

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**KORONER ARTER HASTALARINDA CPT1A VE
CROT GEN VARYASYONLARININ
DİSLİPİDEMİK FENOTİPLE İLİŞKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

ASLIHAN DEMİRCAN

**DANIŞMAN
PROF.DR. HÜLYA YILMAZ AYDOĞAN**

**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2016

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI

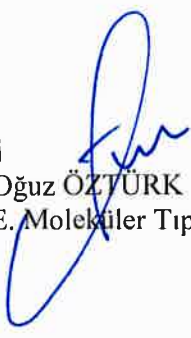
İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü . İ.Ü. DETAE. Moleküler Tıp Anabilim Dalı, . Yüksek Lisans Programında Yüksek Lisans öğrencisi **Ashhan DEMİRCAN** tarafından Prof. Dr. Hülya YILMAZ AYDOĞAN.'nın danışmanlığında hazırlanan "**Koroner Arter Hastalarında CPT1A ve CROT Gen Varyasyonlarının Dislipidemik Fenotiple İlişkilerinin İncelenmesi**" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından.12 / 07./2016. tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.




Jüri Başkanı
Prof. Dr. İlhan YAYLIM
İ.Ü.DETAE. Moleküler Tıp Anabilim Dalı


Jüri-Danışman
Prof. Dr. Hülya YILMAZ AYDOĞAN
İ.Ü.DETAE. Moleküler Tıp A.D.


Jüri
Prof. Dr. Arzu ERGEN
İ.Ü.DETAE. Moleküler Tıp A.D.


Jüri
Prof. Dr. Oğuz ÖZTÜRK
İ.Ü.DETAE. Moleküler Tıp Anabilim Dalı


Jüri
Yard. Doç. Dr. Ender COŞKUNPINAR
Sağlık Bil. Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji A.D.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla 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.

Aslıhan Demircan (İmza)



İTHAF

Aileme ithaf ediyorum...



TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İlhan Yaylım'a

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen, bana destek olan saygıdeğer hocam İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hülya Yılmaz Aydoğan'a

Tez çalışmamın laboratuvar aşamalarında büyük destek ve katkılarından ötürü başta Dr.Ender M.Coşkunpınar ve tüm Tıbbi Genetik Bilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuvarı çalışanlarına,

Tezim için gerekli hasta örneklerinin sağlanmasındaki katkılarından dolayı İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Zehra Buğra'ya

Tez çalışmam süresince yardımları ve destekleri için başta Prof. Dr. Oğuz Öztürk, Fatih, Yanar, Bengü Tokat ve Deniz Kanca olmak üzere tüm Moleküler Tıp Anabilim Dalı çalışanlarına,

Bana her koşulda destek ve cesaret veren aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma , İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36173

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1 Ateroskleroz Epidemiyolojisi	4
2.2 Ateroskleroz Patojenezi	7
2.2.1 Endotel Fonksiyon Bozukluğu.....	9
2.3 Yağ Asitlerinin Oksidasyonu	10
2.3.1. CPT Sistemi	15
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
3.1 KULLANILAN MATERYAL.....	18
3.1.1 Kullanılan Kimyasallar ve Kitler	18
3.1.2 Cihazlar	19
3.1.3 Kullanılan Tampon Solüsyonları, Çözeltiler.....	19
3.2. KİT İLE DNA İZOLASYONU	19
3.3. DNA KONSANTRASYONUNUN BELİRLENMESİ	20

3.4. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile (Real-Time (RT)-PCR) ile CPT1A rs3019613 Genotipleme	20
3.5. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile (Real-Time (RT)-PCR) ile CROT rs2214930 T>C Genotipleme	23
3.6.Sonuçların İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	26
4.BULGULAR.....	27
5.TARTIŞMA	34
KAYNAKLAR	39
HAM VERİLER	46
ETİK KURUL KARARI	48
ÖZGEÇMİŞ	51

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3-1 : CPT1A rs3019613-G>A tespiti için RT-PZR içeriği	21
Tablo 3-2: CPT1A genindeki varyasyonlardan rs3840634 polimorfizminin RT- PZR reaksiyonu için termal profil şartları.....	22
Tablo 3-3 : CROT rs2214930-T>C tespiti için RT-PZR içeriği.....	24
Tablo 3-4: CROT geninde rs2214930-T>C polimorfizminin RT- PZR reaksiyonu için termal profil şartları	24
Tablo 4-1 : Çalışma Gruplarının Demografik ve Metabolik Özellikleri	28
Tablo 4-2 : CPT1A ve CROT Geninde İncelenen SNP'lere ait Genotip ve Allel Dağılımları.....	29
Tablo 4-3 : CPT1A rs3019613 Genotiplerinin Çalışma Gruplarında Serum lipid profili, kan basınçları ve vücut kitle indeksi üzerine etkisi	30
Tablo 4-4 : CROT Geni rs2214930 Genotiplerinin Çalışma Gruplarında Serum lipid profili, kan basınçları ve vücut kitle indeksi üzerine etkisi	31
Tablo 4-5 : Kontrol grubunda Eşik Metabolik risk değerleri üzerinde CPT1A ve CROT Genotiplerinin Etkileri	32
Tablo 4-6 : Koroner Arter Hasta grubunda Eşik Metabolik risk değerleri üzerinde CPT1A ve CROT Genotiplerinin Etkileri	33

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: 2004 yılı için KVH'ın Dünya çapındaki dağılımı	4
Şekil 2-2 : KAH için Klasik ve Klasik olmayan risk faktörleri.....	5
Şekil 2-3 : Kalpte yağ asidi beta oksidasyonu döngüsü.....	11
Şekil 2-4 : Mitokondriyal beta oksidasyon	12
Şekil 2-5 : Yağ asidi-Karnitin mekiği.....	13
Şekil 2-6: Yağ asidi-Karnitin mekiği membran lokalizasyonu	13
Şekil 2-7 : Mitokondriyal yağ asidi beta oksidasyonundaki defektlerin ilişkili olduğu hastalıklar	15
Şekil 2-8: Mitokondriyal CPT sistemi	16
Şekil 2-9 : CPTI geninin kromozomal lokasyonu	16
Şekil 2-10 : M CROT geninin kromozomal lokasyonu.....	17
Şekil 3.1 : CPT1A geni rs3019613-G>A gen varyantının belirlenmesi için elde edilen erime eğrileri.....	22
Şekil 3-2: CPT1A rs3019613-GA Genotipi.....	23
Şekil 3-3: CROT geninde rs2214930-T>C gen varyantının belirlenmesi için elde edilen erime eğrileri.....	25
Şekil 3-4: CROT geninde rs2214930-TC Genotipi	25

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

KAH	: Koroner Arter Hastalığı
CPT1A	: Karnitin palmitoiltransferaz-IA
CROT	: Karnitin oktanoil transferaz (CROT)
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
oxLDL	: Okside Olmuş Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
NO	: Nitrik Oksit
GTP	: Guanozin trifosfat
TEKHARF	: Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
Asetil-KoA	: Asetil Koenzim A
TCA	: Trikarboksilik asit siklüsü

ÖZET

DEMİRCAN, A. (2016) Koroner Arter Hastalarında CPT1A ve CROT Gen Varyasyonlarının Dislipidemik Fenotiple İlişkilerinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp AD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Kalp dokusunun sürekli kasılma aktivitesini sürdürmek için gereksindiği sabit ve yüksek enerji talebi öncelikle uzun zincirli yağ asitlerinin beta-oksidasyonundan karşılanmaktadır. Bu nedenle yağ asidi beta-oksidasyonunda ortaya çıkan bozuklukların kalp dokusu enerji ihtiyacının karşılanmasında ve kardiyovasküler sorunlara sebep olacağı öngörülmektedir. Lipid metabolizmasında beta-oksidasyon ile enerji üretimi için uzun zincirli yağ asitlerinin sitozolden mitokondriye karnitin mekiği ile mitokondriye girmesinde görevli karnitin palmitoiltransferaz-I (CPT-I), açıl-KoA'da KoA'nın tiol grubuna bağlı açılı ayırarak membranlar arası boşlukta karnitin hidrosil grubuna aktarılmasını katalizler. Karnitin oktanoil transferaz (CROT) ise karnitin ve KoA arasında yağ açıl gruplarının geri dönüşümlü transferini katalizleyen bir karnitin açıltransferazdır. Yapılan çalışmalar CPT1A ve CROT genlerindeki varyasyonların beta oksidasyonda önemli olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda CPT1A rs3019613-G>A ve CROT rs2214930-T>C varyasyonlarının koroner arter hastalığı (KAH) teşhisi konan bireylerde incelenmesi ve bu varyasyonların serum lipid profili ve KAH riski üzerindeki etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çalışma gruplarımız 104 koroner kalp hastası ve 76 sağlıklı bireyden oluşmuştur. CPT1A ve CROT gen varyasyonları gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu tekniği ile belirlenmiştir. CPT1A rs3019613-G>A ve CROT rs2214930-T>C dağılımları hasta ve kontrol gruplarında benzerdir ($p>0.05$). Kontrol grubunda CROT rs2214930-TT genotipi yüksek Total-kolesterol ($p=0.045$), LDL-Kolesterol ($p=0.009$) ve T alleli yüksek sistolik kan basıncı ($p=0.039$) ile ilişkilidir. KAH hasta grubunda CPT1A rs3019613-A alleli taşıyanlarda GG taşıyanlara kıyasla vücut kitle indeksi (VKİ) değerleri yüksek ($p=0.004$) iken, HDL-kolesterol eşik değeri ($HDL-K \leq 0.90$ mmol/l) düşüktür ($p=0.017$). KAH grubunda CROT rs2214930-TT genotipi de düşük HDL-K düzeyleri ile ilişkilidir ($p=0.054$). Bulgularımız CPT1A rs3019613 ve CROT rs2214930 varyasyonlarının KAH etyopatogenezinde yer alan serum lipid profili, VKİ ve kan basınçları üzerinde önemli etkileri olabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: CROT, CPT1A, beta oksidasyon, koroner arter hastalığı

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 36173

ABSTRACT

DEMİRCAN, A. (2016). Study on relationship between the Gene Variations of the CPT1A and CROT and dyslipidemic phenotype in patients with coronary artery disease. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Molecular Medicine. Master's Thesis. İstanbul.

The constant and high energy demand of the heart tissue for its unremitting contraction is primarily provided from the beta-oxidation of long chained fatty acids. Thus, it can be foreseen that disorders in the beta-oxidation of long chained fatty acids would create great problems in delivering the energy demand of the heart tissue and lead to cardiovascular diseases. Carnitine palmitoyltransferase I (CPT-I), responsible for the transferring of long chained fatty acids from cytosol to mitochondria via carnitine shuttle for energy production by the beta-oxidation in lipid metabolism, catalyze the break of the acyl, which is bound to the thiol group of acyl-CoA, and transfer to the hydroxyl group of carnitine in the intramembrane space. Carnitine octanoyl transferase (CROT) is a carnitine acyltransferase that catalyze the reversible transfer of fatty acyl groups between carnitine and KoA. Studies showed that CPT1A and CROT gene variations are important in beta-oxidation. In our study, it was aimed to investigate the effect of the CPT1A rs3019613-G>A and CROT rs2214930-T>C variations on coronary artery disease (CAD) patients, their serum lipid profiles and the risk of CAD development. Our study group comprised of 104 coronary heart disease patients and 76 healthy individuals as control. The CPT1A and CROT gene variations were determined with the real time polymerase chain reaction technique. The distributions of the CPT1A rs3019613-G>A and CROT rs2214930-T>C between the patient and control groups are similar ($p>0.05$). In the control group the CROT rs2214930-TT genotype was found associated with high total-cholesterol ($p=0.045$) and LDL cholesterol ($p=0.009$) and T allele with high systolic blood pressure ($p=0.039$). In the CAD patient group, the CPT1A rs3019613-A carriers had higher body mass index (BMI) values than the GG genotype carriers, while having lower HDL-cholesterol threshold values ($\text{HDL-C} \leq 0.90 \text{ mmol/l}$) ($p=0.017$). In addition, the CROT rs2214930-TT genotype was associated with low HDL-C levels in the patient group ($p=0.054$). Our findings indicate that the CPT1A rs3019613 and CROT rs2214930 variations may have significant effects on serum lipid profiles, BMI and blood pressure, which are a part of CAD etiopathogenesis.

Key words: CROT, CPT1A, beta oxidation, coronary artery disease

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University.

Project No. 36173

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ateroskleroz ve komplikasyonları tüm dünyada ve ülkemizde en önde gelen morbidite ve mortalite nedenidir (1-3). Ülkemizdeki koroner arter hastalığının (KAH) prevalansı TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması) çalışması bulgularına göre 45-54 yaş grubunda %6, 55-64 yaş grubunda %17 ve 65 yaş ve üzerindeki yaş grubunda ise %28 düzeyindedir. TEKHARF çalışmasında ayrıca ülkemizde tüm ölümlerin %42'sini koroner kalp hastalığına bağlı ölümlerin, %10'nu ise serebrovasküler hastalıklara bağlı ölümlerin oluşturduğu bildirilmiştir. Bu verilerden yola çıkıldığında aterosklerozdan kaynaklanan ölümler tüm ölümlerin yaklaşık olarak yarısını oluşturmaktadır (3, 4).

Ateroskleroz arterlerin, arteryal duvarın normal hücre elementleri, T hücreleri, monositlerden türeyen makrofajlar ve lipoproteinler arasındaki etkileşimden kaynaklanan kronik inflamasyondur (5, 6). Bu inflamasyon yağlı çizgilenme, fibröz plak ve komplike lezyonların gelişmesine yol açabilir (3, 7). Ateroskleroza yol açan risk faktörlerinden olan yaş, cinsiyet ve aile öyküsü değiştirilemez faktörlerdir. Başta dislipidemi olmak üzere diabetes mellitus, hipertansiyon, sigara tüketimi, obezite, egzersizsiz bir yaşam aterosklerozun değiştirilebilir risk faktörleridir (7, 8, 9). Bunun yanı sıra hastanın aterojen lipoproteinlerinin miktarını (küçük yoğun LDL, apo B) koagülasyon ve fibrinolitik aktivitesini (doku plazminojen aktivatörü (t-PA), plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), fibrinojen), vasküler endotel fonksiyonlarını (homosistein, Lp(a)) ve inflamatuvar yanıtını (hs-CRP, Myeloperoksidaz (MPO)) belirleyen yeni risk etmenleri de günlük pratiğe yavaş yavaş girmektedir. Bu risk faktörleri endotel disfonksiyonuna neden olurlar. Ardından inflamatuvar bir yanıt başlatırlar (8, 9). Genel olarak dislipidemi, ardından risk faktörleri sonucunda ortaya çıkan endotel disfonksiyonunun yol açtığı inflamasyon ve tromboz arasındaki kompleks ilişki ateroskleroza sebep olur. Lipit metabolizmasının bozulması plazma lipoproteinlerinin fonksiyonlarında ya da seviyelerinde değişikliğe yol açar. Bu bozukluk, aterosklerozun en önemli risk faktörlerinden biri olan dislipidemidir (9).

Açlık sırasında yağ asitleri karaciğer, kardiyak kaslar ve iskelet kaslarında oksidasyonla enerji üretimi için predominant substrattır. Beyin ise enerji üretimi için oksidatif metabolizmada yağ asitlerini doğrudan kullanamaz. Karaciğerde yağ asitlerinin beta oksidasyonu ile üretilen asetil-KoA ve asetoasetil-KoA'dan yapılan keton cisimlerini

okside ederler (10, 11). Yağ dokusunda depolanmış olan yağ asitleri ve gliseroller hormonal uyarılarla kan dolaşımına verilir. Yağ asitleri hedef dokuya ulaştığında hücreye geçer ve hücrede açıl-KoA sentetaz enzimleri ile KoA türevlerine dönüştürülerek aktif hale getirilirler (11, 12). Beta-oksidasyon ile enerji üretimi için aktif hale gelen uzun zincirli yağ asitlerinin sitozolden mitokondriye taşınması gerekir. Bu taşınma işlemi için hidrofilik özel bir taşıyıcı molekül olan karnitin gereklidir. Karnitin açıl rezidülerine bağlanır ve onların eliminasyonuna yardım eder. Yağ asitlerinin karnitin mekiği ile mitokondriye girmesi 3 farklı protein ile gerçekleştirilir (10-14). Karnitin palmitoiltransferaz I (Carnitine palmitoyltransferase 1, CPT I) iç mitokondri membranının membranlar arası yüzeyinde bulunur. Açıl-KoA'da KoA'nın SH grubuna bağlı olan açılı ayırarak membranlar arası boşlukta karnitin hidrosil grubuna aktarılmasını katalizler. Bu protein sayesinde karnitin, uzun zincirli karboksilik asitlerle yüksek enerjili ester bağı kurar (15). Karnitin palmitoiltransferaz II (Carnitine palmitoyltransferase 2, CPT II) ise mitokondrinin iç membranının matrikse bakan yüzeyinde bulunur. CPT I'in karnitine aktardığı açıl grubunun tekrar KoA'ya aktarılması işlemi katalizler (10, 14). Karnitin/açıl-karnitin translokaz (solute carrier family 25 member 20, SLC25A20) iç mitokondri membranında bulunur (10). Mitokondri içine açıl-karnitin geçişini sağlarken antiport olarak mitokondri dışına da karnitin geçişini sağlar. Karnitin oktanoil transferaz (Carnitine octanoyltransferase, CROT), karnitin ve KoA arasında yağ açıl gruplarının reversible transferini katalizleyen bir karnitin açıltransferazdır (16).

