

← 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 )**

**KORONER ANJİYOSU YAPILMIŞ HASTALARDA TIKALI  
DAMAR SAYISI İLE VASKÜLER PEROKSİDAZ 1  
TRANSKRİPSİYON AKTİVE EDİCİ FAKTÖR 4 VE  
GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**FATMA KALAY**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. ZEYNEP BANU GÜNGÖR**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI  
BİYOKİMYA PROGRAMI**

**İSTANBUL-2018**

## YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programında Yüksek Lisans öğrencisi Fatma KALAY tarafından Prof. Dr. Zeynep Banu GÜNGÖR'ün danışmanlığında hazırlanan "Koroner Anjiyosu Yapılmış Hastalarda Tıkalı Damar Sayısı ile Vasküler Peroksidaz 1, Transkripsiyon Aktive Edici Faktör 4 ve Glutatyon Peroksidaz Düzeylerinin İncelenmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından. 27/06/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Başkanı

Prof. Dr. Hafize UZUN

İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

### Jüri-Danışman

Prof. Dr. Zeynep Banu GÜNGÖR

İstanbul Cerrahpaşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

### Jüri

Doç. Dr. Savaş GÜZEL

Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdaki 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 olmadığını beyan ederim.

FATMA KALAY



## İTHAF

Ailem'e ithaf ediyorum

## TEŞEKKÜR

Bilgisi, tecrübesi ve yakınlığı ile tezimin ve eğitimimin her aşamasında bana destek olan değerli hocam ve tez danışmanım **Prof. Dr. Zeynep Banu Güngör**'e,

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı **Prof. Dr. Hafize Uzun**'a,

Engin bilgileri ve edebi yönleri ile tez dönemimde ve eğitimim süresince destekleri için sayın hocam **Prof. Dr. Emel Zengin Ulakoğlu, Prof. Dr. Hüseyin Avni Sönmez, Prof. Dr. Hakan Ekmekçi, Prof. Dr. Özlem Balcı Ekmekçi, Prof. Dr. Mine Kucur**'a,

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalımızın tüm değerli akademisyenleri ve emekli hocalarına,

Tez çalışmamın klinik ayağının yürütülmesinde benden yardımlarını esirgemeyen İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'ndan **Prof. Dr. Zeki Öngen, Prof. Dr. Bilgehan Karadağ, Doç.Dr. Barış İkitimur**, radyoloji teknikeri **Sadi Keklik** ve anjiyografi birimi çalışanlarına,

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını ve desteğini hep yanımda hissettiğim arkadaşım **Oktay Çalışkan**'a

Yüksek lisans eğitimimde tanışma fırsatı bulduğum, birlikte güzel günler geçirdiğim tüm değerli arkadaşlarıma,

Son olarak, bugünlere gelmemde en büyük emeği olan Canım Aileme,

Sonsuz teşekkür ederim...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22043.

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	ii
BEYAN.....	<b>HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.</b>
İTHAF.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	x
ÖZET .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Koroner Arter Hastalığı .....	4
2.1.1. Tanımı .....	4
2.1.2. Epidemiyoloji.....	4
2.2. Endotel Disfonksiyon.....	5
2.2.1. Normal Arter Yapısı.....	5
2.2.2. Normal Endotel Fonksiyonu .....	5
2.2.3. Endotel aktivasyonu, hasar ve disfonksiyon .....	6
2.2.4. Kardiyak Risk Faktörleri ve Endotel Fonksiyonu.....	7
2.3. Aterosklerotik Plak Oluşumu ve Morfolojisi.....	8
2.3.1. Aterosklerotik Plak Gelişimi.....	9
2.3.1.1. Pre-lezyonel Faz.....	10
2.3.1.2. Plak Gelişim Evresi.....	13
2.4. Oksidatif Stres.....	16
2.4.1. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri .....	17
2.5. Endoplazmik Retikulum Stresi .....	20
2.5.1. Katlanmamış Protein Cevabı .....	21
2.5.2. Oksidatif Protein Katlanması .....	23
2.5.3. Endoplazmik Retikulum Stresi ve Oksidatif Stres İlişkisi.....	25

2.6. Koroner Arter Hastalığı ve Biyokimyasal Belirteçler .....	27
2.6.1. Vasküler Peroksidaz 1 .....	27
2.6.2. Transkripsiyon Aktive Edici Faktör 4 ( ATF4 ) .....	28
2.6.3. Glutasyon Peroksisaz 1 (GPx1).....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. GEREÇLER.....	31
3.2. OLGULARIN SEÇİMİ VE ÇALIŞMA PROTOKOLÜ .....	32
3.3. YÖNTEMLER.....	33
3.3.1. Serum Örneklerinin Elde Edilmesi .....	33
3.3.2. Rutin Biyokimyasal Analizlerin Yapılması .....	33
3.3.3. Serum Örneklerinde Oksidatif Stres ve ER Stresi Belirteçlerinin Ölçümü .....	33
3.3.3.1. Human Peroxidasin Homolog ELİSA kit prosedürü: .....	33
3.3.3.2. Human Activating Transcription Factor 4 ELİSA kit prosedürü:.....	35
3.3.3.3. Human Glutathione Peroxidase 1 ELİSA kit prosedürü:.....	36
3.4. İSTATİKSEL ANALİZ .....	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. Hastaların Klinik Özellikleri.....	39
4.2. Biyokimyasal Belirteçlerin Alt Gruplara Göre Değerlendirilmesi .....	40
4.3. Cinsiyet, LDL Düzeyleri ve Aile Öykülerinin Alt Gruplara Göre Dağılımı .....	40
4.4. Biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonlar .....	41
4.5. Biyokimyasal Belirteçlerle Lipid Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar .....	42
4.6. N-damar, tek damar, iki ve üç damarı tıkalı hastalarda biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonları.....	42
5. TARTIŞMA .....	44
KAYNAKLAR .....	48
HAM VERİLER .....	71
FORMLAR .....	<b>HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.</b>
ETİK KURUL KARARI .....	75
PATENT HAKKI İZİNİ .....	<b>HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.</b>
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	76
ÖZGEÇMİŞ.....	78



## TABLULAR LİSTESİ

**Tablo 4.1.** Hastaların klinik özellikleri

**Tablo 4.2.** Biyokimyasal belirteçlerin alt gruplara göre değerlendirilmesi

**Tablo 4.3.** Cinsiyet, LDL düzeyleri ve aile öykülerinin alt gruplara göre dağılımı

**Tablo 4.4.** Biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonları

**Tablo 4.5.** Biyokimyasal belirteçlerle lipid parametreleri arasındaki korelasyonlar

**Tablo 4.6.** N-Damar, tek damar, iki ve üç damarı tıkalı hastalarda biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonları



## ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 2.1.** Arter duvarının anatomik yapısı
- Şekil 2.2.** Ateroskleroz patogenezinin şematik gösterimi
- Şekil 2.3.** Aterojenez ve kararsız plak oluşumunun şematik gösterimi.
- Şekil 2.4.** Hücrelerde  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  üreten enzimatik yollar.
- Şekil 2.5.** İnsan vücudunda ROS üreten yollar.
- Şekil 2.6.** ER stresi efektörlerinin UPR yolağının aktiflenmesindeki rolleri.
- Şekil 2.7.** ER lümeninde oksidatif protein katlanması.
- Şekil 2.8.** Hücrede ER stresi-indüklü ROS üretimi.
- Şekil 2.9.** ER stresi koşulları altında ER ve mitokondri ilişkili ROS üretimi.
- Şekil 3.1.** Peroksidasin standart grafiği
- Şekil 3.2.** ATF4 standart grafiği
- Şekil 3.3.** GPx1 standart grafiği

## SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

·OH	Hidroksil Radikali
½ O <sub>2</sub>	Singlet Oksijen
A20	TNF ile İndüklenen Gen
AP-1(c-Jun)	Aktivatör Protein 1
ARE	Antioksidan Cevap Eleman
ATF4	Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4
ATF6	Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6
SERCA	Sarkoplazmik Retikulum Ca Taşıyıcı ATPaz Pompası
Ca	Kalsiyum
CCR2	MCP-1 Reseptörü
CD-36	Çöpçü Reseptör
CD-40	Antijen Sunan Hücre Reseptörü
CHOP	C/EBP Homolog Protein
CREB	cAMP Cevap Eleman Bağlayıcı Protein
CRP	C-Reaktif Protein
Cu	Bakır
CXC	α Kemokinleri
Elf2α	Ökaryotik Başlatma Faktörü 2α
eNOS	Nitrik Oksid Sentaz
ERO1	Endoplazmik Retikulum Oksidoredüktaz 1
Fe	Demir
FGF-2	Fibroblast Büyüme Faktörü 2
F-VII	Pıhtılaşma Faktörü 7
F-VIII	Pıhtılaşma Faktörü 8
GPE1	Glikoprotein Tedarikçisi
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GRP78	Glikoz-Regüle Edici Protein 78

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HOCl	Hipokloröz Asit
ICAM-1	İntrasellüler Hücre Adezyon Molekülü 1
IFN- $\gamma$	İnterferon- $\gamma$
IGFBP-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein 1
IL-6	İnterlökin-6
IL-8	İnterlökin-8
IP3R	İnozitol Trifosfat Reseptörü
IRE-1	İnositol Gerektiren Kinaz 1
KAH	Koroner Arter Hastalığı
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
Lp	Lipoprotein
MAM	Mitokondri İlişkili Membran
MAPkinaz	Mitojen ile Aktiflenen Protein Kinaz
MCP-1	Kemotraktan Protein 1
MLp	Modifiye Lipoprotein
MMP	Matriks Metalloproteinazlar
MPO	Miyeloproksidaz
NCEP ATP III	Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
NF-K $\beta$	Nükleer Faktör-K $\beta$
NO	Nitrik Oksid
NOS	Nitrik Oksid Sentaz
NOX	NADPH Oksidaz
NOX2	NADPH Oksidaz 2
Nrf2	Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit Anyonu
oxLDL	Okside LDL
PAI-1	Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1

PDI	Protein Disülfid İzomeraz
PERK	Protein Kinaz RNA (PKR) Benzeri ER Kinaz
PMN	Polimorfonükleer Nötrofiller
RANTES	T Hücrelerini Aktifleyen Kemokinler
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SKIP3	Kinaz Benzeri İnsan Geni
SOD	Süper Oksid Dismutaz
SR-B1	Çöpçü Reseptör
TEKHARF	Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri
Tg	Trigliserid
TNF- $\alpha$	Tümör Nekroz Faktör $\alpha$
TRAF-2	TNFR İlişkili Faktör 2
UPR	Katlanmamış Protein Cevabı
VCAM-1	Vasküler Hücre Adezyon Moekülü 1
VLA4	İntegrin $\alpha$ -4 subuniti
VPO1	Vasküler Peroksidaz 1
v-WF	Von Willebrand Faktör
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XBP1	X-Box Bağlayıcı Protein 1

## ÖZET

KALAY, F. KORONER ANJİYOSU YAPILMIŞ HASTALARDA TIKALI DAMAR SAYISI İLE VASKÜLER PEROKSİDAZ 1, TRANSKRİPSİYON AKTİVE EDİCİ FAKTÖR 4 VE GLUTATYON PEROKSİDAZ DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2018

Ateroskleroz olarak adlandırılan arter hastalıkları endüstrileşmiş ülkelerde ani ölümler, miyokard infarktüs, kalp yetmezliği, inme, böbrek yetmezliği iskemi ve çoklu organ hasarına neden olmaktadır. Günümüzde tıp ve teknolojiye yönelik gelişmelerle birlikte, yaşam tarzına yönelik farkındalığın artması halen ateroskleroz kaynaklı ölümlerde azalmaya yol açamamıştır. Son yıllarda aterosklerotik süreçte oksidatif stres ve endoplazmik retikulum stresi (ER stresi) artışının da önemli rolünün gösterilmesine rağmen, halen bu patogenezindeki rolleri tam olarak aydınlatılamamıştır. Ateroskleroz ile ER stresi ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi irdelleyen çalışmalar ışığında projemizde, hastalığın patogenezinin aydınlatılmasında ve prognozun değerlendirilmesine vasküler peroksidaz 1 (VPO1) ve transkripsiyon aktive edici faktör 4 (ATF4)'ün birer biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını incelemek hedeflenmiştir.

Bu amaçla, çalışmamızda koroner anjiyografi sonuçlarına göre oluşturduğumuz kontrol (n=20) ve hasta grubu (n=60) olgularında, koroner arter hastalığının seyrinde rutin olarak kullanılan parametreler; C-reaktif protein, lipid parametreleri ve demografik özellikleri ile VPO1, ATF4 ve GPx1 düzeyleri ölçülerek kontrol ve hasta grupları arasındaki değişimler ve parametrelerin kendi aralarındaki korelasyonları irdelendi.

Elde ettiğimiz sonuçlarda tayini yapılan biyokimyasal parametrelerden VPO1 ve ATF4'ün koroner arter hastalığı ile ilişkili bir biyobelirteç potansiyeline sahip olabileceği, özellikle de geleneksel risk faktörlerine ilaveten tedavi protokollerinin takip ve izlenmesinde önemli faydalar sağlayacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, ER Stresi, VPO1, ATF4, GPx1

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 22043

## ABSTRACT

KALAY, F. INVESTIGATION OF VASCULAR PEROXIDASE 1, TRANSCRIPTION ACTIVE FACTOR 4 AND GLUTATHIONE PEROXIDASE LEVELS WITH NUMBERS OF CONGESTED VESSEL IN CORONARY ANGIOGRAPHED PATIENTS.

İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Biochemistry, Graduate Thesis. İstanbul. 2018.

Atherosclerosis causes sudden death, myocardial infarction, heart failure, stroke, renal failure ischemia and multiple organ damage in industrialized countries. Today, together advances in medicine and technology, the increased awareness of lifestyle does not yet lead to a reduction in atherosclerotic deaths. Although increased oxidative stress and endoplasmic reticulum stress (ER stress) has recently been shown to be an important role in the atherosclerotic process, their roles in this pathogenesis has not been fully elucidated. The aim of this project is to investigate whether vascular peroxidase 1 (VPO1) and activating transcription factor 4 (ATF4) can be used as biomarkers in highlighting the pathogenesis of the disease and in evaluating the prognosis in relation to the relationship between atherosclerosis and ER stress and oxidative stress.

For his purpose, parameters that are routinely used in the course of coronary artery disease in our control (n=20) and patients group (n=60) according to the results of coronary angiography in our study; C-reactive protein, lipid parameters and demographic characteristics VPO1, ATF4 and GPx1 levels were measured and the changes between the control and patient groups and their correlations were evaluated.

We conclude that VPO1 and ATF4 may have a potential biomarker associated with coronary artery disease, especially in the follow-up and monitoring of treatment protocols, in addition to traditional risk factors, based on the biochemical parameters identified in our results.

Key Words: Atherosclerosis, ER stress, VPO1, ATF4, GPx1

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 22043

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Koroner arter hastalığı (KAH) dünya genelinde ölüm nedenlerinden biridir ve kalp kasına oksijen ve besin taşıyan koroner arter damarlarının patolojik disfonksiyona uğraması sonucu ortaya çıkar (1). Arter duvarındaki değişiklikler damar lümeninde daralmaya neden olan ve böylece kan akışını kısıtlandıran aterosklerotik plakların birikmesine neden olur. Kan akışının genellikle trombotik bir olay tarafından tamamen kesilmesi, kalp kasının oksijensiz kalmasıyla karakterize miyokard enfarktüs ile sonuçlanır (2). Günümüzde tıp ve teknolojiye yönelik gelişmelerle birlikte, yaşam tarzına yönelik farkındalığın artması halen ateroskleroz kaynaklı ölümlerde azalma sağlayamamıştır (3,4). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri önümüzdeki 20 yılda da bu durumda bir değişiklik olmayacağı yönündedir. Dolayısıyla bu durum kardiyovasküler hastalıklardan korunmada bireysel farklılıkları ön plana çıkararak, daha etkin, kişiye yönelik tedavi protokollerinin gelişmesine neden olmaktadır.

Büyük ve orta boydaki musküler arterleri tutan kronik inflamatuvar bir hastalık olan ateroskleroz gelişmiş ülkelerde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir (5). Ester kolesterol kalıntıları, inflamatuvar hücreler, düz kas hücreleri ve bunlardan salgılanan kollajen ve elastin gibi molekülleri yapısında bulunduran ateromların arter duvarında birikmesiyle ortaya çıkar. Giderek ilerleyen ateroskleroz kan akışında kesintiye, kanamaya neden olur, bu durum da inme ve miyokard enfarktüs ile sonuçlanan rüptür ve pıhtı oluşumuna neden olur. Yüksek serum düşük-yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol ve düşük serum yüksek-yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol düzeyleri, diyabet, hipertansiyon, alkol ve sigara kullanımı, yaşlanma ve oksidatif stres ateroskleroz gelişiminde rol oynayan kardiyovasküler risk faktörlerindedir (5,6).

Ateroskleroz aşamalı olarak gelişen bir hastalıktır ve oluşumunda birçok kompleks moleküler ve hücrel mekanizmalar rol oynar. Aterosklerozun erken fazında meydana gelen endotel disfonksiyonu kemotraktant ve adezyon moleküllerinin salınımını artırır, bu durum dolaşımdaki monositlerin endotele göçünü uyarır (7). Göç eden monositler arter duvarının intima bölgesinde toplanır ve burada makrofajlara dönüşürler. İntimada biriken makrofajlar, plazmadaki LDL kolesterolün oksidasyona uğramasından kaynaklanan okside LDL (oxLDL) partiküllerini kontrolsüz bir şekilde içine alarak köpük hücrelere dönüşürler (8,9). Köpük hücre oluşumunun artması



kolesterol esterlerin belli bir bölgede birikmesiyle sonuçlanır, bu durum yağlı çizgilenme olarak adlandırılır. Yağlı çizgilenmede, makrofajlar ve T lenfositler tunika mediadan intimaya düz kas hücre göçünü arttıran inflamatuvar sitokinler salgırlar (10,11). Göç eden düz kas hücreleri arter duvarını kalınlaştır ve yağlı çizgilenme daha karmaşık bir durum olan stabil aterosklerotik plağa dönüşür. Aterosklerozun geç fazında, plaklardaki düz kas hücreleri çoğalır ve fibröz kepin yapısını oluşturan ekstrasellüler matriks proteinleri sekrete eder ve lipid yüklü köpük hücrelerin apoptotik veya nekrotik hücre ölümüne uğraması sonucu nekrotik çekirdek ortaya çıkar. Nekrotik çekirdek ester kolesterol kalıntıları ve ölmüş hücreleri veya onların artıklarını içerir. İntimada köpük hücre oluşumu ve T hücrelerinin salınımının devam etmesi kronik inflamatuvar süreci aktifler, bu da intimaya daha fazla düz kas hücresi ve inflamatuvar hücrelerin göç etmesine neden olur. Bu süreçte, fibröz kep incelik ve kalsifikasyona uğrar ve nekrotik çekirdekdeki kolesterol kristalleri arter duvarına zarar vermesi sonucu stabil plaklar unstabil fibröz plaklara dönüşür. Sonunda ince fibröz bir kep ve büyük bir nekrotik çekirdekten ibaret unstabil plak rüptüre dönüşür ve ardından akut olaylara neden olan pıhtı oluşumunu indükler.

Proaterojenik faktörler olan oxLDL ve reaktif oksijen türleri (ROS) endotel hücre apoptozisini indüklediğinden aterosklerozun patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Vasküler duvarda endotel hücrelerden eksprese edilen vasküler peroksidaz 1 (VPO1); NOX (NADPH oksidaz) enziminin katalizlediği reaksiyon sonucu açığa çıkan  $O_2^-$  anyonunun spontan olarak ya da süperoksid dismutaz (SOD) enziminin katalitik aktivitesi sonucu açığa çıkan hidrojen peroksid ( $H_2O_2$ ) bileşimini  $Cl^-$  iyonları vardığında hipokloröz asite (HOCl) dönüştürerek hücrenin oksidatif yükünün artmasına neden olur (12). Endoplazmik retikulumda proteinlerin katlanmasında disülfid köprülerinin oluşumunu katalizleyen endoplazmik retikulum oksidoredoksin 1 (ERO1) enzimi her bir disülfid köprüsü oluşumunda bir molekül  $H_2O_2$  açığa çıkararak hücrenin oksidatif yükünün artmasına neden olmaktadır (13). Oluşan  $H_2O_2$  molekülleri antioksidan karakterdeki glutatyon peroksidaz enzimi tarafından suya dönüştürülerek hücrenin oksidatif yükü azaltılır ve hücre apoptozisten korunur (14). Yapılan klinik araştırmalar sonucunda VPO1 ve transkripsiyon aktive edici faktör 4 (ATF4)'ün aterosklerozin patogeneğinde kilit rol oynayabilecek moleküller olduğunun tespit edilmesine rağmen hastalığın oluşumundaki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır.

Oksidatif stres ile endoplazmik retikulum stresi (ER stresi) arasındaki ilişkiyi ve bu iki biyolojik olayın ateroskleroza katkısını irdeleyen çalışmamızda, koroner anjiyografi yapılarak KAH tanısı konulmuş hastaların kan örneklerinde, ateroskleroza ER stresinin rolünün açıklanmasına ve dolayısıyla da koroner arter hastalığının tanı ve tedavisine katkıda bulunabilecek biyobelirteç saptanması hedeflenmiştir. Bu çerçevede;

1. Koroner anjiyografi sonuçlarına göre normal olarak değerlendirilmiş 20 olgu (kontrol grubu) ile KAH tanısı konulmuş 30 tek damar hastası ve 30 iki ve üç damar hastasının demografik özellikleri ve varsa diğer hastalıkları, alkol ve sigara kullanım alışkanlıkları ve sıklıkları, ilaç kullanım durumları sorgulanarak kayıt altına alındı.
2. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan olguların ateroskleroz gelişimi ile ilişkili olan inflamatuvar bir biyobelirteç olan C-reaktif protein düzeyleri ile yine ateroskleroza inflamatuvar yolakları aktiflediği ileri sürülen lipid düzeyleri (LDL kolesterol, HDL kolesterol, trigliserid ve total kolesterol) ve ateroskleroz patogenezinde rol oynadığı düşünülen VPO1, ATF4 ve GPx1 düzeyleri ölçüldü.
3. Tüm hastalarımızı dahil ettiğimiz istatistiksel değerlendirmelerde, ölçümü yapılan parametrelerin birbiriyle olan ilişkileri ve hastalığın oluşumuna katkıları tartışılarak koroner arter hastalığının patogenezinin aydınlatılmasında ve prognozun değerlendirilmesinde bir biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağı araştırıldı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Koroner Arter Hastalığı

#### 2.1.1. Tanımı

Koroner kalp hastalığı veya iskemik kalp hastalığı olarak da bilinen koroner arter hastalığı (KAH) en yaygın kardiyovasküler hastalık türüdür ve Küresel Hastalık Yükü son raporuna göre dünyadaki morbidite ve mortalitenin temel nedenlerinden biridir (15,16). Kalp kasına oksijen ve besin taşıyan koroner arter damarlarının patolojik disfonksiyona uğraması sonucu ortaya çıkar (1). Arter duvarındaki değişiklikler damar lümeninde daralmaya neden olan ve böylece kan akışını kısıtlandıran aterosklerotik plakların birikmesine neden olur. Koroner arterlerde meydana gelen daralma ve tıkanıklığın ana sebebi ateroskleroz olmakla birlikte; arteritler, emboli, amiloidoz, konjenital koroner damar anomalileri, radyasyon, arteriovenöz bozukluklar da KAH patogenezinde rol oynamaktadır (17). Kan akışının genellikle trombotik bir olay tarafından tamamen kesilmesi, kalp kasının oksijensiz kalmasıyla karakterize miyokard enfarktüs ile sonuçlanır (2). Koroner arterlerin iyileşmesini ve yenilenmesini sağlayacak yöntemlerin geliştirilmesi kardiyovasküler tıp açısından çok önemli olsa da henüz bu hedeflere ulaşamamıştır (18).

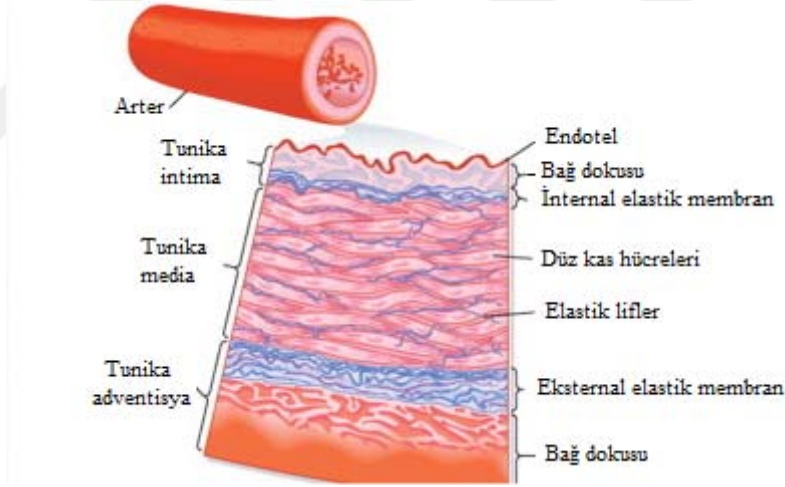
#### 2.1.2. Epidemiyoloji

Ülkemizdeki ölüm nedenlerine bakıldığında KAH'nın ilk sırada yer aldığı görülmektedir. Türkiye'de KAH üzerine yapılmış olan en kapsamlı çalışma niteliği taşıyan TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri) çalışmasının verilerine bakıldığında, tüm çalışma grubunun 45-74 yaşlarındaki toplam 24 yıllık kümülatif değerlendirmesi, yüksek koroner mortaliteyi, erkeklerde 1000 kişi başına 7,3; kadınlarda 3,8 olduğunu göstermektedir. 2000 yılından bu yana KAH insidansında % 18'lik bir düşüş kaydedilse de KAH ölüm nedenleri arasındaki ciddiyetini korumaya devam etmektedir (19). Son yıllarda yaşam koşullarının iyileştirilmesine rağmen, kardiyovasküler hastalık riskinin yaş ile paralel şekilde arttığı ve küresel morbidite ve mortalite oranlarının da ağırlaştığı gösterilmiştir (20–22).

