

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALARINDA LİPOPROTEİN İLİŞKİLİ
FOSFOLİPAZ A2 (Lp-PLA2) V279F TEK NOKTA
MUTASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

Hatice YILDIRIM YAROĞLU

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ

MERSİN – 2013

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KORONER ARTER HASTALARINDA LİPOPROTEİN İLİŞKİLİ
FOSFOLİPAZ A2 (Lp-PLA2) V279F TEK NOKTA
MUTASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

Hatice YILDIRIM YAROĞLU

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ

Tez No:32

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP-SBE TB (HYY) 2009-9 DR kodlu proje olarak desteklenmiştir.

MERSİN-2013

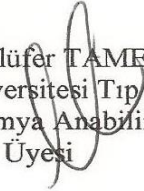
Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Koroner Arter Hastalarında Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2 (Lp-PLA2) V279F Tek Nokta Mutasyonunun Araştırılması” başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.


Tez Savunma Tarihi 15/02/2013



Prof. Dr. Gurbüz Polat
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Başkanı




Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Üyesi



Prof. Dr. Nehir SUCU
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kalp-Damar Cerrahisi Anabilim Dalı
Jüri Üyesi



Doç. Dr. Necati MUŞLU
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Üyesi



Yard. Doç. Dr. Bahadır ERCAN
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 20.02.2013 tarih ve 203/51 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Ulku CÖMERTKOĞLU
MERSİN ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
1923

TEŞEKKÜR

Akademik eğitimim süresi boyunca ve tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta danışman hocam Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ'e, Prof. Dr. Gürbüz POLAT, Prof. Dr. Gülçin ESKANDARI, Prof. Dr. Burak ÇİMEN ve Doç. Dr. Necati MUŞLU'ya yardımları için teşekkür ederim.

Tezime ait çalışma grubu örneklerinin toplanması ve tezimin klinik sürecinde rol alan Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Nehir SUCU'ya, Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Sayın Prof. Dr. Dilek ÇİÇEK YILMAZ'a emeklerinden dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışmam sırasında fikirleri ve her türlü destekleri ile katkıda bulunan Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına yardımları ve destekleri için teşekkür ederim

Tezimin istatistikleri konusundaki yardımlarından dolayı Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı Arş. Gör. Mehmet Ali SUNGUR'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu çalışmam sırasında da beni sürekli olarak manevi açıdan destekleyen aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
EŞİTLİKLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ÖZET.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENELBİLGİLER.....	3
2.1. Koroner Arter Hastalığının Tarihçesi.....	3
2.2. Koroner Arter Hastalığı.....	3
2.3. Ateroskleroz.....	4
2.3.1. Arter Duvarının Yapısı.....	5
2.3.2. Arter Duvarının Hücreleri.....	6
2.4. Aterosklerozun Patogenezi.....	9
2.5. Aterosklerotik Plak ve Aterosklerozun Lezyonları.....	13
2.6. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri.....	16
2.6.1. Geleneksel Risk Faktörleri.....	16
2.6.2. Değiştirilebilir Risk Faktörleri.....	17
2.6.3. Yeni Kardiyovasküler Risk Faktörleri.....	22
2.7. Koroner Arter Hastalığında Yeni Bir Risk Faktörü: Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2.....	24
2.7.1. Fosfolipaz A2 Enzim Ailesi.....	24
2.7.2. Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2.....	26
2.7.2.1. Lp-PLA2 Enziminin Yapısı.....	28
2.7.2.2. Lp-PLA2 Substratları.....	29
2.7.2.3. Lp-PLA2 Geni ve Genetik Polimorfizmler.....	30
2.7.2.4. Lp-LPA2 Ekspresyonu ve Ekspresyonunun düzenlenmesi.....	32

2.7.2.5.	Lp-PLA2'nin lipoproteinlerle ilişkisi.....	32
2.7.2.6.	Lipoproteinler Arasındaki Değişik Lp-PLA2 Dağılımı ve Ateroskleroz.....	34
2.8.	Koroner Arter Hastalığı Patogenezinde Lp-PLA2'nin Rolü.....	35
3.	GEREÇ ve YÖNTEM.....	38
3.1.	Araç ve Gereçler.....	38
3.1.1.	Kimyasal Madde ve Çözücüler.....	38
3.1.2.	Alet ve Gereçler.....	38
3.1.3.	Kullanılan Kitler.....	38
3.2.	Kullanılan Ayırıcılar.....	39
3.2.1.	DNA İzolasyonunda Kullanılan Ayırıcıların Hazırlanması.....	39
3.2.2.	Serum Lp-PLA2 Düzeyinin Belirlenmesinde Kullanılan Ayırıcılar.....	40
3.3.	Çalışma Grubu ve Örnek Alımı.....	41
3.4.	Yöntemler.....	42
3.4.1.	Koroner Anjioplasti.....	42
3.4.2.	Lipit Profili Ölçümleri.....	42
3.4.3.	Açlık Kan Şekeri Ölçümü.....	43
3.4.4.	Serum Lp-PLA2 Düzeyinin Belirlenmesi.....	45
3.4.5.	Lp-PLA2 V279F Gen Polimorfizmin Belirlenmesi.....	46
3.4.5.1.	DNA İzolasyonu.....	46
3.4.5.2.	Primer ve Prob Dizaynı.....	47
3.4.5.3.	Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	48
3.4.5.4.	Lp-PLA2 V279F Mutasyon Analizi için Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşulları.....	49
3.4.5.5.	Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu Melting Curve Analizi ile Lp-PLA2 V279F'e Ait Genotip Belirlenmesi.....	50
3.5.	İstatistiksel Yöntemler.....	51
4.	BULGULAR.....	53
4.1.	Çalışma Grubunu Oluşturan Bireylerin Tanımlayıcı Bilgiler.....	53
4.2.	Kontrol ve KAH Gruplarında AKŞ ve Lipit Profili Düzeylerine Ait Bulgular.....	54
4.3.	Kontrol ve KAH Gruplarında Lp-PLA2 Düzeylerine Ait Bulgular.....	55
4.4.	Lp-PLA2 Düzeylerinin KAH'lardaki Tıkalı Damar Sayısı ile İlişkisi.....	56

4.5. KAH Grubunda Plaklı Hastalarda Lp-PLA2 Düzeylerine Ait Bulgular.....	57
4.6. KAH Grubunun Lp-PLA2 Düzeylerine Göre LDL-Kolesterol, HDL-Kolesterol, Yaş, Cinsiyet, Diyabet, Hipertansiyon, Sigara Kullanımı ve Aile Öyküsüne Ait Bulgular.....	57
4.7. Lp-PLA2 V279F Tek Nokta Mutasyonu ile KAH Arasındaki İlişkiye Ait Bulgular.....	59
5. TARTIŞMA.....	60
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	70
7. KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	87

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Normal arter duvarı	6
Şekil 2.2. Endotel Disfonksiyonu.....	11
Şekil 2.3. Yağlı çizgi lezyon gelişimindeki başlangıç olaylar	12
Şekil 2.4. Nekrotik çekirdek ve fibröz kılıf oluşumu.....	13
Şekil 2.5. Fosfolipaz A2'nin fosfolipidleri hidrolizi	24
Şekil 2.6. PAF'ın PAF-AH tarafından hidrolizi.....	26
Şekil 2.7. Okside LDL'nin Lp-PLA2 tarafından hidrolizi.....	27
Şekil 2.8. Lp-PLA2'nin üç boyutlu yapısı.....	29
Şekil 2.9. Lp-PLA2 enziminin tersiyer yapısı.....	29
Şekil 2.10. Lp-PLA2 geni ve SNP'ler.....	31
Şekil 2.11. LDL ve Lp-PLA2.....	33
Şekil 2.12. Aterosklerozda Lp-PLA2'nin rolü.....	36
Şekil 3.1. Primer ve problemlerin amplikona bağlanma bölgeleri.....	48
Şekil 3.2. Lp-PLA2 V279F'e ait Melting Curve analizi	51
Şekil 4.1. Koroner arter hastaları ve kontrol gruplarında Lp-PLA2 düzeyleri.....	55
Şekil 4.2. Koroner arter hastalarının tıkalı damar sayısına göre Lp-PLA2 düzeyleri.....	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 DNA izolasyonunda kullanılan kitin içeriği.....	39
Çizelge 3.2. Lp-PLA2 V279F mutasyonu için kullanılan primer ve prob dizileri.....	48
Çizelge 3.3. Lp-PLA2 V279F mutasyonunun polimorfizm analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları.....	49
Çizelge 3.4. Lp-PLA2 V279F mutasyon analizi için PZR koşulları	50
Çizelge 4.1. Kontrol ve KAH gruplarının risk faktörlerinin dağılımı ve tanımlayıcı bilgiler.....	53
Çizelge 4.2. Kontrol ve KAH gruplarına ait AKŞ ve lipit profili düzeyleri.....	54
Çizelge 4.3. KAH grubunda plaklı ve plaksız hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri.....	57
Çizelge 4.4. Koroner arter hastalarında LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, yaş, cinsiyet, diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı ve aile öyküsü parametreleri ile Lp-PLA2 düzeyleri.....	58
Çizelge 4.5. Kontrol ve hasta gruplarında Lp-PLA2 V279F Genotipleri.....	59