CPT1 geninin kodladığı mitokondriyal dış membrana yerleşmiş karnitin palmitoiltransferaz I, yağ asidinin beta oksidasyonu için hız sınırlayıcıdır. CPT1A geninin eksprese ettiği protein malonil-KoA tarafından inhibe edilir ve bu inhibisyon tüm dokularda yağ asidi oksidasyonunun hız kontrolünü sağlar (12). CPT1 geninin 3 izoformu tanımlanmıştır. CPT1A çoğu dokuda ve özellikle karaciğerde bulunurken, CPT1B kaslarda eksprese edilir. CPT1C ise beyinde bulunur (15, 17). CPT1A ve CPT1B'nin knockoutları letaldir. Bu yüzden enerji homeostazındaki kesin rolü hala tam bilinmemektedir (18, 19). Ancak CPT1A'nın üstlendiği görevi aydınlatmaya yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır. CPT1A geninde beklenmedik spontan mutasyonları olan hastalarda, CPT1A'nın hepatik eksikliği hipoketotik hipoglisemi, hepatomegali, inme ve komanın nükseden durumlarına sebep olmaktadır. Pankreasta spesifik CPT1 inhibitörü, etomoksir, ile yağ asidinin oksidasyonu ya da metabolize edilmeyen yağ asit analogları

glukoz-stimüle edici insulin sekresyonunu (GSIS) değiştirir (20, 21). CPT1 aktivitesinin seğici inhibitörlerle blokajının kalbi yağ asidi-bağımlı iskemik yaralanmalardan koruduğu ve hipotalamik CPT1 aktivitesinin moleküler ve farmakolojik yaklaşımlarla değiştirilmesinin endojen glukoz üretimini etkilediği bildirilmiştir (22).

CROT geni tarafından kodlanan karnitin oktanoil transferaz, 4,8-dimetilnonanoil-KoA'yı uygun karnitin esterine dönüştürür. Bu transesterifikasyon peroksizomda meydana gelir ve orta ve uzun zincirli açıl-KoA moleküllerinin peroksizom dışından sitozol ve mitokondriye transportu için gereklidir. Bu nedenle CROT geninin ürünü olan bu protein lipid metabolizmasında ve yağ asidi beta oksidasyonunda önemli bir rol oynamaktadır (16, 23).

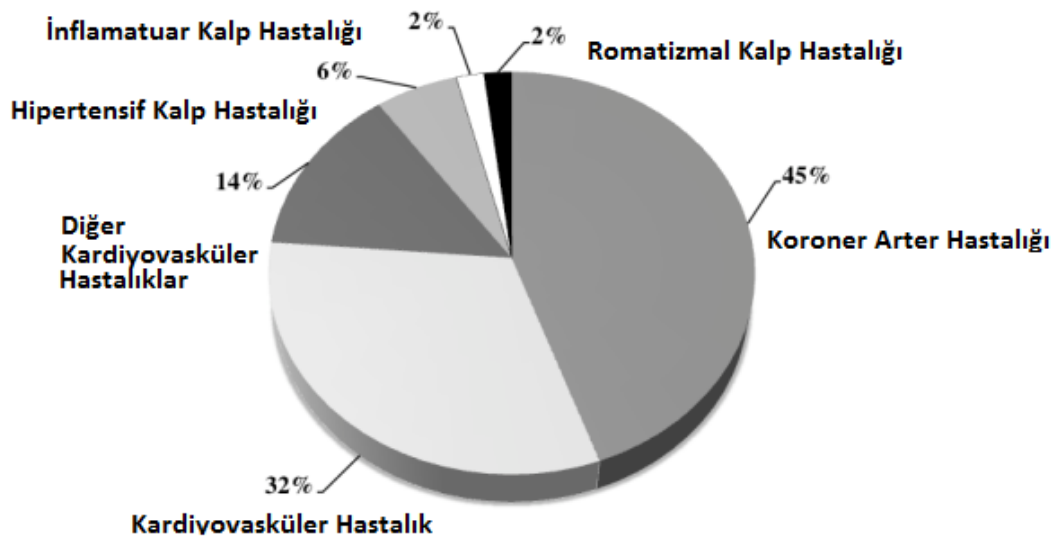
Literatürde yapılan çalışmalar ve incelemeler CPT1A ve CROT genlerinin yağ asidi beta oksidasyonu için önemli olduğunu göstermektedir. Yağ asitleri, kalp dokusu başta olmak üzere kaslarda en önemli enerji kaynağıdır (24). Yağ asidi beta oksidasyonundaki bir sorun bu enerji ihtiyacının karşılanmasında sorunlara sebep olmaktadır. CPT1A geninde oluşabilecek bir hata sonucunda, genin eksprese ettiği protein ve onun dahil olduğu mitokondrideki karnitin mekiğininde sorun olabileceği öngörülmektedir (10, 12, 13).

Tez projemizde CPT1A genindeki rs3019613 ve CROT genindeki rs2214930 varyasyonlarındaki nükleotit değişimleri real-time PZR yöntemiyle incelenmiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgularla CPT1A ve CROT genlerindeki varyasyonlarının aterosklerotik damar hastalığı ve dislipidemi ile ilişkilerini ve sonuç olarak koroner arter hastalığı gelişimindeki etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Ateroskleroz Epidemiyolojisi

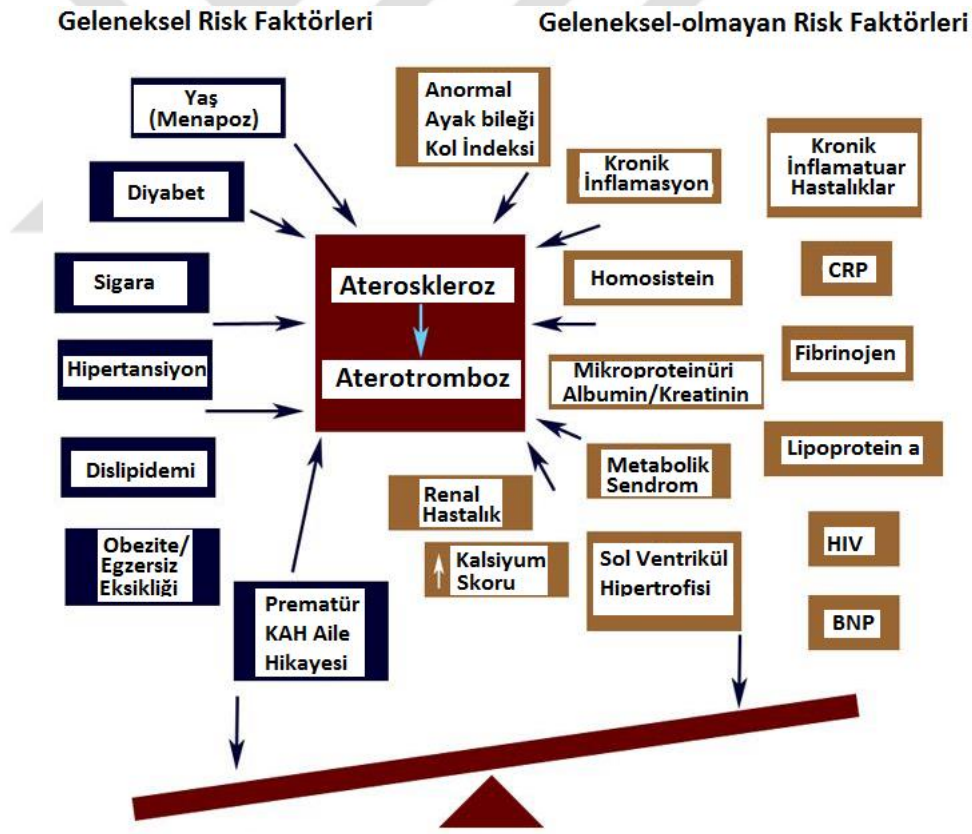
Kardiyovasküler hastalıklar (KVH), koroner arter hastalığı (KAH), serebrovasküler hastalıklar, periferik arter hastalığı ve diğer kardiyak bozukluklar ile birlikte dünyadaki başlıca ölüm nedenidir (Şekil 2-1). Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) KVH kaynaklı ölümlerin 2012 yılı için 17.5 milyon kişi olduğunu ve bunun tüm ölümlerin %31'i olduğunu beyan etmiştir (25). KAH ise, bu gruptaki ölümlerin %45'inden ve tüm ölümlerin %12'sinden sorumludur. 2005 yılında verilerine göre, Birleşik Devletler'de (US), 445.687 ölüme her 5 ölümün birinin ve 2006 yılında Avustralya'daki ölümlerin %17'sinin KAH'na bağlı olduğu bildirilmiştir. 2008 yılı verilerine göre, Birleşik Krallık'ta (UK) rapor edilen 88.000 vaka içinse, her 5 erkekten birinin ve her 8 kadından birinin ölüm nedeni KAH olarak gösterilmiştir (26). Ülkemizde ise, TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalıkları ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması) çalışması koroner arter hastalığı (KAH) prevalansını 45-54 yaş grubunda %6, 55-64 yaş grubunda %17 ve 65 yaş ve üzerindeki yaş grubunda ise %28 olarak bildirmiştir (27).



Şekil 2-1: 2004 yılı için KVH'nın Dünya çapındaki dağılımı (World Health Organisation, Global Burden of Disease 2004 Update) ²⁵

KAH, Framingham Kalp Çalışmasında (FHS) detaylı şekilde araştırılmış ve aile öyküsü, yaş, cinsiyet, kolesterol profili, kan basıncı değerleri, diyabet, metabolik sendrom, depresyon, sigara kullanımı, sosyoekonomik durum ve coğrafik/etnik köken risk faktörleri olarak belirlenmiştir. Sosyoekonomik durum kriterleri olarak ele alınan meslek, eğitim ve gelir parametrelerindeki düşüş, uygun olmayan yaşam standartlarını ve depresyon, obezite, yüksek kolesterol, hipertansiyon ve yetersiz fiziksel aktiviteyi de beraberinde getirerek KAH riskinde artışa yol açmaktadır (28).

Klasik risk faktörlerinin yanında inflamasyon ve kalp krizi belirtici olarak kullanılan C reaktif protein (CRP) seviyesindeki yükselme, lipoprotein a ve küçük-yoğun LDL (sdLDL) partikülleri, yetersiz folik asit alımına bağlı olarak yüksek homosistein seviyesi ve fibrinojen, düzeyleri ile son dönem böbrek hastalığı (ESRD), kronik inflamatuvar hastalıklar (lupus, romatoid artrit) ve HIV enfeksiyonu (AIDS) da KAH için bilinen risk faktörleridir (1,2,8) (Şekil 2-2).



Şekil 2-2: KAH için Klasik ve Klasik olmayan risk faktörleri (29).

* BNP: B tipi natriüretik peptid; BP: Kan basıncı; CRP: C reaktif proteini; HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein; HIV: İnsan immünyetmezlik virüs enfeksiyonu

40 yaş üstünde KAH riskinin erkeklerde %50, kadınlarda ise %33 arttığı görülmüştür. KAH erkeklerde kadınlara göre daha erken başlamakta olup risk erkeklerde 50-65 ve kadınlarda 60-75 yaşları arasında artmaktadır (1). KAH, bilgisayarlı tomografi, anjiyografi ve karotid intima media kalınlık ölçümü gibi çeşitli görüntüleme teknikleri ve B tüpü natriüretik peptit (BNP), CRP, homosistein, renin, üriner albumin/kreatinin oranı gibi biyobelirteçler ile teşhis edilebilmektedir (26).

Kardiyovasküler hastalıkların genetiğinde, hücre-hücre etkileşimleri, hücre büyümesi ve farklılaşması, kanal ve reseptör proteinleri, endotel ve inflamasyon ilişkili genler, hücre adhezyon molekülleri ve lipoproteinleri kodlayan genler gibi çok sayıda farklı gen grubundaki varyasyonlar rol almaktadır. İlgili genlerdeki bozukluklar aterosklerotik süreçlerin başlamasına yol açmaktadır. Framingham Kalp Çalışması (28) ve İsveç ikiz çalışması (30) kapsamında incelenen kardiyovasküler hastalarında aile öyküsü bulunan bireyler ile ikizlerde KVH geliştirme olasılığının arttığı gözlenmiştir.

Kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisi ise, ateroskleroza dayanmakta olup ateroskleroz, yüksek kan basıncı, yüksek kolesterol, sigara, diyabet ve genetik gibi iyi bilinen risk faktörlerinin etkisiyle orta boy arterlerin intimasında gelişen düşük düzeyde inflamatuvar yanıtlar olarak tanımlanabilir (31). Ateroskleroz, arter duvarında dengesiz lipid metabolizması ve bozulmuş immün yanıtın birlikte etki etmesiyle kronik inflamasyon ve immün disregülasyona neden olan ve arteryal duvarın normal hücre elementleri, T hücreleri, monositlerden türeyen makrofajlar ve lipoproteinlerin etkileşimiyle gelişen otoimmün ve inflamatuvar bir hastalıktır (1,32-34). Bu inflamasyon yağlı çizgilenme, fibröz plak ve komplike lezyonların gelişmesine yol açabilir (35,36). Zamanla, arterlerin iç yüzeyinde dereceli olarak meydana gelen kalınlaşma damar lümeninin daralmasına, aterosklerotik plak hasarına ve kanamalara yol açmaktadır. Aterosklerotik plaklar inflamatuvar hücreler, hücre debrisisi, düz kas hücreleri (SMC) ve çeşitli miktarlarda kolesterol ve kolesterol esterlerinden oluşmakta ve bazen kollajen, düz kas hücreleri ve elastinle sarılı ve arter duvarındaki bir sıra endotel ile kaplı fibröz bir kapsül içinde yer almaktadır. Dolaşımdaki monositlerden dönüşen köpük hücrelerinden kökenlenen inflamatuvar hücrelerin birçoğu arter duvarına göç ederek fibröz kapsülü hasarlamakta ve damar içinde intraluminal koroner trombüs formasyonu olarak adlandırılan kanamaya yol açmaktadır (31).

Ateroskleroz lipidlerin, inflamatuvar hücrelerin ve bağ dokuların arter duvarında birikmesi ile karakterizedir (34). Düşük dansiteli lipoprotein (LDL) endotelden geçmesi, inflamatuvar hücrelerin intimada birikmesine neden olan çeşitli sitokinler ve kemotaktanların salınımını indüklemektedir. Oksidatif ve enzimatik reaksiyonlar sonucu modifiye olan lipidler (OxLDL), ileri düzeyde immünojenik olup proinflamatuvar kemotaktik faktör işlevi görerek endotel hücrelerinde lökosit adezyon moleküllerinin üretimini artırmakta ve aktivasyon bölgesine kan hücrelerinin taşınmasını ve sitokin salgılanması tetikleyerek inflamasyonu başlatmaktadır (36-37).

İntimada biriken OxLDL'yi fagosite eden makrofajlar köpük hücrelere dönüşürler. Bu hücrelerin birikimi ilk evrelerde intima altında sarı çizgilenmeler olarak gözlenir ve lümen darlık oluşturmeyen bu lezyonlar yağlı çizgilenme olarak adlandırılırlar. Yağlı çizgilenme aterosklerozun ilk lezyonudur (38). Köpük hücreler aynı zamanda pro-inflamatuvar sitokinleri salgılayarak intimanın büyümesine ve damar lümeninin daralmasına neden olurlar (37).

Aterosklerotik sürecin gelişiminde anahtar rol oynayan mekanizma olan endotelial fonksiyon bozukluğu, uzamış veya tekrarlayan kardiyovasküler risk faktörlerine (sigara, hipertansiyon, hiperlipidemi, diyabet, obezite) maruziyet, oksidatif stres, virüsler, homosistein, immün kompleksler ve kompleman aktivasyonu ile bu etkenlere karşı endotel hücrelerde gelişen endojen antiinflamatuvar sistemlerin birleşimi sonucu gelişmektedir (39,40).

Endotel hücreler, homeostazı sağlamak için kardiyovasküler risk faktörlerine karşı Nitrik oksit (NO), inflamatuvar sitokinler, adhezyon molekülleri ve tromboz düzenleyiciler vasıtasıyla açtıkları savaş sonucunda fonksiyon bozukluğuna ilave olarak bütünlüklerini kaybederek senesense girerler ve dolaşıma katılırlar. Aktive veya proapoptotik hücrelerden kökenlenen endotelial mikropartiküller endotel hasarının dolaşımında tespit edilebilen belirteçleridir (41).