## 2.2. Endotel Disfonksiyon

### 2.2.1. Normal Arter Yapısı

Sağlıklı insan arterleri üç tabakadan oluşmaktadır (23). En içte tunika intima, arada tunika media ve en dışta tunika adventisya tabakaları yer almaktadır. Tunika intima, endotel olarak da adlandırılan lümeni çevreleyen en iç tabakadır. Endotel, kan dolaşımı ile direkt temas halindedir ve vasküler homeostazı korumada hayati öneme sahip, oldukça iyi düzenlenmiş birçok mekanizmaya sahiptir. Tek katman olarak tanımlansa da, yetişkin insanlarda genellikle düz kas hücreleri ve kollajen içeren oldukça kompleks ve heterojen bir yapıdan oluşur ve intimayı tunika medyadan ayıran iç elastik laminaya dış kısmından bağlanır. Tunika media çok sayıda düz kas hücre katmanlarından oluşur. Büyük elastik arterlerdeki düz kas hücreleri, pulsatil akışın iletimine katkıda bulunan elastin açısından zengin bir ekstrasellüler matriksle düzenlenmiştir. Mediadan elastik bir tabaka ile ayrılan adventisya ise fibroblastlar, mast hücreleri, kolajen ve proteoglikanları içeren bir matriksten oluşur (24).



Şekil 2.1. Arter duvarının anatomik yapısı

### 2.2.2. Normal Endotel Foksiyonu

Vasküler homeostazın majör regülatörü olan sağlıklı endotelin başlıca görevleri vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon arasındaki dengenin devamlılığını sağlamak, düz kas hücrelerinin çoğalması ve migrasyonunu kontrol etmek, trombogenez ve fibrinoliz mekanizmalarını kontrol etmektir (25). Endotelin vazomotor modülasyonundaki önemine ilk kez 1980'lerde yapılan hayvan çalışmalarında değinilmiştir (26–31). Daha

sonra, endotelin son derece aktif parakrin, endokrin ve otokrin organ olduğu ve farklı oranlarda uyarıldığı anlaşılmıştır. Endotel disfonksiyonu; birçok fizyolojik ve patolojik durumla ilişkilendirilmiştir (32–34). Endotelden güçlü bir vazodilatör madde olan nitrik oksid (NO) (35) ile trombosit agregasyonunu inhibe edebilme özelliğine sahip prostasiklin ve bradikinin gibi diğer vazodilatör maddeler salınır (25). Endotelden ayrıca endotelin ve anjiyotensinojen-II gibi vazokonstrüktör maddeler de sekrete edilir. Anjiyotensinojen-II hem pro-oksidan karakterde bir moleküldür, hem de intimada ki düz kas hücre poliferasyonunu indükler (25,36).

Normalde NO dinlenme halinde inflamasyon, hücre poliferasyonu ve pıhtı oluşumunu baskılayarak vasküler duvarın korunmasını sağlar (37). NO; endotel aktivasyonu tetikleyen ve endotelin apoptoza daha duyarlı hale gelmesine neden olan transkripsiyon faktörü nükleer faktör  $\kappa$ B'nin (NF $\kappa$ B) ekspresyonunu baskılayan koruyucu genlerin (IN $\kappa$ B-a, A20, B hücreli lenfoma 2 geni) ekspresyonunu uyarır (33). NO aynı zamanda mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun sınırlandırılmasına katkıda bulunur.

### **2.2.3. Endotel aktivasyonu, hasar ve disfonksiyon**

İki aşamada gerçekleşen endotel aktivasyonu kardiyovasküler risk faktörlerinin varlığında patolojik olabilen bir süreçtir (38). NO üretimindeki azalma NO aracılı hücre sinyal yollarında kayıba yol açar ve endotel bağımlı vazodilatörler ve bunların tersi etki gösteren anjiyotensin II gibi vazokonstrüktör maddeler arasındaki dengenin bozulmasına neden olur. Bu durumda endojen nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi endotel disfonksiyona neden olan ROS üretimini tetikler (37). Geri döndürülebilir bir süreç olan endotel aktivasyonu, aktiflenen endotel hücreleri inflamatuvar uyarılardan çekildiğinde sessiz bir duruma dönebilir (39). Kontrol altına alınamayan endotel aktivasyonu, ya geri dönüşümü olmayan endotel hasarı ya da endotel hücre apoptozu ile sonuçlanır (33,40).

Endotel disfonksiyon vazoaktif moleküllerinin dengesinde kalıcı bir bozukluğun meydana gelmesi ve endotelin doku perfüzyonunu düzenleyememesi sonucu oluşur. Kritik düzeylerde endotel adezyon molekülleri, prokoagülan moleküller, sitokinler ve kemokinler endotel hücre nekrozu ve diğer duvar hücre hasarlarına neden olduğu için geri dönüşü olmayan endotel hücre hasarı kronik endotel hücre

aktivasyonu ile sonuçlanır (33). Aktiflenmiş veya apoptotik hücrelerden dolaşıma verilen endotelial mikropartiküller de birer endotelial hücre hasar belirteçleridir (41).

#### **2.2.4. Kardiyak Risk Faktörleri ve Endotel Fonksiyonu**

Endotel aktivasyonu veya disfonksiyonu KAH gelişiminin erken evrelerinde meydana geldiği için birçok çalışma geleneksel değiştirilebilir ve değiştirilemez risk faktörlerinin endotel fonksiyonu üzerindeki etkisini irdelemektedir. Epidemiyolojik verilere göre; diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, obezite, egzersiz, diyet, alkol tüketimi, cinsiyet, aile öyküsü ve yaş; ilk kez miyokard infarktüs geçirenler için bu riskin %90'dan daha fazlasını oluşturmaktadır (42). Geleneksel kardiyovasküler risk faktörleri ROS'un ve ardından da oksidatif stresin artmasına yol açan biyolojik reaksiyonlar aracılığıyla, L-arginin indüklü NO sentezinde azalmaya neden olur ve anti-trombotik faktörlerdeki kaybın da eşlik ettiği kronik inflamatuvar bir süreç gelişir (43,44).

Özellikle değiştirilebilir kardiyak risk faktörlerinin (alkol ve sigara kullanımı, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, düşük HDL kolesterol düzeyleri) tedavisi veya bırakılması endotel fonksiyonunu iyileştirebilirken (45), bazı vakalarda aterosklerotik ilerlemeyi yavaşlatabilir (46). Ayrıca birden fazla kardiyovasküler risk faktörünün varlığı ise endotelial hasar ile sinerjik etki göstererek kardiyovasküler riskin kat ve kat artmasına da neden olabilir (42,47,48).

Günümüzde geleneksel olmayan risk faktörleri de tanı ve tedavinin izlenmesinde önemli yer tutmaya başlamıştır. Arter duvarına karşı gelişen birtakım serolojik belirteçler tanımlanmış, fakat çoğu her ne kadar endotelial hasarı işaret etse de aralarında KAH ile nedensel bir ilişki bulunamamıştır (49). Yüksek duyarlı C-reaktif protein (50) ve homosistein (51) hariç diğer son bulunan kardiyovasküler biyobelirteçlerin (troponinler, B tipi natriüretik peptid, mikroalbuminüri) geleneksel risk faktörlerine birincil prediktif değer katmadığı düşünülmektedir (52).

Ateroskleroz risk faktörlerinin birbirlerinden bağımsız olarak değil, toplam etkilerinin bir bütün halinde değerlendirilmesi önerilmektedir. Amerikan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı'na göre KAH risk faktörlerinin sınıflandırılması (53):

#### **A. Major Risk Faktörleri**

##### **1. Değiştirilebilen risk faktörleri**

- Alkol ve sigara kullanımı

- Hipertansiyon: kan basıncı  $> 140/90$  mmHg olması veya antihipertansif tedavi görülmesi
- Hiperkolesterolemi: Total kolesterol  $>200$  mg/dL, LDL  $>130$  mg/dL
- HDL kolesterol düzeyinin düşük olması:  $< 40$  mg/dL

## 2. Değiştirilemeyen risk faktörleri

- Aile öyküsü: Birinci derece akrabalarında; erkekler için 55, kadınlar için 65 yaşından önce kalp krizi ve ani ölüm bulunması
- Yaş: kadınlarda  $>55$  ve erken menapoz durumu, erkeklerde  $>45$

## B. Minör Risk Faktörleri

- Hipertrigliseridemi
- Obezite
- Sedanter yaşam tarzı
- Stres

## C. Yeni Eklenen Risk Faktörleri

- Homosistein yüksekliği
- Lipoprotein(a) yüksekliği
- Koagülasyon eğiliminde artışa neden olan etkenlerin varlığı: Fibrinojen, plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), V-WF, F-VII ve F-VIII yüksekliği
- İnflamatuvar belirteçlerin yüksekliği: CRP, IL-6, TNF- $\alpha$ , Cu, Fe

## 2.3. Aterosklerotik Plak Oluşumu ve Morfolojisi

1970'li yıllarda yayınlamış olduğu 'hasara yanıt' hipotezi ile 20. yy'ın ikinci yarısında ateroskleroz ile ilgili bilgilerimizin gelişmesine önemli katkılar sağlamış olan Russell Ross (54), aterosklerotik lezyonların gelişiminden önceki üç ana olayı; düz kas hücrelerinin intimal poliferasyonu, bu hücrelerin çoğunun kollajen, elastik lif proteinleri ve proteoglikanlardan oluşan matriks dokuya bağlanması ve daha ileri lezyonlarda nekrotik bir çekirdeğe dönüşebilecek intra- ve ekstraseüller lipid birikiminin meydana gelmesi olarak özetlemiştir (55).

İlk intimal olay, geleneksel kardiyovasküler risk faktörlerinden immünolojik yaralanma veya enfeksiyonlar gibi daha az konvansiyonel mekanizmalara kadar çeşitli ihtimallerin endotelial hasara dönüşmesiyle ortaya çıkar. Endotel hasar uyarısı devam ederse, endotel hücreleri yapısal ve işlevsel değişikliklere uğrar ve bu da alt katmandaki kollajen dokuya trombositlerin yapışarak bu bölgede toplanmasına neden olur (55). Endotel disfonksiyon ile ilgili üzerinde durulan diğer teori ise, göçten ziyade, uygun koşullar altında geri dönülebilirlik ve plak regresyonunun iyileştirebileceği yönündedir. Endotelial hasar ve tamir mekanizması arasında uzun yıllar devam edebilen, düz kas hücre poliferasyonuna yol açan bir denge vardır. Birçok durumda, farklı hasar şekilleri, endotelin yapışkanlığını, pıhtılaşmasını ve permeabilitesini artırır (56).

Ateroskleroz sistematik bir hastalık olmasına rağmen, çoğu zaman aort, koroner, serebral, femoral ve ilyak arterlerin tutulumuyla karakterizedir ve farklı hastalarda farklı organları etkiler (54). KAH'nın en önemli nedeni koroner arterlerin duvarlarında meydana gelen sistematik inflamasyon kaynaklı koroner aterosklerozdur (57).

### **2.3.1. Aterosklerotik Plak Gelişimi**

Ateroskleroz aşamalı olarak ilerleyen bir süreçtir (58). Ana morfolojiler doğrultusunda, makrofaj köpük hücre oluşumu ve ölümü, ekstrasellüler lipid birikimi, intrasellüler matriks ve düz kas hücrelerindeki yapısal değişiklikler ve yer değiştirmeleri, mineral depolarının artışı, kronik inflamasyon, neovakülarizasyon (yeniden damarlanma), lezyon yüzeyindeki bozulmalar, hematoma ve pıhtı oluşumu ve fibromusküler dokuya geçişle karakterize çok sayıda patojenetik aşamadan oluşan süreç, çift yönlü seyredir (59). Sitokinler, pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar moleküllerin yer aldığı karmaşık bir dizi aşamalar tarafından da ilerletilir (60).

Amerikan Kalp Derneği'nin vasküler lezyonlar ile çalışan komitesi tarafından da desteklenen Sary ve arkadaşları (61); ateroskleroz oluşumunun altı farklı morfolojik aşamadan oluştuğunu belirtmişler ve bu aşamaları ana hatlarıyla tarif etmişlerdir. Bu aşamalar histolojik kompozisyonlarına ve yapılarına göre sınıflandırıldıklarında; hayatın ilk üç dekadında ortaya çıkan bazen geri döndürülebilir faz olarak da adlandırılan pre-lezyonel faz (tip 1-3) ve plak gelişimi evresi (tip 4-6) olarak ikiye ayrılabilirler (62).



### 2.3.1.1. Pre-lezyonel Faz

#### Faz 1: Plak Oluşumunun Başlaması

Endotel hem çok geniş bir yüzeye sahip olduğu için hem de sürekli olarak kan ile temas halinde olduğu için arteriyal lezyona yatkın bölgelerde vücut homeostazında (örn; hiperlipidemi, hiperglisemi, iltihaplanma) meydana gelen değişikliklerden ilk olarak endotel hücreleri etkilenir. Endotel hücreleri tarafından kontrol altına alınan endotelial permabilitedeki modifikasyonlar plazmadaki LDL partiküllerinin intimaya geçmesine ve burada birikerek LDL birikintilerinin oluşmasına neden olur (63). İntimada biriken LDL molekülleri burada proteoglikanlar ve matriks proteinleri ile etkileşime girer. Bu proteinler LDL moleküllerinin oksidatif olarak modifiye lipoproteinlere (MLp) dönüşümünü şiddetlendirir. Lipoprotein (Lp) moleküllerinin subendotelial bölgede alıkonulması ve birikmesi endotel hücrelerine ve Lp moleküllerinin oksidasyona duyarlılığı gibi karakteristik özelliklerine bağlıdır (64). LDL ya plazmada, ya endotel hücreleri arasından geçerken ya da subendotelial ekstrasellüler matriksde aterojenik modifikasyonlara uğrar. LDL bu lokasyonların her birinde farklı derecelerde değişime uğrar (65). Dolaşımında tespit edilen değişikliğe uğramış küçük LDL fraksiyonu (oksidlenmiş, glikozillenmiş, enzimatik olarak modifiye olmuş, vb) plazmada bulunan güçlü antioksidan sistemler sayesinde karaciğer ve diğer organlarda bulunan mononükleer fagositik sistem sayesinde plazmadan uzaklaştırılır.

MLp'lerin intimaya göçü ve orada birikmesiyle birlikte endotel hücrelerin biyosentetik kapasitesinde majör değişiklikler meydana gelir. MLp'lerin etrafında zamanla hiperplazik çok tabakalı bir bazal lamina oluşmaya başlar (66). Bazal lamina ve ekstrasellüler matriksin poliferasyonu miyoendotelial bağlantıları ve komşu düz kas hücreleri arasındaki bağlantıları bozarak damar duvarının uyarılar vermesine yol açar.

Normal koşullar altında, endotel hücre plazma membranı negatif yüklüdür, bu özelliği endotele non-trombotik özellik kazandırır. Uzun süreli hiperlipidemi, endotel hücre membranındaki bu anyonik bölgelerin dağılmasına neden olur. Endotel hücre plazma membranındaki negatif yük oranındaki azalma, permabilitede artış ve spesifik arter bölgelerinin adheziv karaktere dönüşmesiyle sonuçlanır (67).

#### Faz 2: Endotel hücre disfonksiyonu

Endotel hücre tabakasına yansıyan değişiklikler endotel hücrelerini aktifleyerek savunmaya geçmesini ve çok sayıda faktörün rol oynadığı inflamatuvar süreci başlatır.

Endotel hücre plazma membranından hücre adezyon molekülleri; intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), E-selectin ve P-selectin, fraktalkin ve aynı kökenli monosit reseptörlerini (VLA-4 ve CCR2) bağlayan vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1)'in sekresyonu artar. Endotel hücreleri aynı zamanda monositleri bağlayabilen monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve interlökin-8 (IL-8), T-lenfositlerin de sürece dahil olmasını sağlayan üçlü CXC kemokinleri (68); ve mast hücrelerine bağlanabilen eotaksin sentezlerler. Sonuç olarak insan aterosklerotik plaklarında bütün bu moleküllerin ekspresyonu artar (69).

### **Faz 3: Güçlü İnflamatuvar Cevap ve Yağlı Çizgi Oluşumu**

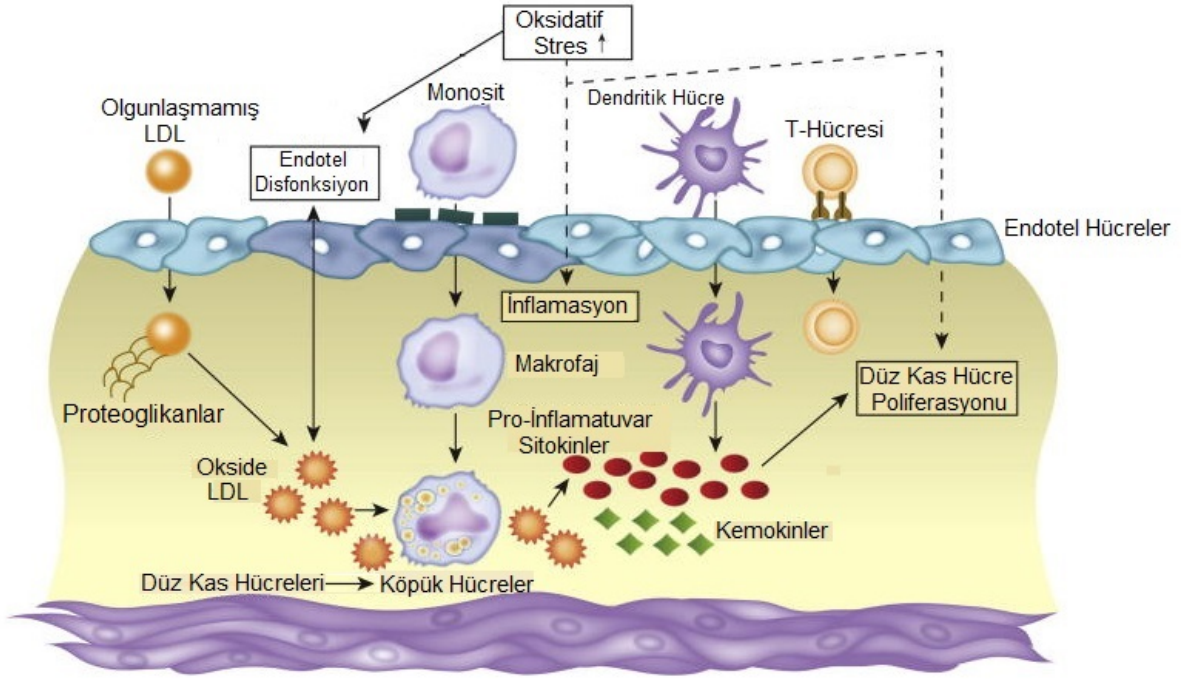
Proinflamatuvar özellikteki monositler intimaya doğru göç eder ve integrinler, endotel hücre adezyon molekülleri ile kemokinlerin M<sub>1</sub> içeriği yüksek arterleri çevreleyen endotel tabaka tarafından yakalanıp, yapışmasını ve burada alıkonulmasına neden olur. Adezyon sürecini, endotel hücre bağlantıları arasından monositlerin sızması ve subendotelyal bölgeye yerleşmeleri takip eder (8).

Bu aşamada monositlerin yanı sıra trombositler, T-hücreleri, polimorfonötrofiller (PMN), mast hücreleri ve B-hücreleri de rol oynar. Aktiflenmiş trombositler, lökositlerin bütün çeşitleriyle, özellikle de pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı, ROS üretimi ve endotelyal adezyon gibi çok sayıda pro-inflamatuvar fonksiyonların upregülasyonuna yol açan monositler ile etkileşim halindedir. Trombositler, monositlerin toplanmasına yardımcı olarak plak oluşumuna katkıda bulunurlar. İlk aşamada, aktiflenen endotel hücrelerin yüzeyinde von Willebrand faktörü (vWf) ekspresyonu artar, daha sonra trombositlerin glikoprotein Ib reseptörü ile etkileşerek, trombositlerin sağlam endotel hücre yüzeyine yapışmasını tetikler. Yapışma üzerine trombositler aktiflenir ve çeşitli pro-inflamatuvar sitokinler ve kemoatraktanları (trombosit faktör 4, RANTES, P-selektin, çözünür CD-40 ligandı, matriks metalloproteinazlar) salgırlar. Trombosit membranındaki P-selektin; endotel hücre-trombosit etkileşimine aracılık eder. Trombosit P-selektin ile monosit P-selektin glikoprotein ligand-1 arasındaki etkileşim trombosit-monosit agregatlarının oluşmasına yol açar (70). Aktif hale gelen trombositler VCAM-1'e lökosit bağlanmasını uyarır ve onların hasarlı endotele daha kuvvetli tutunmasına imkan sağlar. T-hücreleri; özellikle de CD4<sup>+</sup>T hücreleri, antijen sunan dendritik hücreler ve CD8<sup>+</sup>T hücreleriyle birlikte plak oluşumunun prelezyonel aşamalarında rol oynar (71). Dolaşımda T-hücreleri,

spesifik hücre reseptörlerine bağlanabilen kemokinler, monokinler ve kemotraktanlara cevap olarak aterosklerotik lezyona doğru göç ederler. Plak içindeki MLp gibi çeşitli ajanlar T- hücre proliferasyonunu indüklerler (72). Ardından antijenin tanınması ve tip 1 helper T hücrelerinin aktivasyonu, makrofaj aktivasyonunu ve inflamatuvar cevabın şiddetini arttıran sitokinlerin ve hücre yüzey moleküllerinin sekresyonunu uyarır. Dendritik hücreler nativ T-hücrelerinin aktivasyonu ve immün cevaplara aracılık eden spesifik T-hücrelerinin gelişimi için gerekli olan özelleşmiş antijen sunan hücrelerdir ve plak oluşumunun ilk evrelerinden ilerleyen aşamalarına kadar, özellikle lezyonların rüptür oluşumuna meğilli olduğu fazlarda etkilidirler (73). MLp ve aterosklerozla ilişkili diğer uyarılar (örn;TNF-a) dendritik hücrelerin endotele göçünü artırır (74).

Adezyon molekülleri polimorfonükleer nötrofillerin (PMN) göçüne ve endotele sızmasına da neden olur. Aktiflenmiş PMN kanda süperoksid ve pro-inflamatuvar medyatörler salarlar ve inflamatuvar hücrelerinin daha kuvvetli tutunmasına yol açarak plak hassasiyetinin artmasına neden olurlar (75). Aktiflenen mast hücreleri ise plak içindeki histamin, nötral proteazlar, büyüme faktörleri ve proinflamatuvar sitokinler bakımından zengin sitoplazmik granüller sentezlerler. Bu faktörler MLp, ekstrasellüler matris ve aktiflenen mast hücrelerine komşu olan intimal hücreleri etkilerler (76). Aterosklerotik plak gelişimi indükleyen bu moleküllerin aksine B hücreleri immün cevap oluşumunda etkilidirler ve immünoglobulin üreterek plak gelişimi boyunca koruyucu etki oluştururlar (60).

İntimadaki monositler, çöpçü reseptörler (SR-B1 ve CD-36) aracılığı ile makrofajlara dönüşmektedir. Normal LDL reseptörlerinin tanımadığı okside LDL moleküllerini tanıyarak kontrolsüz bir şekilde hücre içine alabilme özelliğine sahip olan çöpçü reseptörler ileri glikasyon ürünleri, anyonik fosfolipidler ve hatta apoptotik hücrelerin alımında bile etkilidirler. MLp'lerin makrofajlar tarafından kontrolsüz bir şekilde alınması, aktif makrofajların kolesterol yüklü köpük hücrelerine dönüşmesine neden olur. Köpük hücreler ileri düzeyde fibro-lipid plağa dönüşebilen yağlı çizgilenmelere neden olur (77).



Şekil 2.2. Ateroskleroz patogenezinin şematik gösterimi.

### 2.3.1.2. Plak Gelişim Evresi

#### Faz 4: Fibröz Plak Oluşumu

Plak gelişimindeki en önemli olay düz kas hücrelerinin iç elastik laminayı degradasyona uğratarak mediadan intimaya geç etmesidir (78). Makrofaj türevi köpük hücreler plak içerisinde sitokinler, büyüme faktörleri, doku faktörü, interferon gama (IFN- $\gamma$ ), matriks metalloproteinazlar (MMP) ve CD-40 lenfositleri salgılayarak ve ROS üreterek moleküler sinyaller gönderir ve böylece düz kas hücrelerinin intimaya geç edip burada birikmesine neden olur. Aktif endotel hücreleri gibi geç eden düz kas hücreleri de sekretuar fenotipe dönüşür. Dolaşımdaki kemik iliği hücreleri ve adventisyadaki vasküler progenitör hücreler de intimaya düz kas hücre göçünü uyarır (66).

Bu evre kep oluşumu ile intimayı adaptif kalınlaşmaya duyarlı bölgeler haline getirirse de içeriği sağlıklı intimaninkine benzemektedir. Damarların dışarıya doğru genişleme kabiliyeti olduğu için; evre 4 ateromu olan çoğu insanda tıkanıklığa yol açabilecek KAH görülmez (79).