EŞİTLİKLER DİZİNİ

Eşitlik 3.1. Total kolesterolün ölçümünde yer alan tepkime denklemi.....	43
Eşitlik 3.2. HDL-Kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi.....	44
Eşitlik 3.3. Trigliserit ölçümünde yer alan tepkime denklemi.....	44
Eşitlik 3.4. Friedwald Eşitliği.....	45
Eşitlik 3.5. Açlık kan şekeri ölçümünde yer alan tepkime denklemi.....	45

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

4-AAP	Aminoantiprin
AKS	Akut Koroner Sendromu
AKŞ	Açlık Kan Şekeri
ARIC	Atherosclerosis Risc Communities
AT-II	Anjiotensin II
Bç	Baz Çifti
CHOD	Kolesterol Oksidaz
CE	Kolesterol Esteraz
DHAP	Dihidroksiaseton Fosfat
DKH	Düz Kas Hücreleri
DM	Diabetes Mellitus
EDHF	Endotel Bağımlı Hiperpolarize Edici Faktör
EDTA	Etilledamin Tetraasetik Asit
ELISA	Enzim Bağlı İmmünoassay
Enos	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
ERK	Ekstraselüler Sinyal Regüle Edici Kinaz
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
FRET	Floresan Rezonans Enerji Transferi
G6PDH	Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GK	Gliserokinaz
GPO	Gliserol Fosfat Oksidaz
HB-GF	Heparin Bağlayıcı Epidermal Büyüme Faktörü
HK	Heksokinaz
HSDA	Sodyum-N (2-Hidroksi-3-Sulfopropil)-3,5-Dimetoksianilin
ICAM-1	Hücre İçi Adezyon Molekülü-1
IL	İnterlökin
IL-1β	İnterlökin-1 β
INF-γ	İnterferon Gama
KAH	Koroner Arter Hastalığı
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein

LPL	Lipoprotein Lipaz
Lp-PLA2	Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2
MCP-1	Makrofaj Kemotaktik Protein-1
M-CSF	Monosit Koloni Sitümüle Edici Faktör
Mg	Mikrogram
MI	Miyokard İnfarktüsü
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
mM	Milimolar
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NCEP	Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
NF-κB	Nükleer Faktör Kapa B
Ng	Nanogram
NO	Nitrik Oksit
P38MAPK	P38 Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz
PAI-1	Platelet Aktivatör İnhibitör-1
PLA2	Fosfolipaz A2
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDGF	Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PECAM-1	Platelet/Endotel Hücre Adezyon Molekülü
Pg	Pikogram
PGL₂	Prostasiklin
PI3K	Fosfatidilinositol 3-Kinaz
POD	Peroksidaz
PPARs	Peroksizomal Proliferatör-Aktive Edici Reseptörler
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
RFLP	Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi
RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SNP	Tek Nükleotid Gen Polimorfizmi
SPSS	Statistical Package for Social Sciences

TEKHARF	Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı Ve Risk Faktörleri
TG	Trigliserit
TGF-β	Transforme Edici Büyüme Faktörü- B
T_M	Erime Isısı
TMB	Tetrametilbenzidin
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
VCAM-1	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VKI	Vücut Kitle İndeksi

ÖZET

Koroner Arter Hastalarında Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2 (Lp-PLA2) V279F Tek Nokta Mutasyonunun Araştırılması

Koroner arter hastalıklarının başlıca lezyonu aterosklerozun erken evresinde, LDL'nin oksidatif modifikasyonuna karşı kronik enflamatuvar yanıtın, makrofajlar ve T-lenfositler gibi enflamatuvar hücrelerin subendotelyal birikimine yol açtığı düşünülmektedir. Lp-PLA2 (lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2), LDL oksidasyonundan okside serbest yağ asitleri ve lizofosfatidilkolin gibi güçlü proenflamatuvar ve proaterojenik ürünler oluşmasını sağlayan A2 fosfolipazlar ailesine ait bir enzimdir. Lp-PLA2, normal ve hastalıklı arterlerin media tabakasında bulunmakta, temel olarak monositler/makrofajlar, T lenfositler ve mast hücreleri tarafından üretilmektedir. Çalışmamızda, koroner arter hastalarında Lp-PLA2 V279F polimorfizminin olası rolünün belirlenmesi amaçlandı. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kardiyoloji Anabilim Dalında koroner anjiyografi uygulanan 180 birey çalışmaya dahil edildi. Koroner arterlerinden herhangi birinde %70 ve üzeri darlığı olan 109 birey koroner arter hastası olarak, herhangi bir darlık ya da lezyon tespit edilmeyen 71 birey kontrol olarak gruplandırıldı. Kontrol ve KAH grubunda serum Lp-PLA2 düzeyleri ELİSA ile, açlık kan şekerleri (AKŞ) ve lipid profilleri enzimatik kolorimetrik yöntem ile belirlendi. Kontrol ve KAH grubunun genomik DNA'ları tam kandan izole edildi. Lp-PLA2 V279F mutasyonu, V279F mutasyon belirleme kiti kullanılarak gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile saptandı. Serum Lp-PLA2 ve AKŞ düzeyleri KAH grubunda kontrol grubuna oranla yüksek saptandı ($p<0.001$). 3 ve üstü damarı tıkalı olan hastalarda Lp-PLA2 düzeyi 1 damarı tıkalı hastalara göre yüksek bulundu ($p=0.016$). Plaklı hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri yüksek bulunmasına rağmen anlamlı bir fark saptanmadı. Lp-PLA2 V279F mutasyonu, hem KAH grubunda hem de kontrol grubunda VV (wild) genotip olarak saptandı, VF (heterozigot) ve FF (mutant) genotipleri ise her iki grupta da saptanmadı. Sonuç olarak, çalışma grubumuzda heterozigot ve mutant genotipler saptanmadığı için Lp-PLA2 V279F mutasyonunun KAH için genetik risk faktörü olarak değerlendirilemeyeceğini ancak Lp-PLA2 yüksekliğinin KAH'da belirteç olarak kullanılabilceğini belirledik.

Anahtar Kelimeler: Koroner Arter Hastalığı, Lp-PLA2, V279F, Tek nokta, Mutasyon

ABSTRACT

The Investigation of Lipoprotein Associated Phospholipase A2 (Lp-PLA2) V279F Single Point Mutation in Coronary Artery Disease

The main lesion of coronary artery disease (CAD) in the early phase of atherogenesis, chronic inflammatory response to oxidative modification of LDL is thought to lead to the subendothelial accumulation of inflammatory cells, such as macrophages and T lymphocytes. Lp-PLA2 (lipoprotein associated phospholipase A2) is an enzyme that belongs to the A2 phospholipases family that hydrolyzes phospholipids at the sn2 position generating potent proinflammatory and proatherogenic products, such as lysophosphatidylcholine and oxidized free fatty acids from oxidation of LDL. Lp-PLA2 is found in the media of normal and diseased arteries, is produced mainly by monocytes/macrophages, T lymphocytes, and mast cells, and its association with risk of coronary artery disease. Various mutations especially V279F mutation observed in Lp-PLA2. Because of V279F mutation reducing the affinity of Lp-PLA2 substrate, the aim of this study was to determine the possible role of Lp-PLA2 V279F polymorphism in patients with CAD. In this study, 180 subjects who underwent coronary angiography by Mersin University Medical Faculty Department of Cardiology were included. 109 subjects who have $\geq 70\%$ stenosis in any of the major coronary arteries were selected as CAD and 71 subjects who have no stenosis or lesion were selected as control. Serum Lp-PLA2 levels were measured by ELISA and fasting blood glucose and lipid profile by enzymatic colorimetric methods. DNA of control and CAD groups were extracted from whole blood. Lp-PLA2 V279F polymorphism was detected by using Lp-PLA2 V279F mutation detection kit with real-time PCR method. Serum Lp-PLA2, and fasting blood glucose levels were found significantly higher in CAD group compared to control group ($p < 0.001$). Statistically significant difference was found between the patients with 1 and ≥ 3 vessel obstructed for Lp-PLA2 levels ($p = 0.016$). Although there were high levels of Lp-PLA2 in patients with plaque, this difference was not statistically significant. For Lp-PLA2 V279F mutation, VV (wild) genotype was detected in both the CAD group and the control group while VF (heterozygous) and FF (mutant) genotypes were not detected. In conclusion, because of not detected heterozygous and mutant genotypes in our study, the Lp-PLA2 V279F mutation can not be evaluated as a genetic risk factor, but we found that the high level of Lp-PLA2 may be used as a marker of CAD.

Key words: Coronary Artery Disease, Lp-PLA2, V279F, Single point, Mutation

1. GİRİŞ

Koroner Arter Hastalığı (KAH), kardiyovasküler hastalıkların tedavisindeki ilerlemelere rağmen, günümüzde halen birçok ülkede kadın ve erkeklerde ölüm nedeni olarak başta gelmektedir. KAH risk faktörleri arasında sigara kullanımı, dislipoproteinemi, diabetes mellitus ve arter kan basıncı yüksekliğinin yanı sıra, ailede miyokard infarktüsü öyküsü, dolayısıyla genetik eğilim de önemli bir yere sahiptir. Günümüzde aterosklerozun okside LDL, hipertansiyon, sigara gibi genetik, metabolik ve çevresel hasarlara yanıt olarak gelişen kronik inflamatuvar bir hastalık olduğu kabul edilmekte ve koroner aterosklerozun doğuracağı klinik sonuçlar açısından lümen daralmasının derecesinden ziyade inflamasyonun şiddetinin daha önemli olduğu ileri sürülmektedir (1,2).

