerin cinsiyete göre ayrıldıktan sonra AKS sınıflandırmasına göre yapılan gruplandırmada klinik ve demografik parametrelerin sonuçları erkek ve kadınlarda sırasıyla Tablo 4.4 ve Tablo 4.5'te verilmiştir.



**Tablo 4.4** Araştırmaya katılan erkeklerin (n=174) AKS gruplandırmasındaki klinik ve demografik parametreleri

Özellik	STEMI (n=77) Ortalama±SD	NSTEMI (n=31) Ortalama±SD	UAP (n=32) Ortalama±SD	Diğer (n=34) Ortalama±SD	P Değeri
Yaş, yıl	52.8±9.2	55.5±11.3	57.7±8.8	59.3±10.0	0.007
BKİ, kg/m <sup>2</sup>	27.2±2.9	27.6±2.9	27.6±3.0	26.9±4.6	0.917
Gensini skor	49.2±32.8 (n=25)	51.0±31.6 (n=28)	49.7±28.8 (n=29)	39.5±42.9 (n=29)	0.571
SYNTAX skor	16.7±8.0 (n=25)	18.4±8.9 (n=28)	20.3±9.5 (n=29)	13.9±12.8 (n=29)	0.099
Troponin ng/mL	3.2±3.0	1.0±1.3	0.1±0.2	0.2±1.1	0.0001
DKB, mmHg	75.4±5.8	79.2±22.5	79.6±6.2	76.4±7.1	0.598
SKB, mmHg	125.4±13.4	122.2±14.0	124.9±13.6	121.5±10.2	0.674
Trigliserid, mg/dL	160.8±88.8	178.6±94.0	180.5±88.7	193.4±120.1	0.521
Tkol, mg/dL	186.3±41.4	176.8±44.8	193.8±44.6	194.3±43.8	0.430
HDL, mg/dL	38.0±8.8	34.1±9.1	41.4±10.9	38.9±9.8	0.045
LDL, mg/dL	126.2±41.7	118.8±36.4	128.8±42.2	128.4±39.5	0.776
CRP, mg/dL	17.2±14.9	17.8±38.1	11.9±20.2	5.7±5.9	0.153
HbA1c, %	6.8±2.0	6.5±1.9	6.4±1.7	6.7±1.6	0.796
Glukoz, mg/dL	127.7±40.1	129.3±43.9	115.0±41.2	113.3±44.9	0.379
PT	3.9±15.6	7.1±6.2	10.0±4.4	9.7±4.6	0.019

**Tablo 4.5** Araştırmaya katılan kadınların (n=54) AKS gruplandırmasındaki klinik ve demografik parametreleri

Özellik	STEMI (n=14) Ortalama±SD	NSTEMI (n=8) Ortalama±SD	UAP (n=12) Ortalama±SD	Diğer (n=20) Ortalama±SD	P Değeri
Yaş, yıl	61.6±13.1	69.4±7.0	58.9±11.3	56.9±10.9	0.068
BKİ, kg/m <sup>2</sup>	29.6±6.3	27.4±4.2	26.3±4.0	28.6±5.8	0.659
Gensini skor	56.6±16.1 (n=5)	39.3±27.8 (n=7)	35.3w±23.1 (n=11)	18.8±26.7 (n=14)	0.036
SYNTAX skor	16.1±7.1 (n=5)	14.2±8.9 (n=7)	17.3±11.1 (n=11)	10.4±12.2 (n=14)	0.432
Troponin ng/mL	4.2±4.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1	0.0001
DKB, mmHg	74.0±5.5	81.0±4.9	75.4±6.4	78.3±16.4	0.761
SKB, mmHg	128.0±8.4	128.8±30.3	117.0±8.1	113.3±17.1	0.161
Trigliserid, mg/dL	160.6±98.2	136.0±61.1	191.3±133.6	148.5±79.8	0.571
Tkol, mg/dL	191.8±23.3	190.9±67.6	219.3±60.4	189.8±47.8	0.537
HDL, mg/dL	41.6±7.7	34.9±8.3	50.8±19.1	45.8±12.2	0.073
LDL, mg/dL	126.3±38.3	123.9±52	137.4±51.6	119.1±37.7	0.735
CRP, mg/dL	10.3±8.5	7.6±9.9	7.9±11.4	10.3±16.6	0.957
HbA1c, %	8.2±2.8	7.4±1.7	6.9±1.4	6.9±2.1	0.632
Glukoz, mg/dL	134.5±29.7	127.4±52.7	108.5±21.0	124.4±51.1	0.633
PT	6.0±8.4	10.0±6.5	6.6±5.6	11.2±4.2	0.066

Çalışmaya dahil edilen 228 birey ayrıca, AMI açısından üç alt grup yapılarak değerlendirilmiştir. Buna göre, AMI grubunda (STEMI ve NSTEMI tanılı AKS vakaları) 130 hasta yer alırken (yaş; 55.4±10.9, erkek % 83.1), non-MI grubunda, MI geçirmemiş ancak anjina pektoris olan 66 AKS vakası (yaş; 59.2±9.4, erkek % 75.6) ile düşük skorlu seçilmiş kontrol grubundaki 32 birey (56.1±10.5 yıl, erkek %50) yer almıştır. MI durumuna göre oluşturulmuş grupların klinik ve demografik parametreleri Tablo 4.6’da verilmiştir. Gruplar arasında, Gensini ve SYNTAX skorlarında istatistiksel açıdan anlamlı farklar gözlenmiştir (sırasıyla p=0.0001 ve p=0.0001). AMI, non-MI ve

seçilmiş kontrol grupları arasında, troponin ( $p=0.0001$ ), HDL ( $p=0.002$ ) ve PT ( $p=0.006$ ) değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı farka sahip oldukları bulunmuştur (Tablo 4.6).

**Tablo 4.6** Araştırmaya katılan tüm bireylerin ( $n=228$ ) AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarının klinik ve demografik parametreleri

Özellik	AMI grubu (n=130)	Non-MI grubu (n=66)	Seçilmiş kontrol grubu (n=32)	P değeri
Cinsiyet (K/E)	22/108	16/50	16/16	0.0001
Yaş, yıl	55.4±10.9	59.2±9.4	56.1±10.6	0.055
BKI, kg/m <sup>2</sup>	27.5±3.3	27.8±4.2	26.6±5.0	0.466
Gensini skor	49.5±30.5 (n=65)	54.5±30.2 (n=58)	3.1±3.6 (n=25)	0.0001
SNYTX skor	17.1±8.4 (n=65)	21.9±8.9 (n=58)	2.4±3.3 (n=25)	0.0001
Troponin, ng/mL	2.6±2.9	0.1±0.2	0.2±1.1	0.0001
DKB, mmHg	77.7±15.2	77.2±7.3	78.9±13.6	0.817
SKB, mmHg	122.0±11.4	124.9±16.2	116.4±16.8	0.060
Trigliserid, mg/dL	163.7±88.5	185.7±105.8	167.0±103.7	0.370
T-Kolesterol, mg/dL	183.6±45.1	196.7±48.4	194.7±44.3	0.269
HDL, mg/dL	36.9±8.9	41.9±12.7	44.1±12.7	0.002
LDL, mg/dL	123.9±40.4	129.4±43.1	124.6±37.9	0.704
CRP, mg/L	15.9±26.6	8.8±15.2	9.2±13.9	0.132
HbA1c, %	6.9±2.0	6.7±1.7	6.5±1.7	0.740
Glukoz, mg/dL	128.9±41.6	114.9±43.6	117.1±41.0	0.157
PT	5.3±12.8	9.8±4.4	9.5±5.3	0.006

Çalışma popülasyonunun farklı gruplandırmalar ile klinik değerlendirmelerinin ardından bu proje kapsamında bireylerin periferik kanından ayrıştırılan lökositlerde BAT5 ve IL21R-AS1 lncRNA'ların ifade düzeylerinin karşılaştırmaları yapılmıştır.

BAT5 ve IL21R-AS1 adlı lncRNA'ların ifade düzeyleri öncelikle vaka (yüksek skorlu veya MI geçirmiş aterosklerotik hastalar) ve seçilmiş kontrol gruplarında

kıyaslandı. Bu iki grup arasında lncRNA'ların ifade düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir sonuca ulaşılmadı (Tablo 4.7).