### **Faz 5: Kalsifiye Aterosklerotik Fibro-Lipid Plak Oluşumu**

Plak içinde serbest kolesterol birikmesi, makrofaj kaynaklı köpük hücrelerinin apoptozisine; bununla birlikte lezyonlar içerisindeki düz kas hücreleri ve T hücrelerinin de apoptotik ölümüne neden olur (77). Apoptotik hücrelerden salınan moleküller nekrotik hücre oluşumunu başlatır. Bu aşamanın en belirgin özelliği, fibröz doku ile çevrelenmiş lipid bakımından zengin bir nekrotik çekirdek oluşumudur (80). Ekstrasellüler matrikste biriken non-esterifiye kolesterol taneciklerinin sitotoksik kristallere dönüşmesiyle aterosklerotik plak komplike ateroma dönüşür ve sonuç olarak koroner arterler tamamen tıkanır (81).

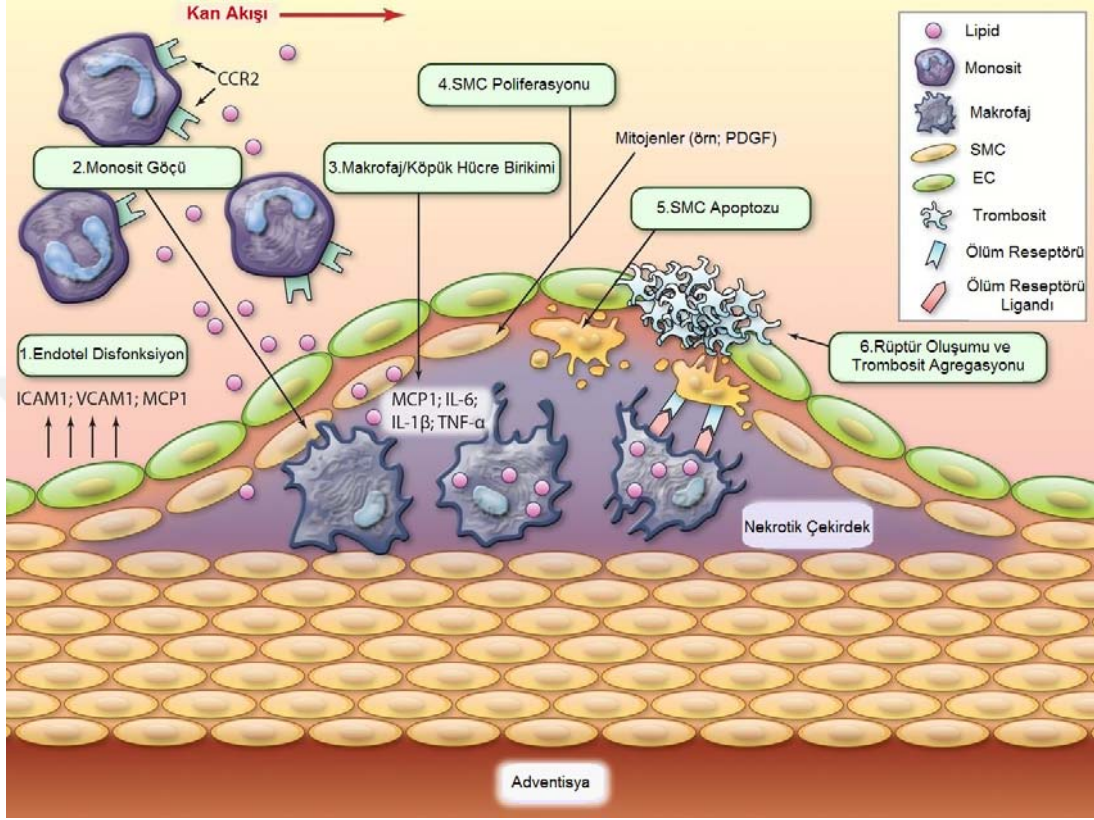
Sağlam bir fibröz tabaka ile çevrelenmiş fibröz-lipid lezyonlar stabil plak olarak adlandırılır. Makrofaj ve T-lenfositlerin nekrotik çekirdeğe infiltrasyonu ve hücrel apoptoz ile fibröz çeper incelik ve açığa çıkan büyük kolesterol kristalleri, rüptüre eğilimli ve pıhtı oluşumuyla sonuçlanan stabil olmayan plakları oluştururlar. Bu süreç kalp krizi ve felç ile sonuçlanır (82).

### **Faz 6: Komplike Plak Oluşumu**

Plak rüptürün mekanizması tam olarak bilinemese de bu safhada fibröz kepin kalınlığında incelme, inflamatuvar sitokinler ve matriksi parçalayan proteazların düzeylerinde artış, kollajen sentezinde azalma ve nekrotik çekirdekte apoptotik hücre oluşumu gözlemlenmektedir. Aterosklerotik plak oluşumunu şiddetlendiren bütün bu hücreler plak rüptürü oluşumunu ve ardından pıhtı oluşumunu beraberinde getirir. Fibröz kepi çevreleyen endotel hücre tabakasının aşırı derecede inceliğiyle ya da lipid yüklü taneciklerin köpük hücrelere dönüşmesiyle endotel hücreleri zarar görür ve ekstrasellüler matriks dolaşımında pıhtı oluşumunu başlatan hücrelere maruz kalır.

Makrofajlar incelmış fibröz kepten içeri girerek matriks stabilizasyonunu bozan MMP'ler gibi çok sayıda inflamatuvar sitokin ve proteaz sekrete ederler. Bu durum aterosklerotik plak rüptürünün güçsüzleşmesinde ve yırtılmasında anahtar rol oynar. Makrofajların ölümü ve apoptotik hücrelerin fagositik olarak temizlenmesindeki defekt zayıf plağın nekrozu ile sonuçlanır. Ölen makrofajlardan, plağın yırtılmasında görev alan inflamatuvar sitokinler ve matriks proteazlar salınır. Nekrotik çekirdeğin kepe uyguladığı mekanik stres de plak rüptürüne neden olabilir (80). Ekstrasellüler matriksin proteolitik yıkımıyla eş zamanlı olarak düz kas hücrelerindeki kollajen sentezi de azalır. Bu durum fibröz kepte incelme ve plak rüptürü ile sonuçlanır. Plağın özellikle rüptüre

yatkın bölgelerinde bulunan mast hücreleri plak destabilizasyonuna neden olan proteazlar (triptaz ve krimaz) sekrete ederler (60).



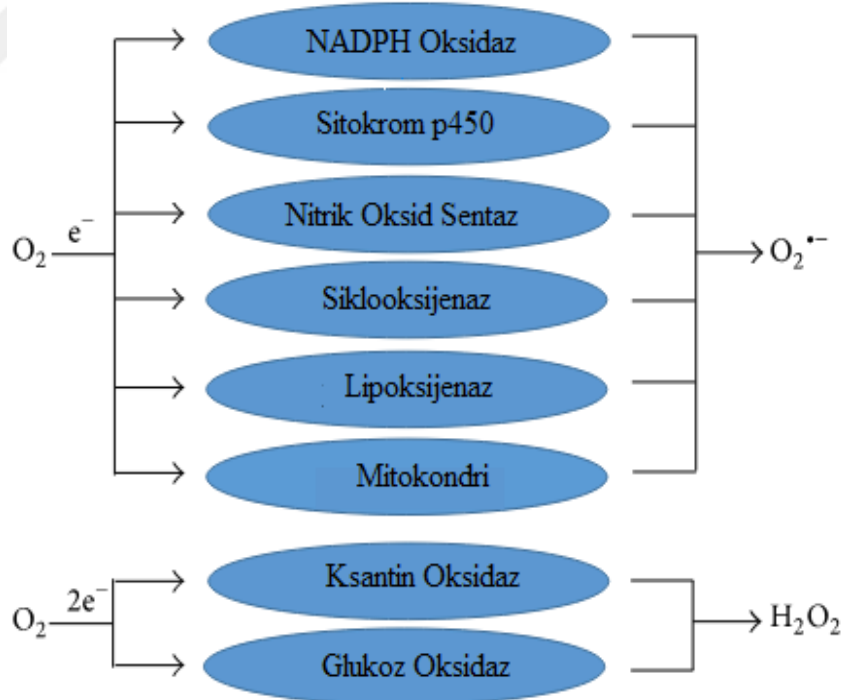
**Şekil 2.3.** Ateroskleroz ve kararsız plak oluşumunun şematik gösterimi.

Bu işlemler herhangi bir lezyon gelişimi esnasında baskın gelebilir ya da yetersiz kalabilir. Bazıları tüm süreç boyunca etkin olurken bazıları sadece belli aşamalarda etkisini gösterir. Lezyon gelişiminin ikinci evrelerine doğru, süreçlerin çoğu eş zamanlı olarak çalışmaktadır (59). Bu evrelerin gelişimi düzenli değildir, örneğin; bir lezyon evre 5 ve 6'dan ard arda geçerek tıkanıklığı artırabilir. Pıhtı içermeyen %61'den fazla stabil lezyonda post-mortem dönemde miyokard infarktüsü bulgularında iyileşmeye rastlanmıştır (83). Klinik önem arz etmeyen bu tekrarlayan rüptürlerin hematom veya/ve pıhtıya dönüşmüş halleri fibromusküler dokuya transfer edilir, böylece kep büyüklüğünde artış olur.

## 2.4. Oksidatif Stres

Oksidatif stres reaktif oksijen/nitrojen türü (ROS/RNS) oluşumu ile organizmanın antioksidan savunma sistemi aracılığıyla bu reaktif türler ile mücadele edebilme kapasitesi arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır (84) ve ROS/NOS üretimindeki artış veya antioksidan savunma sisteminde kayıp oluştuğunda, endojen savunma sistemindeki zayıflama nedeniyle organizmanın hedef moleküllerin oksidatif ataklarına karşı koyamaması sonucu ortaya çıkar (85).

Oksijenlenmiş reaktif türlerden genellikle zararlı oksidatif reaksiyonlar sorumludur. Bununla birlikte fizyolojik koşullardaki ROS ve RNS'nin kimyasal savunma sistemi, detoksifikasyon ile hücre sinyal yolları ve biyosentez reaksiyonlarında rol oynayan faydalı moleküller oldukları da ileri sürülmektedir (85). Ksantin oksidaz, siklooksijenaz, lipoksijenaz, miyeloperoksidaz, sitokrom P-450 monooksijenaz, nitrik oksid sentaz (NOS), peroksidazlar ve NADPH oksidazlar ROS oluşumuna katılan enzimlerden bazılarıdır. Vasküler hücreler dışında da NADPH oksidaz aracılığı ile polimorfonükleer lenfositlerden de üretilebilirler (86).



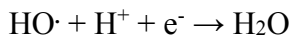
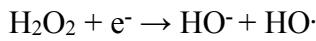
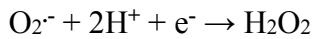
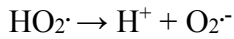
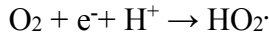
Şekil 2.4. Hücrelerde  $O_2^{\bullet -}$  ve  $H_2O_2$  üreten enzimatik yollar.

### 2.4.1. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri

Serbest radikaller son yörüngelerinde bir tane paylaşılmamış elektron bulunduran ve bağımsız hareket edebilen reaktif kimyasal moleküllerdir (87,88).

Reaktif oksijen türleri; hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), süperoksit ( $O_2^-$ ), singlet oksijen ( $^1O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ) gibi hem radikal hem de radikal olmayan oksijenlenmiş moleküllerden oluşurlar. Ayrıca reaktif nitrojen türleri, demir, bakır ve sülfür türlerine de rastlamak mümkündür (87,89). Serbest radikal üreten metabolik yolların aktiflenmesiyle birlikte çevresel oksidanların da devreye girmesiyle endojen ve ekzojen serbest radikal oluşumunun önüne geçilemez. Oksijenli solunum, fagositik aktivasyon, sigara kullanımı, alkol, iyonize ve UV radyasyonları, pestisidler ve ozon gibi kirletici/toksinlerin aktivasyonu ile serbest radikal üretimi artar. Düşük konsantrasyonlardaki ROS transkripsiyon faktörlerini uyararak hücre proliferasyonu, apoptoz ve gen ekspresyonunun regülasyonunda görev alırlar. Fagositlerdeki ROS üretimi, çeşitli bakteri veya mantarlara karşı korunmada çok önemlidir (90).

Kimyasal enerji ve ısı üretmek, karbon ve hidrojen içeren biyomolekülleri oksitlemek için  $O_2$  kullanılan aerobik reaksiyonlarda moleküler  $O_2$ ; hidroperoksil radikali, süperoksit radikali anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil anyonu ve hidroksil radikale aşağıda gösterildiği şekilde aşamalı olarak indirgenir (88):

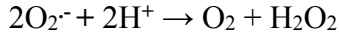


Oksijenin  $\Pi^* 2p$  orbitaline bir elektron girmesiyle süperoksit radikal anyonu oluştuğu belirlenmiştir (88). Dihidro nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz), ksantin oksidaz, skloksijenaz gibi oksidazların bir elektron vererek oksijeni indirgemesi sonucu süperoksit açığa çıkar. Süperoksit radikal anyonları mitokondride elektron transport zincirinde oksidatif fosforilasyon ile ATP üretimi esnasında da oluşabilir (91). Sulu çözeltilerde, askorbik asit ve tiyol gruplarını yükseltgeyebilen zayıf bir oksitleyicidir. Ayrıca sitokrom c gibi demir içeren bazı kompleksleri de indirgeyebildiği gösterilmiştir. Protonlanmış formu olan hidroperoksil



radikali, süperoksit anyonuna göre daha kuvvetli bir yükseltgeyici ve indirgeyicidir, fakat hidroperoksit pH 7,4'de süperoksit anyonuna göre daha az stabildir (88).

Süperoksit anyonunun pozitif yüklü bölgelere atak yapabilen nükleofilik ve hidrojen donörleriyle (örn; askorbat ve tokoferol) etkileşebilen yükseltgen olmak üzere iki formu vardır. Moleküler oksijen ve hidrojen peroksit de dönüşebilir (92).



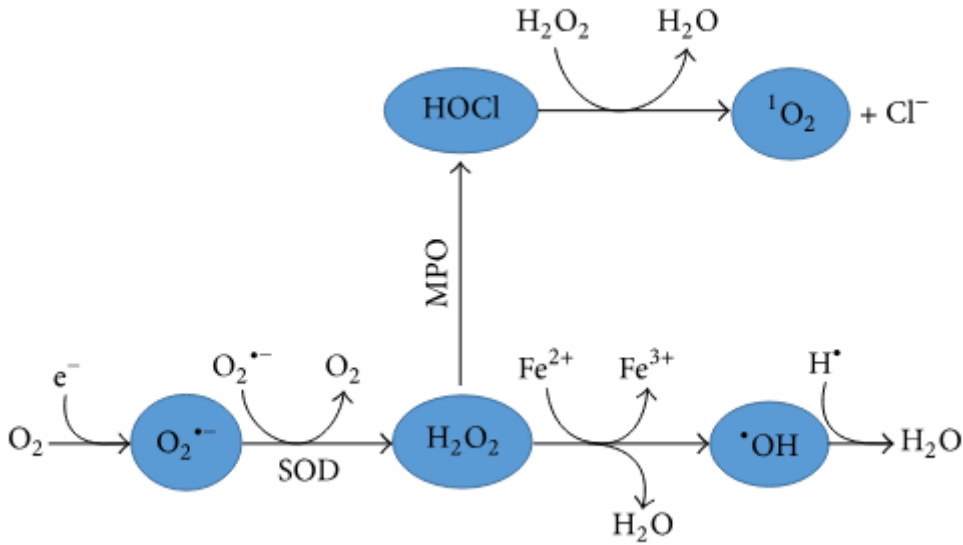
Süperoksit radikal anyonu ekstrasellüler faktörlerin (iyonize radyasyon etkisi ve oksidatif bozukluklar) etkisiyle oluşan süperoksit anyon radikallerini tüketen süperoksit dismutaz ailesine ait enzimler veya elektron transport zincirindeki oksijen metabolizması tarafından başka formlara dönüştürülebilir (93,94).

Ürat oksidaz, glukoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz varlığında moleküler oksijene iki elektron transfer edilmesiyle hidrojen peroksit sentezi gerçekleşir.  $H_2O_2$ 'in metal iyonlarıyla etkileşimi sonucu oldukça yüksek oranda reaktif ürünler oluşur (88). Demirin serbest kalmasıyla hem içeren proteinlere direkt olarak bağlanabilmesi, enzimleri inaktive edebilmesi ve DNA, lipidler, -SH grupları ve keto asitlerini okside edebilmesi  $H_2O_2$ 'in direkt etkilerini oluşturur (92).  $H_2O_2$  yalnızca ferri-hem içeren hidrojen peroksit katalaz tarafından suya indirgenebilir (93).

$HO\cdot$  radikali birçok biyomolekülün oksidatif hasarından sorumlu oldukça güçlü bir radikaldir. Fenton reaksiyonları ve suyun radyolizi sonucu açığa çıkar (88). DNA, lipidler, proteinler, aminoasitler, şekerler ve metaller gibi organik ve inorganik molekülleri tahribata uğratan en güçlü oksitleyici radikal olduğu rapor edilmiştir. Bu tepkiler  $HO\cdot$ 'nin oldukça yüksek reaktif yapısı ve kısa ömürlü olmasıyla birlikte hidrojen ilavesi, çıkarılması ve elektron transferi ile ilişkilidir (92).

Moleküler oksijen bir serbest radikal değildir, ancak spin kısıtlaması kaldırıldığında oksidatif güç artacağı için oksijenlenmiş türleri oldukça reaktiftir (88).

Diğer bir radikal üretici enzim myeloperoksitaz; klorid anyonları varlığında hidrojen peroksitten katalitik olarak hipokloröz asit üretiminden sorumludur.  $HClO$  lipidler, proteoglikanlar, aminoasitler ve de diğer membran veya ekstrasellüler bileşiklerin oksidatif klorinasyonunu indükler (95). Hipokloröz asit ( $HOCl$ ) makrofajlarda ve nötrofillerde myeloperoksitaz varlığında ortaya çıkar ve yüksek oranda oksidatif özelliklere sahiptir.



**Şekil 2.5.** İnsan vücudunda ROS üreten yollar.

Patolojik durumlarda, reaktif oksijen türlerindeki artış sitotoksisite ile yakından ilişkilidir. Bu durum antioksidan enzim aktivitesinde modifikasyona, inaktivasyona veya hücrelerden plazmaya sızmasına neden olur. Süperoksit ve hidrojen peroksidin tek başlarına çok reaktif olmadıkları ve fizyolojik koşullarda neredeyse stabil oldukları rapor edilmiştir. Bu moleküllerin aktivitesi hem içeren proteinlerin ve düşük moleküler ağırlıklı geçiş metali şelatlarının varlığında artar ve hidroksil radikali ve ferril hem protein radikali gibi daha reaktif türlere dönüşürler. Daha sonra alkoksil ve peroksil radikalleri oluşturabilir. Antioksidan savunma enzimleri sayesinde iyon kanalları, yapısal proteinler ve membran lipidlerinin oksidatif hasarı önlenebilir, aksi takdirde hücre fonksiyonlarında meydana gelen bozukluk patolojik sonuçlar doğurur ve nihai olarak hücre ölümü gerçekleşir (96,97).

İnsan vücudunun oksidan-antioksidan dengeyi sağlayabilmek için oksidan düzeylerindeki değişimlere karşı koyabilen kendi savunma sistemleri vardır (98). Bu antioksidan savunma sistemi süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimlerinden ve non-enzimatik moleküller olan albumin, bilirubin, glutatyon (99), Nrf2/ARE-aracılı antioksidan gen ekspresyonunu düzenleyen moleküler mekanizmadan oluşur (100). Mikrobeyinler ve vitaminler de vücudu oksidatif hasara karşı koruyan biyomoleküller arasındadır (101). Bununla birlikte, patofizyolojik koşullarda ROS üretimi hücrelerin doğal antioksidan savunma sisteminin kapasitesini aşar ve aktiflenmiş ROS'un sonucu hücresel değişiklikler meydana gelir (102–104).

Oksidatif stres inflamasyona neden olduğu için ve bu da oksidatif stresi indüklediği için oksidatif stres ve inflamasyon birbiriyle yakından ilişkilidir. Her ikisi de endotel hücrelerinde hasara yol açar (105,106). Endotel disfonksiyon sırasıyla endotelden salınan adezyon moleküllerinin artışına ve araşidonik asit metabolitlerinde ve kemotraktant moleküllerinde dengesizliğe yol açarak pro-inflamatuvar bir ortam oluşturur (107). Böylece pozitif geri besleme mekanizmasıyla vasküler inflamasyon da endotel disfonksiyonu tetikler (108–110). Endotel disfonksiyon da ateroskleroz gelişiminde erken tanı belirteci olarak kabul edilmektedir (111).

## 2.5. Endoplazmik Retikulum Stresi

Endoplazmik retikulum; protein, lipid sentezinde ve  $Ca^{+2}$  geçişlerini kontrol ederek çeşitli sinyal yollarının düzenlenmesinde hayati öneme sahiptir. Granüllü ve granülsüz olmak üzere iki çeşit endoplazmik retikulum (ER) vardır. Granüllü ER protein sentezi ve  $Ca^{+2}$  sinyalinden sorumlu poliribozomlarla bağlantılıdır. Granülsüz ER ise yapısında lipid biyosentezinin gerçekleştiği tübüler yapıları bulundurur (112). Golgi aparatları, endozomlar, peroksisomlar ve lipid damlacıkları ile temas halindedir. En iyi tanımlanan kontakt noktaları ER ve mitokondri arasındakilerdir, birbirlerine sıkıca bağlıdırlar fakat bitişik değildirler (113). Bu bölgeler lipid metabolizmasında ve  $Ca^{+2}$  sinyalinde önemli rol oynarlar (114).

ER'deki protein katlanması oldukça fazla enerji gerektiren bir işlemdir ve ATP'nin büyük çoğunluğu mitokondriden sağlanır. Bu nedenle de enerji açığı olması durumunda mitokondriyal ATP üretimini uyarmak için ER'dan Ca salınır (115). ER'dan mitokondriye Ca salınımı mitokondriyal solunum ve hücre biyoenerjitiği için gerek duyulan önemli bir işlemdir (116) ve Ca salınımını ER'da ATP artışı takip eder (117).

ER protein katlanma kapasitesi tükendiğinde ya da yetersiz kaldığında, yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi ve toksik proteinler oluşma ihtimaliyle karşı karşıyadır. Hücreler bu durumu aşmak için katlanmamış protein cevabı (UPR) olarak adlandırılan kompleks bir yolak geliştirirler. UPR; ER stresi olarak adlandırılan, protein katlanması ve ER homeostazını bozan ve katlanmamış proteinlerin birikmesine yol açan bir seri iç ve dış kaynaklı hasarlar tarafından uyarılır. Bu stresler arasında katlanamamış mutant proteinlerin ekspresyonu, sekretuvar proteinlerdeki aşırı artış, ATP veya Ca düzeylerindeki değişiklikler ve redoks dengesindeki değişimler bulunmaktadır.

Özellikle hem ER stresinin hem de UPR yolağının aktivasyonunda ve baskılanmasında redoks dengesinde değişiklikler meydana gelir ve ER stresine indüklü kendiliğinden gelişen kısır bir döngüye girilir. Yapılan çalışmalarda ROS üretimindeki artış gibi oksidatif değişikliklerin ER stresine neden olduğu gösterilmiştir (118,119). Redoks statüsündeki dalgalanmaların ER stresini uyardığı yönündeki mekanizmalardan biri de Ca homeostazındaki bozukluktur. Çünkü hem ER'a Ca taşınmasından sorumlu sarkoplazmik retikulum Ca taşıyıcı ATPaz (ATP-bağımlı SERCA pompası) hem de sitozole pasif difüzyon ile Ca taşıyan IP<sub>3</sub>R kanalının aktivasyonu disülfid köprülerinin oluşumuyla düzenlenir (119,120). Bu şekilde ROS; Ca-bağımlı şaperonları inhibe ederek ER'da katlanmamış protein birikiminin kalsiyumun tükenmesine neden olur.

ROS ER stresine neden olabilir; fakat aynı şekilde bazı ER stresini şekilleri de ROS üretimini indükleyebilir (121). Özellikle de UPR-PERK yolağında ROS üretiminde artış olabilir. Böylece protein katlanmasından kaynaklanan stres ve oksidatif stres birbirini güçlendirir.