Uzun dönem Framingham Kalp Çalışması, kardiyovasküler hastalık gelişiminde kolesterolü majör bir risk faktörü olarak ortaya koyarak, aterosklerozun patogenezi için kullanılabilir ilk biyobelirteci tanımlamıştır (3). Gerçekten de birçok klinik çalışmada, kardiyovasküler olaylar açısından risk altında olan kişilerde total ve LDL kolesterolün düzeylerinin arttığı ve bir farmakolojik tedavi uygulanarak bunların seviyelerinin azaltılmasının yararlı etkilere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ancak normal lipoprotein düzeylerine sahip oldukça fazla sayıdaki insanda da hala ateroskleroz gelişmeye devam etmektedir ve bu nedenle, bu hastalığın gelişiminde diğer başka faktörlerin de rol aldığını akıllara getirmektedir. Aterosklerotik plak oluşumunun altında yatan moleküler mekanizmaların araştırıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda hastalık oluşum sürecinin, kolesterol ve lipidlerin arteriyel duvarlarda birikmesinden öte, belirgin bir inflamatuvar yanıtın yer aldığı kompleks mekanizmalar içerdiği ortaya konmuştur (4,5). Bu nedenle, kardiyovasküler hastalığı olan genel popülasyonda tanının çok daha doğru konulabilmesi ve prognozun çok daha iyi belirlenebilmesi ve akut koroner sendromlardan etkilenen hastaların, medikal ve girişimsel tedavilerden daha fazla fayda görebilmeleri amacıyla yönelik olarak yeni biyolojik belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır (6).

Son zamanlarda lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2'nin (Lp-PLA2) diğer KAH risk faktörlerinden bağımsız olarak endotelial disfonksiyon ile ilişkisi belirlenmiş olup, Lp-

PLA2 ile KAH arasındaki ilişki kohort çalışmaları yanı sıra klinik deneylerde de çalışılmıştır. Yapılan bir çalışmada, Lp-PLA2 düzeyleri artmış hastaların koroner endotel disfonksiyonu bulunma riskinin, normal Lp-PLA2 düzeyli hastalara göre 3.3 kat daha riskli olduğu belirlenmiştir (7-10).

Makrofaj, monositler, T-lenfositler, mast ve karaciğer hücreleri Lp-PLA2'nin üretildiği başlıca kaynaklardır. Bu hücreler aterogenezis ve ateroskleroz gelişimine katılmaktadır. İnsanlarda Lp-PLA2 çoğunlukla LDL kolesterole ve çok az miktarda da HDL ve VLDL'ye bağlı olarak bulunur. LDL partikülündeki okside olmuş fosfolipidler Lp-PLA2 için substrattır. LDL partikülü üzerindeki fosfolipidler okside olduğunda Lp-PLA2 hızlı bir şekilde gliserol üzerindeki sn-2 pozisyonundaki yağ asidini koparır ve iki tane güçlü mediatör olan okside serbest yağ asidi (oxFFA) ve lizofosfatidilkolin (LPC) üretir (8-10). Lp-PLA2'nin substratı olan okside-LDL ve okside LDL'nin ürünü LPC'in makrofajlar üzerinde proapoptotik etkileri vardır. Lp-PLA2'nin ürettiği oxFFA ve LPC yüksek çözünürlüğe sahiptir ve kolayca ateromaya diffüze olabilmekte ve ateroskleroza katılan çeşitli hücre tiplerine etki etmektedirler. LPC monositler ve T hücreleri için güçlü bir kemoatraktandır ve endotel disfonksiyonunu ilerletmekte, makrofaj proliferasyonunu stimüle etmekte ve düz kas hücrelerinde apoptozisi indüklemektedir. Aktive olmuş makrofaj ve köpük hücreleride daha fazla Lp-PLA2 üretmektedir. Lp-PLA2 dolaşımdaki plaklardan da salınmaktadır. Plaklarda Lp-PLA2 başlıca nekrotik kor, zedelenebilir plak çevresinde ve rüptüre plaklarda eksprese olur çok az miktarda daha az ilerlemiş plaklarda bulunur. Bu da Lp-PLA2'nin plak gelişim mediatörü olabileceğini göstermektedir (9-13).

Bu çalışmada Lp-PLA2 V279F gen polimorfizminin koroner arter hastalığı olan hastalarda olası rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır. Türkiye'de Lp-PLA2 V279F mutasyonunun koroner arter hastalığı ile ilişkisi ile ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanmadığından, ayrıca bölgede yapılan ilk çalışma olması nedeni ile kontrol grubu sonuçları değerlendirilerek sağlıklı kişilerde Lp-PLA2 V279F gen polimorfizminin allel sıklığı bulunarak toplumda görülme sıklığının belirlenmesi de amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Koroner Arter Hastalığının Tarihçesi

1768'de William Heberden kalp kaynaklı göğüs ağrısı için "Angina Pectoris" terimini ilk defa kullanmıştır ve tanımlamıştır. 19. yüzyıl başlarında Adam Hammer koroner arter tıkanmalarında tromboembolizmin rolünü açıklamıştır. 1910'da William Osler akut miyokard infarktüsü patogenezi hakkında önemli açıklamalarda bulunmuştur. Bu tarihten sonra KAH'ın tanı ve tedavisi üzerinde araştırmalar ve gelişmeler yoğunlaşmış ve hızlanmıştır (14).

1960 yılına kadar akut miyokard infarktüsünün tanı ve tedavi yöntemleri yetersizdi. Ross ve ark. (15), 1974'de arteriyel hasarın, trombositlerden ve/veya diğer hücrelerden lokal büyüme faktörleri salınımına neden olduğunu öne sürmüştür. Bu durumun, düz kas popülasyonunda proliferatif bir yanıtı başlatabileceği ve ateroskleroza neden olacağı kabul görmüştür (14, 15).

Ross ve Glomset 1976 yılında, ateroskleroz patogenezi için hasara yanıt hipotezini öne sürmüşlerdir. Lipoprotein kaynaklı lipitlerin ve özellikle oksidatif olarak modifiye olan lipitlerin birikmesinin, arteri hasara uğrattığına ve düz kas hücresine bağımlı tamir sürecini başlattığına inanılmaktadır. Bu durumun, diğer iyileşme reaksiyonlarında görülen skar dokusuna benzeyen intimal plakların oluşmasına ve sonuç olarak ateroskleroza yol açtığı kabul edilmiştir. Daha sonraki yıllarda koroner bakım ünitelerinin gelişmesi, etkili yeni ilaçların kullanıma girmesi ve tanı yöntemlerinin gelişmesiyle akut miyokard infarktüsünün hastane ölüm oranları %30'lardan %15'e düşürülmüştür. Son yıllarda ise tıp alanındaki gelişmeye paralel olarak KAH'ın tanı ve tedavi yöntemlerinde de çok hızlı gelişmeler olmaktadır (14-18).

2.2. Koroner Arter Hastalığı

Koroner arter lümeninin genellikle bir ateromatöz plakla daralması ya da tıkanması sonucu oluşan hastalığa, KAH denir. Aterosklerotik damar hastalığı yaşamın

erken dönemlerinde başlar ve hayat boyu devam eder. Bu hastalıklar tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de başta gelen mortalite ve morbidite nedenleri arasındadır (18).

Koroner arter hastalığına bağlı ölümler genelde genç ve orta yaşlarda ortaya çıkmakta ve kişiyi en verimli olduğu yaşta yakalamaktadır. Çalışmalar, tüm dünyada kardiyovasküler hastalıklardan ölüm oranınının 1990 ve 2020 yılları arasında, %28.9'dan %36.3'e yükseleceğini göstermektedir (19).

Türk Kardiyoloji Derneği'nin öncülüğünde 1990 yılından beri yürütülen TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri) çalışmasının 12 yıllık izlem verilerine göre, Türkiye'de 2 milyon koroner kalp hastasının bulunduğu ve yılda 160 bin yurttaşımızın koroner kalp hastalığından öldüğü bildirilmektedir. Ülke genelinde yılda 260 bin civarında koroner olay meydana gelmekte, bunların derhal fatal cereyan eden 85 bini çıkarılınca, 175 bin nonfatal koroner olaylı hasta tedaviye aday kalmaktadır. Bunların da dahil olduğu 2 milyon koroner hastadan yaklaşık 75-80 bini ilaveten hayatını yitirmektedir. Böylece toplam koroner hastası halen yılda 90-100 bin civarında artmaktadır (20).

Koroner arter hastalığına bağlı ani ölümler sık olmasına karşın, KAH'ın en önemli nedeni olan ateroskleroz uzun süreli bir oluşumdur. Ateroskleroz sıklıkla çeşitli faktörlerin etkisiyle uzun yıllar sonucunda oluşmakta ve etkileri yıllar sonra ortaya çıkmaktadır. İlerleyici bir hastalık olan KAH'ın, oluştuktan sonra özünden tedavi edecek tıbbi ve cerrahi yöntem henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle özellikle son zamanlarda KAH oluşumunu hızlandıran risk faktörlerinden korunma ve tedavi yöntemlerine çok önem verilmektedir. Bu konuda Amerika ve Avrupa Kardiyoloji dernekleri araştırmalar ve çalışmalar yaparak yayınlamaktadır. Günümüzde ateroskleroz oluşumunu başlatan veya hızlandıran birçok risk faktörü ortaya konmuştur (19, 21).