2.2. ATEROSKLEROZ PATOGENEZİ

Kalp hastalıklarının başlıca nedeni olan ateroskleroz, kolesterol içeren düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) intimada birikmesi ve endotel hücreleri aktive etmesiyle başlayan inflamatuvar bir hastalıktır (1). Periferik ve koroner ateroskleroz patogenezinin başlangıç safhasında endotel fonksiyon bozukluğu gelişmekte ve

fonksiyonu bozulmuş endotel hücreleri, artan geçirgenlikleri yüzünden makromoleküllerin rahatlıkla subendotelyal matrikse geçişine izin vererek aterosklerotik lezyonların oluşumu sağlamaktadır (40). LDL'lerin kandaki artışı, LDL'lerin taşınmasını ve matriksteki birikimini artırmaktadır. Buna ek olarak, apolipoprotein B (apoB) içeren diğer lipoproteinler de intimada birikerek ateroskleroza tetiklemeye yardımcı olmaktadır (7,9).

Doğal LDL'ler modifiye olmuş LDL'ler kadar hızlı olarak makrofajlar tarafından alınıp köpük hücrelere dönüştürülemediği için hücre duvarında oksidasyon, lipoliz, proteoliz ve agregasyon gibi modifikasyonlara uğrayarak inflamasyonun artışına ve köpük hücre oluşumuna katkı sağlamaktadırlar (42). Modifiye olmuş LDL'lerin agregasyonu ve makrofajlar tarafından alınması miyeloperoksidaz, sfingomiyelinaz ve sekretuar fosfolipaz gibi enzimler aracılığıyla gerçekleştirilir ve SR-A ve CD36 gibi çöpçü reseptörleri vasıtasıyla makrofajlara alınarak köpük hücrelere dönüştürülürler (43).

Yüksek yoğunluklu lipoproteinler (HDL) ise lipoproteinlerin oksidasyonunu engelleyerek ve çevresel dokulardan kolesterolü uzaklaştırarak ateroskleroza karşı güçlü bir savunma oluştururlar.

Okside LDL'nin birikmesi monosit ve lenfositlerin arter duvarına göçüne yol açar. OxLDL ayrıca endotel hücrelerinin adezyon moleküllerinin yer aldığı proinflamatuvar moleküller ile makrofaj koloni-uyarıcı faktörlerinin (M-CSF) yer aldığı büyüme faktörlerini üretmesine neden olur. Bunların yanında, modifiye olan LDL nitrik oksit üretimini de inhibe edebilir. Üretimi artan M-CSF sitokinleri, makrofajların proliferasyonunu ve farklılaşmasını uyardığı gibi çöpçü reseptör ekspresyonu gibi çeşitli makrofaj fonksiyonlarını da etkilemektedir (1,5).

Köpük hücrelerin oluşmasından sonraki basamak fibröz plak oluşumudur. Bu oluşum çoğunlukla kolesterol ve onun esterlerinin ekstrasellüler alanda artmasıyla karakterizedir. Bunun yanında düz kas hücreleri (SMC) ve bu hücreler aracılığıyla ekstrasellüler matriksin artması da fibröz plak oluşumuna işarettir. Makrofajlar ve T-hücreler tarafından salınan sitokinler ve büyüme faktörleri SMC taşınımında, çoğalmasında ve ekstrasellüler matriks oluşumunda önemli bir yere sahiptir (1,5,44).

Hormonlar, yüksek tansiyon, yüksek homosistein düzeyi aterosklerotik lezyonların ilerlemesine katkı sağlayan faktörlerdir. Çoklu anti-aterojenik etkiye sahip olan östrojen plazma lipoprotein düzeyini etkileyerek ve prostasiklin ile NO üretimini

uyararak sürece katılırken, yüksek homosistein düzeyi vasküler SMC proliferasyonunu uyararak ve hipertansiyon ise, renin-anjiyotensin yolağı üzerinden SMC gelişimini ve ekstraselüler matriksin üretimini tetikleyerek ateroskleroz gelişimine etki etmektedir (44).

2.2.1. ENDOTELYAL FONKSİYON BOZUKLUĞU

Endotel, damar sistemi içinde yer alan kan ve damar duvarı arasına sınırlandırılmış, tek katlı yassı epitel doku olup vasküler homeostazın ana düzenleyicisidir. Endotel hücreleri; vasküler tonusu ayarlar. NO, prostasiklin (PGI₂) ve endotelin (ET-1) aracılığıyla sayesinde oksidatif stresi düşük seviyede tutarlar. Ayrıca bu hücreler lokal anjiyotensin II aktivitesini kontrol ederek aktif bir şekilde vasküler geçirgenliği, lökosit adezyonunu ile agregasyonunu ve trombozu düzenlerler (45). Endotel fonksiyon bozukluğunda ise adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artış, pro-inflamatuar ve pro-trombotik faktörlerin sentezinde artış, oksidatif streste artış ve vasküler tonusta anormal bir modülasyon görülür (46). Endotelyal disfonksiyon bu etkileriyle aterosklerotik plakların oluşumu, ilerlemesi ve komplikasyonlarında rol oynayan bir süreçtir (41).

Endotel disfonksiyonunun ana sebebi nitrik oksit (NO) biyoyararlanımındaki azalmadır (39). Bütün bilinen kardiyovasküler risk faktörleri (dislipidemi, arteriyel hipertansiyon, hiperglisemi ve diyabet) endotel disfonksiyonla ilişkilidir. Okside-LDL, renin-anjiyotensin ekseni ve insülin direnci endotel fonksiyon bozukluğu patogenezinde önemli rol oynar (45).

Hiperkolesterolemi, L-arjinin ve NO yolağını çeşitli mekanizmalarla bozabilir. Renin-anjiyotensin sistemi (RAS) de endotelyal disfonksiyonda önemli bir role sahiptir (47).

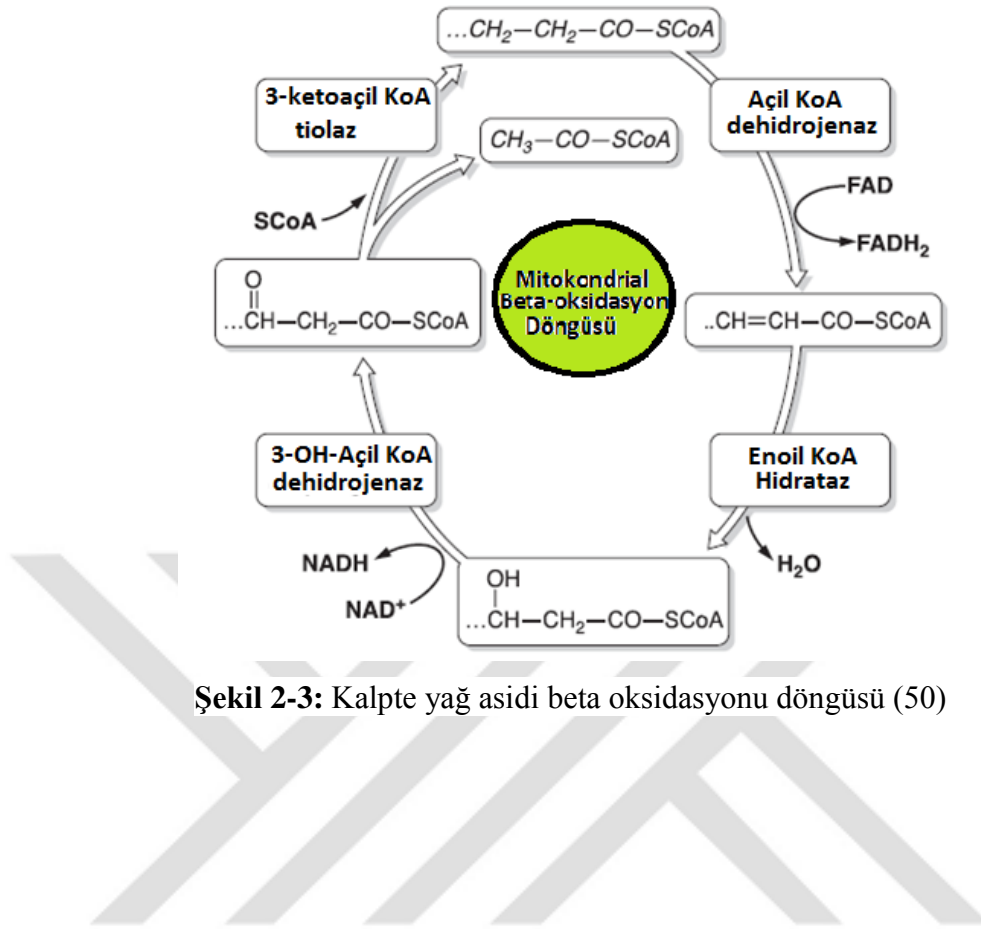
Ateroskleroz gelişiminde çevresel etmenlerin ve değiştirilemez faktörlerin bir arada yarattığı etkiye bağlı metabolik değişimlere ek olarak genetik mekanizmalar da rol oynamaktadır. İnflamasyon, trigliserid, lipoprotein, kan basıncı, damar yenilenmesi ve plak formasyonu, NO/cGMP sinyalizasyonu ve çeşitli metabolik süreçlerde rol oynayan çok sayıda gendeki varyasyonların ateroskleroz gelişiminde yer aldığına dair çok sayıda populasyon çalışması bulunmaktadır (48,49).

Ateroskleroz süreci sonunda karşımıza en sık çıkan klinik tablolardan biri Koroner arter hastalığı (KAH)'dır (1,26). KAH yıllar içinde gelişen, temelinde ateroskleroz ve endotelial fonksiyon bozukluğu yer alan ve kalbi besleyen koroner atar damarların daralmasıyla sonuçlanan bir hastalıktır. (8). KAH, miyokard iskemisinin en ağırlıklı sebebidir. Çünkü myokardial iskemi koroner kan akımı yetersiz olduğunda oluşur ve bu nedenle miyokardiumun oksijen kaynağı talep ettiği oksijeni karşılayamaz.

Kalp dokusu kontraktıl fonksiyonunu, bazal metabolik süreçleri ve iyonik dengesini sürdürmek için yüksek oranda sürekli ATP üretmek zorunda olan enerji talebi yüksek bir organdır (50). Kalp, yüksek enerji ihtiyacını yağ asidi ve glukoz oksidasyonundan (yaklaşık %95) sağlayan bir dokudur. Uzun zincirli yağ asitleri normal fizyolojik koşullar altında bu enerji ihtiyacının %70'ini karşılamaktadır. Kalp yetmezliği, yağ asidi metabolizmasındaki anahtar enzimlerin bozulmuş transkripsiyonuna işaret etmektedir. Kardiyak hipertrofi ve kalp yetmezliği olan insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda yağ asidi oksidasyonunun çeşitli aşamalarının inhibisyonu kalpte yağ asidi metabolizmasının açığa çıkarılmasına katkı sağlamıştır (51).

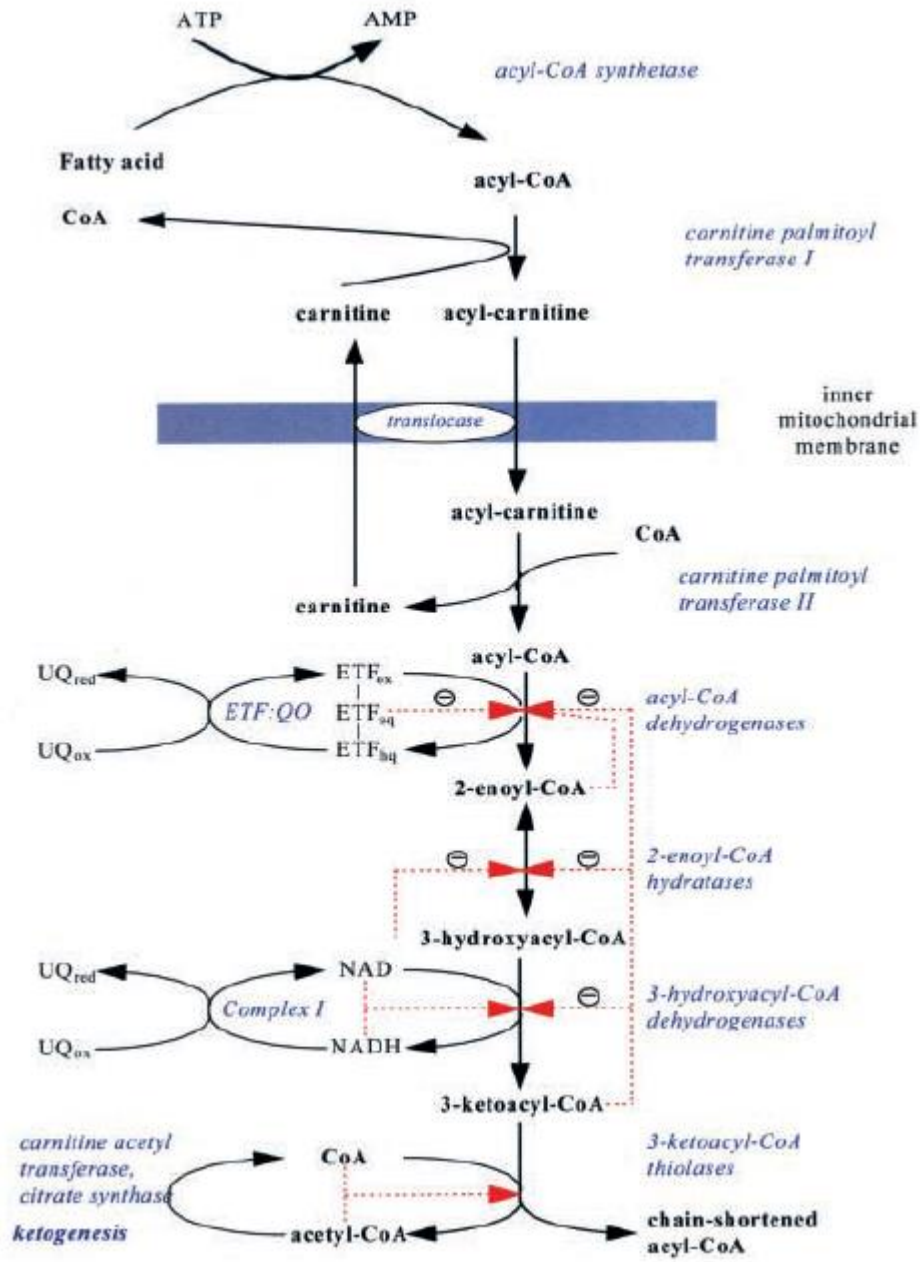
2.3. YAĞ ASİTLERİNİN OKSİDASYONU

Yağ asidi sentezi hücrenin sitozolünde gerçekleşmektedir. Mitokondride meydana gelen ve Krebs döngüsü ve ketojenez dahil çok sayıda biyolojik süreçte yer alan asetil koA, mitokondriden sitrat olarak sitozole geçer ve burada sitrat liyaz ile yeniden asetil koA ve oksaloasetata yıkılır (16) (Şekil 2-3). Asetil koenzim A (koA), karnitin aracılığıyla mitokondriye girer ve açıl koA dehidrogenaz, koA hidrataz, 3-OH açıl koA dehidrogenaz ve 3-ketoaçıl koA tiyolaz enzimleriyle katalizlenen FAD-bağlı dehidrojenasyon, hidrasyon, NAD⁺-bağlı dehidrojenasyon ve tiyolitik yarıma olarak tanımlanan 4 aşamadan geçerek beta oksidasyon ürünü olarak oluşur (50,52). Oksidasyonun her bir döngüsünde asetil koA üretilirken yağ asidi zincirleri 2 karbon kısalır (50) (Şekil 2-4).