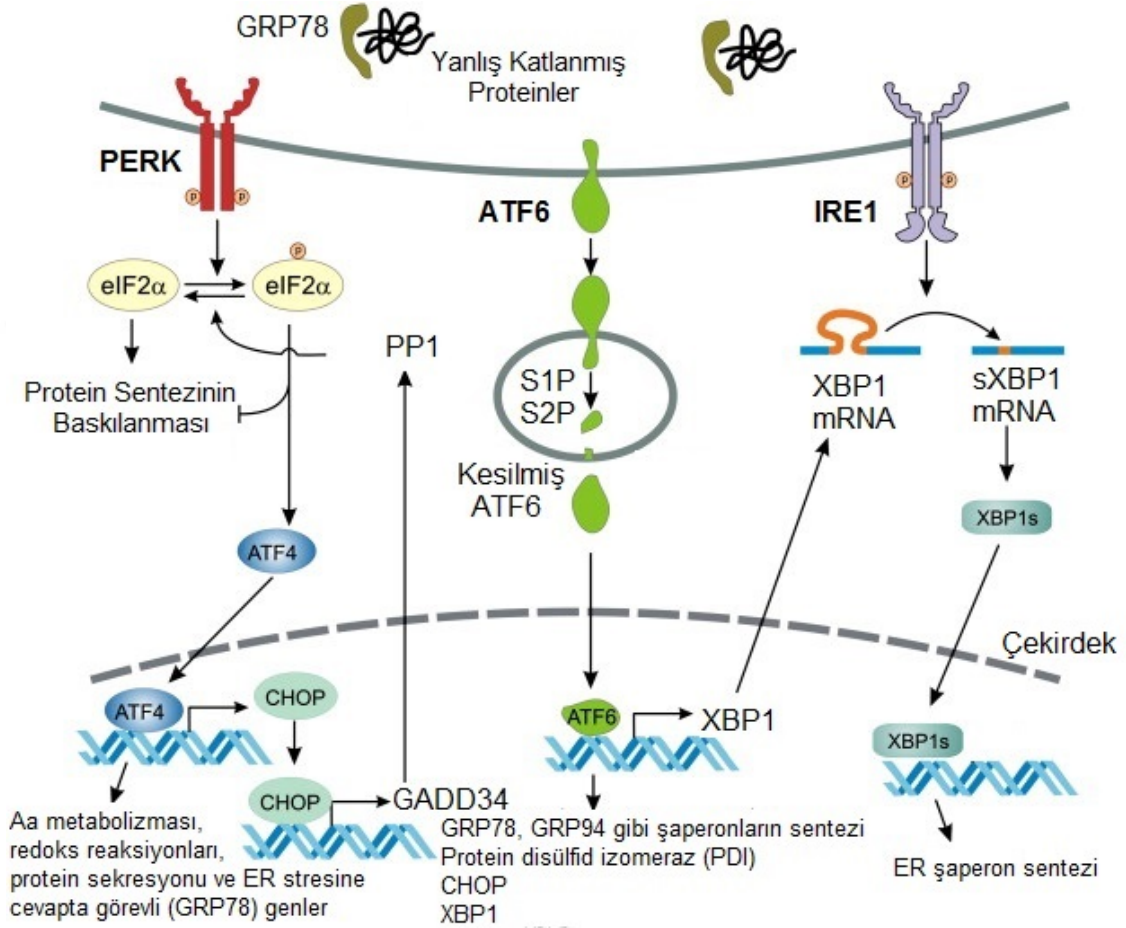
### 2.5.1. Katlanmamış Protein Cevabı

ER'nin en önemli fonksiyonu, ER lümeninde gerçekleşen sekretuar ve membrana bağlı proteinlerin post-translasyonel katlanmasıdır. Protein katlanmasının olağanüstü yükü, özellikle de sekretuar ve metabolik yollarda ER'da dakikada milyonlarca proteinin bu işleme tabi tutulduğu, bu olgunlaşmamış proteinlerden yaklaşık %30'unun doğru fonksiyonel konfigürasyona ulaşmayı başaramadığı şeklinde ifade edilmektedir (122). ER lümenine geçen proteinlerin durumu, asıl hedefi ER katlanma yükü ile katlanma kapasitesi arasındaki dengeyi sağlamak olan kalite kontrol sistemi tarafından (UPR) yakından takip edilir (123). UPR bunu genel protein translasyonunu azaltarak ve protein katlanmasını arttıran transkripsiyonel faktörleri aktifleyerek başarır (124).

Protein sentezinin arttığı veya ER katlanma kapasitesinin azaldığı durumlarda (patojenik enfeksiyonlar, dejeneratif hastalıklar ve besin akışındaki değişiklikler) katlanmamış proteinler ER'da birikir (125–128). Aşırı miktarda katlanmamış protein birikmesi halinde transmembran proteinleri UPR yolağını aktifler:

- 1) Protein kinaz RNA (PKR) benzeri ER kinaz (PERK),
- 2) İnositol gerektiren kinaz 1 (IRE1)
- 3) Aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF6)

Bu transmembran proteinleri normalde glikoz-regüle edici protein 78'e (GRP78) bağlı halde bulunur. Hücrede ER stresi durumunda bu proteinler şaperonlardan ayrılır ve dimerize olarak aktiflenir.



**Şekil 2.6.** ER stresi etkilerinin UPR yolağının aktiflenmesindeki rolleri.

PERK aktivasyonu ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 2  $\alpha$  (eIF2 $\alpha$ )'nın fosforilasyonuna yol açar. eIF2 $\alpha$  genel protein sentezini baskılayarak ER'un katlanmamış protein yükünü azaltır. Translasyonun baskılanması NF- $\kappa$ B'nin inhibitörü olan I $\kappa$ B'nin translasyonunu da azaltarak nükleer faktör- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)'nin aktiflenmesine neden olur (129). Aktiflenen NF- $\kappa$ B daha sonra nükleusa yerleşir ve proinflamatuvar sinyal yollarını indükler. Genel protein translasyonunu inhibe eden eIF2 $\alpha$  aynı zamanda bazı seçilmiş proteinlerin mRNA'ların translasyonunu artırır. Bu özel proteinlerden biri olan transkripsiyon aktive edici faktör 4 (ATF4) protein

katlanması ve degradasyonunda görev alan genlerin transkripsiyonel düzenleyicisi olarak rol oynar (130). ATF4'ün önemli bir hedefi de UPR aracılı apoptozun ana düzenleyicisi olan CCAAT/arttırıcı bağlayıcı protein homolog proteini (CHOP) 'dir. ATF4 aynı zamanda UPR yolağı ile oksidatif bir enzim olan NADPH oksidaz 2 (NOX2) kaynaklı oksidatif stres arasında önemli bir bağ olduğunu gösterir (121).

Diğer bir transmembran proteini olan IRE1 ise hem bir kinaz hem de endoribonükleaz görevi görür. IRE1'in endoribonükleaz aktivitesi onun aktivasyonunu sağlar. Aktiflenen IRE1 mRNA kodlayan transkripsiyon faktörü X-box bağlayıcı proteinin (XBP1) kesilmesini uyarır. IRE1 aynı zamanda çeşitli inflamatuvar yolaklarla da ilişkilendirilmiştir. Örneğin; IRE1'in adaptör protein TNFR-ilişkili faktör 2 (TRAF2) ile etkileşime girmesi, PERK yolağında olduğu gibi proinflamatuvar regülatör NF-kB'nin aktiflenmesine yol açar (131).

Üçüncü UPR efektörü olan ATF6 güçlü bir transkripsiyon faktörü olarak işlev görür. Aktiflendiğinde golgi aparatlarında proteazlar tarafından S1 ve S2 alt birimlerine bölünürler ve daha sonra çekirdeğe yerleşerek protein katlanmasında ve yıkımında görev alan genleri; CHOP, NF-KB ve XBP1'i uyarır (132,133).

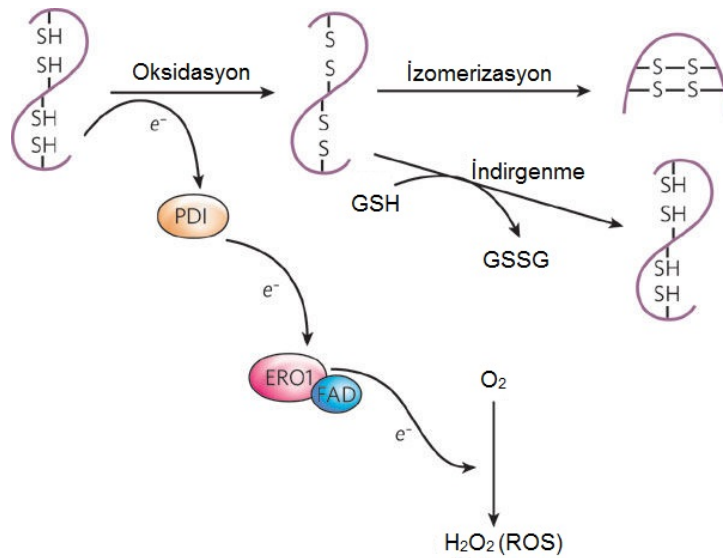
### 2.5.2. Oksidatif Protein Katlanması

Protein katlanması ve disülfid köprülerinin oluşması ER'de gerçekleşir. ER lümenin redoks statüsü protein katlanmasını ve disülfid köprülerinin oluşmasını etkiler. ER lümeni sitozolün aksine oldukça oksitleyici bir ortamdır, yüksek GSSH/GSH oranına sahiptir (134). GSH ve proteinlerin tiyol gruplarının ROS ile etkileşimi hücrel redoks homeostazını ve sürdürülebilirliğini belirler (135). GSH majör bir tiyol-disülfid redoks tamponu görevi görür ve GSH/GSSH oranı hücrel redoks hal indeksi olarak kullanılır. Sitoplazmada indirgenmiş glutatyonun okside glutatyona oranı >50:1 iken bu oran ER'de 1:1 ila 3:1 arasında değişir (136). ER lümenindeki bu oksitleyici ortam disülfid köprülerinin oluşumunu kolaylaştırır. Hem bu özel oksidatif statüsünden dolayı hem de sahip olduğu protein disülfid izomeraz enzimi (PDI) gibi ER yerleşimli proteinleri bol miktarda bulundurduğu için, ER ne kadar oksitleyici bir ortam olursa, ER lümeninde yanlış katlanmış proteinlerin birikmesi o kadar çok engellenir (137).

Düzgün katlanmış proteinler ER'dan salgılanmadan önce, bu proteinler stabilize kazanmaları ve olgunlaşmaları için zorunlu disülfid bağı oluşumuna uğrarlar. Disülfid köprülerinin oluşumundaki değişimler ya da sistein rezidülerinin zarar görmesi

proteinlerin yanlış katlanması ya da proteinin kendisi için uygun olan konfgürasyona ulaşamaması ile sonuçlanır (138). ER lümeninde redoks koşullarının regülasyonunda görev alan bazı katlanma katalizörleri de disülfid köprülerinin oluşumuna katkıda bulunur (139). Bu katalizörlerden biri de olan PDI olgunlaşmamış proteinlerin sistein rezidülerini oksitler ve proteinlerin doğru disülfid köprülerini kurlmalarına yardımcı olur. İndirgenen PDI ERO1 tarafından yeniden yükseltgenir. Bu enzim yapısındaki elektronları son  $e^-$  alıcısı olan moleküler oksijene aktararak yeniden yükseltgenir (140).

Birçok çalışma ROS üretimi ve ER stresi arasında bir çapraz ilişki olduğuna dikkat çekmektedir. Redoks dengesindeki bozukluklardan PERK ve ATF4 fonksiyonlarındaki değişimler sorumlu tutulsa da, bu proteinler aynı zamanda transkripsiyonel regülasyon ile ROS'un bertaraf edilmesinden sorumludurlar. ER'da ROS oluşumundan genellikle ERO1 sorumludur (141). ERO1'in görev aldığı disülfid köprü oluşumu hücredeki total ROS üretimine önemli derecede katkıda bulunur (141). ERO1 proteinin aşırı ekspresyonu, PDI'nin redoks durumunu, PDI substratlarının oksidasyonunu da etkileyen oksitlenmiş forma doğru kaydırır. Disülfid köprüsü oluşumu esnasında, elektronlar çeşitli tiyol disülfid değişim reaksiyonları, subsratların tiyol grupları, PDI ve ERO1'den geçerek moleküler  $O_2$ 'e varırlar. Oksijenin indirgenmesi  $H_2O_2$ 'e veya diğer ROS'a dönüşebilen süperoksid anyon radikallerinin oluşumuyla sonuçlanır. Kısacası oksidatif protein katlanması ER fizyolojisinde major bir katlanma mekanizmasıdır. ER stresi ile ilişkili yükseltgen/indirgen ortam ER stresi ile bağlantılı ROS ile de ilişkilendirilebilir.

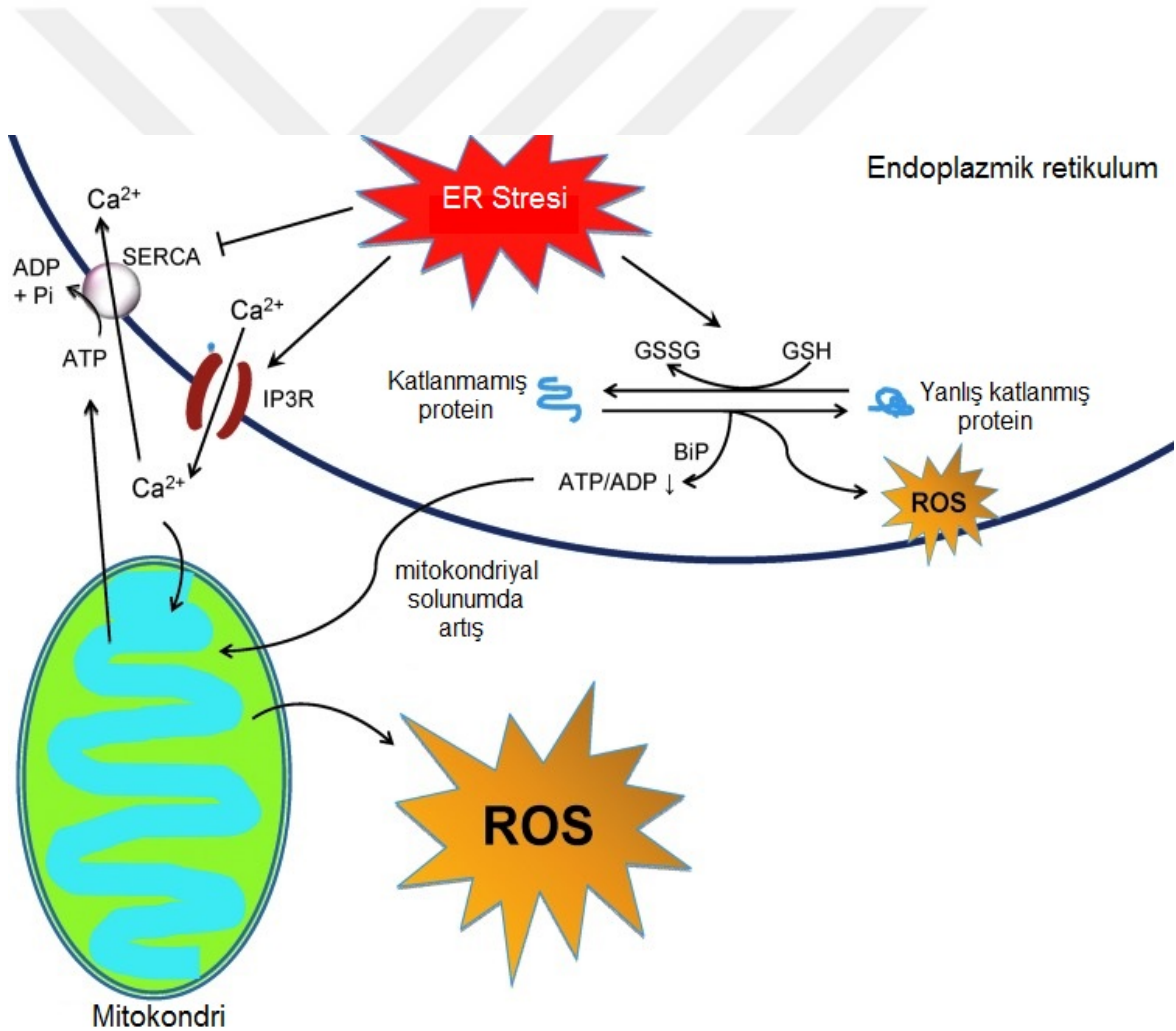


Şekil 2.7. ER lümeninde oksidatif protein katlanması.

### 2.5.3. Endoplazmik Retikulum Stresi ve Oksidatif Stres İlişkisi

Oksidatif stres üretmek hücrel fonksiyonları bozabileceği varsayılan mekanizmalardan biri de endoplazmik retikulum stresidir. ER stresi ve oksidatif stres yakından ilişkilidir ve çeşitli patolojik süreçlerde eş zamanlı olarak rol oynadıkları saptanmıştır. ER stresi boyunca en az üç farklı yolak üzerinden ROS üretildiği ileri sürülmektedir:

- 1) Artmış protein katlanması
- 2) ER ve mitokondri arasındaki iletişim
- 3) Belirli UPR araçlarının sinyalleri



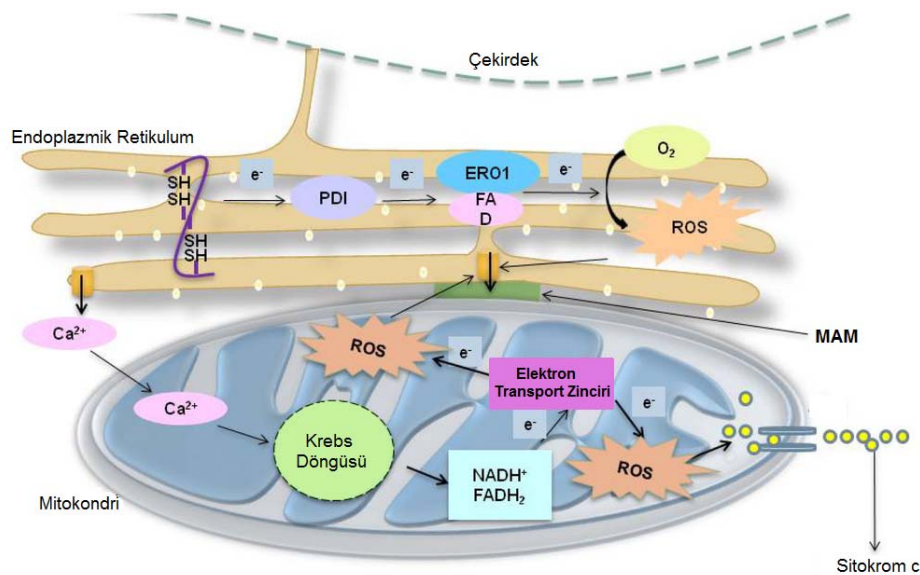
**Şekil 2.8.** Hücrede ER stresi-indüklü ROS üretimi.

Protein katlanma mekanizmasına göre, ER'da patolojik olmayan protein katlanmasının yan ürünü olarak ROS açığa çıkar ve sekratevar hücrelerde dakika başına



katlanan milyonlarca protein dikkate alındığında, tüm hücrel ROS oluşumunun %25'inin bu işlemde kaynaklandığı düşünülmektedir (142,143). Özellikle de ER'da proteinlerin katlanması esnasında moleküler  $O_2$ 'e elektronları aktararak disülfid köprülerinin oluşumunu katalizleyen oksidoredüktazlar (PDI ve ERO1 enzimleri) yan ürün olarak  $H_2O_2$  üreterek hücrede oksidatif stres oluştururlar. ER'de bazal düzeylerdeki ROS endojen antioksidan savunma sistemi tarafından yok edilirken (143),  $H_2O_2$  düzeylerinin artması durumunda antioksidan savunma sistemi ve ROS düzeyleri arasındaki dengenin bozulması sonucu NO biyoyararlılığında azalma ve endotelial fonksiyonlarda bozukluk görülür (144,145). ER stresinde yanlış katlanmış veya katlanamamış proteinlerin onarılması için hücrenin protein katlama kapasitesi aşılır, bu olay ise daha fazla  $H_2O_2$  oluşumuyla sonuçlanır (121,146).

ER stresi boyunca ROS oluşumunun diğer önemli bir kaynağı ise ER ve mitokondri arasındaki yakınlıktır. ER stresi durumunda endoplazmik retikulumdan sitozole  $Ca^{2+}$  iyonu salınımı olur. Bu  $Ca^{2+}$  iyonları mitokondri tarafından alınarak elektron transport zincirini aktifler. Mitokondriyal elektron transport zincirinin normalden daha fazla çalışmasına neden olan bu olay ROS üretimine ve sitokrom c salınımına yol açar (121,147). ER ve mitokondri arasındaki fonksiyonel ilişkiye mitokondri ilişkili ER membranı (MAM) olarak adlandırılan bağlantılar aracılık eder. Bu bağlantılar organeller arası  $Ca^{2+}$  iyonu, ATP, metabolitler ve ROS değişimini kolaylaştırarak hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde hayati öneme sahiptirler (148).



**Şekil 2.9.** ER stresi koşulları altında ER ve mitokondri ilişkili ROS üretimi.

Spesifik UPR mediatörlerinin sinyalleri, özellikle de proapoptotik faktör CHOP ER stresi esnasında ROS oluşumuna neden olur (149). CHOP geninin susturulduğu hücrelerde ve farelerde ER ilişkili ROS üretiminin baskılandığı görülmüştür (150,151). CHOP'un ER stresindeki rolünü araştıran bir çalışmada ise NOX enzim ailesi üyelerinden biri olan NOX2 ekspresyonunu indüklediği saptanmıştır. NOX2 enzimi NADPH bünyesindeki elektronları moleküler O<sub>2</sub>'e aktararak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ya da süperoksid oluşumunu katalizler (152). NOX enzimleri vasküleritede bol miktarda sentezlenir ve artan NOX aktivitesi, ER stresi boyunca çeşitli mekanizmalar aracılığıyla endotel disfonksiyonu uyarır (153).

## **2.6. Koroner Arter Hastalığı ve Biyokimyasal Belirteçler**

### **2.6.1. Vasküler Peroksidaz 1**

Vasküler peroksidaz 1 (VPO1); kardiyovasküler sistemde rol oynayan hem içeren peroksidaz-siklooksijenaz enzim ailesinin yeni bir üyesi olarak tanımlanmaktadır ve arter duvarında dağılım gösterdiği ifade edilmektedir. Peroksidasin olarak da bilinen VPO1'in yüksek oranda kardiyomiyositler, endotel hücreleri ve vasküler düz kas hücrelerinden sekrete edildiği ve kardiyovasküler sistemde önemli fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmektedir. Oksidatif stres reaktif oksijen türlerinin üretimindeki artış sonucu hücre, doku ve organlarda oksidatif hasarın artması yönünde etki gösterir. Oksidatif streste artışı ateroskleroz patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. VPO1; NOX enziminin katalizlediği reaksiyon sonucu açığa çıkan O<sub>2</sub><sup>-</sup> anyonunun spontan olarak ya da SOD enziminin katalitik aktivitesi sonucu açığa çıkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bileşiğini Cl<sup>-</sup> iyonları varlığında, O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bileşiklerine göre çok daha oksidan bir bileşik olan HOCl bileşiğine dönüştürerek oksidatif stresin oluşmasına neden olur. Yapılan çalışmalarda VPO1'in oksidatif strese aracılık ederek oksidatif hasara sebep olmakla birlikte kardiyovasküler sistemdeki sinyal yollarını da olumsuz etkilediği gösterilmiştir (12).

VPO1 aktivitesi sonucu açığa çıkan HOCl; DNA, protein ve lipid moleküllerini direkt olarak oksidatif hasara uğratmasının yanısıra ya apoptotik ya da onkotik hücre ölüm yolağını aktifleyerek endotel veya kardiyak hücre ölümünü tetikler (154,155). HOCl lipidlerin primer amin, alkin ve vinil eter gruplarını hedef alarak klorlanmış grupların oluşmasına neden olur ve ateroskleroz veya postiskemik kontraktıl disfonksiyon gelişmesine katkıda bulunur (156). Güçlü bir oksidant olan HOCl hem

oksidasyon hem de klorinasyon reaksiyonlarını aktifleyebilme özelliğine sahiptir ve çoğu zaman nötrofillerden salınır. Metiyonindeki tiyol ve tiyoeter grupları oksidasyon için en reaktif biyolojik substratlardır (157). HOCl aynı zamanda çok hızlı olmasa da askorbat, triptofan ve üratı oksitleyebilme ve bazı biyolojik substratları klorlayabilme özelliğine sahiptir. Bunlardan başlıcaları; amin gruplarının klorlanmasıyla oluşan kloraminler, trozil rezidürlere klor aktarılmasıyla oluşan klorlanmış ürünler ve pridin nükleotidleri, doymamış yağ asitleri ve kolesterolün klorlanmasıyla oluşan klorhidrinlerdir (158–161). Yüksek konsantrasyondaki HOCl stotoksik etki oluştururken, düşük konsantrasyonlarda MAPkinaz yolaklarını aktifleyebilir ve büyümenin durmasına ve apoptozise neden olur (162–164).

### **2.6.2. Transkripsiyon Aktive Edici Faktör 4 ( ATF4 )**

Aktive edici transkripsiyon faktörü (ATF), lösün fermuar dizisi içeren cAMP-cevap eleman bağlayıcı (CREB) protein ailesinin bir üyesidir. Bu ailenin üyesi olan ATF4 de bazik bölgeleri aracılığıyla DNA'ya bağlanır.

ATF4'ün diğer transkripsiyon faktörleri ile işbirliği içerisinde olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Örneğin, vasküler hasara yanıtta düz kas hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde rol oynayan aktivatör protein-1 (AP1) ailesinin (165,166) bir üyesi olan c-Jun ile heterodimer yapı oluşturabilme kabiliyetine sahiptir (167). ATF4 aynı zamanda Nrf2 ile birleşerek, aterosklerozda rol oynayan sitoprotektif gen hem-oksijenaz 1'in (168) ekspresyonunu birlikte düzenlerler (169). İnsan tümörlerinde ATF4'ün hipoksi tarafından düzenlenen SKIP3 (yeni bir kinaz benzeri insan geni)'e bağlanır (170). Aynı zamanda GPE1 (glikoprotein tedarikçi-1) bağlayıcı proteine bağlanarak (171) aterojenezi şiddetlendiren lipopolisakkarid kaynaklı granülosit koloni uyarıcı faktörü düzenler (172).