**Tablo 4.7** Aday lncRNA ifade düzeylerinin aterosklerotik hastalar (vaka) ve seçilmiş sağlıklı (kontrol) gruplardaki kıyaslaması

LncRNA'lar	Vaka		P* Değeri
	Grubu/Seçilmiş Kontrol Grubu	Ortalama±SD	
BAT5	Kontrol n=29	5.2±15.6	0.838
	Vaka n=192	2.1±3.2	
IL21R-AS1	Kontrol n=19	1.6± 1.9	0.716
	Vaka n=130	3.3± 7.6	

**SD: Standart sapma, \*Mann-Whitney U Test**

AKS'ların 4 alt grubu, aday lncRNA'ların (BAT5 ve IL21R-AS1) ifade düzeyleri açısından kıyaslandı. Kruskal-Wallis Test sonucuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı (Tablo 4.8).

**Tablo 4.8** Aday lncRNA ifade düzeylerinin AKS vaka gruplarında karşılaştırılması

LncRNA'lar	AKS Tanısı		P* Değeri
	STEMI/NSTEMI/UAP/Diğer, n	Ortalama±SD	
BAT5	STEMI n=88	2.6±4.2	0.100
	NSTEMI n=39	1.2±1.3	
	UAP n=44	1.8±1.8	
	Diğer n=50	4.0±11.9	
IL21R-AS1	STEMI n=64	1.8±4.9	0.135
	NSTEMI n=21	4.7±10.5	
	UAP n=29	5.8±10.8	
	Diğer n=34	2.3±2.9	

**SD: Standart sapma, \*Kruskal-Wallis Test**

AKS vakaları, cinsiyete göre ayrılarak değerlendirildiğinde, erkek AKS vakalarında istatistiksel yönden anlamlı bir ifade farkı belirlenemedi, ancak kadın AKS

vakalarında IL21R-AS1'in ifade düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı olarak değiştiği (p=0.027) tespit edildi (sırasıyla, Tablo 4.9 ve Tablo 4.10).

**Tablo 4.9** Aday lncRNA ifade düzeylerinin erkek AKS vaka gruplarında karşılaştırılması

LncRNA'lar	AKS Tanısı		P* Değeri
	STEMI/NSTEMI/UAP/Diğer	Ortalama±SD	
	n		
<b>BAT5</b>	STEMI n=75	2.8±4.5	0.212
	NSTEMI n=31	1.1±1.4	
	UAP n=32	2.0±1.9	
	Diğer n=31	2.0±2.0	
<b>IL21R-AS1</b>	STEMI n=57	1.9±5.1	0.565
	NSTEMI n=16	4.6±11.5	
	UAP n=23	5.6±11.6	
	Diğer n=24	2.3±3.3	

**SD: Standart sapma, \*Kruskal-Wallis Test**

**Tablo 4.10** Aday lncRNA ifade düzeylerinin kadın AKS vaka gruplarında karşılaştırılması

LncRNA'lar	AKS Tanısı		P* Değeri
	STEMI/NSTEMI/UAP/Diğer	Ortalama±SD	
	n		
<b>BAT5</b>	STEMI n=13	1.2±1.3	0.518
	NSTEMI n=8	1.2±0.7	
	UAP n=12	1.4±1.4	
	Diğer n=19	7.5±19.0	
<b>IL21R-AS1</b>	STEMI n=7	0.5±0.4	0.027
	NSTEMI n=5	4.9±7.2	
	UAP n=6	6.7±7.8	
	Diğer n=10	2.1±1.6	

**SD: Standart sapma, \*Kruskal-Wallis Test**

Çalışmamızda BAT5 ve IL21R-AS1 lncRNA'ların ifade düzeyleri MI, non-MI ve seçilmiş kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu bulundu (Tablo 4.11). BAT5'in AMI hastalarında kontrol grubuna göre 2.5 kat azaldığı, IL21R-AS1'in 1.6 kat arttığı belirlendi. Lökositlerdeki BAT5 ve IL21R-AS1 transkriptlerinin ifade düzeylerinin gruplar arasındaki değişimleri Tablo 4.11'de gösterilmektedir (sırasıyla,  $p=0.028$  ve  $p=0.059$ ).

**Tablo 4.11** Aday lncRNA ifade düzeylerinin AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarında kıyaslanması

lncRNA'lar	Gruplar (n)	Ortalama±SD	P* Değeri
BAT5	Kontrol (n=29)	5.2±15.6	0.028
	Non-MI (n=65)	2.0±1.9	
	AMI (n=127)	2.1±3.7	
IL21R-AS1	Kontrol (n=19)	1.6±1.9	0.059
	Non-MI (n=45)	4.8± 9.0	
	AMI (n=85)	2.5± 6.8	

**SD: Standart sapma, \* Kruskal-Wallis Test**

BAT5 ve IL21R-AS1 adlı lncRNA'ların ifade düzeyleri MI grupları arasında cinsiyete göre karşılaştırıldı. BAT5 kodlamayan RNA transkriptinin ifade düzeyinin, MI geçirmiş erkek hastalarda ve MI geçirmemiş erkek hastalarda kontrol grubuna göre 2.55 kat arttığı (Tablo 4.12), IL21R-AS1'de ise anlamlı bir fark gözlenmedi. Kadınlarda ise BAT5 kodlamayan RNA transkriptinin ifade düzeyinin MI geçirenlerde ve MI geçirmemiş kadın hastalarda 7.7 kat azalsa da istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ( $p=0.159$ ) belirlendi (Tablo 4.13). Kadınlarda kontrole göre IL21R-AS1 ifade düzeyi enfarktüs geçirenlerde 2 kat arttığı, MI geçirmemiş kadın hastalarda da 4.3 kat arttığı ( $p=0.040$ ) belirlendi (Tablo 4.13).

**Tablo 4.12** Aday lncRNA'ların erkek AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarında kıyaslanması

lncRNA'lar	Gruplar (n)	Ortalama±SD	P* Değeri
<b>BAT5</b>	Kontrol (n=14)	0.9±1.1	0.008
	Non-MI (n=49)	2.3±2.0	
	AMI (n=106)	2.3±4.0	
<b>IL21R-AS1</b>	Kontrol (n=12)	1.3±2.1	0.423
	Non-MI (n=36)	4.7±9.6	
	AMI (n=73)	2.5±7.0	

**SD: Standart sapma, \* Kruskal-Wallis Test**

**Tablo 4.13** Aday lncRNA'ların kadın AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarında kıyaslanması

lncRNA'lar	Gruplar (n)	Ortalama±SD	P* Değeri
<b>BAT5</b>	Kontrol (n=15)	9.2±21.1	0.159
	Non-MI (n=16)	1.2±1.3	
	AMI (n=21)	1.2±1.1	
<b>IL21R-AS1</b>	Kontrol (n=7)	1.2±1.5	0.040
	Non-MI (n=9)	5.2±6.6	
	AMI (n=12)	2.4±4.9	

**SD: Standart sapma, \* Kruskal-Wallis Test**

Bu çalışmada ifade düzeyleri belirlenen aday lncRNA'lardan BAT5 kodlamayan RNA transkripti 228 vakadan 221'inde rölaf kantitasyon (RK) değeri hesaplanabildi, 7 vakada nadir olarak ifade edildiği belirlendi. Aynı şekilde, IL21R-AS1 transkriptinin ifade düzeyi, 228 vakanın 149'unda RK değeri hesaplanabildi, 79 vakada nadir olarak ifade edildiği belirlendi. Buna göre, ifade düzeyleri (RK değeri) kategorik olarak gruplandırılarak tüm araştırma popülasyonunda AKS ve MI grupları arasında karşılaştırmalar Tablo 4.14 ve Tablo 4.15'de verilmektedir. Tablo 4.14'de kategorik değerlendirme sonuçlarına göre, BAT5 kodlamayan RNA transkriptinin ifade düzeyinin Tablo 4.8'de verilen ifade düzeyleri gibi STEMI vakalarında %12.1 oranında arttığı,

NSTEMI vakalarında ise %94.9 oranında azaldığı belirlendi. AKS grupları ile BAT5 RK değerleri arasında sınırdaki ( $p=0.085$ ) bir ilişki varken, bu yaklaşım ile tüm vakalar değerlendirilebildiği için IL21R-AS1 RK değerleri arasında anlamlı fark olduğu gösterilebildi ( $p=0.036$ ).