2.3. Ateroskleroz

Aterom ve ateroskleroz terimleri, Yunanca'da lapa+kitle+katı anlamlarına gelen athero+oma+skleroz sözcüklerinden oluşmuştur (22).

Kalp kasını besleyen arterlerde (koroner arterler) oluşan lezyonlar veya plaklar, arterlerdeki kan akışının bozulmasına yol açan hastalık sürecini, ateroskerozu

başlatmaktadır. Lipid birikimi ve buna hücrenin reaksiyonu, arter lümeninin daralmasına ve hücrelere oksijen ve hücre yaşamı için gerekli diğer maddelerin yetersiz oranda gitmesine neden olmaktadır. Sonuçta gelişen ateroskleroz ölüm nedenlerinin başında gelmektedir (23).

Aterosklerotik sürecin daha kolay anlaşılması için normal arter duvar yapısının ve arter hücrelerinin bilinmesinde yarar vardır.

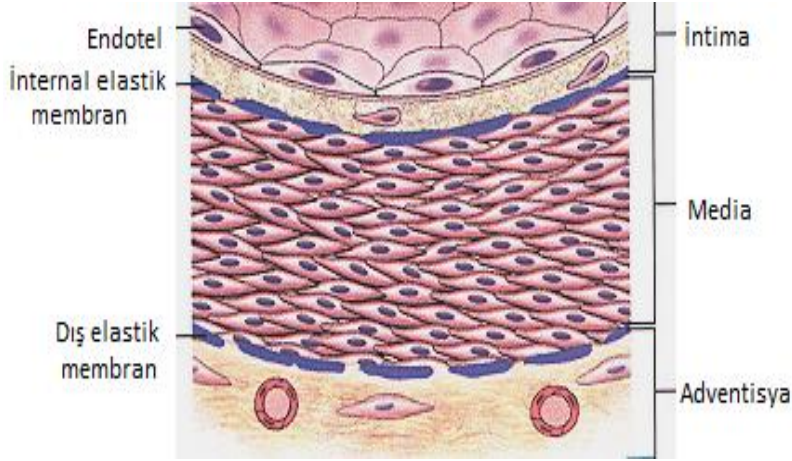
2.3.1. Arter Duvarının Yapısı

Arter duvarlarında intima, media ve adventisya olmak üzere üç morfolojik yapı bulunmaktadır (Şekil 2.1) (24, 25).

İntima bütün arterlerin lümeninde bulunan, endotel hücrelerinden oluşan tek tabakalı, kesintisiz ve matriks açısından zengin bir yapı göstermektedir. Aterosklerotik lezyonların geliştiği bölgedir. Bu bölgede kişilere göre iki farklı ateroskleroz gelişmektedir. İntimanın lümeninde birikimler sonucu oluşan asimetrik kalınlaşmalar kan akımını güçleştirmektedir. İntima kalınlaşmasının bir diğer şekli de arterin devamlı gelişmesine bağlı lümen çapının değişmesidir. Bu durumda aterosklerotik oluşumlar daha yoğun ve simetrik olmaktadır (24, 26).

Media, arter duvarının en geniş bölgesidir ve düz kas hücrelerinden oluşmuştur. Bu bölge iç ve dış elastik bant (lamina) ile çevrelenmiştir. İntima ve media iç elastik bant ile birbirlerinden ayrılmaktadır. Yapılarında kollajen, elastik lifler ve glikozaminoglikan bulunmaktadır (26, 27).

Adventisya tabakası ise damarın dış yüzeyini çevreleyen gevşek bir bağ dokusundan oluşmaktadır. Bu bölgede kollajen lifler, elastik lifler, sinir lifleri, fibroblastlar ve bazı düz kas hücreleri bulunmaktadır. Adventisya arter duvarlarını belirleyen küçük kan damarları ve lenfatik kanallar içermektedir (26, 27).



Şekil 2.1. Normal arter duvarı (25)

2.3.2. Arter Duvarının Hücreleri

a) Endotel Hücreleri

Endotel hücreleri, kan damarlarının intima tabakasında bulunur ve çok önemli fonksiyonları vardır; Bunlar;

1. Vasküler lümende bulunan kan için bir bariyerdirler.
2. Antitrombotiktirler, çünkü heparan sülfat gibi yüzey moleküllerini ve Prostosiklin (PGI_2) gibi antitrombojenik maddelerin salınımını yaparlar.
3. Potent vazodilatör olan endotelyel kaynaklı gevşetici faktör'ün (EDRF) salınımını yaparlar. Lokal vasküler tonusun regülasyonunda önemli rol oynarlar. Potent vazokonstriktör etkili endotelin'in yapıldığı ve anjiotensin II'nin de salgılandığı yerdir. Anjiyotensin II' nin vazokonstriktör etkisi dışında prooksidan ve endotelin salınımını uyarıcı etkisi vardır.
4. Nitrik oksit (NO) salgırlar. NO, güçlü antiagregan etkisi nedeni ile trombositlerin endotel yüzeyinde kümeleşmesini engeller.
5. LDL reseptörlerini taşırlar. Aterosklerotik süreçte çok önemli olduğu düşünülen LDL'nin bağlanıp iç tabakaya geçtiği kısımlardır.
6. Platelet Kökenli büyüme faktörü (PDGF) gibi mitojenik ve kemotaktik maddeleri sentez ederler. Düz kas hücrelerine etki ederek, aterosklerozda da etkili olurlar.
7. Endotel hücrelerinin dayandığı bazal membranı oluşturan proteinleri sentezlerler (28, 29).

Böylece normal durumda endotel, koruyucu nontrombojik bir yüzey oluşturur. Metabolik olarak aktiftir ve vazoaaktif maddeleri üretir. Endotel hücreleri hasar gördüğünde aktivitesi değişir. Kan plazma proteinleri için etkili bariyer yeteneği kaybolur. Hücreler ve diğer maddeler, subendoteliyal aralığa geçerler. Zedelenmiş endotel, aşırı miktarda kemotaktik faktörleri salgılayabilir (30).

Endotel hasarı aterosklerozun ilk basamağı olup, endotelyal geçirgenlikte artış, trombosit agregasyonu, lökosit adezyonu ve sitokin üretimini içerir. Nitrik oksit üretiminin veya aktivitesinin azalması endotelin vazodilatatör kapasitesinin bozulmasına neden olur ve LDL'nin oksidasyonunu arttırır (31).

b) Düz Kas Hücreleri

Düz kas hücreleri, normal arter duvarının media tabakasında yer alırlar. Aterogeneze yer alan temel mekanizma intima içinde düz kas hücrelerinin proliferasyonudur. Düz kas hücrelerinin esas görevi arter tonusunu sağlamaktır. Aterosklerotik plağın oluşumu sırasında medyadan intimaya geçen bu hücreler, lezyonun fibroproliferatif sürecinde görev alırlar. Bu yüzden düz kas hücrelerinin intimada birikmesi, ilerlemiş lezyonun göstergesi olarak kabul edilir (32).

Düz kas hücreleri ayrıca makrofajlar gibi lipoproteinleri fagosite edip kolesterol esterleri şeklinde depolayarak “köpük hücreleri”ni oluştururlar. Düz kas hücreleri, endotelyum hücreleri gibi, normalde bölünmeyen pasif hücrelerdir. Ancak, damar hasarı, medial düz kas hücrelerinin bölündüğü, intimaya göç ettiği ve sonra intimal kalınlaşma oluşturmak üzere tekrar tekrar bölündüğü proliferatif bir yanıtı ortaya çıkarır. Anjiyoplasti ve damar cerrahisi sonrasında gözlenen restenoza benzeyen bu süreç, büyüme faktörleri tarafından kontrol edilir (33) .

c) Makrofajlar

Makrofajlar, normal arterde hücre popülasyonunun küçük ama önemli bir kısmını oluştururlar. Dolaşımdaki monositlerden türeyen fagositik hücrelerdir ve aterosklerozun hem başlaması, hem ilerlemesinde en önemli rolü oynarlar (32, 34).

Dolaşımdaki monositler okside LDL'nin (oksi-LDL) uyarması ile intima tabakasına yerleşerek makrofajlara dönüşürler. Bu olay makrofaj, endotel hücresi ve düz kas hücrelerinden salınan başta makrofaj kemotaktik protein-1 (MCP-1) olmak üzere kemotaktik maddelerin etkisiyle meydana gelmektedir. Makrofajların okside LDL'yi hücre içine almasıyla birlikte ateroskleroz için karakteristik olan köpük hücreleri meydana gelir (32, 35).