ATF4 hücrel strese cevapta anahtar rol oynar. En iyi tanımlanmış fonksiyonlarından biri; memeli hücrelerinde, endoplazmik retikulum stresine yanıt yolağı olan UPR'de rol oynamasıdır. ER hücre içi kalsiyum homeostazının sağlanması ve yeni sentezlenmiş proteinlerin işlenebilmesi için gerekli olan bir organeldir. Glikoz açığı, değişmiş kalsiyum düzeyleri ve hipoksi gibi durumlar, ER'de katlanmamış proteinlerin birikmesine neden olur. Bu durum ER'deki transmembran proteinler tarafından algılanır ve elf2 $\alpha$ 'nın fosforillenmesini uyarayan bir kinaz olan PERK yolağını aktifler. PERK elf2 $\alpha$ 'ı yapısındaki 51. pozisyonundaki serin aminoasitinden fosforiller.

Bu durum klasik yollar üzerinden genel protein sentezini baskımlarken ATF4'ün translasyonunu uyarır (173) ve bunun sonucu olarak da aminoasit metabolizması, glutasyon biyosentezi ve oksidatif strese karşı korunmada görev alan genlerin transkripsiyonel aktivasyonunu uyarır (141). ATF4; aminoasit ve hem kısıtlaması, oksidatif stres gibi çeşitli stres türlerine hücreysel yanıtta görev alır (174,175). Bu yüzden de birden fazla hücre içi stres yolağının keşititiği durumlarda hücreysel yanıtın bir ana düzenleyicisidir (130).

ATF4 farklı hücre türlerinde birçok faktör ve durum tarafından pozitif olarak regüle edilir. Ateroskleroza şiddetlendiren okside fosfolipidler (176) ve homosistein (177) gibi risk faktörleri vasküler endotel hücrelerde ATF4 ekspresyonu artırır. ATF4 ekspresyonu aynı zamanda arter duvarındaki mekanik hasardan ve düz kas hücrelerinde fibroblast growth faktör 2 (FGF-2) salınımından sorumludur (178). Değitirilebilen kardiyovasküler risk faktörlerinden biri olan sigara kullanımının da insan epitel hücrelerinde ATF4 düzeylerini kuvvetli bir şekilde indüklediği gösterilmiştir (179).

cAMP'ye bağı protein kinaz aktivitesi aracılığıyla posttranslasyonel modifikasyonuna bağı olarak, transkripsiyonu baskılayabilir ya da aktifleyebilir. ATF4 kardiyoprotektif ve antiinflamatuvar etkilere sahip hem-oksijenaz 1 (HO1) enziminin transkripsiyonunu pozitif yönde regüle eder (168). Orta yaş grubu sağılıklı erkeklerde yapılan bir çalışmada, ATF4'ün intima-media tıkanıklık ile doğru orantılı olan ve erken karotid ateroskleroz için bir risk markırı insülin benzeri büyüme faktörü bağılayıcı protein 1(IGFBP-1)'in transkripsiyonunu indüklediği görülmüştür (180).

ATF4'ün transkripsiyonel görevlerinin kollajen sentezi ve kemik gelişimi ile de yakından ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu onun aterosklerozun hem erken aşamalarında hem de daha kalsifiye olmuş aterosklerotik plakların oluşumunda rol oynadığına işaret eder (181). Diğler taraftan, ATF4 osteoblastlardan sekrete edilen ve mineralizasyonda ve Ca homeostazında rol oynayan osteokalsinin transkripsiyonunu da upregüle eder. ATF4 gen ekspresyonunun modülasyonu boyunca apoptozun regülasyonunda da görev alır. İnvitro çalışmalarda ATF4'ün aşırı ekspresyonunun düz kas hücre poliferasyonuna neden olduğu ve ATF4 geni baskılanmış işlemden iki hafta sonra vasküler düz kas hücre hiperpolarizasyonunu inhibe etmeye başladığı görülmüştür. Ayrıca bu aortik düz kas hücrelerinde ATF4'ün patofizyolojik olaylarla ilişkili olduğu tespit edilmiştir (178).

### 2.6.3. Glutasyon Peroksisaz 1 (GPx1)

GPx1 ilk tanımlanan selenoproteindir (182). Hem sitozolde hem de mitokondride yerleşim gösterir (183). Homotetramer yapıya sahiptir. Katalitik merkezinde selenosistein (Sec) bulunur (184). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve t-bütil hidroperoksit, kümen hidroperoksit, hidroperoksi yağ asitleri ve hatta hidroperoksi lizofosfatid gibi suda çözünen düşük moleküler ağırlıklı hidroperoksitlerle reaksiyona girer (14). Hatta hidroperoksi lizofosfatidler ile bile reaksiyona girebilir (185), ancak daha kompleks hidroperoksitlerle etkileşime girmez. GSH reaktivitesinde görev alan 5 aminoasitin hepsini yapısında bulundurur, bu yüzden de bir glutasyon peroksidaz prototipidir. Bununla birlikte GSH sentetazın (GSS) olmadığı durumlarda (örneğin; GSS sentezleyemeyen beyin mitokondrilerinde) GPx1 indirgeyici olarak  $\gamma$ -glutamil sistein kullanarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i indirgeyebilir (186). GPx1 hidroperoksid indirgeyebilme özelliğine sahip olduğu için oksidatif stres azaltıcı enzim olarak da adlandırılmaktadır.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in organizmada fizyolojik bir sinyal molekülü olarak görev yaptığının anlaşılmasıyla birlikte (187), GPx1 ve tiyol grubu bulunduran diğer peroksidazların rölü tekrar gözden geçirilmiştir (188). Detoksifikasyon reaksiyonlarındaki katalitik etkisinden dolayı, sinyal kaskadlarının düzenlenmesinde rol aldığı düşünülmektedir (189). Bu yüzden de sadece antioksidant fonksiyonu ile değil, anti- inflamatuvar etkiye sahip olduğu kabul görmektedir.

KAH olan kişilerde, kırmızı kan hücrelerindeki GPx1 aktivitesinin kardiyovasküler olaylarla ters ilişkili olduğu görülmüştür (190). GPx1 eksikliği oxLDL-indüklü köpük hücre oluşumunu artırır ve peritenoal makrofajların proliferatif aktivitesinin artmasına neden olur (191).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. GEREÇLER

- Sarı kapaklı (jelli) tüp
- Mor kapaklı (EDTA) tüp
- Ependorf
- Pipet uçları (steril)
- Mikropipet (Thermo)
- Mezür
- Balon joje
- Eldiven
- Santrifüj (SİGMA 3-18K)
- Etüv
- Derin dondurucu
- ELİSA karıştırıcısı (HEİDOLPH TİTRAMAX 101)
- ELİSA yıkayıcısı (ELx800)
- ELİSA okuyucusu (ELx50)

### 3.2. OLGULARIN SEÇİMİ VE ÇALIŞMA PROTOKOLÜ

Çalışmaya Mayıs 2016 – Nisan 2017 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalına başvuran ve KAH ön tanısı konulan 80 olgu dahil edilmiştir.

Bu olguların belirlenmesinde daha önce balon anjiyografi ve/veya koroner anjiyografi, koroner bypass ameliyatı öyküsü olmayan vakalardan kronik karaciğer hastalığı, kronik renal yetmezliği, kanseri, ciddi sistemik enfeksiyonu, kronik akciğer hastalığı, endokrin hastalığı (Cushing sendromu, hipotiroidi, hipertiroidi), diabeti olmayan olguların çalışmaya dahil edilmesine dikkat edilmiştir.

Çalışmaya daha önceden bilinen bir KAH öyküsü olmayan, kardiyolojik muayene esnasında miyokard sintigrafi ve/veya eforlu ekokardiyografi sonucu pozitif çıkan ve tanıyı kesinleştirmek amacıyla koroner anjiyografi uygulanan vakalar dahil edilmiştir. Hastalar anjiyo işlemi gerçekleştiren uzmanlar tarafından araştırmacıya yönlendirilmiştir. Koroner anjiyografi sonucuna göre KAH tanısı kesinleşen 60 olgu hasta grubunu, koroner anjiyografi sonucu normal olarak değerlendirilen 20 olgu kontrol grubunu oluşturmuştur. Hasta grubunu oluşturan olgular tek tıkalı damar sayısına sahip 30 yetişkin koroner hastası ve iki veya üç tıkalı damar sayısına sahip 30 yetişkin koroner arter hastası olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

Çalışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirilerek 03.05.2016 tarih ve 83045809-604.01.02 sayılı etik onayı verilmiştir. Daha sonra çalışmamıza katkıda bulunmayı kabul eden hastalara Helsinki Bildirgesi'ne uygun şekilde bilgi verilmiştir.

Çalışma grubunu oluşturan 60 koroner arter hastasından anjiyo sonrası kan örneği alınmıştır. Çalışmaya 40 ile 70 yaş arasındaki koroner arter hastaları dahil edilmiştir. Tüm gruplar için cinsiyet oranı dağılımının eşit olmasına dikkat edilmiştir. Kadın hastalar için menopoz durumları, tüm hastaların aspirin kullanımları, kullandıkları ilaçlar ve hipertansiyon durumları sorgulanmıştır. Statin kullananlar çalışmaya dahil edilmemiştir.

### 3.3. YÖNTEMLER

#### 3.3.1. Serum Örneklerinin Elde Edilmesi

Koroner arter hastalarına yapılan anjiyo uygulamasından sonra sarı kapaklı jelli tüplere ve mor kapaklı EDTA'lı tüplere venöz kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 4400 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazma olarak ayrıldı ve deneysel aşamaya kadar izole edilen numuneler derin dondurucuda -30 °C'de saklandı.

Elde edilen serum örneklerinde trigliserid, total kolesterol, LDL-kolestrol, HDL-kolesterol, CRP, VPO1, ATF4 ve GPx1 düzeyleri ölçüldü.

#### 3.3.2. Rutin Biyokimyasal Analizlerin Yapılması

Kontrol ve hasta grubunu oluşturan olgulardan anjiyo işleminden sonra jelli tüplere kan örneği alınarak CRP, trigliserid, total kolesterol, LDL-kolesterol ve HDL-kolesterol düzeyleri Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fikret Biyal Biyokimya Laboratuvarı'nda ölçülmüştür.

#### 3.3.3. Serum Örneklerinde Oksidatif Stres ve ER Stresi Belirteçlerinin Ölçümü

VPO1 düzeylerinin ölçümü için Human Peroxidasin Homolog (PXDN) ELİSA Kit (CUSABIO, CSB-EL019106HU-USA), ATF4 düzeylerinin tayini için Human ATF4 (Human Activating Transcription Factor 4) ELİSA Kit (MYBIOSOURCE-MBS762729-USA) ve GPx1 düzeylerinin tayinin için Human glutathione peroxidase 1 (GPx1) ELİSA Kit (CUSABIO, CSB-EL009866HU-USA) kullanıldı. Kullanılan ELİSA kitleri sandviç yöntemiyle ölçüm yapmaktadır.

##### 3.3.3.1. Human Peroxidasin Homolog ELİSA kit prosedürü:

Katalog numarası: CSB-EL019106HU

**1.Standartların hazırlanması:** Standart şişesi 6000-10000 rpm'de 30 sn santrifüj edilir ve 1 ml sample diluent ile sulandırılarak 1000 µ/ml'lık bir stok çözelti elde edilir. 7 ayrı ependorf alınır ve 1'den 7'e kadar numaralandırılır. Birinci ependorfa stok çözelti ve diğerlerine 250 µl sample dilüent konulur. Stok çözülden 250 µl alınır ve 250 µl sample dilüentin üzerine konulur. Bu şekilde 1:2 oranında seri dilüsyonlar yapılarak 7.ependorfa kadar işlem tekrarlanır. Her defasında ependorflar iyice karıştırılır, pipetaj yapılır. Dilüe edilmeyen standart en yüksek konsantrasyona sahiptir. Sample diluent zero standart (0µ/ml) olarak kullanılır. Seri dilüsyonlar sonucu 1000/500/250/125/62,5/31,25/15,6/0µ/ml'lik çözeltiler elde edilir.



**2.Blank hazırlanması:** Blank için ayrılmış kuyucuklara kromojen A, B ve durdurucu çözelti dışında birşey eklenmez.

**3.Biotin-antibody hazırlanması:** Biotin-antibody diluent ile 100 kat sulandırılır.

**4.HRP-avidin hazırlanması:** HRP-avidin diluent ile 100 kat sulandırılır.

**5.Yıkama çözeltisi:** Konsantre yıkama çözeltisi distile su ile 20 kat sulandırılır.

**6.Numunelerin hazırlanması:** Numuneler 2 saat önceden dondurucudan çıkartılarak tamamen çözününceye kadar bekletilir, 15 dakika 1000 x g'de santrifüj edilerek homojenize olmaları sağlanır.

7. Standart ve örnekler için ayrılmış kuyucukların her birine 100'er  $\mu$ /ml standart ve örnek konulur. Plate'in üzeri bir strip ile kapatılır ve 37<sup>0</sup>C'de 2 saat inkübe edilir.

8.İnkübasyon bittikten sonra herbir kuyucuğa 100  $\mu$ /ml biotin-antibody eklenir. Üzeri tekrar yeni bir strip ile kapatılarak 37<sup>0</sup>C'de 1 saat inkübe edilir ve karıştırılır.

9.Plate 3 defa 200  $\mu$ /ml yıkama çözeltisi ile yıkanır.

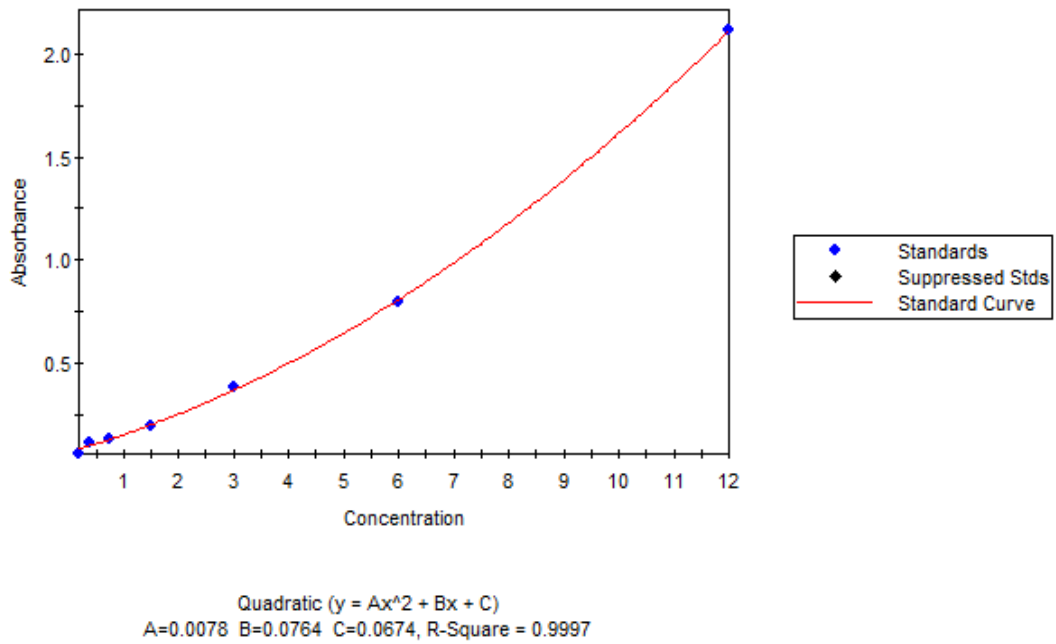
10. Herbir kuyucuğa 100  $\mu$ /ml HRP-avidin eklenir, 37<sup>0</sup>C'de 1 saat inkübe edilir.

11. 5 defa 200  $\mu$ /ml yıkama çözeltisi ile yıkanır.

12. Herbir kuyucuğa 90 $\mu$ /ml TMB eklenir,15 dk 37<sup>0</sup>C'de karanlıkta inkübe edilir.

13. Herbir kuyucuğa 50  $\mu$ /ml durdurma çözeltisi konulur ve mavi renk sarıya döner.

14. 5 dakika içerisinde 450 nm'de ELİSA okuyucusunda ölçüm yapılır.



**Şekil 3.1.** VPO1 (Peroksidasin) standart grafiği

### 3.3.3.2. Human Activating Transcription Factor 4 ELİSA kit prosedürü:

Katalog numarası: MYBIOSOURCE-MBS762729

**1.Standartların hazırlanması:** Kit kullanılmadan 20 dakika önce oda sıcaklığına getirilir. 7 adet ependorf alınır ve 1'den 7'e kadar numaralandırılır. Birinci ependorfa sadece 1 ml standart çözelti (10 ng/ml) konular, diğer 6 ependorfa ise 0,3'er ml standart dilüsyon buffer ilave edilir. Birinci ependorftan 0,3 ml standart çözelti alınarak ikinci ependorfa ilave edilir. Bu şekilde 7. ependorfa kadar 1:2 oranında seri dilüsyon yapılarak 10/5/2,5/1,25/0,625/0,313/0,156/0 konsantrasyonlarına sahip standart çözeltiler elde edilir.

**2.Biotin-antibody hazırlanması:** 1 µ/ml biotin antibody dilüsyon buffer ile 100 kat dilüe edilir.

**3.HRP-Streptavidin hazırlanması:** 1 µ/ml HRP-streptavidin, HRP-streptavidin dilüsyon buffer ile 100 kat sulandırılır.

**4.Yıkama çözeltisi:** 30 ml konsantre yıkama çözeltisi deiyonize ya da distile su ile 25 kat sulandırılır.

**5.Örneklerin hazırlanması:** Bütün örnekler kullanılmadan 2 saat önce oda sıcaklığına getirilir. Örnekler 1/10 standart dilüsyon buffer ile sulandırılır.

**6.Plate 2 defa 350 µ/ml yıkama çözeltisi ile yıkanır.**

**7.Standart çözeltilerden 0,1 ml standart kuyucuklarına konular.**

**8.Blank olarak 0,1 ml standart dilüsyon buffer konular.**

**9.Örnek kuyucuklarına 0,1 ml dilüe edilmiş örnek konular.**

**10.Plate bir strip ile kapatılır ve 37°C'de 90 dakika inhibe edilir.**

**11.Kuyucukların içi boşaltılır, ardından 2 defa 350 µ/ml yıkama çözeltisi ile yıkanır.**

**12.Bütün kuyucuklara 0,1 ml biyotin-antibody eklenir.**

**13.Plate sealer ile kapatılır ve 37°C'de 1 saat inkübe edilir.**

**14.3 defa 350 µ/ml yıkama çözeltisi ile yıkanır.**

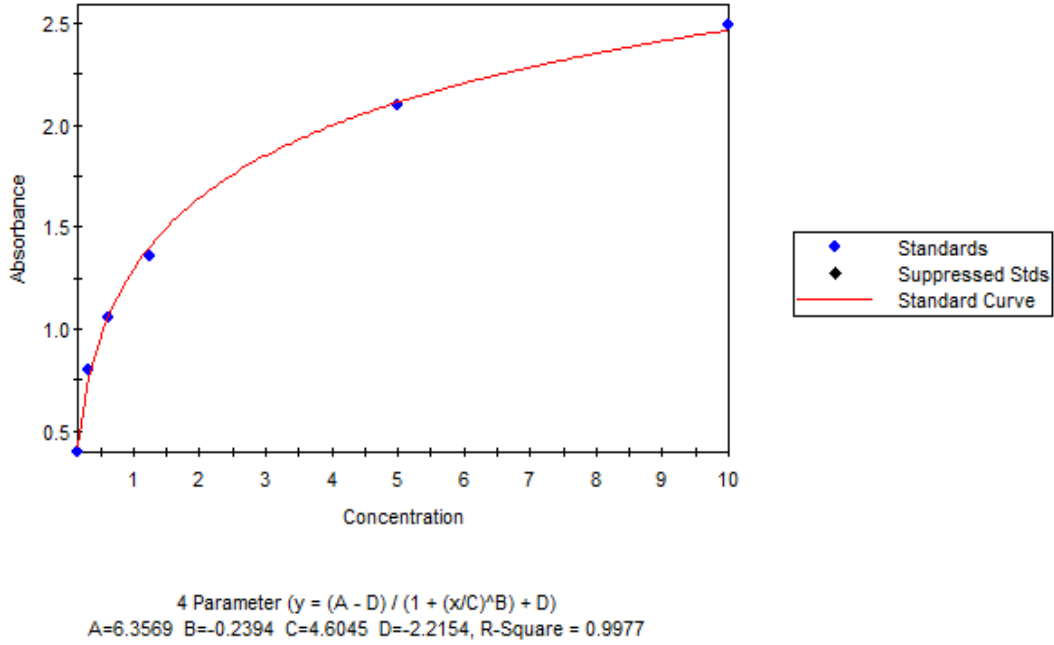
**15.Herbir kuyucuğa 0,1 ml HRP-Streptavidin konular ve 37°C'de 30 dk inkübe edilir.**

**16.5 defa 350 µ/ml yıkama çözeltisi ile yıkanır.**

**17.Herbir kuyucuğa 90 µ/ml TMB Substrat ilave edilir, karanlıkta 37°C'de 15-30 dakika inkübe edilir.**

**18.50 µ/ml stop solüsyon konular, renk maviden sarıya döner.**

**19.450 nm'de ELİSA okuyucuda ölçüm yapılır.**



Şekil 3.2. ATF4 standart grafiği

### 3.3.3.3. Human Glutathione Peroxidase 1 ELİSA kit prosedürü:

Katalog numarası: CSB-EL009866HU

**1.Standartların hazırlanması:** Standart 6000-10000 rpm'de 30 sn santrifüj edilir, 1 ml sample diluent ile dilüe edilir ve 1000 $\mu$ U/ml'lik stok çözelti elde edilir. 7 adet ependorf alınır ve 1'den 7'e kadar numaralandırılır. Birinci ependorfa 250  $\mu$ l stok çözelti diğerlerine ise 250'şer  $\mu$ l sample diluent konulur. Stok çözeltiyi kullanarak seri dilüsyonlarla iki kat sulandırma yapılır. Herbir dilüsyonda pipetaj yapılarak çözeltilerin homojen olması sağlanır. Sample diluent zero standart (0  $\mu$ U/ml) olarak da ifade edilebilir. Dilüe edilmemiş standart ise en yüksek standarttır (1000  $\mu$ U/ml). Seri dilüsyonlar sonucu 1000/500/250/125/62,5/31,25/15,6/0  $\mu$ U/ml'lik çözeltiler elde edilir.

**2.Numunelerin hazırlanması:** Serum örnekleri sample diluent ile 1000 kat sulandırılır (birinci dilüe örnek: 5  $\mu$ l örnek + 95  $\mu$ l sample diluent, ikinci dilüe örnek: 5  $\mu$ l birinci dilüe örnek + 245  $\mu$ l sample diluent).

**3.Biotin-Antibody:** 10  $\mu$ l biotin-antibody, biotin-antibody diluent ile 100 kat dilüe edilir.

**4.HRP-Avidin:** HRP-avidin diluent ile 100 kat dilüe edilir.

**5.Yıkama çözeltisi:** 20 ml konsantre wash buffer, distile su ile 25 kat sulandırılır.

6. Standartlar için ayrılmış kuyucuklara standart çözeltilerden 100 ‘er µl örnekler için ayrılmış kuyucuklara da 100 ‘er µl dilüe edilmiş örneklerden konulur. Plate’in üzeri bir strip ile kapatılarak 37<sup>0</sup>C’de 2 saat inkübe edilir.

7. Kuyucukların üzeri açılır ve yıkanmadan herbir kuyucuğa 100’er µl biotin antibody eklenir. 37<sup>0</sup>C’de 1 saat inkübe edilir ve karıştırılır.

8.3 defa 200 µl yıkama çözeltisi ile yıkanır.

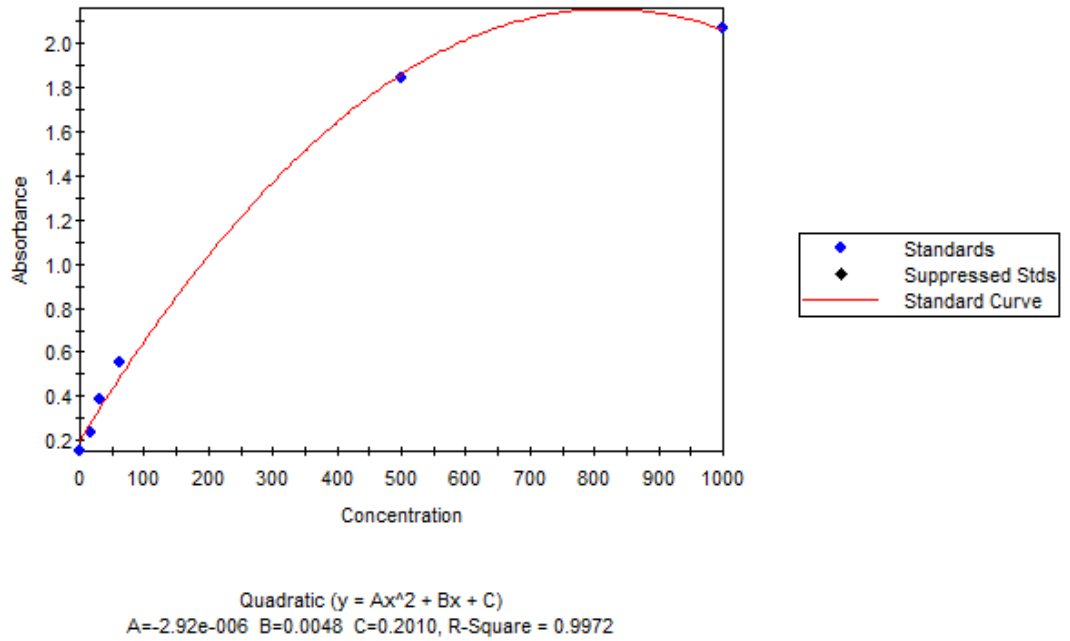
9. Herbir kuyucuğa 100 µl HRP-avidin eklenir, 37<sup>0</sup>C’de 1 saat inkübe edilir.