Şekil 2-3: Kalpte yağ asidi beta oksidasyonu döngüsü (50)

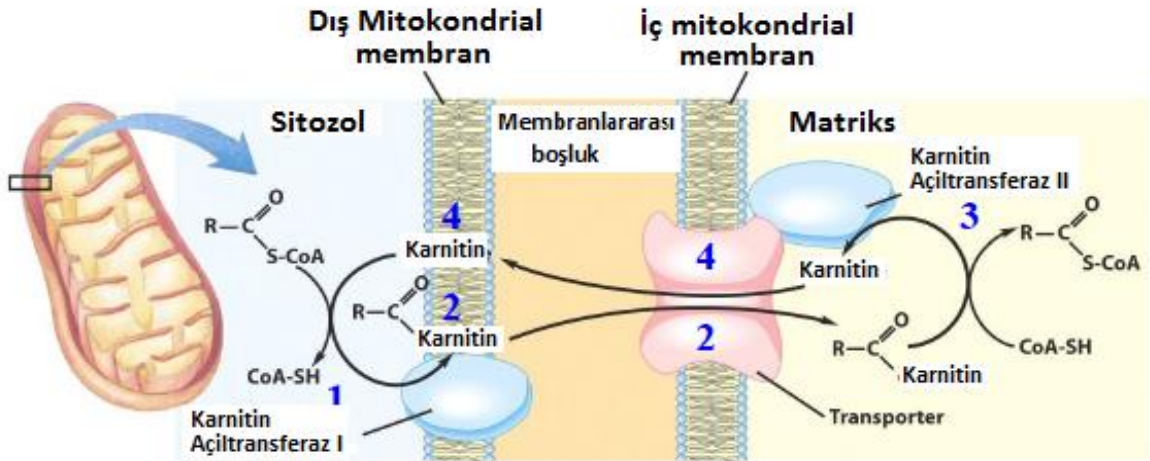
Hücreye giren yağ asitleri, açil koA sentetazlar ile esterifikasyon veya mitokondriyal beta oksidasyona yönlendirilmek üzere açil koA esterlerine aktive edilirler. Mitokondriyal beta oksidasyon açil gruplarının oksidasyon için mitokondriye girişi ve iki karbonlu (asetil ünitelerinin oksidatif uzaklaştırılmasıyla intramitokondriyal zincir kısaltılması olarak iki aşamada gerçekleşir. Bu süreçte karnitin palmitoil transferaz I (CPTI), karnitin palmitoil translokaz, karnitin açil transferaz ve karnitin palmitoil transferaz I (CPTII) enzimleri görev alır (52) (Şekil 2-5, Şekil 2-6).



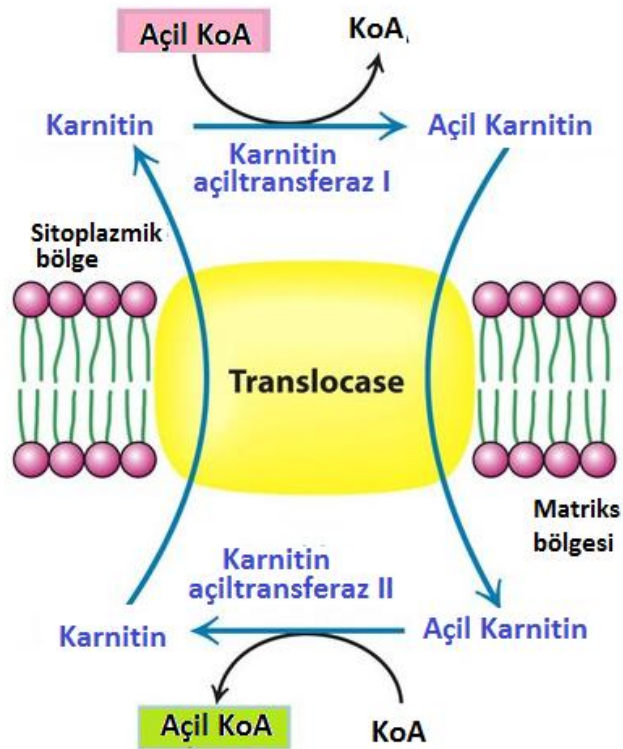
Şekil 2- 4: Mitokondriyal beta oksidasyon (52)

* ETF: elektron transfer flavoprotein, UQ: ubikuinon, ETF: QO: elektron transfer flavoprotein ubikuinon oksidoredüktaz, CoA: koenzim A

* Noktalarla belirlenmiş kırmızı hatlar geri bildirim kontrol noktalarını gösterir.



Şekil 2-5: Yağ asidi-Karnitin mekiği (53).



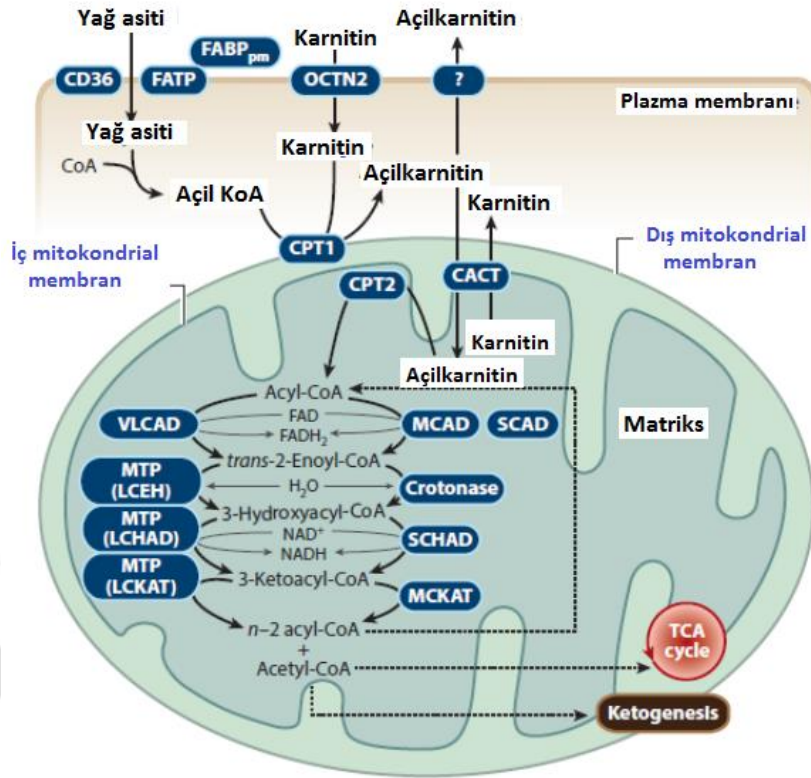
Şekil 2-6: Yağ asidi-Karnitin mekiği membran lokalizasyonu (54).

Yağ asidi oksidasyonu, uzamış açlık veya egzersiz gibi yeterli enerjinin alınmadığı durumlarda enerji homeostazının sağlanmasında önem taşıyan bir süreçtir. Yağ asitlerinin primer katabolik yolu olan yağ asidi oksidasyonu beta oksidasyon ile mitokondride gerçekleşmektedir. Ancak uzun zincirli (>16C) yağ asitleri (LCFA) mitokondriye kısa ve orta boydaki yağ asitleri gibi basit difüzyon ile geçemezler. Bu nedenle, uzun zincirli yağ asitleri dış mitokondriyal membranda uzun zincirli yağ açıl koA sentaz enzimi vasıtasıyla aktive edilirler. Uzun zincirli yağ açıl koA molekülleri ise karnitin palmitoil transferaz (EC 2.3.1.21) (CPT) sistemi ile mitokondriyal matrikse alınırlar (52, 55-57).

Yağ asidi oksidasyonu enerji homeostazı için elzem olmakla birlikte primer oksidatif substrat olan glukozla yarışma halindedir. Hangisinin kullanılacağı ise hormonal, transkripsiyonel ve biyokimyasal parametrelere göre değişim gösterebilir (58). Ayrıca yağ asidi beta oksidasyon oranı TCA döngüsü ve ETC aktivitelerine de bağlıdır. Yağ asitleri kalbe kardiyak miyositleri beslemek üzere ya albumine bağlı serbest yağ asitleri (FFA) ya da şilomikron veya çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) içinde bulunan triaçilgliserolden (TAG) salınarak gelir (50).

Hücre içi lokalizasyonları, substrat özgüllüğü, kinetik ve fizyolojik özellikleri ile farklı özelliklere sahip bir enzim grubu olan karnitin açıl transferazlar enerji homeostazı ve yağ metabolizmasında asetil koA ve uzun zincirli açıl koA moleküllerinin işlenmesinde görev alırlar. Karnitin palmitoil transferazlar (CPT), peroksizomal karnitin oktanoiltransferaz (COT) ve mitokondriyal / peroksizomal karnitin asetiltransferaz (CrAT) enzimleri bu gruba dahildir. CPT ve COT orta ve uzun zincirli yağ açıl zincirlerini transesterifiye ederken, CrAT kısa zincirli açıl zincirlerinden sorumludur (16).

CPTI ve CPTII karşılıklı olarak sitozol ve mitokondriyal matrikste uzun zincirli açıl koA'nın uzun zincirli açilkarnitine transesterifikasyonu yoluyla uzun zincirli yağ asitlerinin taşınımına ve beta oksidasyona girmelerine aracılık ederler. Bu sürecin ürünü olan asetil koA ise Krebs döngüsü ve ketogenez gibi yolların başlıca substratıdır (16) (Şekil 2-7).



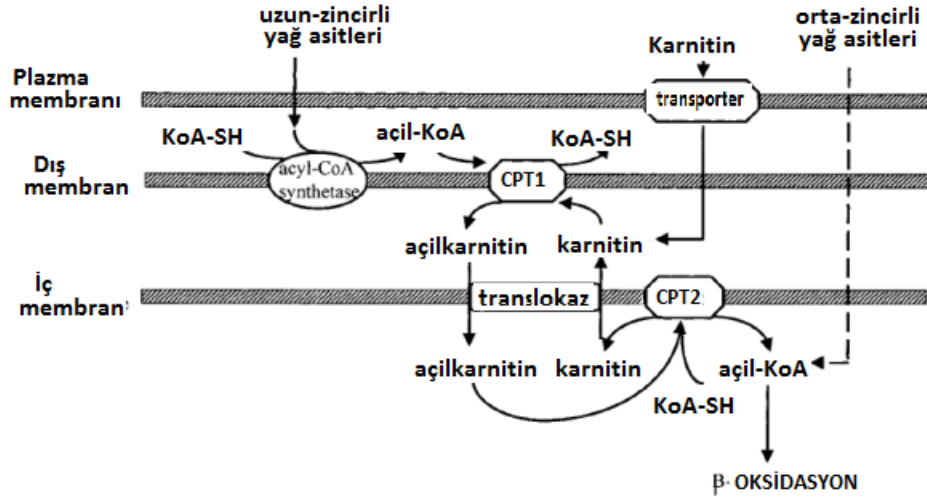
Şekil 2-7: Mitokondriyal yağ asidi beta oksidasyonundaki defektlerin ilişkili olduğu hastalıklar (59).

Yağ asitlerinin Asetil koA'ya yıkılması, Asetil koA'nın CPT-karnitin aracılı mitokondriyal transportu ve TCA döngüsü ile ketogenez yollarına girişi

2.3.1. CPT SİSTEMİ

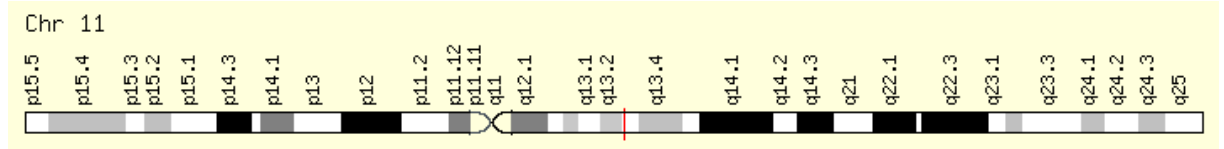
CPTI mitokondriyal dış membranda bulunur ve malonil koA ile inhibe edilerek metabolik aktivitesi düzenlenir. Malonil koA, asetil koA'dan yağ asidi biyosentezinde asetil koA karboksilazlar tarafından katalizlenen ilk basamağın ürünü olup CPTI'in inhibisyonu yoluyla yağ asidi katabolizmasının kontrolünü sağlar. CPTI'in dokulardaki dağılımı farklı olup kastaki izoformu karaciğerdeki izoformuna nazaran malonil koA inhibisyonuna daha duyarlıdır ve bu durum yağ asidi beta oksidasyonunun kontrolünün farklı organlarda farklı şekilde düzenlenebileceğini ifade etmektedir. CPTII ise kalp spesifiktir ve farklı izoformları bulunmamaktadır (16).

CPTI enzimi membrana çapalayan iki transmembran domain ve mitokondriyal dış zarın sitozolik kısmında C terminal domaininde bulunan aktif bölgeden oluşmaktadır (16) (Şekil 2- 8).



Şekil 2-8: Mitokondriyal CPT sistemi (60).

CPTI sahip olduğu fizyolojik ve kinetik özellikleriyle CPTI ve CPTII olarak adlandırılan iki alt tipe sahiptir. 11. Kromozom üzerinde yer alan karnitin palmitoil transferaz (CPTI) geni, uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondrinin dış zarından içeri karnitin bağlı taşınımından sorumlu mitokondriyal bir enzim kompleksini kodlamaktadır (55,56) (Şekil 2-9).

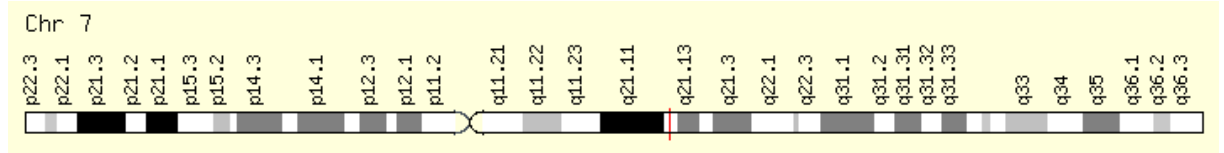


Şekil 2-9: CPTI geninin kromozomal lokasyonu (61).

CPTI'in gen anlatımı farklı dokularda farklı gen ürünleriyle yapılmaktadır. Buna göre, CPTI'in karaciğerde CPTIA, kasta CPT1B ve beyinde CPT1C olmak üzere 3 farklı alt tipi vardır. Buna karşılık CPTII'nin farklı izoformları yoktur. CPTI enerji homeostazının sağlanması ve sürdürülmesinden sorumludur. CPTI enzim eksikliğinde yağ asidi beta oksidasyonu azalmakta ve enerji homeostazı bozulmaktadır. Genin varyasyonlarına bağlı olarak gelişen CPT1A gen ürünü eksikliği, nadir görülmekle birlikte genelde çocukluk çağında başlayan ve hipoketotik hipoglisemi, hepatik ensefalopati, iskelet ve kardiyak miyopatiler ve bozulmuş karaciğer fonksiyonu ile

seyreder (52,56,57, 62, 63). Aynı zamanda yağ asidi metabolizmasında rol alması nedeniyle aterosklerotik süreçler üzerinden koroner kalp hastalığı için de bir nedendir.

7. Kromozomda lokalize olan (7q21.1) karnitin-O-oktanoil transferaz (CROT) geni, karnitin/kolin asetil transferaz ailesini kodlar (16) (Şekil 2-10). Kodlanan protein, peroksizomda 4, 8-dimetilnonanoil koA'yı karnitin esterine dönüştüren transesterifikasyon reaksiyonunu katalizler. Bu tepkime orta ve uzun zincirli açıl koA moleküllerinin taşınması için gereklidir. Aynı zamanda CROT gen ürünü lipid metabolizması ve yağ asidi beta oksidasyonunda da rol oynar (64).



Şekil 2-10: CROT geninin kromozomal lokasyonu (65).

Dislipidemiye bağlı gelişen ateroskleroz, damar duvarına yaptığı etkilerle kalbe giden damarlarda tıkanmaya yol açarak kalp hastalıklarına temel oluşturmaktadır. Bu anlamda, KAH'nda kalbin başlıca enerji kaynağı olan yağ asitlerinin metabolizmasında rol oynayan CPT1 ve CROT genlerinin genetik analizinin yapılması önemlidir. Bu amaçla, tez projemiz kapsamında CPT1A genindeki rs7938117 ve CROT genindeki rs2214930 varyasyonlarının aterosklerotik damar hastalığı ve dislipidemi ile ilişkilerini ve koroner arter hastalığı gelişimine yaptığı katkı araştırılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez projemizde araştırılan gen varyasyonlarının incelenmesi için çalışma protokolünde yer alan klinik kriterlere uygun hasta ve kontrol örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Proje kapsamında bu örnekler için DNA'lar hazırlanmış, saflık tayinleri yapılmıştır ve DNA düzeyleri hesaplanmıştır. Elde edilen DNA örneklerinde CPT1A rs3019613-G>A ve CROT rs2214930-T>C varyasyonları gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (real-time PZR) tekniği kullanılarak incelenmiştir. Hasta ve kontrol gruplarında CPT1A ve CROT gen varyasyonları genotip ve allel dağılımları istatistiksel analizle incelenmiş ve hastalık gelişimi üzerindeki risk etkileri araştırılmıştır.

Tez çalışmamızda iki örnek grubu kullanılmıştır. Birinci grupta 76 kişiden oluşan yüksek tansiyon ve kalp rahatsızlığı hikayesi olmayan sağlıklı kadın ve erkek bireyler kontrol grubuna dahil edildi.

İkinci grup İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Bölümü tarafından takip edilen 104 koroner arter hastalığı tanısı konmuş hastadan oluşturuldu. Diğer klinik parametrelere ait ayrımlar yukarıda belirtilen klinik tarafından yapılmış ve kan örnekleri bu birim tarafından sınıflandırılarak Moleküler Tıp Anabilim Dalı'na gönderilmiştir.

Hasta ve kontrol grubunun seçiminde izlenen kriterler aşağıda özetlenmiştir.