Arteriyel duvarda monositlerin birikimi ve bunların sonra makrofajlara dönüşümü ilk başta okside LDL'den koruma amaçlı olmasına rağmen, makrofajların ilerleyici birikimi ve okside LDL alımları aterosklerotik lezyonların gelişimine sebep olur. Makrofajlar bir kez lezyona yerleştikten sonra, kendileri de pek çok biyolojik madde salgılayarak, yeni makrofajların gelmesini, düz kas hücreleri, fibroblast ve monositlerin çoğalmasını ve bağ dokusu sentezini uyarırlar. Makrofajlar, aterosklerotik plaktaki temel inflamatuvar hücrelerdir. Her ne kadar düz kas hücreleri de lipoproteinleri depolasa da bu olaydan asıl sorumlu hücreler makrofajlardır. Aterosklerotik plaktaki makrofajın ömrü kesin olarak bilinmemektedir. Fakat bu hücreleri bekleyen olası iki durum vardır. Ya plak içinde ölür ve diğer makrofajlar tarafından fagosite edilirler, ya da plak üzerindeki endotelin sıyrılmasıyla kana karışır ve dalak ile lenf düğümleri tarafından dolaşımdan temizlenirler (32, 36).

d) Trombositler

Aterogenezin hemen her aşamasında lezyon üzerinde trombosit kümeleri veya mural trombüsler görülebilir. Çekirdeksiz hücreler olduklarından protein üretememelerine karşın, trombositler içerdikleri granüllerde (α granüller) çok sayıda değişik mitojenler, sitokinler ve vazoaaktif maddeler taşırlar. Endotel hasarında olduğu gibi herhangi bir biçimde tetiklenen trombosit aktivasyonu ve agregasyonu, sonuçta degranulasyona ve bu maddelerin salıverilmesine neden olur. Büyük olasılıkla bu

mekanizma aterogenezde rol oynamaktadır. Yüksek katekolamin düzeyi, stres ve sigaranın, trombosit agregasyonunu artırarak, bu mekanizmayı hızlandırdığı düşünülmektedir. Yine de, trombositlerin asıl etkisi, aterosklerozun bu erken evrelerinde değil, ilerlemiş lezyonun tehlikeli bir komplikasyonu olan trombüs oluşumundadır (34).

d) Adipositler

Adipositler, adventisyada sık bulunurlar ve arteri çevreleyen gevşek bağ dokusundaki majör hücre tipidirler. Lokal fibroblastlardan kaynaklanırlar ve bunların sayısı ve büyüklükleri, beslenme durumuna bağlıdır (35).

2.4. Aterosklerozun Patogenezi

Ateroskleroz, aterosklerotik plaklar adı verilen, damar lümenini daraltan intima yerleşimli yağlı fibröz lezyonların oluşumuyla karakterize olup media ve adventisyada dejeneratif değişikliklerle birlikte. Plakların bazıları büyük ölçüde fibröz yapıda, bazıları ise lümende daralmayı arttıran, yanda lümende tıkanmaya neden olan ikincil komplikasyonlara yol açan (kalsifikasyon, üzerinde trombozis gelişen ülserasyon ve plak içi kanama) yumuşak, yağlı yapıdadır (37, 38). Ana yapı elemanı fibröz doku olmakla birlikte, lezyonun %45'den fazlası lipidlerden, özellikle de kolesterolden oluşur. Bu kolesterol, lokal sentezden değil, hemen tümüyle kandan türemiştir. Ateroskleroz elastik arterlerin (aorta, karotis, iliak vb.) ve orta genişlikte musküler arterlerin (koroner, popliteal arterler) hastalığı olup, nadiren küçük arterler de tutulur. Arter duvarlarının kalınlaşp elastikliğini kaybettiği arter hastalıklarından bir grubunu oluşturur (22).

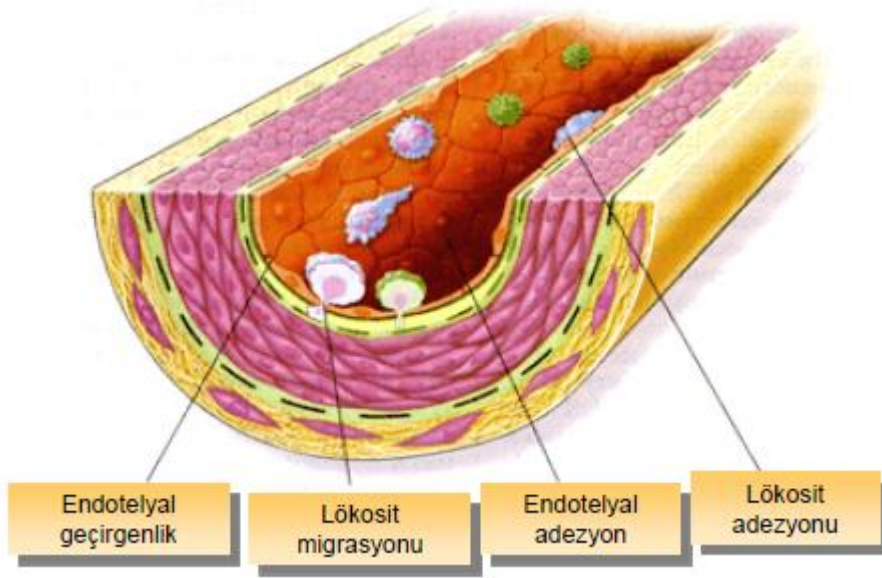
Aterosklerotik süreci hangi olayın ya da olaylar dizisinin başlattığı bilinmemektedir. Aterosklerozun patogenezi için çok sayıda teori öne sürülmüştür. Öne sürülen teoriler; hasara yanıt teorisi (39), değişime uğramış lipoprotein teorisi (40),

düşük yoğunluklu lipoproteinlerin tutulması teorisi (41), hemodinamik bozukluklar teorisi (42) ve immünolojik teoridir (43).

Bu teoriler içinde en yaygın kabulü “hasara yanıt” (“response to injury”) teorisi görmektedir. Ross ve Glomset adlı araştırmacılar tarafından 1976 yılında ortaya atılan bu teoride olayları endotel disfonksiyonu başlatmaktadır (15,18). Metabolik, mekanik, toksik, immünolojik olaylar ile infeksiyonlar endotel disfonksiyonuna neden olurlar. Bilinen risk faktörlerinin hemen hepsi (sigara, hipertansiyon, diyabet, hiperkolesterolemi, okside LDL, kolesterol) endotelde işlevsel bozukluğa yol açabilir. Disfonksiyon, tek hücre sırasından oluşan bu tabakanın kan ile damar duvarı arasında bariyer oluşturabilmesi için seçici geçirgenliğini ve antitrombotik yapısını bozar. Bunun sonucunda gelişen inflamatuvar ve proliferatif olaylar dizisi aterosklerotik plağın oluşmasına neden olur (44).

Endotel disfonksiyonu, önemli hücrel etkileşimlere neden olmakta ve aterosklerotik lezyon gelişimine yol açmaktadır. Endotelyal dengenin bozulmasıyla, endotel geçirgenliği, vazokonstriksiyon, koagülasyon kaskadı, inflamatuvar ve immünolojik reaksiyonlar tetiklenir (45,46).

Endotel disfonksiyonu ile birlikte, endotel permeabilitesinde değişiklikler, endotele lökosit adezyonunun artmasına, adezyon molekülleri (ICAM-1; Hücrelerarası adezyon molekülü, VCAM-1; Vasküler hücre adezyon molekülü), sitokinler (IL-1; İnterlökin-1, TNF- α ; Tümör nekroz faktörü alfa), kemokinler (MCP-1; Monosit kemotaktik protein-1, IL-8; İnterlökin-8) ve büyüme faktörlerinin (PDGF; Platelet kökenli büyüme faktörü, bFGF; Temel fibroblast büyüme faktörü) salınmasına neden olur (47). Bu sitokinler ve adezyon molekülleri, lökositlerin damar duvarından hücrelerarası alana girişlerini düzenlemektedirler. Salgılanan çekici maddeler ile lezyonlu alana göç eden monositler inflamatuvar sitokinler salgırlar. IL-1 β , TNF- α gibi sitokinler, endotele daha çok lökosit ve LDL bağlanmasına neden olmanın yanında protrombojenik bir özellik de verirler (Şekil 2.2) (39, 47, 48).

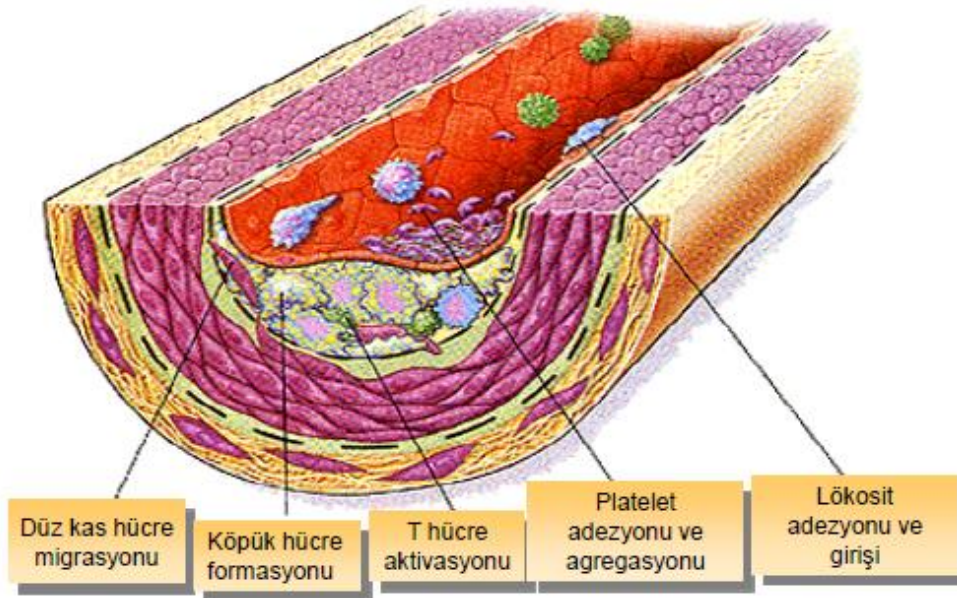


Şekil 2.2. Endotel disfonksiyonu (48)