10.5 defa 200 µl yıkama çözeltisi ile yıkanır.

11. Herbir kuyucuğa 90 µl TMB-substrat eklenir, karanlıkta 37<sup>0</sup>C’de 15-30 dakika inkübe edilir.

12. 50 µl durdurma çözeltisi ilave edilir.

13. 450 nm’de okuma yapılır.



Şekil 3.3. GPx1 standart grafiği

### 3.4. İSTATİKSEL ANALİZ

İkili grupların karşılaştırılması student's - t testi ile, üçlü grupların karşılaştırılması ise ANOVA ile yapıldı. Alt grupların kıyaslanmasında ise Benferonni testi kullanıldı. Çalışılacak olan parametrelerin normal dağılıma uygunlukları kontrol edildikten sonra normal dağılıma uymayan parametrelerin logaritmaları alınarak parametrik testlerin kullanımına uygun hale dönüştürüldü. Sonuçlar ortalama  $\pm$ SD (Standart deviation) veya ortanca (%25-%75) olarak ifade edildi. Güvenlik sınırı 0,05 olarak belirlenmiş olup,  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. Nonparametrik karşılaştırmalar için ki-kare testi kullanıldı. Korelasyon analizinde ise Pearson korelasyon analizi uygulandı.



## 4. BULGULAR

Hasta ve kontrol grubu olgularından elde edilen sonuçlar hastaların klinik özellikleri, biyokimyasal belirteçler ile cinsiyet, LDL düzeyleri ve aile öykülerinin koroner arter hastalığı alt grupları arasındaki değişimi şeklinde sunulmuştur. Ayrıca biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarındaki ve lipid parametreleri ile ilişkisi, etkileşimi ve koroner arter hastalığı alt gruplarında kendi aralarındaki ilişkisi ayrı başlıklar altında irdelenmiştir.

### 4.1. Hastaların Klinik Özellikleri

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan olguların yaş dağılımına bakıldığında, tek damar koroner arter hasta grubunun yaş ortalamasının kontrol grubuna göre ve iki-üç damar koroner arter hasta grubunun yaş ortalamasının ise tek damar koroner arter hasta grubuna göre daha yüksek olsa da bu durumun anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,054$ ).

Hasta ve kontrol grubundaki olguların vücut kitle indeksleri (VKİ) ile biyokimyasal parametrelerinin (Trigliserid, total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol) kontrol ve KAH alt gruplara göre dağılımına bakıldığında gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1. Hastaların klinik özellikleri**

	N Damar N=20	Tek Damar N=30	2 ve 3 Damar N=30	P- Değeri
Yaş	55±9	59±8	60±8	0.054
VKİ kg/m <sup>2</sup>	28,4±3,9	29,2±4,2	29,7±4,6	NS
Trigliserid	151(81-265)	163(122-222)	137(87-203)	NS
Total Kolesterol	207±56	189±53	206±46	NS
LDL- Kolesterol	140±47	125±46	143±38	NS
HDL- Kolesterol	48±10	41±13	43±12	NS

$P < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. NS; non- significant. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SD veya ortanca (%25-%75) aralığında ifade edildi. Trigliserid değerleri normal dağılıma uymadığından önce transforme edilerek normal dağılıma uygun hale getirildiler daha sonra üçlü grupların karşılaştırılmasında ANOVA testi kullanıldı.

#### 4.2. Biyokimyasal Belirteçlerin Alt Gruplara Göre Değerlendirilmesi

VPO1, GPx1 ve CRP düzeylerinin kontrol grubu ve koroner arter hastalığı alt gruplarına göre dağılımına bakıldığında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmezken, ATF4 düzeylerinin kontrol ve koroner arter hastalığı alt gruplarında farklılık gösterdiği saptandı ( $P<0,05$ ).

**Tablo 4.2. N-damar, tek damar, iki ve üç damar tıkalı hastalarda ATF4, VPO1, GPx1 ve CRP düzeyleri**

	N Damar N=20	Tek Damar N=30	2 ve 3 Damar N=30	P- Değeri
VPO1 ng/mL	5,97±2,58	6,11±2,93	5,33±2,20	NS
ATF4 ng/mL	1,96 (1,69-2,54)	1,57 (1,05-1,92)*	1,74 (1,46-2,10)	0,043
GPx1 mikroU/L	143,14(85,28-248,96)	114,65(57,12- 145,02)	117,33(70,37- 146,31)	NS
CRP mg/L	2,14 (0,37-4,51)	2,33 (0,88-7,38)	3,50 (1,25-7,46)	NS

$P< 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi. NS; non- significant. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SD veya ortanca (%25 - %75) aralığında ifade edildi. ATF4, GPx1, CRP değerleri normal dağılıma uymadığından önce transforme edilerek normal dağılıma uygun hale getirildiler daha sonra üçlü grupların karşılaştırılmasında ANOVA testi kullanıldı. İkili grupların kıyaslanmasında Benferroni testi kullanıldı. \*; ATF4 düzeyinin N- Damar ve tek damarı tıkalı grup arasındaki kıyaslaması.

#### 4.3. Cinsiyet, LDL Düzeyleri ve Aile Öykülerinin Alt Gruplara Göre Dağılımı

Çalışmamızda yer alan kontrol ve hasta grubu olgularının alt gruplara göre yaş dağılımına bakıldığında, kontrol grubunu oluşturan olguların (n=20) 9'u erkek (%45), ve 11'i (%55) kadındır. Tek damarı tıkalı koroner arter hastası (n=30) grubu 23 erkek (%76,7) ve 7 kadından (23,3) oluşurken, bu değerlerin 2 veya 3 damarı tıkalı grupta (n=30) 21 erkek (%70) ve 9 kadın (%30) şeklinde olduğu görüldü. Kontrol grupları ile hasta gruplarının cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0,058$ ).

LDL yüksekliği ile aile öyküsünün kontrol ve hasta grubu olguları arasındaki dağılıma bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

**Tablo 4.3. N-damar, tek damar, iki ve üç damarı tıkalı hastaların cinsiyet, LDL düzeyleri ve aile öykülerine göre gruplandırılmaları**

	N Damar N=20	Tek Damar N=30	2 ve 3 Damar N=30	P- Değeri
<b>Cinsiyet</b>				
Erkek (%) n	45 (9)	76,7(23)	70 (21)	0,058
Kadin (%) n	55 (11)	23,3 (7)	30 (9)	
<b>LDL yüksekliği</b>				
< 110 mg/dL (%) n	25 (5)	36,7 (11)	30 (9)	NS
> 110 mg/dL (%) n	75 (11)	63,3 (19)	70 (21)	
<b>Aile öyküsü</b>	60 (12)	53,3 (16)	63,3 (19)	NS

P< 0.05 anlamlı olarak kabul edildi. NS; non- significant. Gruplar ki-kare testi ile karşılaştırıldılar. Sonuçlar (%) ve sayı şeklinde ifade edildiler. LDL kolesterol cut-off aralıklarının belirlenmesinde Avrupa Kardiyoloji Derneği (ECS) ve Avrupa Ateroskleroz Derneği (EAS) lipid değerleri dikkate alınmıştır (192).

#### 4.4. Biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonlar

Hasta ve kontrol grubu olgularında ölçümü yapılan biyokimyasal belirteçlerin Pearson korelasyon analizi ile incelenen ilişkileri sonucu VPO1 ile GPx1 arasında negatif bir ilişki olduğu saptandı (P<0.05). Diğer parametreler arasında herhangi bir ilişki saptanmadı (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4. Biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonlar**

	VPO1	ATF4	GPx1	CRP
VPO1		.175	-.285*	-.161
ATF4	.175		.041	-.089
GPx1	-.285*	.041		-.0,65
CRP	-.161	-.089	-.0,65	

\* P< 0.05



#### 4.5. Biyokimyasal Belirteçlerle Lipid Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar

Hasta ve kontrol grubu olgularında yapılan biyokimyasal belirteçler ve lipid parametreleri ölçüm sonucunda ATF4 düzeyleri ile total kolesterol ( $r=.294$ ), LDL kolesterol ( $r=.359$ ) ve trigliserid ( $r=.317$ ) arasında pozitif korelasyon olduğu saptandı ( $P<0.01$ ). Lipid değerleri ile VPO1, GPx1 ve CRP arasında ilişki saptanmadı (Tablo 4.5)

**Tablo 4.5. Biyokimyasal belirteçlerle lipid parametreleri arasındaki korelasyonlar**

	Trigliserid	Total Kolesterol	LDL Kolesterol	HDL Kolesterol
VPO1	.104	.144	.120	.156
ATF4	.294**	.359**	.317**	-.012
GPx1	-.057	-.026	.009	.077
CRP	.011	.053	.080	-.086

\*\* $P<0.01$

#### 4.6. N-damar, tek damar, iki ve üç damarı tıkalı hastalarda biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonları

Kontrol ve koroner arter hastası alt grubu olgularında ölçümü yapılan biyokimyasal belirteçlerin Pearson korelasyon analizi ile irdelenen ilişkilerinden elde edilen sonuçlar:

- Kontrol grubunu oluşturan olguların biyokimyasal belirteçleri arasında herhangi bir ilişki saptanmadı.
- Tek damarı tıkalı koroner arter hastası olgularında VPO1 ile ATF4 arasında pozitif ilişki ( $r = .367$ ,  $P<0.05$ ) saptanırken, VPO1 ile GPx1 arasında negatif bir ilişki ( $r = -.467$ ,  $P<0.01$ ) saptandı.
- İki ve üç damarı tıkalı koroner arter hastası olgularında ise CRP ile GPx1 arasında negatif bir ilişki ( $r = -.366$ ,  $P<0.01$ ) olduğu görüldü.

**Tablo 4.6. N-damar, tek damar, iki ve üç damarı tıkalı hastalarda biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarındaki korelasyonları**

	VPO1	ATF4	GPx1	CRP
<b>N Damar</b>				
VPO1		.042	-.273	.236
ATF4	.042		-.266	.076
GPx1	-.273	-.266		-.097
CRP	.236	.076	-.097	
<b>Tek Damar</b>				
VPO1		.367*	-.467**	-.297
ATF4	.367*		-.022	-.216
GPx1	-.467**	-.022		.063
CRP	-.297	-.216	.063	
<b>2 ve 3 Damar</b>				
VPO1		.149	.194	-.281
ATF4	.149		.134	-.074
GPx1	.194	.134		-.366*
CRP	-.281	-.074	-.366*	

\* P < 0,05

\*\* P < 0,01

## 5. TARTIŞMA

Dünyamızda ve ülkemizdeki ölüm nedenlerine bakıldığında koroner arter hastalığının ilk sıralarda yer aldığı görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verileri ise bu klinik tablonun ilerleyen yıllarda daha da ağırlaşacağı yönündedir. Arter duvarındaki değişikliklerin eşlik ettiği ve damar lümeninde daralmaya bağlı olarak, kan akışının azalmasına yol açan aterosklerotik plakların birikmesi günümüzde tanı ve tedaviye yönelik gelişmelere rağmen halen önlenememektedir. Son yıllarda, oksidatif stres ve endoplazmik retikulum stresinin ateroskleroz patogenezindeki rolü üzerindeki çalışmalar gittikçe hız kazanmaya başlamıştır.

Biz de planlamış olduğumuz projemizde, literatürde bu alanda yapılmış olan araştırmaları temel alarak, koroner arter hastalığının tanı ve tedavisine katkıda bulunabilecek bir biyobelirteç saptanması için öncül bir araştırmayı hedefledik.

Elde ettiğimiz bulguları kısaca özetleyecek olursak;

- 1- Kontrol grubuyla kıyaslandığında tek damar hastalarında VPO1 ve CRP düzeylerinin hafif yükseldiği buna karşın ATF4 ve GPx1 düzeylerinin düştüğünü gözlemledik.
- 2- VPO1, ATF4 (P = 0,043) ve GPx1 düzeylerinin 2 ve 3 damar hastalarında, kontrol grubuna göre düşük olduğu saptanmıştır. Diğer yandan CRP düzeyleri 2 ve 3 damarı tıkalı grupta, kontrol grubu ve tek damar hastalarına kıyasla yükselmiştir.
- 3- Tüm olgularımızı dahil ettiğimiz korelasyon analizi sonuçlarımız VPO1 ve GPx1 arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde ( $r = -0,285$ ,  $P < 0,05$ ), ATF4 ile lipid parametreleri (trigliserid ( $r = 0,294$ ,  $P < 0,01$ ), total kolesterol ( $r = 0,359$ ,  $P < 0,01$ ), ve LDL düzeyleri ( $r = 0,317$ ,  $P < 0,01$ )) arasında ise istatistiksel düzeyde anlamlı pozitif yönde bir ilişki olduğu gözlenmiştir.
- 4- Biyokimyasal belirteçlerin kendi aralarında tıkalı damar sayılarına göre yapılmış olan korelasyon analizi sonuçlarına göre; N damarlı hastalarda herhangi ilişki gözlenmemişken, tek damar hastalarında VPO1 ve ATF4 düzeyleri arasında pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmış ( $r = 0,367$ ,  $P < 0,05$ ), VPO1 düzeyleri ile GPx1 arasında ise negatif yönlü istatistiksel anlamlı bir ilişki gösterilmiştir ( $r = -0,467$ ,  $P < 0,01$ ), 2 ve 3 damarı tıkalı hastalarda ise GPx1 ve

CRP düzeyleri arasında negatif yönlü, istatistiksel düzeyde anlamlı bir ilişki gözlenmiştir ( $r = -0,366$ ,  $P < 0,05$ ).

Oksidatif stress kardiyovasküler hastalıklar ve inflamasyon arasında oxLDL aracılığıyla da bir köprü oluşturmaktadır (64). Dolaşımdaki LDL partiküllerinin proteoglikanlar vasıtasıyla ekstrasellüler matrikste tutulumları ve burada oksidatif ve kimyasal modifikasyonlara maruz kalmaları, onları makrofaj çöpü (scavenger) reseptörler için köpük hücre gelişimini tetikleyen substrat haline dönüştürmektedir. Oluşan oxLDL ve proinflamatuvar rolü normal endotel fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır. Bu durum adezyon moleküllerinin ve kemokinlerin salınımına, intimaya lökosit ve T-hücre göçüne neden olarak ateroskleroz gelişimine katkı sağlamaktadırlar. Lökosit aktivasyonu daha fazla reaktif oksijen türlerinin oluşumunu tetikleyen miyelopeksidazı aktifleyerek doku hasarına katkı sağlamaktadır (193–195). Biz de çalışmamızda antioksidan savunma sisteminin tetikleyicisi olan ATF4 ile oksidatif lipid hasarının substratları olan trigliserid, total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir ilişki saptadık.

2010 yılının başlarında oksidan karakterdeki VPO1 ve KAH ilişkisinin incelendiği çalışmalarda, VPO1'in oksidatif stres ile yakından ilişkili olduğu ve dolayısıyla da hastalığın patogenezinde önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür. VPO1 aktivitesi sonucu oluşan HOCl kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde önemli rolü olan oksidatif stresin oluşumuna neden olabilir. Miyokard iskemi-reperfüzyon (IR) hasarı oluşturulmuş bir tavşan modelinde; oksidatif hasardaki artışla birlikte VPO1 mRNA düzeylerinin ve ekspresyonunun da arttığı ve NOX'in inhibe edilmesiyle VPO1 ekspresyonunun baskılandığı ve buna paralel olarak da IR hasarında azalma olduğu gösterilmiştir (196). Vasküler endotel hücre apoptozis modeli oluşturulmuş başka bir çalışmada ise VPO1 konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak HOCl konsantrasyonunda artış saptanmıştır. Diğer bir çalışmada ise, VPO1 geni susturulduğunda ise oxLDL ve HOCl oluşumunun inhibe olduğu gösterilmiştir (154). Kendiliğinden hipertensif olmuş tavşanlar üzerine yapılan başka bir çalışmada ise arterial dokularda VPO1 ekspresyonunun önemli derecede arttığı ortaya konmuştur (197). Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularda, tek damar hastalarında gözlenen VPO1, ATF4 arasındaki pozitif ilişki, artmış oksidatif stresin, antioksidan savunma sistemini harekete geçiren transkripsiyon faktörü ATF4'ü indüklediğini düşündürüyor.

Aterosklerotik sürecin önemli bir tetikleyicisi olan okside fosfolipidlere maruz bırakılan insan aortik endotel hücrelerinde UPR, özellikle de ATF4'ün aktiflendiği görülmüştür. Bu bağlamda, ATF4 başka bir transkripsiyon faktörü olan XBP1 ile birlikte, hasara yanıtta inflamasyonu daha da arttıran IL-8, IL-6 ve monosit kemotaktik protein-1 ekspresyonu için gereklidir (198). ATF4'ün pro-apoptotik rolünü irdeleyen çalışmalarda ise ATF4'ün endotel hücrelerinde CHOP ve ATF3'ün de görev aldığı sinyal yolağını aktiflediği tespit edilmiştir (199). Diğer taraftan ATF4 kardiyovasküler hastalıklarda tedavi amacıyla kullanılan salvianolik asit B'nin ER stresinin ana düzenleyicilerinden olan glikoz-regüle edici protein (GRP78)'i upregüle etmesine aracılık eder. Bu şekilde ATF4'ün endotel hücrelerini oksidatif stres indüklü hücrel hasardan koruduğu düşünülür (200).

VPO1 ve GPx1 aktivitesi arasındaki negatif ilişki ise ATF4 aracılı antioksidan sistemin aktivasyonunun, bu sistemin bir üyesi olan GPx1'i tüketmesinden kaynaklanacağını düşünmekteyiz. Ateroskleroz patogeneğinde serbest radikallerin rolü ayrıntısıyla incelenmiştir. Çalışmamızda tayin ettiğimiz GPx1, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i suya redükte ederek, olası daha tehlikeli radikal ürünlerin oluşumuna engel olmaya çalışır. VPO1 ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i kullanarak, Cl<sup>-</sup> iyonları varlığında daha toksik özelliğe sahip HOCl oluşturur. Dolayısıyla GPx1 düzeylerinde saptadığımız azalma aslında artmış H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> temizlenmesine yönelik kompensasyon mekanizmasının bir sonucu olabilir ve ortamdaki azalmış H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nedeniyle VPO1'in substratı da azalacağından enzimin sentezinde bir değişikliğe neden olmamış olabilir. Elde ettiğimiz VPO1 sonuçları Yi-Shuai Zhang'ın bulgularını desteklemektedir (201) ki bu çalışmada da VPO1 düzeyinin ortamdaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği ifade edilmiştir. Dolayısıyla hem total grupta hem de tek damarı tıkalı hasta grubunda gözlemlenmiş olan GPx1 ve VPO1 arasındaki ters yönlü ilişkinin azalan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> düzeyleri ile ilişkili olabileceği düşüncesindeyiz.

Hastalığın daha ileri aşamalarında yani 2 ve 3 damarı tıkalı grupta GPx1 ve CRP arasındaki negatif ilişki tüketilen GPx1'in yani artmış oksidan stresin inflamasyonu tetiklenmesinden kaynaklanacağı görüşünü kuvvetlendirmektedir. Dolayısıyla hastalığın başlangıç dönemlerinde artmış oksidatif stres, antioksidan savunma sistemini harekete geçirmekte, hastalığın daha ileri aşamalarında ise bu durumun inflamasyonu tetiklediğini düşündürmektedir ki bulgularımız literatürdeki çalışmalarla örtüşmektedir.

Birçok klinik ve temel bilimler çalışmalarında arteriyel hastalıkların gelişiminde vasküler inflamasyonun rolü ortaya konmuştur. Bir akut faz reaktantı olan C-reaktif protein (CRP) kardiovasküler risk biyobelirteçi olarak vurgulanmaktadır (6,202–204).

Literatürde son yıllarda dikkatleri üzerine toplayan oksidatif stres ve endoplazmik retikulum stressinin ateroskleroz patogeneziyle olan ilişkisi, hali hazırda tüm ayrıntısıyla ortaya konamamıştır. Elde ettiğimiz bulgularımızın, yukarıda bahsedilen ilişkilerin açıklanmasına ve ateroskleroz patogenezinin aydınlatılmasına katkı sağlayacağı düşüncesindeyiz. Bu bağlamda, çalıştığımız biyokimyasal belirteçlerden VPO1 ve ATF4'ün KAH ile ilişkili birer biyobelirteç olabileceği, özellikle de geleneksel risk faktörlerine ilaveten hastalığın tedavi sürecinin takip ve izlenmesinde de önemli faydalar sağlayacağı düşüncesindeyiz. Elde ettiğimiz sonuçların farklı popülasyonlarda ve daha geniş hasta gruplarında, oksidan stresin protein ve lipid hasar belirteçleriyle birlikte değerlendirileceği, spesifik vasküler inflamasyon markırlarıyla irdeleneceği geniş çalışmalarla teyid edilmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Go AS, Mozaffarian D, Roger VL, Benjamin EJ, Berry JD, Baha MJ, et al. Heart Disease and Stroke Statistics - 2014 Update: A report from the American Heart Association [Internet]. Vol. 129, *Circulation*. 2014. 28-292 p. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.cir.0000441139.02102.80>
2. Tabas I, García-Cardena G, Owens GK. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. *J Cell Biol* [Internet]. 2015;209(1):13–22. Available from: <http://jcb.rupress.org/content/209/1/13.full>
3. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Ž, Verschuren M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). Vol. 33, *European Heart Journal*. 2012. p. 1635–701.
4. World Health Organization. *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention And Control. Policies, Strategies and Interventions*. Iraq. 2011;164.
5. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: Process, indicators, risk factors and new hopes. Vol. 5, *International Journal of Preventive Medicine*. 2014. p. 927–46.
6. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. Vol. 473, *Nature*. 2011. p. 317–25.
7. Mudau M, Genis A, Lochner A, Strijdom H. Endothelial dysfunction : the early predictor of atherosclerosis. *Cardiovasc J Afr* [Internet]. 2012;23(4):222–31. Available from: [http://www.cvja.co.za/onlinejournal/vol23/vol23\\_issue4/#/44/](http://www.cvja.co.za/onlinejournal/vol23/vol23_issue4/#/44/)
8. Woollard KJ, Geissmann F. Monocytes in atherosclerosis: Subsets and functions. Vol. 7, *Nature Reviews Cardiology*. 2010. p. 77–86.
9. Gui T, Shimokado A, Sun Y, Akasaka T, Muragaki Y. Diverse roles of macrophages in atherosclerosis: From inflammatory biology to biomarker discovery. Vol. 2012, *Mediators of Inflammation*. 2012.
10. Rudijanto A. The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis. *Acta Med Indones* [Internet]. 2007;39(2):86–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17933075>

11. Doran AC, Meller N, McNamara CA. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis. Vol. 28, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2008. p. 812–9.
12. Ma QL, Zhang GG, Peng J. Vascular peroxidase 1: A novel enzyme in promoting oxidative stress in cardiovascular system. Vol. 23, *Trends in Cardiovascular Medicine*. 2013. p. 179–83.
13. Higa A, Chevet E. Redox signaling loops in the unfolded protein response. Vol. 24, *Cellular Signalling*. 2012. p. 1548–55.
14. Flohé L. Glutathione peroxidase. *Basic Life Sci* [Internet]. 1988;49:663–8. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4684-5568-7\\_104%0Ahttp://research.bmn.com/medline/search/record?uid=89273257](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4684-5568-7_104%0Ahttp://research.bmn.com/medline/search/record?uid=89273257)
15. World Health Organization. WHO | Cardiovascular diseases (CVDs) factsheet No. 317 [Internet]. <Http://Www.Who.Int/Mediacentre/Factsheets/Fs317/En/Index.Html>. 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
16. Naghavi M, Wang H, Lozano R, Davis A, Liang X, Zhou M, et al. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* [Internet]. 2015;385(9963):117–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25530442%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4340604>
17. Wang Y, Nakayama M, Pitulescu ME, Schmidt TS, Bochenek ML, Sakakibara A, et al. Ephrin-B2 controls VEGF-induced angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nature*. 2010;465(7297):483–6.
18. Rubanyi GM. Mechanistic, technical, and clinical perspectives in therapeutic stimulation of coronary collateral development by angiogenic growth factors. Vol. 21, *Molecular Therapy*. 2013. p. 725–38.
19. Onat A, Karakoyun S, Akbaş T, Karadeniz FÖ, Karadeniz Y, Çakir H, et al. TEKHARF 2014 taramasi ve Türkiye’de coğrafî bölgelere göre ölüm oranı ile koroner hastalık insidansı. *Türk Kardiyol Dern Ars*. 2015;43(4):326–32.