Kontrol Grubu: İskemik kalp hastalığı bulgusu, hipertansiyon, metabolik rahatsızlık (diyabetes mellitus, karaciğer yetersizliği, böbrek yetersizliği vb.), lipid anomalisi, ailede bilinen erken yaş iskemik kalp hastalığı lipid metabolizma bozukluğu ve hipertansiyon bulgusu olmayan bireylerden oluşturulmuştur.

Koroner arter hasta grubu: Hastada MI hikayesi mevcutsa yada anjina var/ MI geçirmemişse tanı amacıyla farmakolojik stres testi veya myokard perfüzyonuna bakılmıştır. Bu testlerin sonucu negatifse, çalışma grubuna dahil edilmiş, eğer pozitifse hasta Koroner arter hastası kabul edilip anjiyografi önerilerek KAH hasta grubuna dahil edilmiştir.

3.1. KULLANILAN MATERYAL

3.1.1. KULLANILAN KİMYASALLAR VE KİTLER

Etil alkol (Merck)

LightCycler FastStart DNA Master HybProbe (Roche Diagnostics)

High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics)

100 bç DNA marker (Thermo Scientific)

Agaroz (Prona)

LightSNip - CPT1A rs3019613 (TIB MOLBIOL)

LightSNip- CROT rs2214930 (TIB MOLBIOL)

3.1.2. KULLANILAN CİHAZLAR

- LightCycler 480II RT- PCR cihazı (Roche)
- Etüv (Heraeus)
- Isı bloğu (Fisher scientific)
- Elektroforez Sistemi (E-C 350 MIDICELL)
- Hassas terazi (SHIMADZU)
- Isıtıcı manyetik karıştırıcı (Elektromag)
- Nanodrop ND-2000 spectrophotometer (Thermo Scientific)
- Santrifüj (Palex NF048)
- Pipet takımı (Eppendorf)
- Digital Karıştırıcı (VWR)
- Bilgisayar
- Buzdolapları (-20 °C ve +4 °C) (Bosch)
- Flow Kabini (Laminar)

3.1.3. KULLANILAN TAMPON SOLÜSYONLARI, ÇÖZELTİLER

EDTA (0.5 M): 86.1 g EDTA tartılarak distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı ve otoklavlandı. Oda ısısında saklandı.

1X (TBE) (pH, 8.0): 108gr Tris ve 55gr Borik asit tartıldı. Üzerine 40ml EDTA (0.5M pH:8) eklenerek distile su ile 2000 ml'ye tamamlandı ve otoklavlanarak oda ısısında saklandı.

%70'lik Etil Alkol: 70 ml etil alkol steril distile su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.

3.2. KİT İLE DNA İZOLASYONU

Steril EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri kitteki prosedüre göre işleme tabi tutularak genomik DNA izole edildi.

- 1,5 ml'lik steril mikrosantrifüj tüpü içerisinde:
 - 200 µl Kan
 - 200 µl Binding Buffer
 - 40 µl Proteinaz K
- Vortekslenerek, 10 dakika +70°C'de bekletildi.
- Üzerine 100 µl izopropanol eklendi ve iyice çalkalandı.
- Filtreli tüpe aktarıldı.
- 8000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpü atıldı. Yeni toplama tüpü kondu.
- Üzerine 500 µl Inhibitor Removal Buffer eklendi.
- 8000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpü atıldı. Yeni toplama tüpü kondu.
- Üzerine 500 µl Wash Buffer eklendi.
- 8000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpü atıldı. Yeni toplama tüpü kondu.
- Üzerine 500 µl Wash Buffer eklendi.
- 8000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Toplama tüpü atıldı. Yeni toplama tüpü kondu.
- 13000 x g'de 10 saniye spin yapıldı.
- Toplama tüpleri atıldı. Filtreli tüplerin altlarına 1,5 ml'lik steril mikrosantrifüj tüpü kondu.
- Filtreli tüplerde filtrenin tam ortasına gelecek şekilde 200 µl elution buffer (70°C) eklendi.
- 8000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Filtreye takılı DNA alttaki mikrosantrifüj tüpüne geçti ve elde edilen DNA +4°C'de saklandı.

3.3. DNA KONSANTRASYONUNUN BELİRLENMESİ

DNA konsantrasyonunun ve saflığının tespit edilmesi için NanoDrop spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boyunda ışığı soğurma (OD) ölçümü yapıldı. 260nm'deki OD/280 nm'deki OD oranı hesaplanarak DNA'nın saflık derecesi bulundu.

3.4. GERÇEK ZAMANLI POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (REAL TIME (RT)-PZR) İLE CPT1A rs3019613-G>A GENOTİPLEME

CPT1A genindeki rs3019613-G>A ve CROT geninde rs2214930-T>C varyasyonları Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT- PZR) tekniği kullanılarak incelenmiştir. rs3840634 polimorfizminin tespiti amacıyla bu bölgeye özgü primerler tasarlanmıştır. Gelen kanlardan Kit (Roche Diagnostics) protokolüne uygun olarak spin column ile genomik DNA izolasyonu yapılmış ve daha sonra Nano Drop Spektrofotometre kullanılarak, elde edilen DNA'ların konsantrasyonları ölçülmüştür. DNA'ların konsantrasyonları 100 ng/ul olacak şekilde dilüe edilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu, total hacim 10.5 ul olacak şekilde hazırlandı ve 0.5 ul Reagent Mix , 0.8 ul 25mM MgCl₂, 1 ul FastStart DNA Master , 1ul genomik DNA içermesi sağlanmıştır (Tablo 3-1). rtPZR kondüsyonları 10' 95 °C'de ilk denatürasyondan sonra 45 döngüden oluşan döngü aşamasında 95 °C'de 10", 60 °C'de 10" ve 72 °C'de 15" olacak şekilde, erime eğrisi aşamasında 1 siklus 95 °C'de 30", 40 °C'de 2 dk. ve soğuma aşamasında da 1 siklus 40 °C'de 30" olarak düzenlenmiştir (Tablo 3-2).

CPT1A genindeki varyasyonlardan genindeki rs3019613-G>A tespiti için Light Cycler FastStart DNA Master Hyprobe (Roche Diagnostics) kit ve LightSnip rs3840634 ve (TIB MOLBIOL) primer-prob seti kullanılarak aşağıdaki karışım hazırlandı.

RT PZR deneyinde CPT1A geni rs3019613-G>A gen varyantının belirlenmesi için SYBR Green I boyası kullanıldı. Bu boya çift iplikli DNA'ya (araştırılan DNA bölgesi) bağlanır ve ışımaya yapar. İstenilen DNA bölgesi arttıkça, bağlanmış SYBR Green I'ın verdiği ışımada artar.

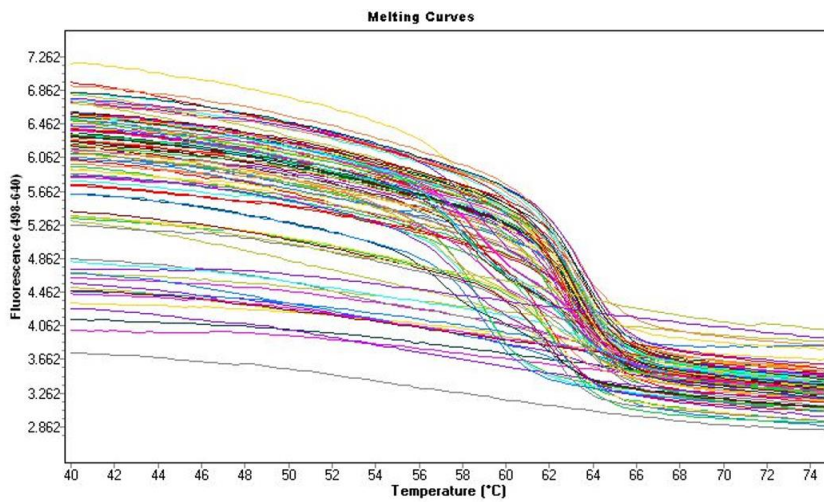
Tablo 3.1.CPT1A rs3019613-G>A tespiti için RT-PZR içeriği

	Miktar
dH ₂ O	7.2 ul
Reagent mix	0.5 ul
Fast start master mix	1 ul
MgCl (25mM)	0.8 ul
DNA	1 ul
Toplam	10.5 ul

Tablo 3-2: CPT1A genindeki varyasyonlardan rs3840634 polimorfizminin RT- PZR reaksiyonu için termal profil şartları

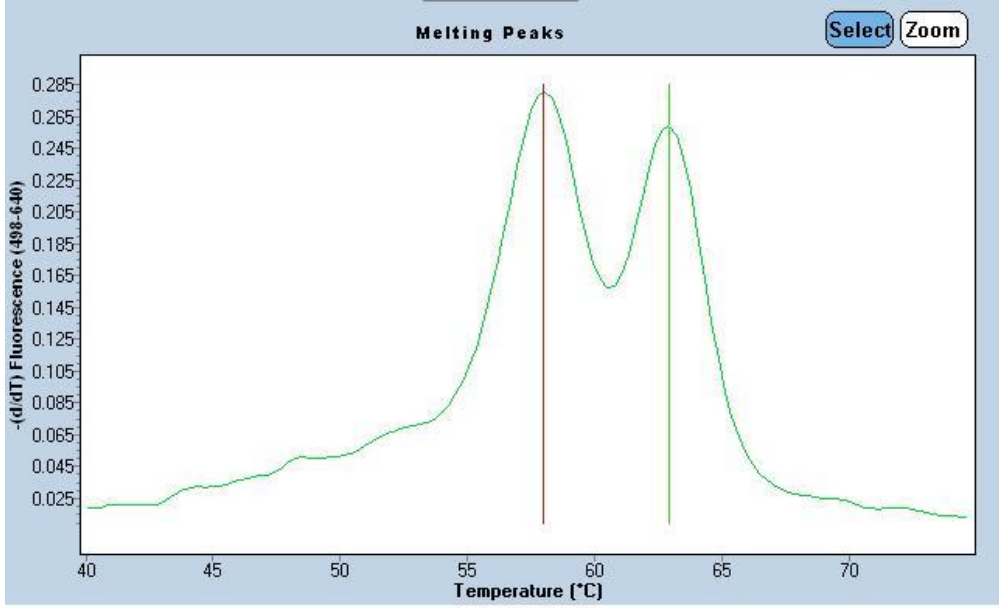
Program	Denaturasyon	Döngü			Erime			Soğuma
Parametreler								
Analiz Modu	Yok	Kantifikasyon			Erime Eğrisi			Yok
Döngü	1	45			1			1
Kısım	1	1	2	3	1	2	3	1
Hedef [°C]	95	95	60	72	95	40	75	40
Süre	00:10:00	00:00:10	00:00:10	00:00:10	00:00:30	00:02:00	00:00:00	00:00:30
Rampa Oranı [°C/s]	4.4	4.4	2.2	4.4	4.4	1.5	-	1.5
Toplama Modu	Yok	Yok	Tek	Yok	Yok	Yok	Devam	Yok
Toplama [°C]							3	

RT PZR sonucu elde edilen ürünlerin istenilen ürün olup olmadığı erime eğrisi “melting curve” değerine göre belirlenir (Şekil 3-1).



Şekil 3-1 : CPT1A geni rs3019613-G>A gen varyantının belirlenmesi için elde edilen erime eğrileri

Erime Sıcaklığı (T_m), genin istenen bölgesinin çoğalmasıyla oluşan ürünün %50'sinin denatüre olduğu sıcaklık değeridir. Bu değer genin dizisine ve %GC oranına bağlı olarak farklılık gösterir. Gerçek zamanlı PZR yöntemi erime tepe noktalarında gen bölgesinde tek nükleotid değişimi (SNP) olup olmadığını belirlenmesini sağlar (Şekil 3-2).

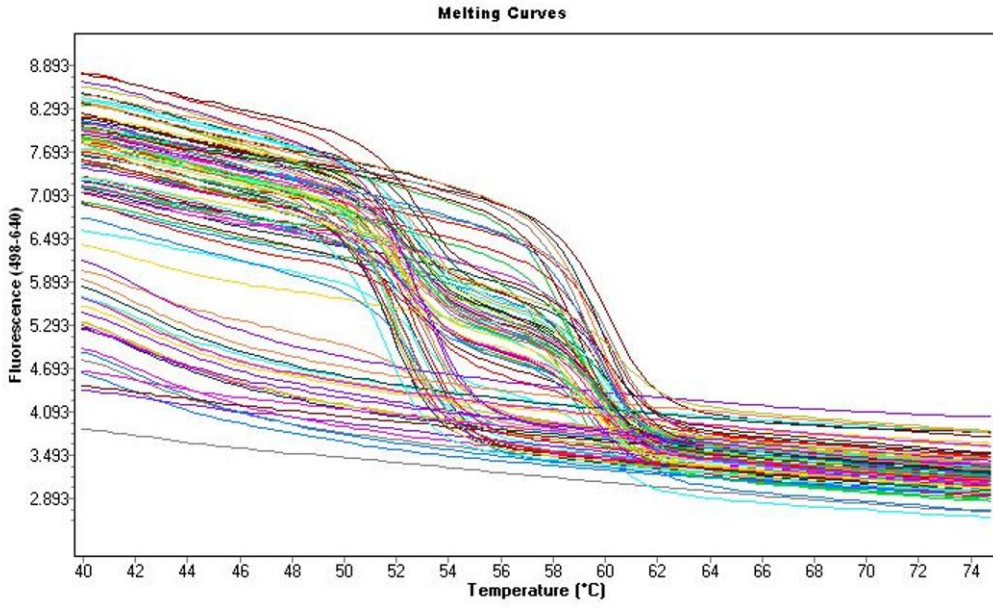


Şekil 3-2 : CPT1A rs3019613-GA Genotipi

Gerçek zamanlı PZR çalışmasının sonucunda CPT1A rs3019613 polimorfizmi için kullanılan LightSNİP protokolüne göre ; G alleli için olması gereken T_m değeri 63.77, A alleli için olması gereken T_m değeri ise 56.98'dir.

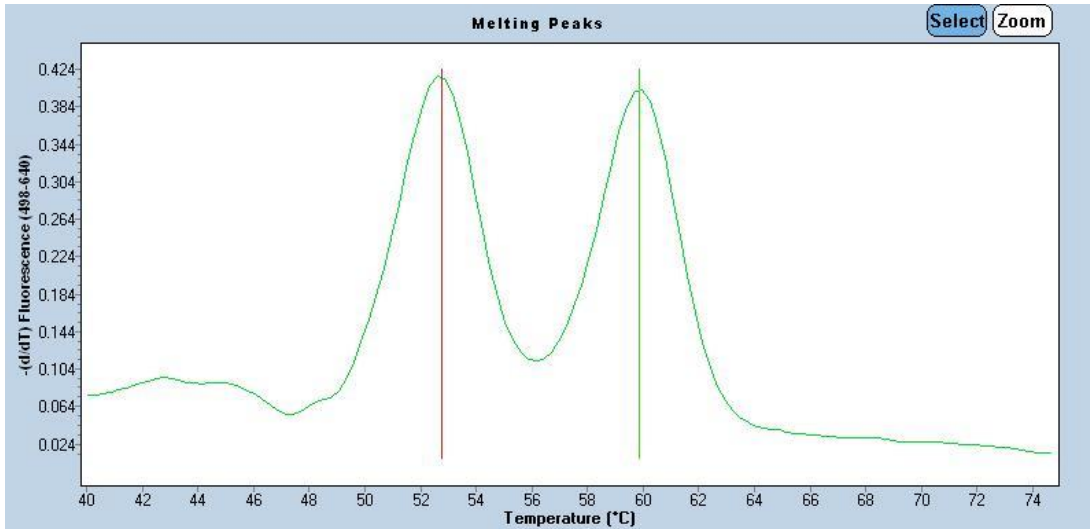
3.5. GERÇEK ZAMANLIPOLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (REAL TIME (RT)-PZR) İLE CROT rs2214930-T>C GENOTİPLEME

Polimeraz zincir reaksiyonu, total hacim 10.5 ul olacak şekilde hazırlandı ve 0.5 ul Reagent Mix , 0.8 ul 25mM MgCl₂, 1 ul FastStart DNA Master , 1ul genomik DNA içermesi sağlanmıştır (Tablo 3-3). rtPZR kondüsyonları 10' 95 °C'de ilk denatürasyondan sonra 45 döngüden oluşan döngü aşamasında 95 °C'de 10", 60 °C'de 10" ve 72 °C'de 15" olacak şekilde, erime eğrisi aşamasında 1 siklus 95 °C'de 30", 40 °C'de 2 dk. ve soğuma aşamasında da 1 siklus 40 °C'de 30" olarak düzenlenmiştir (Tablo 3-4).