**Tablo 4.14** Gruplandırılmış aday lncRNA ifade düzeylerinin (RK değeri) AKS vaka gruplarında karşılaştırılması

RK değeri	BAT5				P Değeri
	STEMI (n=91)	NSTEMI (n=39)	UAP (n=44)	Diğer (n=54)	
Yok, % (n)	3.3 (3)	0.0 (0)	0.0 (0)	7.4 (4)	0.085
Değişmemiş, % (n)	7.7 (7)	5.1 (2)	9.1 (4)	7.4 (4)	
Artmış, % (n)	12.1 (11)	0.0 (0)	2.3 (1)	7.4 (4)	
Azalmış, % (n)	76.9 (70)	94.9 (37)	88.6 (39)	77.8 (42)	
IL21R-AS1					
Yok, % (n)	29.7 (27)	46.2 (18)	34.1 (15)	35.2 (19)	0.036
Değişmemiş	52.7 (48)	25.6 (10)	27.3 (12)	40.7 (22)	
Artmış	7.7 (7)	17.9 (7)	25.0 (11)	18.5 (10)	
Azalmış	9.9 (9)	10.3 (4)	13.6 (6)	5.6 (3)	

Tablo 4.15’de kategorik değerlendirme sonuçlarına göre, BAT5 kodlamayan RNA transkriptinin ifade düzeyinin Tablo 4.11’de verilen ifade düzeylerinden farklı olarak gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ( $p=0.085$ ). Ancak, bu yaklaşım ile tüm vakalar değerlendirilebildiği için Tablo 4.11’deki gibi IL21R-AS1 RK değerleri arasında sınırdaki bir anlamlı fark olduğu ve Tablo 4.11’deki gibi benzer olarak artmış ifade düzeyinin %27.3 oranında non-MI grubunda olduğu gösterildi ( $p=0.064$ ).



**Tablo 4.15** Gruplandırılmış aday lncRNA ifade düzeylerinin (RK değeri) AMI ve non-MI ve seçilmiş kontrol gruplarında kıyaslanması

RK değeri	BAT5			P Değeri
	AMI (n=130)	Non-MI (n=66)	Kontrol (n=32)	
Yok, % (n)	2.3 (3)	1.5 (1)	9.4 (3)	0.384
Değişmemiş, % (n)	6.9 (9)	9.1 (6)	6.2 (2)	
Artmış, % (n)	8.5 (11)	4.5 (3)	6.2 (2)	
Azalmış, % (n)	82.3 (107)	84.9 (56)	78.2 (25)	
	IL21R-AS1			
Yok, % (n)	34.6 (45)	31.8 (21)	40.6 (13)	0.064
Değişmemiş, % (n)	44.6 (58)	30.3 (20)	43.8 (14)	
Artmış, % (n)	10.8 (14)	27.3 (18)	9.4 (3)	
Azalmış, % (n)	10.0 (13)	10.6 (7)	6.2 (2)	

Ayrıca BAT5 ve IL21R-AS1 ifade düzeyleri ile ateroskleroz yaygınlığı ve plak yükünün değerlendirilmesinde kullanılan Gensini ve SYNTAX skorları arasındaki korelasyon incelendi. Tablo 4.16'daki sonuçlara göre, Gensini ve SYNTAX skorları arasında çok yüksek bir korelasyon olmasına karşın bu skorlar ile lncRNA ifade düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

**Tablo 4.16** Aday lncRNA düzeylerinin Gensini ve SYNTAX skorları arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P Değeri
BAT5*Gensini	0.112	0.181
BAT5*SYNTAX	0.133	0.110
IL21R-AS1*Gensini	0.090	0.387
IL21R-AS1*SYNTAX	0.160	0.120
Gensini*SYNTAX	<b>0.897</b>	<b>0.0001</b>

Sonuç olarak, 228 kişilik araştırma popülasyonu farklı değerlendirme grupları oluşturularak detaylı olarak incelendi.

## 5. TARTIŞMA

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) dünya çapında morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindedir (118). AKS, akut miyokardiyal iskemiyile uyumlu her bir klinik semptom grubunu ifade eder. ABD'de acil tıbbi bakım ve hastaneye yatışın en sık sebebinin AKS'ler olduğudur (128). AKS'nin altında yatan temel neden aterosklerozdur. Ateroskleroz, arter duvarındaki fibröz plakların birikmesi ile karakterize olan, birkaç farklı hücre tipinin ve modifiye lipoproteinlerin kompleks etkileşimini içeren kronik enflamatuvar bir süreçtir (129).

AKS'lar için birçok tedavi mevcuttur ancak bu tedaviler düşük duyarlılığa ve özgüllüğe sahip invaziv olmayan yöntemler veya sadece yüksek riskli hastalara uygulanabilecek pahalı invaziv yöntemlerdir. Mortalitenin bu denli yüksek olduğu AKS'ların, tanı ve takibinde kullanılacak invaziv olmayan yeni bir yöntem gereksinim duyulmaktadır (9).

Son yıllarda, kodlayıcı olmayan RNA molekülleri ile kardiyovasküler hastalıklar arasında bağlantıyı anlayabilmek ve yeni terapötik hedefler geliştirebilmek için birçok çalışma yapılmıştır. LncRNA'lar, 200'den fazla nükleotid içeren ve gen ekspresyonunu düzenleyen, protein kodlamayan endojen RNA'lardır. Çalışmalar, kardiyovasküler hastalıkların başlangıcını ve ilerlemesini modüle etmede lncRNA'ların kritik rolünü ortaya koymaktadır (75).

LncRNA'ların, plazmada ve diğer vücut sıvılarında stabil olması bazı hastalıklar için biyobelirteç olarak kullanılmasında ideal adaylar haline getirmiştir (9). Patolojik durumlarda lncRNA'ların düzensiz olması AKS gibi ani ölüm riskli hastalıkların erken tanısında önemli bir terapötik hedefdir (9).

Bu çalışmada, AKS hastaların periferik kan hücrelerinde daha önce yapılmış ön analizlerde KAH ile ilişkilendirilmiş ancak kapsamlı olarak araştırılmamış iki lncRNA'nın (BAT5 ve IL21R-AS1) ifade düzeylerinin hem hastalık tanısındaki öneminin hem de ateroskleroz ciddiyeti ile ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda araştırılan 228 vaka, çeşitli alt gruplar yapılarak klinik ve demografik özellikleri açısından istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan Gensini skoru, koroner arteriyel darlıklara göre hesaplanan bir formül olup

böylece koroner arter hastalıklarının ciddiyeti belirlenebilmektedir. SYNTAX skoru ile KAH'ların ciddiyeti ve yaygınlığı hakkında bizlere fikir verebilecek lezyon yeri, sayısı, foksiyonel önemi gibi kriterlerin belirlenmesi sağlanabilmektedir. Bu çalışmada, özellikle seçilmiş kontrol grubunun oluşturulmasında bu skor değerlerinden yararlanılmıştır, ancak yaş ve çok çeşitli ateroskleroz risk faktörünün varlığı nedeni ve semptomsuz kişilere invaziv girişim olarak koroner anjiyografi yapılmasının mümkün olmaması nedeni ile sağlıklı kontrol grubu oluşturulmamıştır. Dolayısıyla, vakalar hem akut koroner sendrom açısından hem de akut miyokard enfarktüsü açısından incelenmiştir. Bu çalışma kapsamında gruplar arasında biyokimyasal ve demografik parametrelerde karşılaştırılmıştır. Kan tahlillerinde kolayca ölçülebilen troponin, kalp ve iskelet kaslarına özgü bunların kasılmasında düzenleyici görev yapan yapısal proteinlerdir. ST yükselmesiz MI belirlenmesinde troponin seviyesi kardiyak biyobelirteç olarak rol oynar. Troponin seviyesi, araştırma gruplarında beklenildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sistolik kan basıncı, kalbin her atışı esnasında alınan en büyük basınca denir. Yapılan çalışmalar, SKB arttıkça mortalite, inme, arteriyel hastalıkların yükseldiği ortaya çıkmıştır (130). Sistolik ve diyastolik kan basıncının bozukluğu miyokardın oksijen ihtiyacının artmasına neden olur böylelikle iskemi gelişebilir. Yine grupların kıyaslanmasında kan basınçları düzeyleri enfarktüs geçirenlerde fazla bulunmuştur. HDL ile koroner olayların arasında zıt bir ilişki bulunmaktadır. Düşük HDL seviyesi koroner arter hastalıkları için yüksek risk anlamına gelmektedir (131). Benzer şekilde gruplar arasında enfarktüs geçirenlerde HDL düzeyleri daha düşüktür. Protrombin, karaciğerde üretilen bir protein olan protorombin kanın pıhtılaşmasını sağlamaktadır. PT testi (Protrombin Zamanı) ise pıhtılaşmanın ne kadar sürede gerçekleştiğini ölçmeye yarayan bir testtir. AKS'lerde koroner damarlardaki lezyonun rüptüre olması ile damar içinde pıhtı oluşur ve koroner arter lümeninin daralmasına böylece kan akımının azalmasına neden olur. Bu durum ilerlerse miyokard enfarktüsü gerçekleşebilir. MI gruplarında, beklendiği gibi protrombin zamanında kısalma olduğu tespit edilmiştir. HbA1c testi, glikoza bağlanan hemoglobinin bileşenini ölçmektedir. Halk arasında üç aylık kan şekeri testi olarak bilinen bu test genellikle diyabetes mellitusun (DM) teşhisinde başvurulan laboratuvar testidir. Yapılan çalışmalar DM'in kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır. Bunun yanı sıra akut koroner sendromlu hastalarda daha önce DM teşhisi konulmamış hastalarda da HbA1c test sonucu tüm popülasyona göre belirgin bir