20. Berthold HK, GouniBerthold I. Lipid-lowering drug therapy in elderly patients. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2011;17(9):877–93. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med7&NEWS=N&AN=21418034>
21. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: Major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: Aging arteries: A “set up” for vascular disease. Vol. 107, *Circulation*. 2003. p. 139–46.
22. Anuurad E, Enkhmaa B, Gungor Z, Zhang W, Tracy RP, Pearson TA, et al. Age as a modulator of inflammatory cardiovascular risk factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(9):2151–6.
23. Chiu J-J, Chien S. Effects of Disturbed Flow on Vascular Endothelium: Pathophysiological Basis and Clinical Perspectives. *Physiol Rev* [Internet]. 2011;91(1):327–87. Available from: <http://physrev.physiology.org/cgi/doi/10.1152/physrev.00047.2009>
24. Weiford BC. Cardiovascular Medicine. In: *Jama* [Internet]. 2005. p. 374. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4377-0398-6.00040-8>  
<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.294.3.376-a>
25. Łuszczewski A, Matyska-Piekarska E, Trefler J, Wawer I, Łacki J, Śliwińska-Stańczyk P. Reaktywne formy tlenu - Znaczenie w fizjologii i stanach patologii organizmu. *Reumatologia* [Internet]. 2007;45(5):284–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15198963>
26. Furchgott RF, Zawadzki J V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980;288(5789):373–6.
27. Furchgott RF, Cherry PD, Zawadzki J V, Jothianandan D. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* [Internet]. 1984;6 Suppl 2:S336-43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6206342>
28. Van De Voorde J, Leusen I. Role of the endothelium in the vasodilator response of rat thoracic aorta to histamine. *Eur J Pharmacol*. 1983;87(1):113–20.
29. Hutchinson PJA, Palmer RMJ, Moncada S. Comparative pharmacology of EDRF

- and nitric oxide on vascular strips. *Eur J Pharmacol.* 1987;141(3):445–51.
30. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* [Internet]. 1988;333(6174):664–6. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/333664a0>
  31. Saye JA, Singer H a, Peach MJ. Role of endothelium in conversion of angiotensin I to angiotensin II in rabbit aorta. *Hypertension.* 1983;6(2 Pt 1):216–21.
  32. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: A marker of atherosclerotic risk. Vol. 23, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2003. p. 168–75.
  33. Zhang J, Defelice AF, Hanig JP, Colatsky T. Biomarkers of endothelial cell activation serve as potential surrogate markers for drug-induced vascular injury. Vol. 38, *Toxicologic Pathology.* 2010. p. 856–71.
  34. Blann AD. Endothelial cell activation, injury, damage and dysfunction: Separate entities or mutual terms? *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2000;11(7):623–30.
  35. Furchgott RF. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. *Biosci Rep.* 1999;19(4):235–51.
  36. Sowers JR. Hypertension, Angiotensin II, and Oxidative Stress. *N Engl J Med* [Internet]. 2002;346(25):1999–2001. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMe020054>
  37. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. Vol. 115, *Circulation.* 2007. p. 1285–95.
  38. Charakida M, Donald AE, Terese M, Leary S, Halcox JP, Ness A, et al. Endothelial dysfunction in childhood infection. *Circulation.* 2005;111(13):1660–5.
  39. Pober JS. Cytokine-Mediated Activation of Vascular Endothelium Physiology and Pathology. *Am J Pathol.* 1988;133(3):426–33.
  40. Chong AY, Blann AD, Lip GYH. Assessment of endothelial damage and dysfunction: Observations in relation to heart failure. Vol. 96, *QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians.* 2003. p. 253–67.

41. Brown RA, Shantsila E, Varma C, Lip GYH. Current Understanding of Atherogenesis. *Am J Med* [Internet]. 2017;130(3):268–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2016.10.022>
42. Yusuf PS, Hawken S, Ôunpuu S, Dans T, Avezum A, Lanus F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): Case-control study. *Lancet*. 2004;364(9438):937–52.
43. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, Johnson C, Polak JF, Post W, et al. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*. 2009;120(6):502–9.
44. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* [Internet]. 2001;104(22):2673–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11723017>
45. Spencer CGC, Gurney D, Blann AD, Beevers DG, Lip GYH. Von Willebrand factor, soluble P-selectin, and target organ damage in hypertension: A substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial (ASCOT). *Hypertension*. 2002;40(1):61–6.
46. Ishikawa S, Shimano M, Watarai M, Koyasu M, Uchikawa T, Ishii H, et al. Impact of sitagliptin on carotid intima-media thickness in patients with coronary artery disease and impaired glucose tolerance or mild diabetes mellitus. *Am J Cardiol* [Internet]. 2014;114(3):384–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002914914011175>
47. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP, Tracy RE, Wattigney WA. Association between Multiple Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerosis in Children and Young Adults. *N Engl J Med* [Internet]. 1998;338(23):1650–6. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199806043382302>
48. Lim HS, Lip GYH, Blann AD. Plasma von Willebrand factor and the development of the metabolic syndrome in patients with hypertension. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2004;89(11):5377–81. Available from:

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=15531484](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15531484)

49. Vasan RS. Biomarkers of cardiovascular disease: Molecular basis and practical considerations. Vol. 113, *Circulation*. 2006. p. 2335–62.
50. Ridker PM. C-Reactive Protein and the Prediction of Cardiovascular Events Among Those at Intermediate Risk. Moving an Inflammatory Hypothesis Toward Consensus. Vol. 49, *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. p. 2129–38.
51. Zhang D, Sun X, Liu J, Xie X, Cui W, Zhu Y. Homocysteine accelerates senescence of endothelial cells via DNA hypomethylation of human telomerase reverse transcriptase. Vol. 35, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2015. p. 71–8.
52. Wang TJ. New cardiovascular risk factors exist, but are they clinically useful? Vol. 29, *European Heart Journal*. 2008. p. 441–4.
53. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel. National Cholesterol Education Program. *Arch Intern Med* [Internet]. 1991;151(6):1071. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.1991.00400060019005>
54. Ross R, Glomset J. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell. *Science* (80- ). 1973;180(4093):1332–9.
55. Ross R, Glomset J, Harker L. Response to injury and atherogenesis. *Am J Pathol* [Internet]. 1977;86(3):675–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/842616>
56. Andreou DE, Andreadou I. Atherosclerosis: An inflammatory disease. *Pharmakeftiki* [Internet]. 2009;22(3):83–96. Available from: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejm199901143400207>
57. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in Atherosclerosis. From Pathophysiology to Practice. Vol. 54, *Journal of the American College of Cardiology*. 2009. p. 2129–38.

58. Wang JC, Bennett M. Aging and atherosclerosis: Mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. Vol. 111, *Circulation Research*. 2012. p. 245–59.
59. Stary HC. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions an update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2000;20(5):1177–8. Available from: <http://atvb.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.ATV.20.5.1177>
60. Galkina E, Ley K. Immune and Inflammatory Mechanisms of Atherosclerosis. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2009;27(1):165–97. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.021908.132620>
61. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Vol. 15, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1995. p. 1512–31.
62. Simionescu M, Sima A V. Morphology of atherosclerotic lesions. In: *Inflammation and Atherosclerosis*. 2012. p. 19–37.
63. Nielsen LB, Nordestgaard BG, Stender S, Kjeldsen K. Aortic permeability to LDL as a predictor of aortic cholesterol accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1992;12(12):1402–9.
64. Steinberg D. The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update. *J Lipid Res* [Internet]. 2009;50(Supplement):S376–81. Available from: <http://www.jlr.org/lookup/doi/10.1194/jlr.R800087-JLR200>
65. Ishigaki Y, Oka Y, Katagiri H. Circulating oxidized LDL: A biomarker and a pathogenic factor. Vol. 20, *Current Opinion in Lipidology*. 2009. p. 363–9.
66. Simionescu M. Implications of early structural-functional changes in the endothelium for vascular disease. Vol. 27, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2007. p. 266–74.
67. Mompeo B, Popov D, Sima A, Constantinescu E, Simionescu M. Diabetes-induced structural changes of venous and arterial endothelium and smooth muscle cells. *J Submicrosc Cytol Pathol* [Internet]. 1998;30(4):475–84. Available

from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9851055>

68. Boisvert WA, Santiago R, Curtiss LK, Terkeltaub RA. A leukocyte homologue of the IL-8 receptor CXCR-2 mediates the accumulation of macrophages in atherosclerotic lesions of LDL receptor-deficient mice. *J Clin Invest.* 1998;101(2):353–63.
69. Haley KJ, Lilly CM, Yang JH, Feng Y, Kennedy SP, Turi TG, et al. Overexpression of eotaxin and the CCR3 receptor in human atherosclerosis: Using genomic technology to identify a potential novel pathway of vascular inflammation. *Circulation.* 2000;102(18):2185–9.
70. Davì G, Patrono C. Platelet Activation and Atherothrombosis. *N Engl J Med* [Internet]. 2007;357(24):2482–94. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra071014>
71. Millonig G, Malcom GT, Wick G. Early inflammatory-immunological lesions in juvenile atherosclerosis from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY)-study. *Atherosclerosis.* 2002;160(2):441–8.
72. Packard RRS, Lichtman AH, Libby P. Innate and adaptive immunity in atherosclerosis. *Semin Immunopathol* [Internet]. 2009;31(1):5–22. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00281-009-0153-8>
73. Bobryshev Y V. Dendritic cells in atherosclerosis: Current status of the problem and clinical relevance. Vol. 26, *European Heart Journal.* 2005. p. 1700–4.
74. Weis M, Schlichting CL, Engleman EG, Cooke JP. Endothelial determinants of dendritic cell adhesion and migration: New implications for vascular diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(11):1817–23.
75. Soehnlein O, Weber C, Lindbom L. Neutrophil granule proteins tune monocytic cell function. Vol. 30, *Trends in Immunology.* 2009. p. 538–46.
76. Lappalainen J, Lindstedt KA, Oksjoki R, Kovanen PT. OxLDL-IgG immune complexes induce expression and secretion of proatherogenic cytokines by cultured human mast cells. *Atherosclerosis.* 2011;214(2):357–63.
77. Tiwari RL, Singh V, Barthwal MK. Macrophages: An elusive yet emerging therapeutic target of atherosclerosis. Vol. 28, *Medicinal Research Reviews.* 2008.

- p. 483–544.
78. Velican C, Velican D. Study of coronary intimal thickening. *Atherosclerosis* [Internet]. 1985;56(3):331–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4052151>
  79. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory Enlargement of Human Atherosclerotic Coronary Arteries. *N Engl J Med* [Internet]. 1987;316(22):1371–5. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM198705283162204>
  80. Tabas I, Tall A, Accili D. The impact of macrophage insulin resistance on advanced atherosclerotic plaque progression. Vol. 106, *Circulation Research*. 2010. p. 58–67.
  81. Sima A, Bulla A, Simionescu N. Experimental obstructive coronary atherosclerosis in the hyperlipidemic hamster. *J Submicrosc Cytol Pathol* [Internet]. 1990;22(1):1–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2311094>
  82. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: A comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(5):1262–75.
  83. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber DK, Malcom GT, Smialek J, et al. Healed plaque ruptures and sudden coronary death: Evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation* [Internet]. 2001;103(7):934–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11181466>
  84. Persson T, Popescu BO, Cedazo-Minguez A. Oxidative stress in alzheimer's disease: Why did antioxidant therapy fail? Vol. 2014, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014.
  85. López-Alarcón C, Denicola A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. Vol. 763, *Analytica Chimica Acta*. 2013. p. 1–10.
  86. Ebrahimian T, Li MW, Lemarié CA, Simeone S, Pagano PJ, Gaestel M, et al. Mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 in angiotensin II-

- induced inflammation and hypertension: Regulation of oxidative stress. *Hypertension*. 2011;57(2):245–54.
87. Riley PA. Free radicals in biology: Oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol*. 1994;65(1):27–33.
  88. Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interact*. 1994;91(2–3):133–40.
  89. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med*. 1992;119(6):598–620.
  90. Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013.
  91. Dröse S, Brandt U. Molecular mechanisms of superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Adv Exp Med Biol*. 2012;748:145–69.
  92. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Vol. 30, *Toxicologic Pathology*. 2002. p. 620–50.
  93. Gandhi S, Abramov AY. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2012.
  94. Miao L, St. Clair DK. Regulation of superoxide dismutase genes: Implications in disease. Vol. 47, *Free Radical Biology and Medicine*. 2009. p. 344–56.
  95. Locatelli F, Canaud B, Eckardt K-U, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant [Internet]*. 2003;18(7):1272–80. Available from: <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfg074>
  96. Rice-Evans CA, Diplock AT. Current status of antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med [Internet]*. 1993;15(1):77–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8359712>
  97. Rice-Evans C, Richard Bruckdorfer K. Free radicals, lipoproteins and cardiovascular dysfunction. Vol. 13, *Molecular Aspects of Medicine*. 1992. p. 5–111.



98. Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. Vol. 82, *Experimental Physiology*. 1997. p. 291–5.
99. Wang Y, Chun OK, Song WO. Plasma and dietary antioxidant status as cardiovascular disease risk factors: A review of human studies. Vol. 5, *Nutrients*. 2013. p. 2969–3004.
100. Mann GE, Niehueser-Saran J, Watson A, Gao L, Ishii T, de Winter P, et al. Nrf2/ARE regulated antioxidant gene expression in endothelial and smooth muscle cells in oxidative stress: implications for atherosclerosis and preeclampsia. *Acta Physiol Sin*. 2007;59(2):117–27.
101. Sies H. Total antioxidant capacity: appraisal of a concept. *J Nutr* [Internet]. 2007;137(6):1493–5. Available from: <http://jn.nutrition.org/content/137/6/1493.abstract>
102. Vaziri ND. Causal link between oxidative stress, inflammation, and hypertension. Vol. 2, *Iranian journal of kidney diseases*. 2008. p. 1–10.
103. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The role of oxidant stress. *Circ Res* [Internet]. 2000;87(10):840–4. Available from: <http://circres.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.RES.87.10.840>
104. Majzunova M, Dovinova I, Barancik M, Chan JYH. Redox signaling in pathophysiology of hypertension. Vol. 20, *Journal of Biomedical Science*. 2013.
105. Touyz RM. Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: role of angiotensin II. *Curr Opin Nephrol Hypertens* [Internet]. 2005;14(2):125–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15687838>
106. Ng CY, Kamisah Y, Faizah O, Jaarin K. The role of repeatedly heated soybean oil in the development of hypertension in rats: Association with vascular inflammation. *Int J Exp Pathol* [Internet]. 2012;93(5):377–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22974219>
107. Savoia C, Sada L, Zezza L, Pucci L, Lauri FM, Befani A, et al. Vascular Inflammation and Endothelial Dysfunction in Experimental Hypertension. *Int J Hypertens* [Internet]. 2011;2011:1–8. Available from:

<http://www.hindawi.com/journals/ijhy/2011/281240/>

108. Pacurari M, Kafoury R, Tchounwou PB, Ndebele K. The renin-angiotensin-aldosterone system in vascular inflammation and remodeling. Vol. 2014, International Journal of Inflammation. 2014.
109. Horio E, Kadomatsu T, Miyata K, Arai Y, Hosokawa K, Doi Y, et al. Role of endothelial cell-derived angptl2 in vascular inflammation leading to endothelial dysfunction and atherosclerosis progression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(4):790–800.
110. Devaraj S, Kumaresan PR, Jialal I. C-reactive protein induces release of both endothelial microparticles and circulating endothelial cells in vitro and in vivo: Further evidence of endothelial dysfunction. *Clin Chem.* 2011;57(12):1757–61.
111. Steyers CM, Miller FJ. Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases. Vol. 15, International Journal of Molecular Sciences. 2014. p. 11324–49.
112. Park SH, Blackstone C. Further assembly required: Construction and dynamics of the endoplasmic reticulum network. Vol. 11, EMBO Reports. 2010. p. 515–21.
113. Phillips MJ, Voeltz GK. Structure and function of ER membrane contact sites with other organelles. Vol. 17, Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2016. p. 69–82.
114. Rowland AA, Voeltz GK. Endoplasmic reticulum-mitochondria contacts: Function of the junction. Vol. 13, Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2012. p. 607–15.
115. Kaufman RJ, Malhotra JD. Calcium trafficking integrates endoplasmic reticulum function with mitochondrial bioenergetics. Vol. 1843, Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research. 2014. p. 2233–9.
116. Cárdenas C, Miller RA, Smith I, Bui T, Molgó J, Müller M, et al. Essential Regulation of Cell Bioenergetics by Constitutive InsP3 Receptor Ca<sup>2+</sup> Transfer to Mitochondria. *Cell.* 2010;142(2):270–83.
117. Vishnu N, Jadoon Khan M, Karsten F, Groschner LN, Waldeck-Weiermair M, Rost R, et al. ATP increases within the lumen of the endoplasmic reticulum upon

- intracellular Ca<sup>2+</sup> release. *Mol Biol Cell* [Internet]. 2014;25(3):368–79. Available from: <http://www.molbiolcell.org/cgi/doi/10.1091/mbc.E13-07-0433>
118. Inoue T, Suzuki-Karasaki Y. Mitochondrial superoxide mediates mitochondrial and endoplasmic reticulum dysfunctions in TRAIL-induced apoptosis in Jurkat cells. *Free Radic Biol Med*. 2013;61:273–84.
119. Eletto D, Chevet E, Argon Y, Appenzeller-Herzog C. Redox controls UPR to control redox. *J Cell Sci* [Internet]. 2014;127(17):3649–58. Available from: <http://jcs.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jcs.153643>
120. Ushioda R, Miyamoto A, Inoue M, Watanabe S, Okumura M, Maegawa K, et al. Redox-assisted regulation of Ca<sup>2+</sup> homeostasis in the endoplasmic reticulum by disulfide reductase ERdj5. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2016;113(41):E6055–63. Available from: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1605818113>
121. Cao SS, Kaufman RJ. Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress in Cell Fate Decision and Human Disease. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2014;21(3):396–413. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2014.5851>
122. Fu S, Watkins SM, Hotamisligil GS. The role of endoplasmic reticulum in hepatic lipid homeostasis and stress signaling. Vol. 15, *Cell Metabolism*. 2012. p. 623–34.
123. Rutkowski DT, Kaufman RJ. A trip to the ER: Coping with stress. Vol. 14, *Trends in Cell Biology*. 2004. p. 20–8.
124. Malhotra JD, Kaufman RJ. The endoplasmic reticulum and the unfolded protein response. Vol. 18, *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2007. p. 716–31.
125. Keestra-Gounder AM, Byndloss MX, Seyffert N, Young BM, Chávez-Arroyo A, Tsai AY, et al. NOD1 and NOD2 signalling links ER stress with inflammation. *Nature*. 2016;532(7599):394–7.
126. Lindholm D, Wootz H, Korhonen L. ER stress and neurodegenerative diseases. *Cell Death Differ* [Internet]. 2006;13(3):385–92. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/sj.cdd.4401778>

127. Medigeshi GR, Lancaster AM, Hirsch AJ, Briese T, Lipkin WI, DeFilippis V, et al. West Nile Virus Infection Activates the Unfolded Protein Response, Leading to CHOP Induction and Apoptosis. *J Virol* [Internet]. 2007;81(20):10849–60. Available from: <http://jvi.asm.org/cgi/doi/10.1128/JVI.01151-07>
128. Pillich H, Loose M, Zimmer K-P, Chakraborty T. Activation of the unfolded protein response by *Listeria monocytogenes*. *Cell Microbiol* [Internet]. 2012;14(6):949–64. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1462-5822.2012.01769.x>
129. Wu S, Tan M, Hu Y, Wang JL, Scheuner D, Kaufman RJ. Ultraviolet light activates NF $\kappa$ B through translational inhibition of I $\kappa$ B $\alpha$  synthesis. *J Biol Chem* [Internet]. 2004;279(33):34898–902. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15184376>
130. Rutkowski DT, Kaufman RJ. All roads lead to ATF4. *Dev Cell*. 2003;4(4):442–4.
131. Urano F, Wang XZ, Bertolotti A, Zhang Y, Chung P, Harding HP, et al. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science* (80- ). 2000;287(5453):664–6.
132. Gentile CL, Frye M, Pagliassotti MJ. Endoplasmic Reticulum Stress and the Unfolded Protein Response in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2011;15(2):505–21. Available from: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ars.2010.3790>
133. Yamazaki H, Hiramatsu N, Hayakawa K, Tagawa Y, Okamura M, Ogata R, et al. Activation of the Akt-NF- $\kappa$ B Pathway by Subtilase Cytotoxin through the ATF6 Branch of the Unfolded Protein Response. *J Immunol* [Internet]. 2009;183(2):1480–7. Available from: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.0900017>
134. Moroder L, Besse D, Musiol HJ, Rudolph-Bohner S, Siedler F. Oxidative folding of cystine-rich peptides vs regioselective cysteine pairing strategies. *Biopolym - Pept Sci Sect*. 1996;40(2):207–34.
135. Chatzi A, Tokatlidis K. The Mitochondrial Intermembrane Space: A Hub for Oxidative Folding Linked to Protein Biogenesis. *Antioxid Redox Signal*.

- 2012;19(1):121003062117006.
136. Hwang C, Sinskey A, Lodish H. Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum. *Science* (80- ) [Internet]. 1992;257(5076):1496–502. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1523409>
  137. van der Vlies D, Makkinje M, Jansens A, Braakman I, Verkleij AJ, Wirtz KWA, et al. Oxidation of ER Resident Proteins Upon Oxidative Stress: Effects of Altering Cellular Redox/Antioxidant Status and Implications for Protein Maturation. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2003;5(4):381–7. Available from: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/152308603768295113>
  138. Lisa S, Domingo B, Martínez J, Gilch S, Llopis JF, Schätzl HM, et al. Failure of prion protein oxidative folding guides the formation of toxic transmembrane forms. *J Biol Chem*. 2012;287(44):36693–701.
  139. Sideraki V, Gilbert HF. Mechanism of the antichaperone activity of protein disulfide isomerase: Facilitated assembly of large, insoluble aggregates of denatured lysozyme and PDI. *Biochemistry*. 2000;39(5):1180–8.
  140. Gross E, Kastner DB, Kaiser CA, Fass D. Structure of Ero1p, source of disulfide bonds for oxidative protein folding in the cell. *Cell*. 2004;117(5):601–10.
  141. Harding HP, Zhang Y, Zeng H, Novoa I, Lu PD, Calton M, et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol Cell*. 2003;11(3):619–33.
  142. Tu BP, Weissman JS. Oxidative protein folding in eukaryotes: mechanisms and consequences. *J Cell Biol* [Internet]. 2004;164(3):341–6. Available from: <http://jcb.rupress.org/content/164/3/341>
  143. Santos CXC, Tanaka LY, Wosniak J, Laurindo FRM. Mechanisms and Implications of Reactive Oxygen Species Generation During the Unfolded Protein Response: Roles of Endoplasmic Reticulum Oxidoreductases, Mitochondrial Electron Transport, and NADPH Oxidase. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2009;11(10):2409–27. Available from: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ars.2009.2625>
  144. Sturza A, Leisegang MS, Babelova A, Schröder K, Benkhoff S, Loot AE, et al.

- Monoamine oxidases are mediators of endothelial dysfunction in the mouse aorta. *Hypertension*. 2013;62(1):140–6.
145. Cai H. Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: Origins, mechanisms, and consequences. Vol. 68, *Cardiovascular Research*. 2005. p. 26–36.
  146. Zeeshan H, Lee G, Kim H-R, Chae H-J. Endoplasmic Reticulum Stress and Associated ROS. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2016;17(3):327. Available from: <http://www.mdpi.com/1422-0067/17/3/327>
  147. Rizzuto R, De Stefani D, Raffaello A, Mammucari C. Mitochondria as sensors and regulators of calcium signalling. Vol. 13, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2012. p. 566–78.
  148. Rainbolt TK, Saunders JM, Wiseman RL. Stress-responsive regulation of mitochondria through the ER unfolded protein response. Vol. 25, *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2014. p. 528–37.
  149. Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, et al. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes Dev*. 2004;18(24):3066–77.
  150. Ariyama Y, Tanaka Y, Shimizu H, Shimomura K, Okada S, Saito T, et al. The role of CHOP messenger RNA expression in the link between oxidative stress and apoptosis. *Metabolism*. 2008;57(12):1625–35.
  151. Song B, Scheuner D, Ron D, Pennathur S, Kaufman RJ. Chop deletion reduces oxidative stress, improves beta cell function, and promotes cell survival in multiple mouse models of diabetes. *J Clin Invest* [Internet]. 2008;118(10):3378–89. Available from: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=18776938&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers3://publication/doi/10.1172/JCI34587>
  152. Li G, Scull C, Ozcan L, Tabas I. NADPH oxidase links endoplasmic reticulum stress, oxidative stress, and PKR activation to induce apoptosis. *J Cell Biol*. 2010;191(6):1113–25.