Erken lezyon oluşumu için çok önemli değişikliklerden birisi, damar hücrelerinin oksidatif hasara maruz kalmasının bir sonucu olan LDL oksidasyonudur. LDL'nin oksidasyonu, lizofosfatidilkolin gibi modifiye lipidlerin salınımına yol açar. Bu lipid türlerinin bazıları, endotel hücrelerini aktive eden sinyal molekülleri olarak rol oynayabilir. Bu durum, lökosit adhezyon molekülü olan, VCAM-1'in ekspresyonuna yol açar. VCAM-1, monositler ve T lenfositleri için bir reseptördür. LDL'nin oksidasyonu monositler, makrofajlar, nötrofiller, endotel hücreleri, fibroblastlar ve düz kas hücrelerinde oluşmaktadır. Okside LDL (Ox-LDL), normal arterlerde bulunmayıp sadece makrofajlarda aterosklerotik lezyonlarda bulunmaktadır. Vasküler hücrelerde oksidatif stres ve süperoksit anyonunun artması LDL'nin Ox-LDL'ye dönüşümünü arttırmaktadır. Kronik hiperlipidemide dolaşımdaki LDL endotel hücreleri tarafından oluşturulan engeli geçerek, endotel altında birikmeye başlar. Buradaki matrikste bulunan proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar, LDL ile etkileşerek birikimini sağlarlar. İntimada matrikse bağlı olarak tutulmakta olan LDL, endotel ve düz kas hücreleri ile makrofajlar tarafından okside edilir. Bu ilk aşamadaki LDL'ye yapısındaki apo B-100 değişmediğinden çok az değiştirilmiş LDL (minimally modified LDL; mmLDL) adı verilir. Okside LDL'de apo B-100'de değişmiştir ve bu lipoprotein de

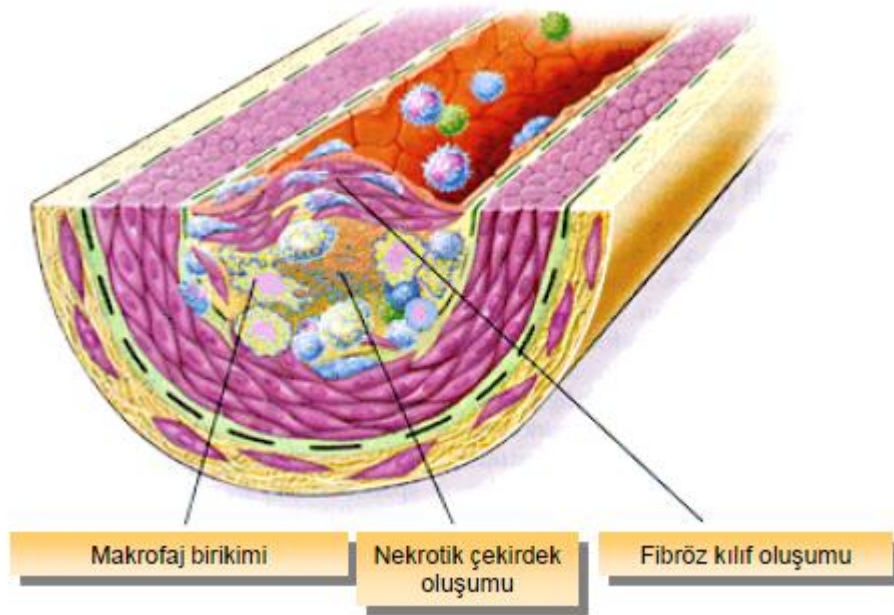
monosit ve lenfositler için kemotaktik maddelerin yapımını uyarır. Okside LDL'nin makrofajlar tarafından fagosite edilmesi 'scavenger' (çöpçü) reseptörler aracılığıyla olur. Bu şekilde alınan LDL, makrofaj içinde kolesterol esterlerine dönüşerek birikmesi sonucu köpük hücrelerini oluşturur (49-53).

Endotel hücreleri altına yerleşen makrofaj köpük hücreleri ve T hücrelerinden oluşan bu karakteristik lezyon, aterosklerozun ilk lezyonu olarak bilinen yağlı çizgidir. Yağlı çizgi içerisindeki T hücreleri aktive olurlar ve damar duvarının kendi hücreleriyle birlikte çeşitli sitokinler (tümör nekrozis faktör-beta, gama interferon), fibrojenik mediatörler ve büyüme faktörleri salgırlar. Bunlar düz kas hücre göçü ve proliferasyonunun gerçekleşmesine aracılık ederler ve etraflarında yoğun bir ekstraselüler matriks oluşmasını sağlarlar. Media tabakasındaki düz kas hücreleri inflamatuvar uyarıya yanıt olarak, özelleşmiş enzimleri vasıtasıyla elastin ve kollajeni yıkar. Böylece düz kas hücreleri internal elastik laminayı aşarak intima altına göç ederler. Aynı zamanda bu düz kas hücreleri, daha fazla monosit toplanmasını sağlayan faktörler salgırlar (Şekil 2.3) (48, 54, 55).



Şekil 2.3. Yağlı çizgi lezyon gelişimindeki başlangıç olaylar (48)

Sonuçta, ateroskleroz lezyonunun en ileri biçimi olan, lipidler ve nekrotik dokudan oluşan çekirdek ile bunu örten fibröz kılıfla karakterize fibröz plak oluşur. Nekrotik çekirdek, lipid içeriğini plağa boşaltarak apoptoz ve nekroza uğrayan makrofajlardan oluşmaktadır. Fibröz kılıfta ise mediadan intimaya göç eden düz kas hücreleri, kollajen fibrilleri, elastin, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar bulunur (Şekil 2.4). Aterosklerotik plaklarda, fibröz plağın yırtılması ile komplike lezyonlar oluşur. Koroner ateroskleroza bağlı morbidite ve mortalite esas olarak komplike lezyonlardan kaynaklanmaktadır (48, 56, 57).



Şekil 2.4. Nekrotik çekirdek ve fibröz kılıf oluşumu (48)

2.5. Aterosklerotik Plak ve Aterosklerozun Lezyonları

Lipidler hücre dışında birikmeye başladığında aterogenez yağlı çizgi evresini geçmiş demektir. Oksidasyona uğrayan LDL sadece aterosklerotik plaklarda bulunur, normal intimada bulunmaz. Lipidlerin hücre dışı birikiminden iki mekanizma sorumludur; kandaki aterojenik lipoprotein parçacıkları proteoglikandan zengin

ekstrasellüler matriks tarafından tutulurlar ve/veya köpük hücrelerinin ölümünden sonra bu hücrelerden açığa çıkabilir. Makrofajlar plak içinde çoğalır ve ölürlür. Denge; lezyonun ilerleyen, sessiz veya gerileyen tipte olmasına bağlıdır (58,59).

Yağlı çizgi evresini geçmek sadece lipid birikimiyle olmaz. Düz kas hücrelerinin ürettiği bağ dokusu da birikerek oldukça heterojenik aterosklerotik lezyonların oluşumuna yol açar. Bazı plaklar lipidden zenginken bazıları da lipidden fakirdir ve morfolojileri farklı komşu plaklar oluşabilir (60). Endotel, aterogenezin erken döneminde sağlamdır. Ancak daha sonra olgun plaklarda üzerlerine trombositlerin yapıştığı yüzeyel köpük hücre infiltrasyonuna bağlı olan disfonksiyone alanlar görülür. Sonrasında endotele yapışan trombositlerden büyüme faktörleri salınır ve mikrotrombüsler plaktaki düz kas hücrelerinin daha çok bağ dokusu matriksi üretmelerini uyarırlar. Disfonksiyone endoteldeki sızıntı nedeniyle sadece lipoproteinler değil kandan kaynaklanan albümin ve fibrinojen gibi birçok bileşen de gelişen lezyonda yer alır (61).

İlerlemiş plaklar lümen daralmasına yol açarak semptomatik olabilirler. İlerlemiş plakların bir grubu düz kas hücrelerinin aracılık ettiği iyileşme ve tamir işlevleri ve kalsifikasyon ile kararlı hale gelerek yırtılmaya karşı dirençli olurlar. Bu kararlı plaklar stabil koroner sendromların en sık nedenidir (62).

İleri lezyonların diğer bir grubu olan hassas plaklar ise lümen trombozuna neden olabilecekleri için özellikle tehlikelidir. Hassas plağın yırtılıp üzerine trombüs eklenmesi kararsız angina, akut miyokard infarktüsü ve ani koroner ölüm gibi akut koroner sendromların en sık sebebidir (61).

Plağın yırtılma riski plak büyüklüğünden çok plak tipine bağlıdır. Lipidden zengin ve yumuşak plaklar kollajenden zengin ve sert plaklara göre daha hassas ve yırtılmaya daha yatkındırlar. Üstelik doku faktör içeriğinin yüksek olması nedeniyle plaklar yırtıldıktan sonra daha trombojenik olurlar. Plağın yırtılmaya hassas olması üç faktöre bağlıdır; lipidden zengin çekirdeğin büyüklüğü, plak yıkımıyla oluşan inflamasyon ve düz kas hücrelerinin eksikliği ile iyileşmenin bozulmasıdır. Plak büyüklüğü ve darlığın şiddeti ise plak hassasiyeti konusunda hiçbirşey ifade etmemektedir (63, 64).