şeklide yüksek çıktığı belirlenmiştir (132). Araştırma gruplarında enfarktüs geçirenlerde HbA1c düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da nispeten daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, genel risk faktörleri gruplar arasında değerlendirilmiştir.

Bu araştırma kapsamında ifade düzeyleri belirlenen lncRNA'lar, Cai ve arkadaşlarının koroner arter hastalarında (n=20) araştırdığı çalışma verilerine dayanılarak belirlenmiştir (118). Bu çalışmada, arterlerinde stenozu olmayan, efor testi negatif sonuçlanan bireyler kontrol grubunu (n=20) oluşturmuştur (118). AKS, tüm iskemik durumları kapsayan geniş bir yelpazeye sahip klinik olayların tümüdür. Araştırmamızda vaka grubunu oluşturan bireylerin bu çalışmadan farklı olarak daha geniş bir grubu kapsamaları ve farklı derecelerde aterosklerotik plağa sahip olmaları nedeni ile vaka-seçilmiş kontrol grubu karşılaştırmasında istatistiksel bir anlamlılık bulunamamasının nedeni olabilir.

Ancak bu çalışmada, MI gruplarında istatistiksel olarak ifade düzeylerinin anlamlı olarak değiştiği diğer yandan, araştırma grupları cinsiyete göre ayrıldığında, BAT5 ifade düzeyinin erkek MI hastalarında arttığı, IL21R-AS1 ifade düzeyinin de kadın MI hastalarında arttığı belirlenmiştir. Cai ve arkadaşlarının çalışmasında (118) ise cinsiyete göre ayırım yapılarak analiz edilmemiş, 20 KAH'lı hastanın periferik kan mononükleer hücrelerinde BAT5'in ifade düzeylerini kontrol grubuna (n=20) kıyasla 2 kat arttığı, IL21R-AS1 ifade düzeyinin de 2.2 kat arttığı belirlenmiştir (118). AKS gibi erişkin kronik hastalıkların analizlerinde cinsiyet faktörünün dikkate alınması ifade düzeyleri açısından önemlidir. Nitekim Duttagupta ve arkadaşlarının çalışmasında, çeşitli miRNA'ların cinsiyete özgü farklı ifade edildiği belirlenmiştir (133). miRNA'ların yumurtalık fonksiyonlarında kritik bir rol oynadığı ve miR-143'ün granüloza hücrelerinde estradiol üretimini etkilediği bildirilmiştir (134, 135). Paris ve ark. 2012 yılında, meme kanserinde östrojen etkileri üzerine yaptığı çalışmada, miRNA ekspresyonunun ER $\beta$  (östrojen reseptör beta) sinyalizasyonunun doğrudan düzenlediği bildirilmiştir (136). miRNA'lar protein kodlamayan, gen ifadesinin düzenlenmesinde görev alan moleküllerdir. Çalışmamızda miRNA gibi kodlayıcı olmayan RNA molekülü olan lncRNA'ların ifade düzeylerinin cinsiyete göre farklı ifade edildiği bulunmuştur. Bunun nedeni, ilgili lncRNA'nın lokalizasyonu, düzenlediği genlerin fonksiyonu olabilir. Bunun anlaşılabilmesi için, bu lncRNA'ların fonksiyonunun ayrıntılı bir biçimde aydınlatılması gerekmektedir.

Cai ve arkadaşlarının çalışması, KAH ile ilişkili 33045 lncRNA ile 30215 kodlayan transkript için yapılan kapsamlı bir transkriptomik analizdir (118). Benzer şekilde Lu ve arkadaşlarıda, AKS'nin iki farklı klinik alt-tipi olan MI ve UAP'lı hastalarda 2,332 lncRNA'nın ifade düzeyi karşılaştırılmıştır (137). Bu lncRNA'dan 18'inin yukarı regüle edildiği ve 35 lncRNA'nın aşağı regüle edildiği tespit edilmiştir. Daha düşük mortaliteye sahip UAP hastalarının, MI hastalarında göre farklı ifade düzeylerine sahip olduğu belirtilmiştir ancak daha geniş hasta gruplarında çalışma validasyonu yapılmamıştır (137). Dolayısıyla, son yıllarda yeni lncRNA'ları tanımlamaya yönelik araştırma sayısı gittikçe artarken, aday lncRNA'ların valide edilebileceği daha geniş ve farklı popülasyonlarda araştırma gerekliliği dikkati çekmektedir. Bu yönü ile bu çalışma ile oluşturulan örnek havuzunda, ileride yeni lncRNA ifade düzeylerini araştırma imkanı mevcuttur.

Proje kapsamında çalışma popülasyonu, MI geçirmiş, MI geçirmemiş vakalar ve seçilmiş sağlıklı bireylerden (kontrol) oluşacak şekilde üç gruba ayrılarak analiz edilmiştir. Bu üç grupta hedef lncRNA'ların (BAT5, IL21R-AS1) ifade düzeyleri kıyaslanmış ve istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu bulunmuştur. Erkek AMI hastalarında BAT5 adlı lncRNA'nın ifade düzeyi kontrol hastalarına göre artarken, kadınlarda da IL21R-AS1 adlı lncRNA'nın ifade düzeyinin arttığı belirlenmiştir. AMI'nin altında yatan en önemli neden aterosklerozdur. Kan akışını bozacak kadar ciddi darlıklar koroner iskeminin nedeni olsa da MI genellikle çok önemli görülmeyen lezyonların rüptüre olması sonucu meydana gelmektedir (138). Vausort ve arkadaşlarının çalışmasında, lncRNA'ların MI ile ilişkisi araştırılmıştır (139). Bunun için seçtikleri ANRIL, KCNQ1OT1, MIAT, MALAT1 ve aHIF adlı 5 lncRNA ifade düzeyleri, MI geçiren hastalar ve kontrol hastalar ile karşılaştırılmıştır. Sonuçta MIAT için kontroller ve enfarktüsle hastalar arasında anlamlı bir farka ulaşamazken, ANRIL'in ifade düzeyinin azaldığı, KCNQ1OT1, MALAT1 ve aHIF adlı lncRNA'ların ifade düzeyinde artış olduğu bildirilmiştir (139). Çalışmamızda ilk kez, BAT5 ve IL21R-AS1 kodlamayan RNA transkriptlerinin ifade düzeyleri ile AMI ilişkisi geniş bir araştırma grubunda gösterilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada yaygın bir arteriyel damar hastalığı olan ateroskleroz nedeni ile oluşan akut koroner sendromun (AKS) ve akut miyokard enfarktüsünde tanı ve takibinde kullanılacak muhtemel biyobelirteç niteliğindeki BAT5 ve IL21R-AS1 ifade düzeyleri belirlenerek klinik önemleri araştırılmıştır. İleri vadede ise, bu kodlamayan RNA transkriptlerinin aterosklerozun patogenezindeki potansiyel önemlerini araştırmaya yönelik *in vitro* çalışmaların yapılması, ayrıca bu moleküllerin tanısal önemini göstermeye yönelik daha kapsamlı araştırmaların yapılması hedeflenmektedir.