153. Drummond GR, Sobey CG. Endothelial NADPH oxidases: Which NOX to target in vascular disease? Vol. 25, Trends in Endocrinology and Metabolism. 2014. p. 452–63.
154. Bai YP, Hu CP, Yuan Q, Peng J, Shi RZ, Yang TL, et al. Role of VPO1, a newly identified heme-containing peroxidase, in ox-LDL induced endothelial cell apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 2011;51(8):1492–500.
155. Przygodzki T, Lapshina E, Zavodnik I, Sokal A, Bryszewska M. 2,3-Butanedione monoxime does not protect cardiomyocytes under oxidative stress. *Cell Biochem Funct*. 2006;24(5):413–8.
156. Ford DA. Lipid oxidation by hypochlorous acid: chlorinated lipids in atherosclerosis and myocardial ischemia. *Clin Lipidol* [Internet]. 2010;5(6):835–52. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3041592&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
157. Winterbourn CC. Comparative reactivities of various biological compounds with myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride, and similarity of oxidant to hypochlorite. *BBA - Gen Subj*. 1985;840(2):204–10.
158. Kettle AJ. Neutrophils convert tyrosyl residues in albumin to chlorotyrosine. *FEBS Lett*. 1996;379(1):103–6.
159. Heinecke JW, Li W, Mueller DM, Bohrer A, Turk J. Cholesterol Chlorohydrin Synthesis by the Myeloperoxidase-Hydrogen Peroxide-Chloride System: Potential Markers for Lipoproteins Oxidatively Damaged by Phagocytes. *Biochemistry*. 1994;33(33):10127–36.
160. Savenkova MI, Mueller DM, Heinecke JW. Tyrosyl radical generated by myeloperoxidase is a physiological catalyst for the initiation of lipid peroxidation in low density lipoprotein. *J Biol Chem*. 1994;269(32):20394–400.
161. Prütz WA, Kissner R, Koppenol WH, Rügger H. On the irreversible destruction of reduced nicotinamide nucleotides by hypohalous acids. *Arch Biochem Biophys*. 2000;380(1):181–91.
162. Vissers MC, Pullar JM, Hampton MB. Hypochlorous acid causes caspase

- activation and apoptosis or growth arrest in human endothelial cells. *Biochem J* [Internet]. 1999;344 Pt 2:443–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1220662&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
163. Midwinter RG, Vissers MCM, Winterbourn CC. Hypochlorous acid stimulation of the mitogen-activated protein kinase pathway enhances cell survival. *Arch Biochem Biophys*. 2001;394(1):13–20.
  164. Vile GF, Rothwell LA, Kettle AJ. Initiation of rapid, p53-dependent growth arrest in cultured human skin fibroblasts by reactive chlorine species. *Arch Biochem Biophys*. 2000;377(1):122–8.
  165. Khachigian LM, Fahmy RG, Zhang G, Bobryshev Y V., Kaniaros A. c-Jun Regulates Vascular Smooth Muscle Cell Growth and Neointima Formation after Arterial Injury. *J Biol Chem* [Internet]. 2002;277(25):22985–91. Available from: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M200977200>
  166. Ni J, Waldman A, Khachigian LM. c-Jun regulates shear- and injury-inducible Egr-1 expression, vein graft stenosis after autologous end-to-side transplantation in rabbits, and intimal hyperplasia in human saphenous veins. *J Biol Chem*. 2010;285(6):4038–48.
  167. Kato Y, Koike Y, Tomizawa K, Ogawa S, Hosaka K, Tanaka S, et al. Presence of activating transcription factor 4 (ATF4) in the porcine anterior pituitary. *Mol Cell Endocrinol*. 1999;154(1–2):151–9.
  168. Stocker R, Perrella MA. Heme oxygenase-1: A novel drug target for atherosclerotic diseases? *Circulation*. 2006;114(20):2178–89.
  169. He CH, Gong P, Hu B, Stewart D, Choi ME, Choi AMK, et al. Identification of activating transcription factor 4 (ATF4) as an Nrf2-interacting protein. Implication for heme oxygenase-1 gene regulation. *J Biol Chem*. 2001;276(24):20858–65.
  170. Bowers AJ, Scully S, Boylan JF. SKIP3, a novel *Drosophila* tribbles ortholog, is overexpressed in human tumors and is regulated by hypoxia. *Oncogene*. 2003;22(18):2823–35.



171. Nishizawa M, Nagata S. cDNA clones encoding leucine-zipper proteins which interact with G-CSF gene promoter element 1-binding protein. *FEBS Lett.* 1992;299(1):36–8.
172. Haghghat A, Weiss D, Whalin MK, Cowan DP, Taylor WR. Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte macrophage colony-stimulating factor exacerbate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* [Internet]. 2007;115(15):2049–54. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/abstract/115/15/2049>
173. Harding HP, Novoa I, Zhang Y, Zeng H, Wek R, Schapira M, et al. Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells. *Mol Cell.* 2000;6(5):1099–108.
174. Kilberg MS, Pan Y-X, Chen H, Leung-Pineda V. Nutritional control of gene expression: how mammalian cells respond to amino acid limitation. *Annu Rev Nutr* [Internet]. 2005;25:59–85. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3600373&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
175. Kilberg MS, Shan J, Su N. ATF4-dependent transcription mediates signaling of amino acid limitation. Vol. 20, *Trends in Endocrinology and Metabolism.* 2009. p. 436–43.
176. Oskolkova O V., Afonyushkin T, Leitner A, Schlieffen E Von, Gargalovic PS, Lusis AJ, et al. Atf4-dependent transcription is a key mechanism in VEGF up-regulation by oxidized phospholipids: Critical role of oxidized sn-2 residues in activation of unfolded protein response. *Blood.* 2008;112(2):330–9.
177. Outinen P a, Sood SK, Pfeifer SI, Pamidi S, Podor TJ, Li J, et al. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and growth arrest leads to specific changes in gene expression in human vascular endothelial cells. *Blood* [Internet]. 1999;94(3):959–67. Available from: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/eflink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=10419887&retmode=ref&cmd=prlinks>
178. Malabanan KP, Kanellakis P, Bobik A, Khachigian LM. Activation transcription factor-4 induced by fibroblast growth factor-2 regulates vascular endothelial

- growth factor-A transcription in vascular smooth muscle cells and mediates intimal thickening in rat arteries following balloon injury. *Circ Res*. 2008;103(4):378–87.
179. Kelsen SG, Duan X, Ji R, Perez O, Liu C, Merali S. Cigarette smoke induces an unfolded protein response in the human lung: A proteomic approach. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008;38(5):541–50.
180. Marchand A, Tomkiewicz C, Magne L, Barouki R, Garlatti M. Endoplasmic reticulum stress induction of insulin-like growth factor-binding protein-1 involves ATF4. *J Biol Chem* [Internet]. 2006;281(28):19124–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16687408><http://www.jbc.org/content/281/28/19124.full.pdf>
181. Yang X, Karsenty G. ATF4, the osteoblast accumulation of which is determined post-translationally, can induce osteoblast-specific gene expression in non-osteoblastic cells. *J Biol Chem*. 2004;279(45):47109–14.
182. Flohe L, Günzler WA, Schock HH. Glutathione peroxidase: A selfoenzyme. *FEBS Lett*. 1973;32(1):132–4.
183. Ghyselinck NB, Jimenez C, Dufaure JP. Sequence homology of androgen-regulated epididymal proteins with glutathione peroxidase in mice. *J Reprod Fertil* [Internet]. 1991;93(2):461–6. Available from: 1787466
184. Toppo S, Vanin S, Bosello V, Tosatto SCE. Evolutionary and Structural Insights Into the Multifaceted Glutathione Peroxidase (Gpx) Superfamily. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2008;10(9):1501–14. Available from: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ars.2008.2057>
185. Marinho HS, Antunes F, Pinto RE. Role of glutathione peroxidase and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in the reduction of lysophospholipid hydroperoxides. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 1997;22(5):871–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Entrez/query?db=m&form=6&dopt=r&uid=9119256>
186. Quintana-Cabrera R, Fernandez-Fernandez S, Bobo-Jimenez V, Escobar J, Sastre J, Almeida A, et al.  $\gamma$  3-Glutamylcysteine detoxifies reactive oxygen species by acting as glutathione peroxidase-1 cofactor. *Nat Commun*. 2012;3.

187. Murphy MP, Holmgren A, Larsson NG, Halliwell B, Chang CJ, Kalyanaraman B, et al. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species. *Cell Metab.* 2011;13(4):361–6.
188. Mauri P, Toppo S, De Palma A, Benazzi L, Maiorino M, Ursini F. Identification by MS/MS of Disulfides Produced by a Functional Redox Transition. *Methods Enzymol* [Internet]. 2010;473(10):217–25. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0076687910730111>
189. Brigelius-Flohé R, Flohé L. Basic Principles and Emerging Concepts in the Redox Control of Transcription Factors. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2011;15(8):2335–81. Available from: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ars.2010.3534>
190. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, et al. Glutathione Peroxidase 1 Activity and Cardiovascular Events in Patients with Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2003;349(17):1605–13. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa030535>
191. Cheng F, Torzewski M, Degreif A, Rossmann H, Canisius A, Lackner KJ. Impact of Glutathione Peroxidase-1 Deficiency on Macrophage Foam Cell Formation and Proliferation: Implications for Atherogenesis. *PLoS One.* 2013;8(8).
192. Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen M-R, Wiklund O, et al. Dyslipidaemias. *Eur Heart J* [Internet]. 2011;32(14):1769–818. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21712404>
193. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. Vol. 25, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2005. p. 1102–11.
194. Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. Vol. 12, *Nature Immunology.* 2011. p. 204–12.
195. Leonarduzzi G, Gamba P, Gargiulo S, Biasi F, Poli G. Inflammation-related gene expression by lipid oxidation-derived products in the progression of atherosclerosis. Vol. 52, *Free Radical Biology and Medicine.* 2012. p. 19–34.
196. Li T-T, Zhang Y-S, He L, Liu B, Shi R-Z, Zhang G-G, et al. Inhibition of

- vascular peroxidase alleviates cardiac dysfunction and apoptosis induced by ischemia–reperfusion. *Can J Physiol Pharmacol* [Internet]. 2012;90(7):851–62. Available from: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/y2012-066>
197. Shi R, Hu C, Yuan Q, Yang T, Peng J, Li Y, et al. Involvement of vascular peroxidase 1 in angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *Cardiovasc Res*. 2011;91(1):27–36.
198. Gargalovic PS, Imura M, Zhang B, Gharavi NM, Clark MJ, Pagnon J, et al. Identification of inflammatory gene modules based on variations of human endothelial cell responses to oxidized lipids. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2006;103(34):12741–6. Available from: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=16912112](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16912112)
199. Mungrue IN, Pagnon J, Kohanim O, Gargalovic PS, Lusis AJ. CHAC1/MGC4504 Is a Novel Proapoptotic Component of the Unfolded Protein Response, Downstream of the ATF4-ATF3-CHOP Cascade. *J Immunol* [Internet]. 2009;182(1):466–76. Available from: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.182.1.466>
200. Wu HL, Li YH, Lin YH, Wang R, Li YB, Tie L, et al. Salvianolic acid B protects human endothelial cells from oxidative stress damage: A possible protective role of glucose-regulated protein 78 induction. *Cardiovasc Res*. 2009;81(1):148–58.
201. Zhang YS, He L, Liu B, Li NS, Luo XJ, Hu CP, et al. A novel pathway of NADPH oxidase/vascular peroxidase 1 in mediating oxidative injury following ischemia-reperfusion. *Basic Res Cardiol*. 2012;107(3).
202. Libby P, Tabas I, Fredman G, Fisher EA. Inflammation and its resolution as determinants of acute coronary syndromes. *Circ Res*. 2014;114(12):1867–79.
203. Ridker PM. Moving beyond JUPITER: Will inhibiting inflammation reduce vascular event rates? *Curr Atheroscler Rep*. 2013;15(1).
204. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FAH, Genest J, Gotto AM, Kastelein JJP, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* [Internet]. 2008;359(21):2195–207. Available from:

[http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=18997196&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/doi/10.1056/NEJMo  
a0807646](http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=18997196&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/doi/10.1056/NEJMo<br/>a0807646)



## HAM VERİLER

İsim	Cinsiyet	Yaş	TDS	AÖ	VKI	VPO1	ATF4	GPx1	CRP	Tg	T-K	LDL-K	HDL-K
H. P.	Erkek	45	0	Var	30,864	6,46	2,28	326647,36	0,23	58	168	103	56
Ö.D.	Erkek	72	0	Yok	23,671	4,23	2,10	278660,01	4,41	54	147	89	58
N.A	Erkek	44	0	Yok	31,047	9,92	2,56	101632,02	1,32	101	176	126	31
C.M.	Erkek	60	0	Yok	31,482	8,79	5,67	58246,46	3,22	110	173	125	35
T.G.	Erkek	45	0	Var	26,754	7,77	2,47	113143,40	0,12	848	267	161	36
C.Ş.	Kadın	52	0	Var	27,142	4,68	1,21	233658,58	4,54	86	171	110	63
F.A.	Kadın	64	0	Var	29,136	2,41	1,12	182379,83	20,73	93	123	71	45
A.Ç.	Erkek	49	0	Var	25,826	7,91	1,30	214509,69	0,7	210	234	184	44
K.U.	Erkek	54	0	Yok	29,297	3,90	1,49	259669,24	1,62	51	171	116	51
A.Y.	Kadın	45	0	Yok	25,403	6,29	18,36	101632,02	9,6	279	221	142	47
A.E.	Kadın	58	0	Var	32,046	3,94	1,70	159289,79	0,24	237	320	249	55
Ş.A.	Kadın	61	0	Yok	26,298	8,18	1,95	111056,99	3,99	88	209	158	38
N.A.	Kadın	62	0	Var	27,099	7,22	1,97	132217,80	3,54	153	204	139	56
B.Ü.	Erkek	57	0	Var	27,143	1,77	1,95	64286,05	0,82	260	192	128	31
T.K.	Kadın	37	0	Yok	25,1	8,93	7,78	45257,83	23,34	562	359	257	44
H.G.	Kadın	58	0	Var	33,333	7,09	2,38	154079,96	2,66	152	199	121	67
S.K.	Kadın	49	0	Var	34,064	4,38	1,70	52895,65	0,26	174	239	164	47
S.K.	Kadın	58	0	Var	35,38	0,71	14,11	254073,40	0,16	128	186	123	53
B.E.	Erkek	59	0	Yok	26,449	6,76	1,69	79830,25	0,94	176	189	126	46
E.C.K.	Kadın	61	0	Var	19,531	8,10	1,77	301905,21	6,6	89	188	110	60

İsim	Cinsiyet	Yaş	TDS	AÖ	VKI	VPO1	ATF4	GPx1	CRP	Tg	T-K	LDL-K	HDL-K
T.G.	Erkek	39	1	Var	33,95	4,69	2,64	55031,31	4,30	630,00	284,00	147,00	30,00
Ş.T.	Erkek	65	1	Var	24,69	4,95	1,01	103003,23	2,27	121,00	181,00	125,00	37,00
E.K.	Kadın	50	1	Yok	26,26	5,19	3,03	134611,03	,24	61,00	163,00	98,00	58,00
M.F.E.	Erkek	67	1	Yok	24,77	5,52	1,15	142086,05	7,61	137,00	262,00	201,00	43,00
Y.Ç.	Erkek	48	1	Var	27,12	6,60	1,04	57602,30	4,26	144,00	152,00	99,00	35,00
A.i.	Erkek	70	1	Var	23,77	3,32	1,90	94590,36	1,26	203,00	169,00	104,00	34,00
T.Ö.	Erkek	60	1	Var	29,38	7,60	1,33	78503,56	,14	55,00	103,00	57,00	35,00
A.Y.	Erkek	54	1	Var	24,45	10,69	1,99	20139,88	1,86	224,00	250,00	184,00	35,00
M.Ö.	Erkek	66	1	Yok	26,50	9,63	2,12	90084,83	,09	95,00	133,00	61,00	59,00
E.K.	Erkek	50	1	Var	33,03	8,77	5,72	110594,21	1,48	309,00	274,00	203,00	42,00
Ş.Y.	Erkek	57	1	Yok	33,13	7,12	7,66	114072,75	4,34	358,00	266,00	191,00	35,00
G.P.	Kadın	66	1	Yok	25,97	6,62	1,69	153832,94	2,24	190,00	183,00	135,00	37,00
H.Ç.	Kadın	68	1	Yok	28,23	3,52	,89	184711,15	32,30	84,00	175,00	126,00	45,00
E.Y.	Erkek	45	1	Yok	32,11	2,54	1,27	55673,22	2,38	690,00	187,00	86,00	21,00
N.Ç.	Erkek	48	1	Yok	29,76	6,29	1,53	189662,45	9,36	215,00	192,00	136,00	30,00
Z.Ç.	Kadın	56	1	Yok	26,57	6,71	1,76	132934,86	1,09	64,00	186,00	117,00	61,00
S.K.	Erkek	61	1	Yok	23,51	5,02	,84	140390,65	2,99	131,00	105,00	63,00	27,00
İ.K.	Erkek	71	1	Yok	35,43	5,01	1,05	4008,89	7,30	31,00	81,00	24,00	57,00
K.Ş.	Erkek	67	1	Yok	29,71	7,53	1,48	127694,40	24,80	153,00	255,00	185,00	52,00
H.M.	Erkek	67	1	Var	27,15	3,92	1,84	156555,51	,12	94,00	195,00	138,00	41,00

İsim	Cinsiyet	Yaş	TDS	AÖ	VKI	VPO1	ATF4	GPX1	CRP	Tg	T-K	LDL-K	HDL-K
M.K.	Kadın	51	1	Var	36,72	9,67	1,66	139182,34	6,94	290,00	274,00	204,00	49,00
A.E.O.	Erkek	54	1	Var	29,76	2,17	1,87	26702,47	9,61	298,00	152,00	80,00	22,00
A.O.	Kadın	58	1	Var	28,28	3,33	,79	122024,27	1,52	199,00	183,00	120,00	43,00
İ.K.	Erkek	65	1	Var	34,32	2,06	,81	184711,15	,41	163,00	169,00	120,00	32,00
A.D.	Kadın	64	1	Var	41,23	9,10	1,80	98897,73	,42	369,00	199,00	117,00	31,00
A.A.	Erkek	60	1	Var	27,34	2,57	1,46	115236,23	12,00	164,00	205,00	166,00	23,00
E.K.	Erkek	61	1	Yok	28,13	10,10	1,98	46736,84	,29	126,00	167,00	114,00	41,00
K.E.	Erkek	58	1	Var	28,52	13,79	1,61	76,96	1,03	108,00	206,00	140,00	58,00
A.S.	Erkek	67	1	Var	30,39	6,83	1,29	220545,47	4,65	47,00	177,00	103,00	69,00
Ş.A.	Erkek	66	1	Yok	25,51	2,39	,95	172887,70	21,66	128,00	141,00	91,00	36,00
F.K.	Erkek	61	2	Var	32,53	3,25	,79	69721,21	12,45	206,00	150,00	109,00	25,00
K.U.	Erkek	61	2	Yok	26,70	7,71	2,35	69284,89	3,44	192,00	155,00	101,00	25,00
H.E.	Kadın	60	2	Var	27,34	4,39	2,03	387912,59	1,12	138,00	188,00	138,00	33,00
K.A.	Kadın	65	2	Var	32,88	6,95	1,53	118270,69	10,20	170,00	209,00	153,00	41,00
B.O.	Erkek	60	2	Var	30,10	7,32	2,53	70594,64	1,29	322,00	269,00	174,00	49,00
S.Ö.	Erkek	46	2	Yok	29,32	2,43	16,16	175694,42	2,69	145,00	265,00	199,00	39,00
M.A.	Erkek	66	2	Yok	29,32	3,33	1,33	130309,44	7,91	76,00	174,00	126,00	37,00
M.A.	Erkek	60	2	Var	27,55	6,25	1,60	168827,77	3,51	137,00	233,00	185,00	34,00
H.E.	Erkek	64	2	Yok	20,82	4,24	,87	116868,48	15,53	49,00	153,00	96,00	44,00
M.Y.A.	Erkek	59	2	Var	30,82	1,68	1,67	64286,05	5,24	44,00	241,00	174,00	55,00



İsim	Cinsiyet	Yaş	TDS	AÖ	VKI	VPO1	ATF4	GPx1	CRP	Tg	T-K	LDL-K	HDL-K
A.M.	Erkek	65	2	Var	27,36	6,01	,77	102317,29	,43	42,00	158,00	104,00	54,00
H.U.	Erkek	58	2	Var	35,08	1,41	1,72	142814,00	6,56	101,00	146,00	98,00	36,00
G.Ö.	Kadın	72	2	Yok	32,39	2,71	1,48	121318,88	1,32	87,00	208,00	146,00	44,00
N.C.	Kadın	60	2	Var	31,25	2,89	1,70	195182,71	1,87	211,00	266,00	179,00	62,00
M.C.	Kadın	60	2	Var	33,06	3,39	1,67	46948,36	7,71	238,00	227,00	170,00	32,00
M.J.	Erkek	58	3	Yok	25,26	3,57	,67	117802,96	,43	186,00	235,00	155,00	64,00
S.D.	Kadın	65	3	Yok	27,64	6,24	4,60	137735,32	9,14	148,00	265,00	198,00	50,00
T.B.K.	Erkek	52	3	Var	27,47	5,17	2,05	32076,30	4,79	195,00	203,00	139,00	33,00
E.L.	Kadın	40	3	Yok	23,03	4,50	1,25	85384,93	4,01	91,00	171,00	115,00	38,00
M.K.	Erkek	70	3	Var	23,05	9,83	1,76	860544,33	,14	80,00	129,00	77,00	49,00
S.K.	Erkek	63	3	Var	27,72	7,74	2,14	77399,87	8,85	217,00	255,00	181,00	51,00
H.R.i.	Erkek	66	3	Yok	29,06	7,34	2,08	126746,02	7,38	272,00	219,00	138,00	39,00
S.B.	Erkek	56	3	Var	31,41	6,08	1,76	81603,03	1,91	118,00	231,00	164,00	50,00
K.Y.	Erkek	44	3	Var	30,30	8,86	1,97	124144,93	,35	155,00	233,00	172,00	45,00
H.Ö.	Erkek	42	3	Var	32,74	5,10	2,07	97534,62	,12	300,00	275,00	195,00	31,00
İ.A.	Erkek	68	3	Yok	28,36	4,33	1,40	51404,35	1,64	79,00	148,00	103,00	29,00
R.M.Y.	Erkek	64	3	Var	28,37	5,34	2,09	22389,46	4,30	90,00	247,00	176,00	45,00
Z.Ç.	Kadın	75	3	Var	27,64	6,10	1,65	189139,35	6,23	113,00	235,00	140,00	77,00
B.Ş.	Erkek	59	3	Yok	36,33	7,04	9,16	156803,59	,43	185,00	160,00	110,00	31,00
İ.T.	Kadın	67	3	Yok	45,78	8,61	2,58	108746,23	3,48	207,00	145,00	64,00	40,00

## ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 04/05/2016-162360



T.C.  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-  
Kona :Yüks.Lis.Öğr.Fatma Kalay'ın etik  
kurul kararı

## TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :26.04.2016 tarih, 68871907-604.01.01-152588 sayılı yazı

Anabilim Dalımız öğretim üyesi **Doç.Dr.Zeynep Banu GÜNGÖR**'ün danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Fatma KALAY**'ın yürütücülüğünde **Prof.Dr.Orkide DONMA, Prof.Dr.Hüseyin Avni SÖNMEZ, Prof.Dr.Hakan EKMEKÇİ, Prof.Dr.Mine KUCUR, Prof.Dr.Özlem Balcı EKMEKÇİ** ve **Doç.Dr.Barış İKİTİMUR**'un yardımıyla "Koronar Anjiyosu Yapılmış Hastalarda Tıkalı Damar Sayısı ile Vasküler Peroksidaz 1 (VPO1), Transkripsiyon Aktive Edici Faktör-4 (ATF-4) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx)Düzeylerinin İncelenmesi" başlıklı **Yüksek Lisans Tezi** hakkında **03 Mayıs 2016** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) dereceği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir. Bilgilerinize rica olunur.

e-İmza  
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR  
Başkan

EK :  
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak İçin:[http://194.27.128.66/envision.Sorgula/Validate\\_Doc.aspx?V=BEND5YEAR](http://194.27.128.66/envision.Sorgula/Validate_Doc.aspx?V=BEND5YEAR)

Ayrıntılı bilgi için lütfen : Güler BOYDANCIER - Dışarı : 22360

Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL

Tel : 0 (212) 414 30 00/21107- 21168 Fax : 0 (212) 632 00 33

e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik AĞ : www.istanbul.edu.tr

**İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI**

**KORONER ANJİYOSU  
YAPILMIŞ HASTALARDA TIKALI  
DAMAR SAYISI İLE VASKÜLER  
PEROKSİDAZ 1  
TRANSKRİPSİYON AKTİVE  
EDİCİ FAKTÖR 4 VE  
GLUTATYON PEROKSİDAZ  
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

Gönderim Tarihi: 31-May-2018 09:51AM (UTC+0300)

Gönderim Numarası: 970646392

Dosya adı: C\_FAKT\_R\_4\_VE\_GLUTATYON\_PEROKS\_DAZ\_D\_ZEYLER\_N\_N\_NCELENMES.docx (104.73K)

Kelime sayısı: 16367

Karakter sayısı: 114888

*Rıza Patma Kalay*

KORONER ANJİYOSU YAPILMIŞ HASTALARDA TIKALI  
DAMAR SAYISI İLE VASKÜLER PEROKSİDAZ 1  
TRANSKRİPSİYON AKTİVE EDİCİ FAKTÖR 4 VE GLUTATYON  
PEROKSİDAZ DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%3	%1	%2	%1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	<a href="http://www.istanbulsaglik.gov.tr">www.istanbulsaglik.gov.tr</a> İnternet Kaynağı	<%1
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<%1
3	ALTIN GÜLOVAA, Asena and DEMİRSOY, Özge. "Örgüt Kültürü ve Örgütsel Bağlılık Arasındaki İlişki: Hizmet Sektörü Çalışanları Üzerinde Ampirik Bir Araştırma", Uludağ Üniversitesi İİBF İşletme Bölümü, 2012. Yayın	<%1
4	KURNAZ, Özlem and YILMAZ AYDOĞAN, Hülya. "Okside LDL Reseptörü-1 (LOX-1) ve Kardiyovasküler Hastalıklarla İlişkisi", Tıp Araştırmaları Derneği, 2014. Yayın	<%1
5	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	FATMA	<b>Soyadı</b>	KALAY
<b>Doğ.Yeri</b>	KARABÜK	<b>Doğ.Tar.</b>	25.12.1988
<b>Uyruğu</b>	T.C	<b>TC Kim No</b>	24353708338
<b>Email</b>	fatmakalayfz@gmail.com	<b>Tel</b>	5469007880

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>	İSTANBULÜNİVERSİTESİ	2018
<b>Lisans</b>	SELÇUK ÜNİVERSİTESİ	2012
<b>Lise</b>	FEVZİ ÇAKMAK ANADOLU LİSESİ	2007

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanı	BS Mimarlık & İnşaat Ltd. Şit.	2015-2016
2.	Stajyer	Dünya Yerel Yönetim ve Demokrasi Akademi Vakfı	2016-2018
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İNGİLİZCE	İYİ	ORTA	İYİ	73.75	

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

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

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MİCROSOFT OFFİCE	İYİ
SPSS	İYİ