Şekil 3-3 : CROT geninde rs2214930-T>C gen varyantının belirlenmesi için elde edilen erime eğrileri

Erime Sıcaklığı (TM), genin istenen bölgesinin çoğalmasıyla oluşan ürünün %50'sinin denatüre olduğu sıcaklık değeridir. Bu değer genin dizisine ve %GC oranına bağlı olarak farklılık gösterir. Gerçek zamanlı PZR yöntemi erime tepe noktalarında gen bölgesinde tek nükleotid değişimi (SNP) olup olmadığını belirlemesini sağlar (Şekil 3-3, Şekil 3-4)



Şekil 3-4 : CROT geninde rs2214930-TC Genotipi

Gerçek zamanlı PZR çalışmasının sonucunda CROT geninde rs2214930-T>C varyasyonu için kullanılan LightSNIP protokolüne göre ; C alleli için gereken Tm değeri 59,8, T alleli için olması gereken Tm değeri ise 53'tür.

3.6. SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 20,0 paket programı kullanılmıştır. Sonuçlar %95 güven aralığında, istatistiksel anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak değerlendirilmiştir.

Kan basınçları, serum lipid düzeyleri ve vücut kitle indeksi gibi tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin gruplararası karşılaştırılmasında student's t testi; , Genotip ve allel karşılaştırmaları, Hardy-Weinberg dengesine uyum gibi niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki kare (χ^2) testi kullanılmıştır.

Klinik ve klinik olmayan parametrelerin allellerle karşılaştırılmasında Kikare metodu ve Student's t-testi ikiden fazla değişkenin olduğu genotip karşılaştırmalarında ANOVA testi kullanılmıştır. Gruplar arası risk etkeninin belirlenmesi için Odds oranı (OR) ve % 95 güven aralığı (% 95 GA) verilmiştir. Allel frekansı hesaplamalarında gen sayma yöntemi kullanılmıştır.

4.BULGULAR

Tez projemizde yer alan çalışma grupları İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kardiyoloji kliniğine başvuran ve takip edilen 104 koroner arter hastası (KAH) ile 76 gönüllü sağlıklı bireylerin yer aldığı kontrol gruplarından oluşturulmuştur. KAH hasta ve kontrol gruplarının demografik ve metabolik özellikleri Tablo 4-1 'de verilmiştir.

Yapılan istatistik analizde hasta ve kontrol grupları arasında yaş ortalaması açısından anlamlı bir farklılık gözlenmezken ($p>0,05$), cinsiyet dağılımı açısından farklılık bulunmuştur ($p<0.009$) (KAH hasta grubunda kadın sayısı kontrol grubuna yüksektir). KAH hasta grubunu oluşturan bireylerin % 51'inin tip 2 diyabetik olduğu ve hastaların % 38,6'sında sol ventrikül hipertrofisi bulunduğu tespit edilmiştir. Sigara tüketimi açısından hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında; KAH grubunda kontrol grubuna kıyasla sigara kullanımı yüksek gözlenmiştir (hasta grubunda %41,6, kontrol grubunda %35.0), ancak farklılık istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($p=0.138$). Hasta ve kontrol grubu arasında serum lipid, kan basıncı değerleri ve vücut kitle indeksleri (VKİ) açısından da istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur. Koroner kalp hasta grubunda kontrol grubuna göre Total kolesterol (TC) ($p=0.006$), sistolik ve diastolik kan basınçları ($p=0,001$) ve VKİ değerleri ($p=0.002$) yüksek iken; serum HDL-kolesterol (HDL-K) değerleri düşük gözlenmiştir ($p=0.001$). Gruplar arasında serum Trigliserid (TG), LDL-kolesterol (LDL-K) ile VLDL-kolesterol (VLDL-K) değerleri açısından farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$). Serum lipid ve VKİ eşik değerleri açısından karşılaştırma yapıldığında ise $HDL\leq 0.90$ mmol/L ve $VKİ\geq 27$ kg/m² KAH grubunda kontrol grubuna göre yüksek gözlenirken (sırasıyla, $p=0.038$ ve $p=0.001$); $TC\geq 5.18$ mmol/L, $TG\geq 1.70$ mmol/L ve $LDL\geq 3.36$ mmol/L kıyaslamalarında gruplar arası farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$).

Kontrol ve koroner arter hasta gruplarında CPT1A rs3019613 ve CROT Geni rs2214930 genlerinde incelenen varyasyonlara ait genotip, allel dağılımları ve Hardy-Weinberg Eşitliği (HWE)'ne uyumları Tablo 4-2'de gösterilmiştir. CPT1A Geni rs3019613 ve CROT Geni rs2214930 genotip dağılımları kontrol ve KAH hasta gruplarında HWE'ye uyumlu bulunmuştur ($p>0,05$).

Tablo 4-1. Çalışma Gruplarının Demografik ve Metabolik Özellikleri

	Gruplar		P değeri
	Kontrol (n=76)	KAH Hasta (n=104)	
Yaş (yıl)	59.07 ±5.65	60.08±8.29	0,332
Cinsiyet (Kadın/Erkek) (n)	16/60	41/63	0,009
VKİ (kg/m ²)	24.89±2.94	26.56±3.69	0,002
Total-K (mmol/L)	4.72±0.94	5.20±1.36	0.006
TG (mmol/L)	1.47±0.60	1.65±0.81	0.113
HDL-K(mmol/L)	1.13±0.28	1.00±0.22	0.001
LDL-K(mmol/L)	3.04±0.84	3.27±0.96	0.098
VLDL-K(mmol/L)	0.69±0.25	0.76±0.37	0.131
TC≥5.18 mmol/L (%)	38.4	49.3	0.513
TG≥1.70 mmol/L (%)	33.8	41.7	0.290
LDL≥3.36 mmol/L (%)	41.1	42.6	0.845
HDL≤0.90 mmol/L (%)	15.1	28.4	0.038
VKİ≥27 (kg/m ²)	23.0	49.4	0.001
SKB (mmHg)	120.71±12.49	135.35±31.82	0.001
DKB (mmHg)	69.66±12.68	83.18±17.53	0.001
Sigara Kullanımı (%)	%38.8	%50.5	0,138
Alkol kullanımı (%)	%35.0	%41.6	0,594
Aile koroner arter hastalığı hikayesi varlığı (%)	%52.6	%40.3	0,339
Tip 2 Diabet varlığı (%)	-	%51.0	-
SVH varlığı (%)	-	%38.6	-

Tablodaki yaş, serum lipid, VKİ ve kan basınçları değerleri X±SD olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi student's t testi ile incelenmiştir. KKH: Koroner kalp hastalığı, VKİ : Vücut kitle indeksi, Total-K: total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-K: HDL-kolesterol, LDL-K:LDL-kolesterol, VLDL-K:VLDL-kolesterol, SVH: sol ventrikül hipertrofisi, n : örnek sayısı.

CPT1A rs3019613 varyasyonunun kontrol grubunda normal G allel frekansı %84.85, nadir A allel frekansı %15.15 iken, KAH hasta grubunda sırasıyla %82.63 ve %17.37 bulunmuştur. KAH hasta ve kontrol grupları arasında CPT1A rs3019613 allel frekansları benzer gözlenmiştir (p>0.05).

CROT Geni rs2214930 varyasyonunun kontrol grubunda normal C allel frekansı %67,57, nadir G allel frekansı %55.26 iken KAH hasta grubunda sırasıyla %43.75 ve

%56.25 bulunmuştur. CROT Geni rs2214930 varyasyonunun çalışma gruplarında allel frekanslarının dağılımı istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($p>0.05$).

CPT1A rs3019613 genotiplerinin çalışma gruplarında serum lipid profili, kan basınçları ve vücut kitle indeksi üzerine etkisi Student t testi ile incelendiğinde; kontrol grubunda herhangi bir etki gözlenmezken KAH hasta grubunda minor A alleli taşıyanlarda GG'lere kıyasla vücut kitle indeksi değeri (VKİ) yüksek gözlenmiştir ($p=0,004$). (Tablo 4-3). Kontrol ve KAH hasta grubunda minor homozigot AA genotipi düşük frekansta gözlendiği için G allelinin AA genotipine kıyasla etkisi istatistiksel olarak analiz edilememiştir.

Student t testi ile **CROT Geni rs2214930** genotiplerinin çalışma gruplarında serum lipid profili, kan basınçları ve vücut kitle indeksi üzerine etkisi incelendiğinde; kontrol grubunda minor C alleli taşıyanlarda serum total kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri TT genotipi taşıyanlara göre düşük gözlenmiştir (sırasıyla, $p=0.045$ ve $p=0.009$). Ayrıca normal T allel taşıyanlarda minor CC genotiplilere göre sistolik kan basıncı (SKB) değeri yüksektir ($p=0.039$). KAH hasta grubunda **CROT Geni rs2214930** genotiplerinin serum lipid profili, kan basınçları ve vücut kitle indeksi üzerine herhangi bir etkisi gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4-4).

Tablo 4-2: CPT1A ve CROT Geninde İncelenen SNP'lere ait Genotip ve Allel Dağılımları

CPT1A Geni rs3019613 Genotipleri	Çalışma Grupları	
	Kontrol (n=66)	KKH Hasta (n=95)
GG	48 (%72.7)	66 (%69.5)
AA	2 (%3.0)	4 (%4.2)
GA	16 (%24.2)	25 (%26.3)
HWE	$p=0,642$ ($p>0,05$)	$p=0,417$ ($p>0,05$)
CPT1A rs3019613 Allelleri		
G	112 (%84.85)	157 (%82.63)
A	20 (%15.15)	33 (%17.37)
CROT rs2214930 Genotipleri	Kontrol (n=57)	KKH Hasta (n=80)
TT	17 (%29.8)	24 (%30.0)
CC	11 (%19.3)	14 (%17.5)
TC	29 (%50.9)	42 (%52.5)
HWE	$p=0,827$ ($p>0,05$)	$p=0,550$ ($p>0,05$)
CROT rs2214930 Allelleri		
T	63 (%55.26)	90 (% 56.25)
C	51 (%67,57)	70 (% 43.75)

n : örnek sayısı, HWE: Hardy-Weinberg Eşitliği. *, $P=0,018$ (Kikare=5,616, OR:1,550 %95 GA: 1,058-2,267).

Tablo 4 -3: CPT1A rs3019613 Genotiplerinin Çalışma Gruplarında Serum lipid profili, kan basınçları ve vücut kitle indeksi üzerine etkisi

GRUP	rs3019613		
	GG	AA+GA	P değeri
KONTROL	n= 48	n=18	
Total-K (mmol/L)	4.77±0.85	4.64±1.19	0.635
TG (mmol/L)	1.51±0.64	1.40±0.61	0.534
HDL-K (mmol/L)	1.08±0.19	1.22±0.36	0.154
LDL -K(mmol/L)	3.07±0.83	2.92±0.94	0.548
VLDL -K(mmol/L)	0.69±0.19	0.71±0.42	0.884
VKİ (kg/m²)	24.87±2.61	24.93±3.18	0.942
SKB (mmHg)	120.65±13.73	121.31±10.82	0.875
DKB (mmHg)	69.05±14.32	70.23±9.28	0.781
KAH HASTA	n= 66	n= 29	
Total-K (mmol/L)	5.14±1.26	5.03±1.60	0.731
TG (mmol/L)	1.65±0.87	1.60±0.67	0.786
HDL-K (mmol/L)	1.01±0.23	0.92±0.23	0.075
LDL -K(mmol/L)	3.26±1.00	3.03±0.70	0.260
VLDL -K(mmol/L)	0.77±0.40	0.74±0.30	0.724
VKİ (kg/m²)	25.66±3.40	28.16±3.24	0.004
SKB (mmHg)	132.14±30.57	143.33±34.53	0.130
DKB (mmHg)	81.59±16.58	87.59±19.87	0.142

Tablodaki yaş, serum lipid, VKİ ve kan basınçları değerleri X+SD olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi 3 grup genotip karşılaştırmalarında One-way ANOVA testi ile yapılmıştır, 2 grup allel karşılaştırmaları ise student's t testi ile incelenmiştir. KAH: Koroner arter hastalığı, VKİ : Vücut kitle indeksi, Total-K: total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-K: HDL-kolesterol, LDL-K:LDL-kolesterol, VLDL-K:VLDL-kolesterol, n : örnek sayısı.

Tablo 4 -4: CROT Geni rs2214930 Genotiplerinin Çalışma Gruplarında Serum lipid profili, kan basınçları ve vücut kitle indeksi üzerine etkisi

GRUP	CROT Geni rs2214930					
	C Allel	TT	P değeri	CC	T Allel	P değeri
KONTROL	n=40	n=17		n=11	n=46	
Total-K (mmol/L)	4.47 ±1.00	5.07 ±0.98	0.045	4.51 ±1.26	4.70 ±2.93	0.598
TG (mmol/L)	1.47 ±0.56	1.42 ±0.50	0.738	1.70 ±0.58	1.39 ±0.52	0.098
HDL-K (mmol/L)	1.08 ±0.27	1.19 ±0.24	0.157	0.98 ±0.22	1.15 ±0.27	0.052
LDL -K(mmol/L)	2.77 ±0.83	3.45 ±0.90	0.009	2.73 ±1.07	3.05 ±0.86	0.294
VLDL -K(mmol/L)	0.73 ±0.28	0.65 ±0.24	0.312	0.78 ±0.27	0.69 ±0.27	0.344
VKİ (kg/m²)	24.96 ±2.73	24.99 ±2.74	0.972	24.62 ±1.63	25.06 ±2.93	0.509
SKB (mmHg)	123.33 ±15.59	121.07 ±6.86	0.594	113.75 ±7.44	124.40 ±13.72	0.039
DKB (mmHg)	71.18 ±15.99	68.47 ±8.55	0.541	63.13 ±7.04	71.78 ±14.72	0.113
KAH HASTA	n= 56	n= 24		n=14	n=66	
Total-K (mmol/L)	5.09±1.52	5.14±0.98	0.908	4.92±0.98	5.15±1.45	0.569
TG (mmol/L)	1.71±0.87	1.54±0.75	0.432	1.75±0.75	1.64±0.86	0.659
HDL-K (mmol/L)	1.02±0.20	0.92±0.27	0.088	1.04±0.13	0.98±0.24	0.185
LDL -K(mmol/L)	3.10±0.88	3.26±0.83	0.477	3.10±0.80	3.16±0.88	0.816
VLDL -K(mmol/L)	0.77±0.41	0.75±0.33	0.831	0.84±0.35	0.75±0.39	0.510
VKİ (kg/m²)	26.74±3.74	26.05±3.21	0.465	26.43±3.59	26.51±3.58	0.944
SKB (mmHg)	136.86±35.35	137.71±24.23	0.916	140.00±45.28	136.53±28.99	0.725
DKB (mmHg)	82.45±18.04	87.50±14.89	0.237	86.15±22.84	83.63±15.92	0.633

Tablodaki yaş, serum lipid, VKİ ve kan basınçları değerleri X+SD olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi 3 grup genotip karşılaştırmalarında One-way ANOVA testi ile yapılmıştır, 2 grup allel karşılaştırmaları ise student's t testi ile incelenmiştir. KAH: Koroner arter hastalığı, VKİ : Vücut kitle indeksi, Total-K: total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-K: HDL-kolesterol, LDL-K:LDL-kolesterol, VLDL-K:VLDL-kolesterol, n : örnek sayısı.

Table 4-5'te kontrol grubunda eşik metabolik risk değerleri (Total-kolesterol \geq 5.18, Trigliserid \geq 1.70, HDL-K \leq 0.90, LDL-K \geq 3.36 ve Vücut kitle indeksi \geq 27) üzerinde CPT1A rs3019613 ve CROT rs2214930 genotiplerinin etkileri gösterilmiştir. Kikare testi ile yapılan istatistik analizde kontrol grubunda CROT rs2214930 minör C allel taşıyan bireylerde normal homozigot TT genotipi taşıyanlara kıyasla LDL-kolesterol $<$ 3.36 olma sıklığı yüksek bulunmuştur (%79.4 vs. %20.6; p=0,025, kikare=5.050; GR:0.259, %95 GA=0.077-0.868). Kontrol grubunda CPT1A rs3019613 genotipleri ile eşik metabolik risk değerleri arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir.

Table 4-6'te koroner arter hasta (KAH) grubunda eşik metabolik risk değerleri (Total-kolesterol \geq 5.18, Trigliserid \geq 1.70, HDL-K \leq 0.90, LDL-K \geq 3.36 ve Vücut kitle indeksi \geq 27) üzerinde CPT1A rs3019613 ve CROT rs2214930 genotiplerinin etkileri gösterilmiştir. Kikare testi ile yapılan istatistik analizde KAH hasta grubunda ise CPT1A rs3019613 normal homozigot GG genotipi taşıyan bireylerde minör A allel taşıyan kıyasla HDL-K $>$ 0.90 olma sıklığı yüksek bulunmuştur (76.6 vs. %23.4; p=0,017, kikare=5.738; GR:3.049, %95 GA=1.203-7.728).