## KAYNAKLAR

1. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407(6801): 233-241.
2. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, ve ark. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation* 2003; 108(14): 1664-1672.
3. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, ve ark. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part II. *Circulation* 2003; 108(15): 1772-1778.
4. Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(8 Suppl): C7-12.
5. Van de Werf F, Ardissino D, Betriu A, Cokkinos DV, Falk E, Fox KA, ve ark. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. The Task Force on the Management of Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2003; 24(1): 28-66.
6. White HD, ed *Unstable Angina: Ischemic Syndromes*. 3 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. Topol EJ, ed. *Textbook of cardiovascular medicine*.
7. Casella G, Di Pasquale G, Oltrona Visconti L, Pallotti MG, Lucci D, Caldarola P, ve ark. Management of patients with acute coronary syndromes in real-world practice in Italy: an outcome research study focused on the use of ANTithRombotic Agents: the MANTRA registry. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2013; 2(1): 27-34.
8. Wang TJ, Gona P, Larson MG, Tofler GH, Levy D, Newton-Cheh C, ve ark. Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death. *N Engl J Med* 2006; 355(25): 2631-2639.
9. Yang Y, Cai Y, Wu G, Chen X, Liu Y, Wang X, ve ark. Plasma long non-coding RNA, CoroMarker, a novel biomarker for diagnosis of coronary artery disease. *Clin Sci (Lond)* 2015; 129(8): 675-685.

10. Sanita Lima M, Smith DR. Pervasive, Genome-Wide Transcription in the Organelle Genomes of Diverse Plastid-Bearing Protists. *G3 (Bethesda)* 2017; 7(11): 3789-3796.
11. Consortium EP, Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, Guigo R, Gingeras TR, ve ark. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature* 2007; 447(7146): 799-816.
12. Kataoka M, Huang ZP, Wang DZ. Build a braveheart: the missing linc (RNA). *Circ Res* 2013; 112(12): 1532-1534.
13. Klattenhoff CA, Scheuermann JC, Surface LE, Bradley RK, Fields PA, Steinhauser ML, ve ark. Braveheart, a long noncoding RNA required for cardiovascular lineage commitment. *Cell* 2013; 152(3): 570-583.
14. Kumarswamy R, Bauters C, Volkman I, Maury F, Fetisch J, Holzmann A, ve ark. Circulating long noncoding RNA, LIPCARN, predicts survival in patients with heart failure. *Circ Res* 2014; 114(10): 1569-1575.
15. Papait R, Kunderfranco P, Stirparo GG, Latronico MV, Condorelli G. Long noncoding RNA: a new player of heart failure? *J Cardiovasc Transl Res* 2013; 6(6): 876-883.
16. Thum T. Facts and updates about cardiovascular non-coding RNAs in heart failure. *ESC Heart Fail* 2015; 2(3): 108-111.
17. Wang K, Liu F, Zhou LY, Long B, Yuan SM, Wang Y, ve ark. The long noncoding RNA *CHRF* regulates cardiac hypertrophy by targeting *miR-489*. *Circ Res* 2014; 114(9): 1377-1388.
18. Liu Y, Ferguson JF, Xue C, Ballantyne RL, Silverman IM, Gosai SJ, ve ark. Tissue-specific RNA-Seq in human evoked inflammation identifies blood and adipose LincRNA signatures of cardiometabolic diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34(4): 902-912.
19. Ishii N, Ozaki K, Sato H, Mizuno H, Saito S, Takahashi A, ve ark. Identification of a novel non-coding RNA, *MIAT*, that confers risk of myocardial infarction. *J Hum Genet* 2006; 51(12): 1087-1099.



20. Schonrock N, Harvey RP, Mattick JS. Long noncoding RNAs in cardiac development and pathophysiology. *Circ Res* 2012; 111(10): 1349-1362.
21. Mathiyalagan P, Keating ST, Du XJ, El-Osta A. Interplay of chromatin modifications and non-coding RNAs in the heart. *Epigenetics* 2014; 9(1): 101-112.
22. Hu YW, Zhao JY, Li SF, Huang JL, Qiu YR, Ma X, ve ark. RP5-833A20.1/miR-382-5p/NFIA-dependent signal transduction pathway contributes to the regulation of cholesterol homeostasis and inflammatory reaction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015; 35(1): 87-101.
23. Han P, Li W, Lin CH, Yang J, Shang C, Nuernberg ST, ve ark. A long noncoding RNA protects the heart from pathological hypertrophy. *Nature* 2014; 514(7520): 102-106.
24. Broadbent HM, Peden JF, Lorkowski S, Goel A, Ongen H, Green F, ve ark. Susceptibility to coronary artery disease and diabetes is encoded by distinct, tightly linked SNPs in the ANRIL locus on chromosome 9p. *Hum Mol Genet* 2008; 17(6): 806-814.
25. Grote P, Wittler L, Hendrix D, Koch F, Wahrlich S, Beisaw A, ve ark. The tissue-specific lncRNA Fendrr is an essential regulator of heart and body wall development in the mouse. *Dev Cell* 2013; 24(2): 206-214.
26. Wu C, Arora P. Long noncoding Mhrt RNA: molecular crowbar unravel insights into heart failure treatment. *Circ Cardiovasc Genet* 2015; 8(1): 213-215.
27. Zengin H. Ateroskleroz patogenezi. *Journal of Experimental and Clinical Medicine* 2012; 29: 101-106.
28. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362(6423): 801-809.
29. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109(23 Suppl 1): III27-32.
30. Esper RJ, Nordaby RA, Vilarino JO, Paragano A, Cacharron JL, Machado RA. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol* 2006; 5: 4.

31. Yaylalı YT, Küçükaslan M. Endotel disfonksiyonu Pamukkale Tıp Dergisi 2011; 4(3): 152-157.
32. Özdoğu H. İnflamasyonda baş aktör endotel. (6. İlk Basamak Kursu) Türkiye Hematoloji Derneği; 2007; Ankara.
33. Boren J, Olin K, Lee I, Chait A, Wight TN, Innerarity TL. Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction without affecting LDL receptor binding. J Clin Invest 1998; 101(12): 2658-2664.
34. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. Proc Natl Acad Sci U S A 1979; 76(1): 333-337.
35. Cyrus T, Witztum JL, Rader DJ, Tangirala R, Fazio S, Linton MF, ve ark. Disruption of the 12/15-lipoxygenase gene diminishes atherosclerosis in apo E-deficient mice. J Clin Invest 1999; 103(11): 1597-1604.
36. Fazio S, Babaev VR, Murray AB, Hasty AH, Carter KJ, Gleaves LA, ve ark. Increased atherosclerosis in mice reconstituted with apolipoprotein E null macrophages. Proc Natl Acad Sci U S A 1997; 94(9): 4647-4652.
37. Vallace P, ed Vascular endothelium, its physiology and pathophysiology. 3 ed. Oxford: Oxford Medical Publications; 1996. Weatherall D, ed. Text Book of Medicine.
38. Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E. Braunwald's heart disease: A textbook of cardiovascular medicine. 7 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
39. Harrison DG. Endothelial function and oxidant stress. Clin Cardiol 1997; 20(11 Suppl 2): II-11-17.
40. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. Circulation 1995; 92(3): 657-671.

41. Schonbeck U, Sukhova GK, Shimizu K, Mach F, Libby P. Inhibition of CD40 signaling limits evolution of established atherosclerosis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(13): 7458-7463.
42. Erol Ç. *Klinik Kardiyoloji. Medikal & Nobel Tıp Kitap Sarayı.* 2004; 3: 9-15.
43. Gerhard GT, Duell PB. Homocysteine and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1999; 10(5): 417-428.
44. Kahramanoğlu M. *Kardiyoloji Miniatlas.* 1 ed: AND Ltd. Şti.; 2003.
45. Hansson GK, Nilsson J, eds. *Pathogenesis of Atherosclerosis.* 3 ed. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2010. Crawford MH, Di Marco JP, Paulus WJ, eds. *Cardiology.*
46. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, ve ark. Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2015; 131(4): e29-322.
47. Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blomstrom-Lundqvist C, Borger MA, ve ark. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2012; 33(20): 2569-2619.
48. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, ve ark. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011; 32(23): 2999-3054.
49. Enç N, Uysal H. Akut Koroner Sendromlar. İçinde: Enç N, editor. İç hastalıkları hemşireliği. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2014:95-102.
50. Müderrisoğlu H, Yıldırım A. Akut Koroner Sendromlar ve Sınıflaması. *Türk Kardiyoloji Dergisi, Akut Koroner Sendromlar* 2001; 4(3): 12-15.
51. Yeh RW, Sidney S, Chandra M, Sorel M, Selby JV, Go AS. Population trends in the incidence and outcomes of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2010; 362(23): 2155-2165.