Aterosklerotik süreci kategorize etmek amacıyla, ateroskleroz lezyonlarının ilerleme sürecindeki morfolojik ve fizyolojik değişikliklerle, klinik sonuçlar

bütünleştirilerek 1995 yılında Amerikan Kalp Birliği (American Heart Association, AHA) tarafından lezyonlar sekiz farklı tipe ayrılmıştır (65).

Tip I Lezyon: En erken evrede görülen lezyonlardır. Minör lipid birikimi ve seyrek makrofaj kökenli köpük hücreleri ile karakterizedirler. Koroner arterlerde bu lezyonlar çoğunlukla adaptif intimal kalınlaşmalar ile birlikte bulunurlar (34).

Tip II Lezyon: Makrofaj kökenli köpük hücreleri tip II lezyonlarda daha fazla sayıda bulunurlar ve arterlerin iç yüzeyinde sarı, yüzeyden kabarık olarak yağlı çizgilenmeler şeklinde görünürler. Bu lezyonlar az miktarda T hücreleri, mast hücreleri ve lipid ile dolu düz kas hücrelerini de ihtiva ederler(34).

Tip III Lezyon: Patolojik olarak aterosklerotik plak veya ateromun ilk olarak fark edildiği evredir. Tip II lezyonlarla arasındaki en önemli fark, küçük ekstrasellüler lipid birikintilerinin varlığıdır. Lipid birikintileri, ekstraselüler matriksi genişletir ve intimanın hücrel organizasyonunu bozar. Tip III lezyonların varlığının, ileride ortaya çıkabilecek klinik hastalığı öngördüğüne inanılmaktadır (34).

Tip IV Lezyon: Tip IV lezyonlarda ekstraselüler lipid miktarı, kolesterol birikintileriyle dolu hücreden yoksun bir havuz oluşturacak şekilde artmıştır. Lipid çekirdek inflamatuvar hücreler tarafından çevrelenmiş olup düz kas hücreleri ile bağ dokudan oluşan ince bir tabaka ile kaplanmıştır. Adventisyal vaza vazorumlar, plağın derin kısımlarına doğru gelişmeye başlar. Bu evrede arter, lümen volümünü korumak amacıyla yeniden şekillenir. Damarın dış konturu oval hale gelir ve bu nedenle bu lezyonların anjiyografi ile görüntülenmeleri zordur (34).

Tip V Lezyon: Tip IV lezyonlardaki, lipid çekirdeği kaplayan fibröz dokunun artışı ile karakterizedir. Buradaki fibrozise, çoğalan kollajen, proteoglikanlar gibi ekstraselüler matriks proteinlerini salgılayan düz kas hücreleri neden olmaktadır. Kollajen, genellikle bu lezyonların baskın özelliği haline gelmektedir ve plak hacminin çoğunu oluşturmaktadır. Plak içine kılcak damar gelişimi, tip IV lezyonlarla kıyaslandığında daha belirgindir. Tip V lezyonlar genelde, arterin yeniden şekillenme ile kompanse

edebileceğinden çok daha büyük olduğundan, lümen daralmasına neden olurlar. Plak rüptürlerinin çoğu bu tip lezyonlarda ortaya çıkmaktadır. Rüptüre açık tip V lezyonlarda tipik olarak, plak ve çevre normal intima arasındaki sınır bölgesinde ince bir fibröz tabaka bulunmaktadır (34).

Tip VI, VII, VIII Lezyonlar: Tip VI lezyonlar, trombotik birikintiler veya kanama ihtiva eden plaklardır. Tip VI lezyonların oluşmasındaki en önemli neden plak rüptürüdür. Subendotelial fibröz dokuda yırtılmalar ve ülserasyonlar sık olarak görülmektedir (34).

Tip VII ve tip VIII lezyonlar, çok az miktarda lipid içeren ya da hiç lipid içeriği olmayan, kalsiyum birikintileri (tip VII lezyonlar) veya baskın olarak kollajenden (tip VIII lezyonlar) oluşan ileri evredeki plaklardır. Tip VIII lezyonlar, tip V ve VI lezyonlara göre daha kararlıdır (34).

2.6. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri

Risk faktörü bireyde hastalığın gelişme şansını belirleyen bir özelliktir. Bir hastalık sebebi de olabilirler. Klinik çalışmalarla, risk faktörlerinin modifikasyonunun hastalığı önlediği (primer önleme) veya mevcut hastalığın ilerlemesini durdurduğu ve geriletmediği gösterilmiştir. Risk faktörlerinin tanımlanması ve bunların tedavisi asemptomatik kişilerde KAH'nın önlenmesi (primer koruma) ve KAH olan kişilerde tekrarlayan olayların önlenmesi (sekonder korunma) için gereklidir (66).

Framingham çalışmasının 1961 yılında yayınlamış oldukları 6 yıllık takip sonuçları ile KAH için risk faktörleri belirlenmiştir. Risk faktörleri, geleneksel risk faktörleri ve değiştirilebilir risk faktörleri olarak sınıflandırılır (66).

2.6.1. Geleneksel Risk Faktörleri

Geleneksel risk faktörleri; yaş, cinsiyet ve aile öyküsüdür.

a) Yaş: Ateroskleroz oluşumu yaşla birlikte artmaktadır. KAH için majör risk faktörleri olmadığı takdirde 45 yaşın altında ateroskleroza ait klinik bulgu saptanması nadirdir. 1993 yılında toplanan Ulusal Kolesterol Eğitim Programı'nın yayınladığı yetişkinlerde tedavi paneli II'de erkeklerde 45, kadınlarda 55 yaşın üzerinde olmanın risk faktörü olduğu bildirilmektedir (67).

b) Cinsiyet: Ateroskleroz oluşumu olasılıkla hormonal etkileşimler sonucunda, erkeklerde daha sık ve daha genç yaşta klinik bulgu vermektedir. Aterosklerotik damar hastalığı erkeklerde 10-20 yıl daha erken başlamakta olup sıklığı kadınlardan 3-6 kat daha fazladır. Menapoz yaşından sonra ise KAH sıklığı erkek ve kadında eşit duruma gelmektedir (67).

c) Aile Öyküsü: Birinci derecede erkek akrabalarda 55 yaşından, birinci derecede kadın akrabalarda 65 yaşından önce infarktüs veya ani ölüm bulunması risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Yapılan birçok çalışmada aile öyküsünün önemli bir risk faktörü olduğu saptanmıştır. KAH gelişmesi için, yüksek risk taşıyan ailelerde hiperlipidemi, düşük HDL düzeyi, hipertansiyon, KAH için aile öyküsü veya prematüre KAH için aile öyküsünden en az biri mevcuttur (68).

2.6.2. Değiştirilebilir Risk Faktörleri:

a) Dislipidemi: Yüksek serum total kolesterol (TK) ve LDL kolesterol düzeyleri ile düşük HDL kolesterol düzeyi KAH için bağımsız risk faktörüdürler. Kanıtlar, LDL kolesterolün primer aterojenik faktör olduğunu desteklemekte olup, kılavuzlar lipid düşürücü tedavide LDL kolesterolü primer hedef olarak göstermektedir (69,70).

Lipoproteinlerin çeşitli reseptörler vasıtası ile dolaşımdan, vücut sıvılarından ve interstisyel boşluklardan alınmalarından sonra, içerdikleri kolesterol ve trigliseridler

farklı yollarla metabolize olurlar. Trigliseridler adipoz ve kas dokularına taşınarak yağ asitleri olarak depolanır veya enerji üretimi için okside olurlar. Kolesterol ise karaciğer, barsak ve diğer ekstrahepatik dokular arasında devamlı olarak taşınır. Yüksek LDL kolesterol seviyeleri, aterosklerozun tüm evrelerinde rol almaktadır. Plazmada yüksek LDL kolesterol seviyelerinin mevcudiyeti, LDL partiküllerinin arter duvarında oksidasyonuna ve çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin sekresyonuna neden olur. Bu olayların sonucunda okside LDL tarafından endotel hücre fonksiyonları bozulmaktadır (71,72).

Serum kolesterol seviyeleri ile KAH riski arasındaki ilişki doğrusal olup, kolesterol düşürücü tedavinin KAH riskini azalttığını gösterilmiştir. Güçlü LDL düşürücü ajanlar olan statinler ile yapılan çalışmaların sonucunda, LDL kolesterol düzeyinin düşürülmesi ile majör koroner olaylarda belirgin bir azalma gözlenmiştir. Düşük plazma HDL kolesterol düzeyleri ile koroner olay gelişme riski arasında da güçlü bir ilişki olup, HDL kolesterolde ortalama 1 mg/dl düşme, KAH riskini %2-3 artırmaktadır. Genetik faktörler, yaşam tarzı, sigara, fiziksel inaktivite ve obeziteye yol açan aşırı kalori alımı düşük HDL kolesterol düzeyleriyle ilişkilidir. Bunların yanısıra beta blokörler, anabolik steroidler ve progestasyonel ajanlar gibi ilaçlar da HDL kolesterolü düşürmektedir. Nikotik asit, fibratlar ve statinler ise HDL kolesterol düzeyini yükseltmektedirler (70,73-75).