Table 4-5. Kontrol grubunda Eşik Metabolik risk değerleri üzerinde CPT1A ve CROT Genotiplerinin Etkileri

	CPT1A rs3019613			CROT Geni rs2214930					
	GG	A Allel	P değeri	TT	C Allel	P değeri	CC	T Allel	P değeri
TC\geq5.18	75.0	25.0	0.955	45.0	55.0	0.101	20.0	80.0	0.959
TC$<$5.18	74.4	25.6		23.5	76.5		20.6	79.4	
TG\geq1.70	75.0	25.0	0.879	22.2	77.8	0.365	33.3	66.7	0.105
TG$<$1.70	73.2	26.8		34.3	65.7		14.3	85.7	
HDL\leq0.9	70.0	30.0	0.715	10.0	90.0	0.144	40.0	60.0	0.185
HDL$>$0.9	75.5	24.5		36.4	63.6		15.9	84.1	
LDL\geq3.36	73.1	26.9	0.816	50.0	50.0	0.025*	15.0	85.0	0.452
LDL$<$3.36	75.7	24.3		20.6	79.4		23.5	76.5	
VKİ\geq27	73.3	26.7	0.865	38.5	61.5	0.500	7.7	92.3	0.204
VKİ$<$27	75.5	24.5		28.6	71.4		23.8	76.2	

Tablodaki değerler "%" olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi student's t testi ile incelenmiştir. VKİ : Vücut kitle indeksi, Total-K: total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-K: HDL-

kolesterol, LDL-K:LDL-kolesterol, * Kikare istatistik test, $p=0.025$, $kikare=5.050$; GR:0.259, %95 GA=0.077-0.868 (C allel vs.TT genotipi LDL-kolesterol<3.36 \uparrow).

KAH grubunda ayrıca CPT1A rs3019613 normal homozigot GG genotipi taşıyan bireylerde minör A allel taşıyan kıyasla Vücut kitle indeksi<27 kg/m² olma sıklığı yüksek bulunmuştur (81.6 vs. %18.4; $p=0,025$, $kikare=5.050$; GR:3.221, %95 GA=1.135-9.138).

KAH grubunda CROT rs2214930 minör C allel taşıyan bireylerde normal TT genotipi taşıyan bireylere kıyasla HDL-K >0.90 olma sıklığı yüksek bulunmuştur (75.9 vs. %24.1; $p=0,055$, $kikare=3.693$; GR:0.375, %95 GA=0.136-1.036).

Table 4-6. Koroner Arter Hasta grubunda Eşik Metabolik risk değerleri üzerinde CPT1A ve CROT Genotiplerinin Etkileri

	CPT1A rs3019613			CROT Geni rs2214930					
	GG	A Allel	P değeri	TT	C Allel	P değeri	CC	T Allel	P değeri
TC\geq5.18	76.3	23.7	0.237	25.8	74.2	0.515	12.9	87.1	0.389
TC<5.18	64.9	35.1		32.7	67.3		20.4	79.6	
TG\geq1,70	71.1	28.9	0.742	27.3	72.7	0.611	21.2	78.8	0.491
TG<1.70	67.9	32.1		32.6	67.4		15.2	84.8	
HDL\leq0.9	51.7	48.3	0.017*	45.8	54.2	0.055 £	8.3	91.7	0.205
HDL>0.9	76.6	23.4		24.1	75.9		22.2	77.8	
LDL\geq3.36	75.0	25.0	0.280	28.6	71.4	0.851	14.3	85.7	0.557
LDL<3.36	64.3	35.7		30.6	69.4		20.4	79.6	
VKİ\geq27	57.9	42.1	0.025 ¥	27.3	72.7	0.182	15.2	84.8	0.869
VKİ<27	81.6	18.4		43.3	56.7		16.7	83.3	

İstatistik analiz Kikare testi ile yapılmıştır. Tablodaki değerler ”%” olarak verilmiştir. Gruplararası önemlilik derecesi student’s t testi ile incelenmiştir. KAH: Koroner arter hastalığı, VKİ : Vücut kitle indeksi, Total-K: total-kolesterol, TG: Trigliserid, HDL-K: HDL-kolesterol, LDL-K:LDL-kolesterol, * , $p=0.017$, $kikare=5.738$; GR:3.049, %95 GA=1.203- 7.728 (CPT1A minör A allel vs.GG genotipi HDL-kolesterol \leq 0.9 \uparrow).

¥ , $p=0.025$, $kikare= 3.221$; GR:3.049, %95 GA=1.135- 9.138 (CPT1A minör A allel vs.GG VKİ \geq 27 \uparrow).

£ , $p=0.055$, $kikare=3.693$; (CROT minör C allel vs.TT genotipi HDL-kolesterol > 0.9 \uparrow).

5. TARTIŞMA

Koroner arter hastalığı (KAH) gelişmiş toplumlarda ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. KAH yıllar içinde gelişen, temelinde ateroskleroz ve endotelial fonksiyon bozukluğu yer alan ve kalbi besleyen koroner atar damarların daralmasıyla sonuçlanan bir süreçte, hasar ve enfeksiyona cevap olarak kronik inflamasyonla seyreden bir hastalıktır (26).

KAH patolojisinde yer alan ateroskleroz süreci başlıca kolesterol taşıyan lipoprotein olan LDL'lerin oksidasyon, asetilasyon, glikolizasyon gibi çeşitli modifikasyonlara uğradıktan sonra makrofajlar tarafından alınmaları, makrofajların bu şekilde köpük hücrelerine (foam cell) dönüşmeleri ve yağlı çizgilenmeleri oluşturmaları ile başlamaktadır. Bu hücrelerin salgıladığı inflamatuvar sitokinler intima tabakasının genişlemesine ve damar lümeninin daralmasına neden olurlar (1,8). Koroner arter hastalığı damar lümeninde oluşturduğu daralma nedeniyle miyokard iskemisinin en ağırlıklı sebebidir. Çünkü miyokardial iskemi koroner kan akımı yetersiz olduğunda oluşur ve bu nedenle miyokardiumun oksijen kaynağı talep ettiği oksijeni karşılayamaz (26).

Kalp dokusu kontraktıl fonksiyonunu, bazal metabolik süreçleri ve iyonik dengesini sürdürmek için yüksek oranda sürekli ATP üretmek zorunda olan enerji talebi yüksek bir organdır. Normal yetişkin kalbinin çok büyük bölümünün (yaklaşık %95) ATP üretimi mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan sağlanırken kalan küçük bölümü glikolizden ve trikarboksilik asit siklüsünde (TCA) açığa çıkan GTP'den sağlanır (50).

Daha önce yapılan çalışmalar göstermektedir ki erkeklerde kadınlara göre KAH riski yaklaşık olarak 10 yıl daha erken başlamaktadır. Fakat kadınlardaki KAH insidansı menapoz ile hızla artış göstermektedir. Framingham Heart Study sonuçları, KAH insidansının erkeklerde kadınlara göre 2 kat daha yüksek olduğunu göstermektedir (66). Bizim çalışmamızda cinsiyet dağılımı açısından incelendiğinde KAH hasta grubunda kadın bireylerin sayısının kontrol grubuna yüksektir ($p < 0.009$).

Çalışmamızda koroner kalp hastalığı riski açısından incelenen varyasyonlardan CPT1A Geni rs3019613 ve CROT Geni rs2214930 genotip dağılımları kontrol ve KAH hasta gruplarında HWE'ye uyumlu bulunmuştur ($p > 0,05$).

KAH gelişiminin major risk faktörlerinden biri sigaradır. Yapılan birçok çalışmada günde 20 veya daha fazla sigara tüketenlerde sigara içmeyenlere kıyasla 2-3 kat daha fazla KAH olduğu görülmüştür. Koroner vazospazm için de major risk faktörlerinden biri olan sigara trombosit agregasyonunu artırmaktadır. Katekolamin salınımına yol açmaktadır. Böylelikle koroner vazospazma yol açmaktadır (67). Yapılan çalışmalarda sigaranın artmış fibrinojen düzeyleri, artmış trombosit agregasyonu, bozulmuş fibrinolitik aktivite, azalmış koroner akım ve artmış vazospazm ile ilişkili olduğu görülmüştür (68).

Çalışmamızda sigara tüketimi açısından hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldığında; KAH hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla sigara kullanımı yüksek gözlenmiştir (hasta grubunda %41,6, kontrol grubunda %35,0), ancak istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($p=0.138$).

Serum lipid profile kardiyovasküler risk tespiti açısından önemlidir. Bu risk kandaki Total-K ve LDL-K düzeyleri ile doğru orantılıdır. LDL-K yükselmesinin yanısıra HDL-K azalması, TG artması da KAH'a yol açabilmektedir. Ateroskleroz gelişiminde Total-K, TG ve LDL-K yüksekliği önemli role sahiptir. Yapılan çalışmalar serum kolesterol seviyesi ≥ 300 mg'ın üstünde olan bireylerin serum kolesterol seviyesi ≥ 200 mg'ın altındaki bireylere kıyasla 4 kat daha fazla KAH riski ile karşı karşıya olduğunu göstermektedir (9,69,70).

Bizim çalışmamızda koroner arter hasta grubunda kontrol grubuna göre Total kolesterol (TC) ($p=0.006$), $HDL \leq 0.90$ mmol/L ($p=0.038$) yüksek iken; serum HDL-kolesterol (HDL-K) değerleri düşük gözlenmiştir ($p=0.001$). Gruplar arasında serum Trigliserid (TG), LDL-kolesterol (LDL-K) ile VLDL-kolesterol (VLDL-K) değerleri açısından farklılık gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Framingham Heart Study'de elde edilen verilere göre, kan basıncı 130-139/85-89 mmHg aralığındakilerin 120/80mmHg'nın altındakilere göre KAH ile iki kat daha fazla ilişkilidir (66). Çalışmamızda KAH hasta grubunda kontrol grubuna göre sistolik ve diastolik kan basınçları yüksek gözlenmiştir ($p=0.001$).

CPT1A intronik rs3019613 G>A genotiplerinin kontrol grubunda serum lipid profili, kan basınçları ve vücut kitle indeksi üzerine herhangi bir etki gözlenmezken KAH hasta grubunda minor A alleli taşıyanlarda GG'lere kıyasla vücut kitle indeksi değeri (VKİ) yüksek ($p= 0,004$) ve Vücut kitle indeksi <27 kg/m² olma sıklığı düşük gözlenmiştir ($p=0,025$). KAH hasta grubunda CPT1A rs3019613 normal homozigot GG

genotipi taşıyan bireylerde minör A allel taşıyanlara kıyasla HDL-K >0.90 olma sıklığı yüksek bulunmuştur (76.6 vs. %23.4; $p=0,017$, $kikare=5.738$; $GR:3.049$, %95 $GA=1.203-7.728$). Kontrol grubunda CPT1A rs3019613 genotipleri ile eşik metabolik risk değerleri arasında herhangi bir ilişki gözlenmemiştir.

CPT1A karnitine bağlanarak uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondrinin iç membranına geçişini sağlar. Yağ asitleri iç mitokondriyal alana geçiş yapınca karnitin uzaklaştırılır ve yağ asitlerinin metabolizasyonu başlar. CPT1A, esterifikasyon vasıtasıyla yağ asitlerinin akışını ve malonil koA'ya duyarlılığı ile oksidatif yolları kontrol eder. Açlık süresince CPT1A'nın malonil koA ile inhibisyonu durdurulur ve uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu ve bunu takiben ketogenez artırılırken, postprandiyal süreçte malonil koA konsantrasyonu artar, CPT1A inhibe olur ve uzun zincirli yağ asitleri esterifikasyona yönlendirilir. Malonil koA'nın CPT1A'nın regülatör bölgesine allosterik bağlanması açilkarnitin oluşumunu inhibe ederken, yağ asitlerinin mitokondriye geçişini de önlemektedir. Malonil koA yağ asidi biyosentezinin ara ürünü olup CPT1A'ya bağlanması yağ asidi sentezinin devam ettiğini ve yağ asidi yıkımına gerek olmadığı sinyalini vermektedir. Malonil koA ile kontrol edilen CPT1A'nın uzun zincirli yağ asitlerinin taşınımındaki rolü bu genin lipid metabolizmasındaki önemini ortaya koymaktadır (57). CPTI inhibitörleri bu mekanizma üzerinden yağ asidi biyosentezini düzenleyici rol oynarlar. Aynı zamanda CPTI inhibisyonunun yağ asidi oksidasyonunu azaltarak kardiyak hipertrofi ve kalp krizi için koruyucu etkili olduğu da söylenebilir (51,56).

Kardiyak transplant alıcıları ve vericileri üzerinde yapılmış bir çalışmada azalmış total CPT ve CPT II aktiviteleri ve karnitin eksikliği ventrikül fonksiyonu ile ilgili olabileceği ve bu bağlantının kalp hastalıklarıyla CPT enzimi arasındaki bağlantıyı kurmaya yardımcı olabileceği önerilmiştir (55).

CPT1A yetersizliği olan hastalarda yapılan bir çalışmada A275T, A414V, Y498C, G709E ve G710E missense mutasyonları tespit edilmiş, bu varyasyonların yapısal ve fonksiyonel etkileri *Saccharomyces cerevisiae*'de incelendiğinde hastalık yapıcı nitelikte oldukları doğrulanmıştır. Ayrıca, A275T, A414V ve Y498C varyasyonlarının CPT1A enziminin katalitik aktivitesini azaltırken, G709E ve G710E varyasyonlarının enzim aktivitesini artırdığı gözlenmiştir. Hastalarda tespit edilen varyasyonların CPT1A enzimi üzerine etkilerini incelemeye yönelik olan bu çalışmanın

sonuçları lipidemik bozuklukların tedavisinde CPT1A spesifik ilaç tasarımı yapılabileceğini düşündürmektedir (71).

Homozigot CPT1B knockout (CPT1b^{+/+}) fareler kardiyak yapı ve fonksiyondaki bozulmaya bağlı olarak embriyonik evrede yaşamlarını yitirmektedirler. Heterozigot CPT1B knockout (CPT1b^{+/-}) farelerde yapılan bir çalışmada aort konstriksiyonu ile basınç artışı tetiklendiğinde ise, basınçtaki değişimin seviyesine göre kalp defektlerinin geliştiği, mitokondriyal anomaliler ve miyokardiyal lipid birikimi olduğu gözlenmiştir. Bu veriler, CPT1b eksikliğinde patolojik stres altında lipotoksisiteye bağlı olarak kardiyak patolojide artış olduğunu ifade etmektedir (51).

CPT1A polimorfizmleri ile obezite ve lipid ilişkisini araştıran bundan önce yapılmış 4 çalışma mevcuttur (15,72-74). Ancak bizim çalışmamız CPT1A genindeki bir polimorfizmin KAH hastalarındaki lipid/obezite parametreleri üzerindeki etkisini irdeleyen ilk çalışmadır.

Hirota ve ark. (72) Tip 2 diyabetli Japon hastalarda CPT1A polimorfizmleri ile obezite ve açlık lipid fenotipleri arasında ilişki olmadığını bildirirken, Robitaille ve ark. (73) Fransız-Kanadalı kohortlarında CPT1A A275T (rs17610395) SNP ile BMI ($P = 0.05$) ve bel çevresi ($P = 0.008$) arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Rajakumar ve ark.(74) İse Greenland popülasyonunda yaptıkları çalışmada CPT1A P479L varyantının yüksek HDL-kolesterol ve ApoA1 düzeyleri ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Arktik popülasyonlarda bölgenin çok soğuk olması ve bitki çeşitlerinin azlığına bağlı olarak vücudun bölgeye adaptasyonu adına serum lipidleri, kan basıncı gibi parametrelerdeki değişimin kalp hastalıklarındaki CPT geni değişiminin rolünü incelemek amacıyla araştırma yapılmıştır. Son olarak, Yu'pik Eskimo'larında gerçekleştirilen çalışmada CPT1A P479L (rs80356779) varyasyonu azalmış vücut yağı ve azalmış adipozite gibi obezite ilişkili parametreler ile artmış açlık HDL kolesterol düzeyleriyle ilişkili bulunmuş ve bu etkileriyle kardiyo-koruyucu nitelikte olduğu gözlenmiştir (15). CPT1A polimorfizmlerinin HDL-kolesterol ve obezite fenotipleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (37). CPT1 yağ asit oksidasyonunun en önemli kontrol noktası olduğundan sağlıklı obezite ile ilişkili olabileceği ve bu duruma CPT1 genindeki bazı tek nükleotid polimorfizmleri (SNP)'nin katkısı olduğu önerilmiştir (15).

Bizim çalışmamızın bulgularıda CPT1A gen varyasyonlarının obezite ve HDL-kolesterol düzeyleri ile ilişkili olduğu hipotezini desteklemektedir.