52. Fox KA, Eagle KA, Gore JM, Steg PG, Anderson FA, Grace, ve ark. The Global Registry of Acute Coronary Events, 1999 to 2009--GRACE. *Heart* 2010; 96(14): 1095-1101.
53. Terkelsen CJ, Lassen JF, Norgaard BL, Gerdes JC, Jensen T, Gotzsche LB, ve ark. Mortality rates in patients with ST-elevation vs. non-ST-elevation acute myocardial infarction: observations from an unselected cohort. *Eur Heart J* 2005; 26(1): 18-26.
54. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, ve ark. Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2011; 123(4): e18-e209.
55. Roe MT, Parsons LS, Pollack CV, Jr., Canto JG, Barron HV, Every NR, ve ark. Quality of care by classification of myocardial infarction: treatment patterns for ST-segment elevation vs non-ST-segment elevation myocardial infarction. *Arch Intern Med* 2005; 165(14): 1630-1636.
56. çalışmacıları T. İstanbul: Bristol-Myers Squibb Inc. Şirketi Yayınları; 2002.
57. Widimsky P, Wijns W, Fajadet J, de Belder M, Knot J, Aaberge L, ve ark. Reperfusion therapy for ST elevation acute myocardial infarction in Europe: description of the current situation in 30 countries. *Eur Heart J* 2010; 31(8): 943-957.
58. WHO. Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014. Erişim tarihi Mayıs 2015, [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf?ua=1).
59. Devlet İstatistik Enstitüsü Turkey in Statistics. 132. 2001. Ankara DM.
60. Ölüm İstatistikleri İl ve İlçe Merkezleri 2008. Ankara: TÜİK 2009.
61. Ölüm Nedeni İstatistikleri. Erişim tarihi: Mayıs 2015, <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=18855>.
62. Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışması. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu; 2013.
63. Amsterdam EA, Wenger NK, Brindis RG, Casey DE, Jr., Ganiats TG, Holmes DR, Jr., ve ark. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients

with Non-ST-Elevation Acute Coronary Syndromes: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2014; 64(24): e139-e228.

64. Kataoka M, Wang DZ. Non-Coding RNAs Including miRNAs and lncRNAs in Cardiovascular Biology and Disease. *Cells* 2014; 3(3): 883-898.

65. Scheuermann JC, Boyer LA. Getting to the heart of the matter: long non-coding RNAs in cardiac development and disease. *EMBO J* 2013; 32(13): 1805-1816.

66. Cabili MN, Trapnell C, Goff L, Koziol M, Tazon-Vega B, Regev A, et al. Integrative annotation of human large intergenic noncoding RNAs reveals global properties and specific subclasses. *Genes Dev* 2011; 25(18): 1915-1927.

67. Moran VA, Perera RJ, Khalil AM. Emerging functional and mechanistic paradigms of mammalian long non-coding RNAs. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(14): 6391-6400.

68. Ma L, Bajic VB, Zhang Z. On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biol* 2013; 10(6): 925-933.

69. Prensner JR, Iyer MK, Balbin OA, Dhanasekaran SM, Cao Q, Brenner JC, et al. Transcriptome sequencing across a prostate cancer cohort identifies PCAT-1, an unannotated lincRNA implicated in disease progression. *Nat Biotechnol* 2011; 29(8): 742-749.

70. Cheng J, Kapranov P, Drenkow J, Dike S, Brubaker S, Patel S, et al. Transcriptional maps of 10 human chromosomes at 5-nucleotide resolution. *Science* 2005; 308(5725): 1149-1154.

71. Guttman M, Garber M, Levin JZ, Donaghey J, Robinson J, Adiconis X, et al. Ab initio reconstruction of cell type-specific transcriptomes in mouse reveals the conserved multi-exonic structure of lincRNAs. *Nat Biotechnol* 2010; 28(5): 503-510.

72. Zhang X, Rice K, Wang Y, Chen W, Zhong Y, Nakayama Y, et al. Maternally expressed gene 3 (MEG3) noncoding ribonucleic acid: isoform structure, expression, and functions. *Endocrinology* 2010; 151(3): 939-947.

73. Mercer TR, Dinger ME, Sunkin SM, Mehler MF, Mattick JS. Specific expression of long noncoding RNAs in the mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(2): 716-721.
74. Bayoğlu B, Cengiz M. Kalp ve Damar Hastalıklarında Uzun Kodlanmayan RNA Transkriptlerinin Rollerini. *Bezmialem Science* 2017; 5: 74-79.
75. Archer K, Broskova Z, Bayoumi AS, Teoh JP, Davila A, Tang Y, ve ark. Long Non-Coding RNAs as Master Regulators in Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci* 2015; 16(10): 23651-23667.
76. Lee JT. Epigenetic regulation by long noncoding RNAs. *Science* 2012; 338(6113): 1435-1439.
77. Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. *Nat Rev Genet* 2014; 15(1): 7-21.
78. Kapranov P, Cheng J, Dike S, Nix DA, Duttagupta R, Willingham AT, ve ark. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science* 2007; 316(5830): 1484-1488.
79. Akkaya Z, Dinçer P. Tedavi yaklaşımlarında yeni bir dönem: Kodlanmayan RNA'lar ve hastalıklar. *Marmara Medical Journal* 2013; (26): 5-10.
80. Mercer TR, Mattick JS. Structure and function of long noncoding RNAs in epigenetic regulation. *Nat Struct Mol Biol* 2013; 20(3): 300-307.
81. Rinn JL, Chang HY. Genome regulation by long noncoding RNAs. *Annu Rev Biochem* 2012; 81: 145-166.
82. Ma Y, Ma W, Huang L, Feng D, Cai B. Long non-coding RNAs, a new important regulator of cardiovascular physiology and pathology. *Int J Cardiol* 2015; 188: 105-110.
83. Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet* 2009; 10(3): 155-159.
84. Young RS, Ponting CP. Identification and function of long non-coding RNAs. *Essays Biochem* 2013; 54: 113-126.

85. Kaikkonen MU, Lam MT, Glass CK. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics. *Cardiovasc Res* 2011; 90(3): 430-440.
86. Sana J, Faltejskova P, Svoboda M, Slaby O. Novel classes of non-coding RNAs and cancer. *J Transl Med* 2012; 10: 103.
87. Tian D, Sun S, Lee JT. The long noncoding RNA, Jpx, is a molecular switch for X chromosome inactivation. *Cell* 2010; 143(3): 390-403.
88. Penny GD, Kay GF, Sheardown SA, Rastan S, Brockdorff N. Requirement for Xist in X chromosome inactivation. *Nature* 1996; 379(6561): 131-137.
89. Hung T, Wang Y, Lin MF, Koegel AK, Kotake Y, Grant GD, et al. Extensive and coordinated transcription of noncoding RNAs within cell-cycle promoters. *Nat Genet* 2011; 43(7): 621-629.
90. Tripathi V, Ellis JD, Shen Z, Song DY, Pan Q, Watt AT, et al. The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol Cell* 2010; 39(6): 925-938.
91. Tiffany HL, Gao JL, Roffe E, Sechler JM, Murphy PM. Characterization of Fpr-rs8, an atypical member of the mouse formyl peptide receptor gene family. *J Innate Immun* 2011; 3(5): 519-529.
92. Kotake Y, Goto T, Naemura M, Inoue Y, Okamoto H, Tahara K. Long Noncoding RNA PANDA Positively Regulates Proliferation of Osteosarcoma Cells. *Anticancer Res* 2017; 37(1): 81-85.
93. Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Mol Cell* 2011; 43(6): 904-914.
94. Bernstein E, Allis CD. RNA meets chromatin. *Genes Dev* 2005; 19(14): 1635-1655.
95. Umlauf D, Fraser P, Nagano T. The role of long non-coding RNAs in chromatin structure and gene regulation: variations on a theme. *Biol Chem* 2008; 389(4): 323-331.
96. Hekimoglu B, Ringrose L. Non-coding RNAs in polycomb/trithorax regulation. *RNA Biol* 2009; 6(2): 129-137.

97. Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammaparast N, Wang JK, Lan F, ve ark. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010; 329(5992): 689-693.
98. Gomez D, Owens GK. Smooth muscle cell phenotypic switching in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2012; 95(2): 156-164.
99. Schwartz SM. Smooth muscle migration in atherosclerosis and restenosis. *J Clin Invest* 1997; 100(11 Suppl): S87-89.
100. Holdt LM, Teupser D. Recent studies of the human chromosome 9p21 locus, which is associated with atherosclerosis in human populations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32(2): 196-206.
101. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, ve ark. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med* 2007; 357(5): 443-453.
102. Holdt LM, Hoffmann S, Sass K, Langenberger D, Scholz M, Krohn K, ve ark. Alu elements in ANRIL non-coding RNA at chromosome 9p21 modulate atherogenic cell functions through trans-regulation of gene networks. *PLoS Genet* 2013; 9(7): e1003588.
103. Motterle A, Pu X, Wood H, Xiao Q, Gor S, Ng FL, ve ark. Functional analyses of coronary artery disease associated variation on chromosome 9p21 in vascular smooth muscle cells. *Hum Mol Genet* 2012; 21(18): 4021-4029.
104. Holdt LM, Beutner F, Scholz M, Gielen S, Gabel G, Bergert H, ve ark. ANRIL expression is associated with atherosclerosis risk at chromosome 9p21. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30(3): 620-627.
105. Li H, Zhu H, Ge J. Long Noncoding RNA: Recent Updates in Atherosclerosis. *Int J Biol Sci* 2016; 12(7): 898-910.
106. Nabel EG, Braunwald E. A tale of coronary artery disease and myocardial infarction. *N Engl J Med* 2012; 366(1): 54-63.
107. Ji P, Diederichs S, Wang W, Boing S, Metzger R, Schneider PM, ve ark. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2003; 22(39): 8031-8041.



108. Okugawa Y, Toiyama Y, Hur K, Toden S, Saigusa S, Tanaka K, ve ark. Metastasis-associated long non-coding RNA drives gastric cancer development and promotes peritoneal metastasis. *Carcinogenesis* 2014; 35(12): 2731-2739.
109. Huang Z, Huang L, Shen S, Li J, Lu H, Mo W, ve ark. Sp1 cooperates with Sp3 to upregulate MALAT1 expression in human hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2015; 34(5): 2403-2412.
110. Michalik KM, You X, Manavski Y, Doddaballapur A, Zornig M, Braun T, ve ark. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth. *Circ Res* 2014; 114(9): 1389-1397.
111. Sato TN, Qin Y, Kozak CA, Audus KL. Tie-1 and tie-2 define another class of putative receptor tyrosine kinase genes expressed in early embryonic vascular system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90(20): 9355-9358.
112. Li K, Blum Y, Verma A, Liu Z, Pramanik K, Leigh NR, ve ark. A noncoding antisense RNA in tie-1 locus regulates tie-1 function in vivo. *Blood* 2010; 115(1): 133-139.
113. Qu X, Du Y, Shu Y, Gao M, Sun F, Luo S, ve ark. MIAT Is a Pro-fibrotic Long Non-coding RNA Governing Cardiac Fibrosis in Post-infarct Myocardium. *Sci Rep* 2017; 7: 42657.
114. Yan B, Yao J, Liu JY, Li XM, Wang XQ, Li YJ, ve ark. lncRNA-MIAT regulates microvascular dysfunction by functioning as a competing endogenous RNA. *Circ Res* 2015; 116(7): 1143-1156.
115. Hu YW, Yang JY, Ma X, Chen ZP, Hu YR, Zhao JY, ve ark. A lincRNA-DYNLRB2-2/GPR119/GLP-1R/ABCA1-dependent signal transduction pathway is essential for the regulation of cholesterol homeostasis. *J Lipid Res* 2014; 55(4): 681-697.
116. Carpenter S, Aiello D, Atianand MK, Ricci EP, Gandhi P, Hall LL, ve ark. A long noncoding RNA mediates both activation and repression of immune response genes. *Science* 2013; 341(6147): 789-792.
117. Khalil AM, Guttman M, Huarte M, Garber M, Raj A, Rivea Morales D, ve ark. Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-

modifying complexes and affect gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(28): 11667-11672.

118. Cai Y, Yang Y, Chen X, Wu G, Zhang X, Liu Y, ve ark. Circulating 'lncRNA OTTHUMT00000387022' from monocytes as a novel biomarker for coronary artery disease. *Cardiovasc Res* 2016; 112(3): 714-724.

119. Lord CC, Thomas G, Brown JM. Mammalian alpha beta hydrolase domain (ABHD) proteins: Lipid metabolizing enzymes at the interface of cell signaling and energy metabolism. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1831(4): 792-802.

120. Hoover HS, Blankman JL, Niessen S, Cravatt BF. Selectivity of inhibitors of endocannabinoid biosynthesis evaluated by activity-based protein profiling. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18(22): 5838-5841.

121. Bachovchin DA, Ji T, Li W, Simon GM, Blankman JL, Adibekian A, ve ark. Superfamily-wide portrait of serine hydrolase inhibition achieved by library-versus-library screening. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(49): 20941-20946.

122. Spies T, Blanck G, Bresnahan M, Sands J, Strominger JL. A new cluster of genes within the human major histocompatibility complex. *Science* 1989; 243(4888): 214-217.

123. Spies T, Bresnahan M, Strominger JL. Human major histocompatibility complex contains a minimum of 19 genes between the complement cluster and HLA-B. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(22): 8955-8958.

124. Hsieh YY, Lin YJ, Chang CC, Chen DY, Hsu CM, Wang YK, ve ark. Human lymphocyte antigen B-associated transcript 2, 3, and 5 polymorphisms and haplotypes are associated with susceptibility of Kawasaki disease and coronary artery aneurysm. *J Clin Lab Anal* 2010; 24(4): 262-268.

125. Fontanesi L, Schiavo G, Galimberti G, Calo DG, Scotti E, Martelli PL, ve ark. A genome wide association study for backfat thickness in Italian Large White pigs highlights new regions affecting fat deposition including neuronal genes. *BMC Genomics* 2012; 13: 583.

126. Savinainen JR, Patel JZ, Parkkari T, Navia-Paldanius D, Marjamaa JJ, Laitinen T, ve ark. Biochemical and pharmacological characterization of the human

lymphocyte antigen B-associated transcript 5 (BAT5/ABHD16A). *PLoS One* 2014; 9(10): e109869.

127. Montorsi P, Ravagnani PM, Galli S, Rotatori F, Veglia F, Briganti A, et al. Association between erectile dysfunction and coronary artery disease. Role of coronary clinical presentation and extent of coronary vessels involvement: the COBRA trial. *Eur Heart J* 2006; 27(22): 2632-2639.

128. Kumar A, Cannon CP. Acute coronary syndromes: diagnosis and management, part I. *Mayo Clin Proc* 2009; 84(10): 917-938.

129. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis. the road ahead. *Cell* 2001; 104(4): 503-516.

130. Multiple risk factor intervention trial. Risk factor changes and mortality results. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. *JAMA* 1982; 248(12): 1465-1477.

131. Viles-Gonzalez JF, Fuster V, Corti R, Badimon JJ. Emerging importance of HDL cholesterol in developing high-risk coronary plaques in acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol* 2003; 18(4): 286-294.

132. Barcin C. [Relationship between HbA1c levels and coronary artery severity in nondiabetic acute coronary syndrome patients]. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2013; 41(5): 396-398.

133. Duttagupta R, Jiang R, Gollub J, Getts RC, Jones KW. Impact of cellular miRNAs on circulating miRNA biomarker signatures. *PLoS One* 2011; 6(6): e20769.

134. Zhang L, Zhang X, Zhang X, Lu Y, Li L, Cui S. MiRNA-143 mediates the proliferative signaling pathway of FSH and regulates estradiol production. *J Endocrinol* 2017; 234(1): 1-14.

135. Hossain MM, Sohel MM, Schellander K, Tesfaye D. Characterization and importance of microRNAs in mammalian gonadal functions. *Cell Tissue Res* 2012; 349(3): 679-690.