Karnitin/kolin asetil transferaz enzimi peroksizomda 4, 8-dimetilnonanoil koA'yı karnitin esterine dönüştüren Karnitin-O-oktanoil transferaz (CROT) transesterifikasyon reaksiyonunu katalizleyerek lipid metabolizması ve yağ asidi beta oksidasyonunda görev alır (16). Bu reaksiyon orta ve uzun zincirli açıl koA moleküllerinin transferinde elzemdir. CROT'u kodlayan Karnitin-O-oktanoil transferaz (CROT) geninde yer alan değişimlerin lipid profili ile diyabet ve aterosklerotik hastalıklarla ilişkisini inceleyen bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Çalışmamızda CROT rs2214930 T>C SNP'nin minör C sağlıklı kontrollerde düşük total-kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri (sırasıyla, $p=0.045$ ve $p=0.009$). ve CC genotipi düşük sistolik kan basıncı ($p=0.039$) ile ilişkili iken; KAH grubunda yüksek HDL-K >0.90 olma sıklığı ilişkisi gözlenmiştir. Bulgular CROT rs2214930 T>C SNP'nin anti-hiperkolesterolemik ve antihipertansif profilr katkısı olduğu yönündedir.

Sonuç olarak, tez projemiz kapsamında koroner arter hastalarında sağlıklı kontrollerde incelediğimiz yağ asit metabolizmasında anahtar proteinleri kodlayan CPT1A ve CROT genlerine ait sırasıyla rs3019613 ve rs2214930 varyasyonlarının, KAH etyopatogenezinde yer alan serum lipid profili, obezite ve kan basınçları üzerinde önemli etkileri olabileceğini desteklemektedir.

KAYNAKLAR

1. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000, **407**: 233-241.
2. Munger MA, Hawkins DW. Atherothrombosis: epidemiology, pathophysiology and prevention. *JAm Pharm Assoc* 2004, **44**: 5-12.
3. Zengin H. Ateroskleroz Patogenezi. *J Exp Clin Med* 2012, **29**:101-106
4. Güleç S. Kalp damar hastalıklarında global risk ve hedefler. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2009, **37**: 1-10.
5. Christopher KG, Joseph LW. Atherosclerosis: The Road Ahead. *Cell* 2001, **104**:503–516.
6. Tokgözoğlu L. Ateroskleroz ve enflamasyonun rolü. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2009, **37**: 1-6.
7. Tokgözoğlu L. Dislipidemi, ateroskleroz ve hassas plaklar: Atorvastatinin ateroskleroz ve plak yapısına etkisi. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2009, **37**:11-16
8. Crowther MA. Pathogenesis of Atherosclerosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005,436-441.
9. European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O ve ark. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J* 2011, **32**:1769–1818.
10. Longo N, Amat di San Filippo C, Pasquali M. Disorders Of Carnitine Transport And The Carnitine Cycle. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2006, **142**:77–85
11. Lee K, Kerner J, Hoppel CL. Mitochondrial Carnitine Palmitoyltransferase 1a (CPT1a) Is Part of an Outer Membrane Fatty Acid Transfer Complex. *J Biol Chem* 2011, **286**: 25655–25662
12. Rao JN, Warren GZL, Estolt-Povedano S, Zammit VA, Ulmer TS. An Environment-dependent Structural Switch Underlies the Regulation of Carnitine Palmitoyltransferase 1A. *J Biol Chem* 2011, **286**: 42545–42554
13. Bennett MJ, Boriack RL, Narayan S, Rutledge SL, Raff ML. Novel mutations in CPT 1A define molecular heterogeneity of hepatic carnitine palmitoyltransferase I deficiency. *Mol Genet Metab* 2004, **82**:59–63.

14. Bonnefont JP, Djouadi F, Prip-Buus C, Gobin S, Munnich A, Bastin J. Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects. *Mol Aspects Med* 2004, **25**:495–520.
15. Lemas DJ, Wiener HW, O'Brien DM, Hopkins S, Stanhope KL, Havel PJ ve ark. Genetic polymorphisms in *carnitine palmitoyltransferase 1A* gene are associated with variation in body composition and fasting lipid traits in Yup'ik Eskimos. *J Lipid Res* 2012, **53**:175–184.
16. van der Leij FR, Huijkman NCA, Boomsma C, Kuipers JRG, Bartelds B. Genomics of the human carnitine acyltransferase genes. *Mol Genet Metab* 2000, **71**: 139-153
17. Liu L, Wang YD, Wu J, Cui J, Chen T. Carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A): a transcriptional target of PAX3-FKHR and mediates PAX3-FKHR–dependent motility in alveolar rhabdomyosarcoma cells. *BMC Cancer* 2012, **12**: 1-12
18. Nyman LR, Cox KB, Hoppel CL, Kerner J, Barnoski BL, Hamm DA, ve ark. Homozygous carnitine palmitoyltransferase 1a (liver isoform) deficiency is lethal in the mouse. *Mol Genet Metab* 2005, **86**:179–187.
19. Ji S, You Y, Kerner J, Hoppel CL, Schoeb TR, Chick WS, ve ark. Homozygous carnitine palmitoyltransferase 1b (muscle isoform) deficiency is lethal in the mouse. *Mol Genet Metab* 2008, **93**:314–322.
20. Chen S, Ogawa A, Ohneda M, Unger RH, Foster DW, McGarry JD. More direct evidence for a malonyl-CoA-carnitine palmitoyltransferase I interaction as a key event in pancreatic β -cell signaling. *Diabetes* 1994, **43**:878–883.
21. Bliss CR, Sharp GW. Glucose-induced insulin release in islets of young rats: time-dependent potentiation and effects of 2-bromostearate. *Am J Physiol* 1992, **263**: E890–E896.
22. Gao X, Li K, Hui X, Kong X, Sweeney G, Wang Y ve ark. Carnitine palmitoyltransferase 1A prevents fatty acid-induced adipocyte dysfunction through suppression of c-Jun N-terminal kinase. *Biochem. J.* 2011, **435**:723–732.
23. Morillas M, Go´mez-Puertas P, Rubí B, Clotet J, Ariño J, Valencia A ve ark. Structural Model of a Malonyl-CoA-binding Site of Carnitine Octanoyltransferase and Carnitine Palmitoyltransferase I. *J Biol Chem* 2002,

277:11473–11480

24. Zhang L, Keung W, Samokhvalov V, Wang W, Lopaschuk GD. Role of fatty acid uptake and fatty acid β -oxidation in mediating insulin resistance in heart and skeletal muscle. *BBA – Mol Cell Biol Lipids* 2010, **1801**: 1–22.
25. World Health Organization (WHO) (2016). Erişim tarihi: 07.06.2016
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
26. Beltrame Jf, Dreyer R, Tavella R. Epidemiology of Coronary Artery Disease, Coronary Artery Disease - Current concepts in Epidemiology, Pathophysiology, Diagnostics and Treatment, Dr. David Gaze (ED.), ISBN: 978-953-51-0262-5, 2012.
27. Altan Onat, Vedat Sansoy, İnan Soydan, Lale Tokgözoğlu, Kamil Adalet. TEKHARF; Oniki Yıllık İzleme Deneyimine Göre Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı. Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret Anonim Şirketi. İstanbul, 2003.
28. Foppa M, Arora G, Gona P, Ashrafi A, Salton CJ, Yeon SB, ve ark. Right Ventricular Volumes and Systolic Function by Cardiac Magnetic Resonance and the Impact of Sex, Age, and Obesity in a Longitudinally Followed Cohort Free of Pulmonary and Cardiovascular Disease: The Framingham Heart Study. *Circ Cardiovasc Imaging* 2016, **9**(3):e003810.
29. <http://emedicine.medscape.com/article/164163-overview> (Erişim tarihi: 29.05.2016)
30. Hansson J, Pedersen NL, Galanti MR, Andersson T, Ahlbom A, Hallqvist J, ve ark. Use of snus and risk for cardiovascular disease: results from the Swedish Twin Registry. *J Intern Med.* 2009, **265**(6):717-24.
31. Ambrose JA, Singh M. Pathophysiology of coronary artery disease leading to acute coronary syndromes. *F1000Prime Rep* 2015, **7**: 08.
32. Blair A, Shaul PW, Yuhanna IS, Conrad PA, Smart EJ. Oxidized low density lipoprotein displaces endothelial nitric-oxide synthase (eNOS) from plasmalemmal caveolae and impairs eNOS activation. *J Biol Chem* 1999; **274**:32512-32519
33. Mathew R. Pulmonary hypertension and metabolic syndrome: Possible connection, PPAR γ and Caveolin-1. *World J Cardiol* 2014, **6**(8): 692-705.

34. Davies MJ. A macro and micro view of coronary vascular insult in ischemic heart disease. *Circulation* 1990, **82**(3 Suppl): II38-46.
35. Salonen JT, Yla-Herttuala S, Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R, ve ark. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet* 1992, **339**:883-887.
36. McMurray HF, Parthasarathy S, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoprotein is a chemoattractant for human T lymphocytes. *J Clin Invest* 1993, **92**:1004-1008.
37. Weber C and Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nature Medicine*. 2011, **17** (11): 1410-1422.
38. Zengin H. Ateroskleroz patogenezi. *J Exp Clin Med* 2012, **29**:101-106.
39. Lahera V, Goicoechea M, de Vinuesa SG, Miana M, de lasHeras N, Cachofeiro V, ve ark. Endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation in atherosclerosis: beneficial effects of statins. *Curr Med Chem* 2007, **14**(2):243-248.
40. Düzgün N, Atilla E. Aterosklerozis ve Sistemik Otoimmün İnflamatuar Hastalıklar. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2008, **28** :508-512.
41. Deanfield JE, Halcox JP and Rabelink TJ. Endothelial Function and Dysfunction Testing and Clinical Relevance. *Circulation* 2007, **115**: 1285-1295.
42. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding sites on macrophages that mediate uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979, **76**: 333–337.
43. Podrez EA, Febbraio M, Sheibani N, Schmitt D, Silverstein RL, Hajjar DP, ve ark. Macrophage scavenger receptor CD36 is the major receptor for LDL modified by monocyte-generated reactive nitrogen species. *J Clin Invest* 2000, **105**:1095–1108.
44. Singh RB, Mengi SA, Xu YJ, Arneja AS, Dhalla NS. Pathogenesis of atherosclerosis: A multifactorial process. *Exp Clin Cardiol* 2002, **7**(1): 40-53.
45. Sitia S, Tomasoni L, Atzeni F, Ambrosio G, Cordiano C, Catapano A, ve ark. From endothelial dysfunction to atherosclerosis. *Autoimmun Rev* 2010, **9**(12): 830-834.

46. Tritto I, Ambrosio G. The multi-faceted behavior of nitric oxide in vascular “inflammation”: Catchy terminology or true phenomenon? *Cardiovasc Res* 2004, **63**:1-4.
47. Matsuura E, Hughes GR, Khamashta MA. Oxidation of LDL and its clinical implication. *Autoimmun Rev* 2008, **7**: 558–66.
48. Kessler T, Vilne B, Schunkert H. The impact of genome-wide association studies on the pathophysiology and therapy of cardiovascular disease. *EMBO Mol Med*. 2016, **pii**: e201506174.
49. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of Coronary Artery Disease. *Circulation* 2005, **111**:3481-3488.
50. Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CD, Jaswal JS, Stanley WC. Myocardial Fatty Acid Metabolism in Health and Disease. *Physiol Rev* 2010, **90**: 207–258.
51. He L, Kim T, Long Q, Liu J, Wang P, Zhou Y, ve ark. Carnitine Palmitoyl transferase-1b Deficiency Aggravates Pressure Overload–Induced Cardiac Hypertrophy Caused by Lipotoxicity. *Circulation* 2012, **126**: 1705-1716.
52. Barlett K, Eaton S. Mitochondrial β -oxidation. *Eur J Biochem* 2004, **271**: 462–469.
53. https://hrcbiochem.files.wordpress.com/2014/11/carnitine_shuttle1357675664413.png (ET 02.06.2016)
54. <https://quizlet.com/28842717/lecture-63-fatty-acid-oxidation-flash-cards/> (Erişim tarihi: 02.06.2016)
55. Martin MA, Gomez MA, Guillen F, Bornstein B, Campos Y, Rubio JC, ve ark. Myocardial carnitine and carnitine palmitoyltransferase deficiencies in patients with severe heart failure. *Biochimica et Biophysica Acta* 2000, **1502**: 330-336.
56. Irvin MR, Aslibekyan S, Hidalgo B, Arnett DK. *CPT1A*: the future of heart disease detection and personalized medicine? *Clinical Lipidology* 2014, **9** (1): 9-12
57. Rajakumar C, Ban MR, Cao H, Young K, Bjerregaard P, Hegele RA. Carnitine palmitoyltransferase IA polymorphism P479L is common in Greenland Inuit and is associated with elevated plasma apolipoprotein A-I. *J Lipid Res* 2009, **50**: 1223–1228.
58. Houten SM, Wanders RJA. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid β -oxidation. *J Inherit Metab Dis* 2010, **33**:469–477.

59. Houten SM, Violante S, Ventura FV, Wanders RJA. The Biochemistry and Physiology of Mitochondrial Fatty Acid β -Oxidation and Its Genetic Disorders. *Annu Rev Physiol* 2016,**78**:23–44.
60. http://www.sharinginhealth.ca/biology/fat_metabolism.html (Erişim tarihi: 02.06.2016)
61. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CPT1A> (Erişim tarihi: 28.05.2016)
62. National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2016a). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1374> (Erişim tarihi: 25.5.2016)
63. Bonnefont JP, Djouadi F, Prip-Buus C, Gobin S, Munnich A and Bastin J. Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: Biochemical, molecular and medical aspects. *Mol Aspects Med* 2004, **25**: 495–520.
64. National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2016b). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/54677> (Erişim tarihi: 25.05.2016)
65. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CROT> (Erişim tarihi: 28.05.2016)
66. Vasan R, Larson MG, Leip EP, Kannel WB, Levy D. Assessment of frequency of progression to hypertension in non-hypertensive participants in the Framingham Heart Study: a cohort study. *Lancet* 2001, **358**:1682- 1686.
67. Yasue H, Kugiyama K. Coronary spasm: clinical features and pathogenesis. *Intern Med* 1997,**36**: 760-765.
68. Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma: Protective effects of ascorbic acid. *Biochem J* 1991,**277**: 133
69. Gotto AM Jr. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998, **82**: 220- 250.
70. Ravi GR, Pradeepa R, Mohan V. Hypertriglyceridemia and coronary artery disease-an update. *Indian Heart J* 2004,**56**: 21- 26.
71. Gobin S, Thuillier L, Jogl G, Faye A, Tong L, Chi M, ve ark. Functional and Structural Basis of Carnitine Palmitoyltransferase 1A Deficiency. *J Biol Chem* 2003, **278** (50): 50428–50434.
72. Hirota Y, Ohara T, Zenibayashi M, Kuno S, Fukuyama K, Teranishi T, ve ark. Lack of association of CPT1A polymorphisms or haplotypes on hepatic lipid

content or insulin resistance in Japanese individuals with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2007. **56**: 656–661.

73. Robitaille J, Houde A, Lemieux S, Pérusse L, Gaudet D, Vohl M-C. Variants within the muscle and liver isoforms of the carnitine palmitoyltransferase I (CPT1) gene interact with fat intake to modulate indices of obesity in French-Canadians. *J Mol Med.* 2007, **85**: 129–137.
74. Rajakumar C, Ban MR, Cao H, Young TK, Bjerregaard P, Hegele RA. Carnitine palmitoyltransferase IA polymorphism P479L is common in Greenland Inuit and is associated with elevated plasma apolipoprotein A-I. *J Lipid Res* 2009,**50**:1223–1228.



HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

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



Sayı : 751

Tarih : 01.07.2013


Konu : Prof.Dr.Hülya YILMAZ AYDOĞAN

Sayın Prof.Dr.Hülya YILMAZ AYDOĞAN
DETAE

İlgi :DETAE 07/05/2013 gün ve 242 sayılı yazısı

Sorumlu araştırıcılığını üstlendiğiniz ve Yüksek Lisans Öğrencisi Aslıhan DEMİRCAN'ın yürüteceği 2013/696 dosya numaralı "Koroner Arter Hastalarında CPT1A ve CROT Gen Varyasyonlarının Dislipidemik Fenotiple İlişkilerinin İncelenmesi" başlıklı tez çalışması kurulumuzun 07/06/2013 gün ve 11 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.


Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakóltesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakóltesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

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

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Koroner Arter Hastalarında CPT1A ve CROT Gen Varyasyonlarının Dislipidemik Fenotiple İlişkilerinin İncelenmesi"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Hülya YILMAZ AYDOĞAN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji Moleküler Tıp			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Ana Bilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz : Deneysel Araştırma				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLAR ARASI <input type="checkbox"/>	

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	03/05/2013		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	<input type="checkbox"/>	Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>			
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>			
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>			
	İLAN	<input type="checkbox"/>			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:11	Tarih: 07/06/2013			
	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Moleküler Tıp Ana Bilim Dalında görevli Prof. Dr.Hülya YILMAZ AYDOĞAN'ın sorumluluğunda ve Yüksek Lisans Öğrencisi Ashhan DEMİRCAN'ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU								
ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **	İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Sevda ÖZEL	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

* :Araştırma ile ilişki
** :Toplantıda Bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucunu bildirmektedir. Klinik ilaç araştırması projeleri için, etik kurulu onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5/a .maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli iznin alınması gerekmektedir.