136. Paris O, Ferraro L, Grober OM, Ravo M, De Filippo MR, Giurato G, et al. Direct regulation of microRNA biogenesis and expression by estrogen receptor beta in hormone-responsive breast cancer. *Oncogene* 2012; 31(38): 4196-4206.

137. Lu Y, Meng X, Wang L, Wang X. Analysis of long non-coding RNA expression profiles identifies functional lncRNAs associated with the progression of acute coronary syndromes. *Exp Ther Med* 2018; 15(2): 1376-1384.

138. Şengül C. Genç Yaşta Miyokard Enfarktüsü Geçiren Hastalarda Klasik Ve Psikososyal Risk Faktörlerinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi. İstanbul: Kardiyoloji Uzmanlık Tezi,2006.

139. Vausort M, Wagner DR, Devaux Y. Long noncoding RNAs in patients with acute myocardial infarction. *Circ Res* 2014; 115(7): 668-677.



**HAM VERİLER**

## FORMLAR

### GENETİK ARAŞTIRMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

**Araştırmanın Adı:** Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Uzun Kodlamayan RNA Adaylarının Ateroskleroz Ciddiyeti ile İlişkilendirilmesi

#### LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel

Ateroskleroz, damar duvarının kalınlaşması ve esnekliğinin kaybolmasına sebep olan atar damar hastalıklarındandır. Hastalığın kökeni, bulguları ve oluşum nedenlerinin karmaşıklığına rağmen, ateroskleroz önlenabilir bir hastalıktır. Akut koroner sendrom, stabil olmayan anjina, ST elevasyonu içermeyen miyokardiyal infarktüs ve ST elevasyonu içeren miyokardiyal infarktüs dahil olmak üzere miyokardiyal iskemik durumların tümünü kapsar (4). Bu araştırma projesinde toplumumuzda sık rastlanan AKS için muhtemel biyobelirteç olarak seçilen lncRNA'ların anlatım düzeyleri saptanarak klinik durumları ile ilişkilendirilecektir. Bu Araştırmanın ismi “Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Uzun Kodlamayan RNA Adaylarının Ateroskleroz Ciddiyeti ile İlişkilendirilmesi” dir ve 2 yıl sürecektir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni, ateroskleroz ile ilişkili şikayetinizin bulunmasından dolayıdır. İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü,

Genetik Anabilim Dalı bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir. Kendinizde bir şikayet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı yaklaşık 140'dir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dr. Ekrem Bilal Karaayvaz ve ekibi tarafından araştırma yapılacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 10 (3 tüp) ml. kadar kan almamız gerekmektedir. Bu kandan ise genetik materyal (DNA ve RNA) elde edilecektir. Bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığımız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

***Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:*** Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya kan alma bölgesinde morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

***Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler:*** Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni

yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

**Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar:** Böyle bir analiz ilgili hastalığın genetik nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar verirsiniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden destekleyici/araştırmacı sorumludur.

### **Örneklerin Saklanması**

Sizden alınan örneklerin kullanımı bu olur formunda tanımlanan araştırma ile sınırlı olacaktır. Eğer bu örnekleri bu olur formunda tanımlanmayan başka test/amaçlar için kullanmak istersek, önce Etik Kurul'a onay verilmesi için başvurulacaktır. Eğer yeni çalışma onaylanacak olursa sizden başka bir bilgilendirilmiş olur formu imzalamanız istenecektir.

*Veya*

Bu bilimsel araştırma sırasında alınan kan örneklerinin tamamı kullanılmayıp bir bölümü benzeri araştırmalarda kullanılmak üzere saklanabilir. Lütfen aşağıdaki 2 cümleyi okuyarak uygun olanını işaretleyiniz:

( ) Doku ve kan örneklerinin sadece bu çalışmayla ilgili olarak kullanılmasını istiyorum. Çalışma bitiminde kalan örneklerin uygun şekilde yok edilmesini istiyorum.

( ) Doku ve kan örnekleri bu çalışmada kullanıldığı gibi gelecekteki hastalığımla ilgili diğer bilimsel çalışmalarda kullanılabilir. Ancak kalan örneklerimin hastalığım dışındaki başka bir araştırmada kullanılmasını uygun bulmuyorum.



### ***Katılımcının/Hastanın Beyanı***

Sayın Dr. Ekrem Bilal Karaayvaz ve ekibi tarafından (İrtibat Tel: 0212-4142200-33319) tarafından İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımıma ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

6. GÖNÜLLÜNÜN		7. İMZASI
8. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		9. İMZASI
10. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

11. AÇIKLAMALARI YAPAN ARAŞTIRICININ		12. İMZASI
13. ADI & SOYADI		
14. TARİH		

15. RIZA ALMA İŞLEMİNE BAŞINDAN SONUNA KADAR TANIKLIK EDEN KURULUŞ GÖREVLİSİNİN		16. İMZASI
17. ADI & SOYADI		
18. GÖREVİ		
19. TARİH		

**ETİK KURUL KARARI**

T.C.  
**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ**  
**İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ**  
**KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**



Sayı : 529

Konu: Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK hk.

Tarih : 24.05.2017

Sayın Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK  
Moleküler Genetik

İlgi : Genetik Anabilim Dalının 08/05/2017 gün ve 172715 sayılı yazısı

Sorumlu araştırıcılığını üstlendiğiniz ve Bio. Hilal ŞENTÜRK' ün yürüteceği 2017/502 dosya numaralı "Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Uzun Kodlamayan RNA Adaylarının Ateroskleroz Ciddiyeti ile İlişkilendirilmesi" başlıklı çalışma kurulumuzun 12/05/2017 gün ve 09 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar  
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

## İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI "Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Uzun Kodlamayan RNA Adaylarının Ateroskleroz Ciddiyeti ile İlişkilendirilmesi"

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	■		Türkçe ■ İngilizce □ Diğer □	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	■		Türkçe ■ İngilizce □ Diğer □	
	OLGU RAPOR FORMU	□		Türkçe □ İngilizce □ Diğer □	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	□		Türkçe □ İngilizce □ Diğer □	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	□			
	SIGORTA	□			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	■			
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	□			
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	□			
	İLAN	□			
	YILLIK BİLDİRİM	□			
	SONUÇ RAPORU	□			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	□			
DİĞER:	■	Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgilendirildiğine Dair Belge, CV, CD			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:09	Tarih: 12/05/2017			
	İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalında görevli Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK'ın sorumluluğunda ve Bio. Hilal ŞENTÜRK'ün yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

## İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik								
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN								
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E ■	K □	E □	H ■	E □	H ■	İZİNLI
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E □	K ■	E □	H ■	E ■	H □	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ■	K □	E □	H ■	E ■	H □	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ■	K □	E □	H ■	E ■	H □	
Dr. Sevda ÖZEL YILDIZ	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E □	K ■	E □	H ■	E ■	H □	

\* :Araştırma ile ilişki  
\*\* :Toplantıda Bulunma

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C.Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığından izin almak zorundadır. Yönetmelik kapsamı dışında kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde oluşturulmuş 5 kişilik alt komisyon tarafından değerlendirilmekte olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.

## İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	İ.Ü.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr.

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Akut Koroner Sendromlu Hastalarda Uzun Kodlamayan RNA Adaylarının Ateroskleroz Ciddiyeti ile İlişkilendirilmesi"		
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Genetik		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı		
	DESTEKLEYİCİ	TÜBİTAK, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---		
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>	
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>	
FAZ 4		<input type="checkbox"/>		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>		
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Diğer ise belirtiniz :			
	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLAR ARASI <input type="checkbox"/>

**PATENT HAKKI İZİNİ**



**İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI**



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Hilal	<b>Soyadı</b>	Şentürk
<b>Doğ.Yeri</b>	İstanbul	<b>Doğ.Tar.</b>	1993
<b>Uyruğu</b>	T.C.	<b>TC Kim No</b>	40459780658
<b>Email</b>	hilallsenturk@hotmail.com	<b>Tel</b>	05387013919

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>	İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik Yüksek Lisansı	2018
<b>Lisans</b>	Fatih Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2015
<b>Lise</b>	İstanbul Bakırköy Ataköy Lisesi	2011

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	İyi		

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>ALES Puanı</b>	65		
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

### Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

### Özel İlgi Alanları (Hobileri):