Son meta-analizler trigliserid yüksekliğinin koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur. Obezite ve kilo fazlalığı, fiziksel aktivite azlığı, aşırı alkol alımı, aşırı karbonhidratlı beslenme (toplam enerji tüketiminin %60'ından fazlası), diyabet, kronik böbrek yetersizliği, nefrotik sendrom gibi hastalıklar, kortikosteroidler, östrojenler, retinoidler, yüksek doz beta bloker gibi ilaçlar ve ailevi kombine hiperlipidemi, ailevi hipertrigliseridemi, ailevi disbetalipoproteinemi gibi genetik bozukluklar trigliserid yüksekliğine neden olurlar. Trigliserid yüksekliği de sıklıkla metabolik sendromun bir ögesi olarak karşımıza çıkar (73,74).

b) Sigara: Sigara tüketimi, koroner arter hastalığı açısından tek, en önemli değiştirilebilir risk faktörüdür. Sigaranın lipid profili üzerine olumsuz etkileri vardır.

Sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında, sigara içenlerde HDL düzeyleri daha düşük, LDL ve trigliserid düzeyleri daha yüksek saptanmıştır (76-78).

Sigara kan basıncında değişikliklere yol açmaktadır. Sigaranın akut inhalasyonu kan basıncında düşmeye neden olmaktadır. Bunun sebebi olasılıkla sigara içenlerde vücut ağırlığının daha az olmasından kaynaklanmaktadır (79,80).

Yapılan bir meta-analizde sigara içmeyen bir kişinin, sigara dumanına pasif maruz kalmasının kardiyak riski %20-30 artırdığı gösterilmiştir. Sigaranın, ateroskleroz oluşumunda rol oynayan pıhtılaşma faktörleri, trombosit fonksiyonları ve diğer hematolojik parametreler üzerinde olumsuz etkileri saptanmıştır (81).

Yapılan birçok çalışmada sigaranın kardiyovasküler hastalık riskini iki kat artırdığı gösterilmiştir. İçilen sigara miktarı ile bu risk doğrusal olarak artmaktadır. Sigara içenlerde miyokard infarktüsü ve kardiyak ölüm riski, içmeyenlere göre erkeklerde 2.7, kadınlarda 4.7 kat daha fazla bulunmuştur (76).

c) Hipertansiyon: Hipertansiyon, koroner kalp hastalığı için çok önemli bir risk faktörüdür. Bütün aterosklerotik kardiyovasküler olayların %35'inden hipertansiyon sorumludur. Hipertansiyonun bozulmuş endotel fonksiyonu, endotel lipoprotein geçirgenliğinin artışı, artmış oksidatif stres, akut plak rüptürünü tetikleyen hemodinamik stres, artmış miyokardiyal duvar stresi ve artmış miyokardiyal oksijen ihtiyacı gibi mekanizmalarla kardiyovasküler riski artırıcı etkisi mevcuttur (82,83).

Arteriyel kan basıncının yükselmesi, özellikle hiperlipidemili hastalarda, plazmadaki lipidin arterlerin intimal hücrelerine filtrasyonunu artırır. Hipertansiyon ve hiperlipidemi arterlerin intimasının zedelenmesine, bu bölgelerde platelet birikmesine ve düz kas hücrelerinin proliferasyonuna neden olabilir (84).

Koroner kalp hastalığı, hipertansiflerde normotansiflere göre 2-3 kat daha fazladır. Hipertansiyon, kadın ve erkekte, akut miyokard infarktüsü riskini 2-3 kat artırmaktadır. Diyastolik kan basıncında 15 mmHg veya sistolik kan basıncında 25 mmHg'lık yükselme reinfarktüs riskini sırasıyla %40 ve %37 artırmaktadır ve bu durum diğer risk faktörlerinden bağımsızdır (85, 86).

Kardiyovasküler risk açısından daha önceki yıllarda bilinenin aksine sistolik kan basıncı ve nabız basıncı, diyastolik kan basıncı kadar önemlidir. Artık izole sistolik hipertansiyonun da toplam kardiyovasküler mortalite ve inme sonuçları açısından diyastolik kan basıncı kadar önemli olduğu bilinmekte ve etkili şekilde tedavisi önerilmektedir. Yine sistolik ve diyastolik kan basıncı arasındaki fark olarak tanımlanan nabız basıncı da kardiyovasküler olay açısından artmış riskle ilişkilidir. Hipertansiyonda koroner kalp hastalığı riskinin arttığını gösteren etkenler şunlardır; nabız basıncında artış, mikroalbüminüri (günde 30-300 mg), hiperürisemi, sol ventrikül hipertrofisi, dislipidemi, diyabet, obezitenin varlığı ve C-reaktif protein yüksekliğidir (82, 86).

d) Diabetes Mellitus: Diabetes Mellitus (DM), KAH için bağımsız bir risk faktörüdür. DM tek başına majör risk faktörü olmasının yanısıra hipertansiyon gibi diğer majör risk faktörleriyle de birliktedir. Normal bireylerle karşılaştırıldığında, dislipidemi ve hipertansiyon diyabetik hastalarda daha sık görülmektedir. Diyabetik hastalarda özellikle HDL düzeyinin düşük olması ile hipertansiyon riski daha da artmaktadır. DM'li hastalarda koroner olayların nedeni çok çeşitlidir. Bu nedenlerin içinde trombosit agregasyonunda artış önemli bir yer tutmaktadır (87).

Hem DM'li hem de glukoz tolerans bozukluğu olan hastalarda, ateroskleroz gelişmesine yol açan diğer önemli bir faktör de hiperinsülinemidir. Çok sayıda epidemiyolojik ve klinik çalışmada hiperinsülinemi ve insülin rezistansı bulunan olgularda KAH sıklığının arttığı gösterilmiştir. İnsülin bir büyüme faktörüdür ve düz kas hücreleri ve fibroblastlar tarafından lipid alınımını artırdığı gösterilmiştir. Hipertansiyon ve obezitenin de DM ve glukoz tolerans bozukluğu ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Glukoz tolerans bozukluğu olan hastalarda hipertansiyon sıklığının ikiye katlandığı tesbit edilmiştir. Diyabetik hastalarda, başka risk faktörleri de varsa KAH riski katlanarak artmaktadır (88).

e) Fiziksel İnaktivite: Uzun süreli fiziksel aktivitenin ideal kilonun ve kas kitlesinin idamesi için önemli olduğu bilinmektedir. Ayrıca egzersiz normal kan basıncının idamesinde ve lipid değerlerinin optimum regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Düzenli egzersiz yapan hastalarda ani kardiyak ölüm riskinin azaldığı rapor edilmektedir (3).

Birçok epidemiyolojik çalışmada kalori alımı ile KAH arasında ters bir ilişki olduğu ortaya konmuştur. Yapılan araştırmalarda fiziksel olarak ideal şartlara sahip olmayanlarda ise yüksek saptanmıştır (3).

Fiziksel inaktivite, DM ve hipertansiyon oluşumunu hızlandırarak, kollaterallerin gelişimini yavaşlatarak da KAH'da dolaylı olarak rol oynar (3).

Fiziksel aktivitenin ise KAH riskini azaltıcı etkisi multifaktöriyeldir. Düzenli egzersiz hem sistolik hem de diyastolik basıncı azaltmaktadır. Düzenli egzersiz kardiyak outputu arttırmakta ve sistemik vasküler rezistansı azaltmaktadır. Fiziksel aktivitenin lipid profili üzerine olumlu etkisi vardır. Yoğun egzersizin total kolesterol ve LDL'yi düşürdüğü ve HDL'yi arttırdığı gösterilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda fiziksel inaktivite KAH için bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir (89).

f) Obezite: Obezitenin Framingham kalp çalışmalarında bağımsız bir risk faktörü olduğu ortaya konmuştur. Obezite bunun dışında hiperkolestolemi, hipertansiyon, DM ve ürik asit yüksekliğine de zemin hazırlamaktadır. Obezitesi ve santral obezitesi olan bireylerde mortalite oranının yüksek olduğu bildirilmektedir. Vücut kitle indeksi (VKİ, ağırlık (kilo)/boy'un(m) karesi) obezitenin tanımlanmasında kullanılan en ideal kriter olarak kabul edilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan sınıflamada VKİ:18.5-24.9 normal, 25-29.9 kilo fazlalığı, ≥ 30 obezite, ≥ 40 kg/m² ileri derecede obezite olarak tanımlanmaktadır (90).

Obezitenin sigara hariç diğer koroner risk faktörlerinin her biri ile doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir. Sigara içenlerde olasılıkla sigaranın iştah üzerine olumsuz etkisi nedeniyle daha düşük olarak saptanmıştır. Obezite ile en güçlü korelasyon kan basıncı yüksekliği, hipertrigliseridemi ve düşük HDL düzeyleri arasındadır (91).

Birçok ülkede yapılan çalışmalarda koroner risk faktörü olarak yağ dağılımının önemi gösterilmiştir. Kadın ve erkeklerde yağ dağılımı paternleri hormonal değişikliklere bağlıdır. Kadınlarda bel-kalça oranı androjen seviyeleri ile pozitif ilişkilidir. Bel-kalça oranındaki artış hipertansiyon, hiperkolestrolemi, fibrinojen düzeylerinde yükselme ve hipertrigliseridemi ile birlikte dir. Vücut kitle indeksinde artış ve bel-kalça oranında artış veya santral obezite, KAH riskinde arttıran bir faktör olarak gösterilmektedir (90).

2.6.3.Yeni Kardiyovasküler Risk Faktörleri

a) Homosistein: Homosistein, sülfür içeren bir aminoasit olup esansiyel bir aminoasit olan metiyonin metabolizmasının yan ürünüdür. Diyetle alınan metiyonin vitamin B6 ve B12 kofaktörleri ile homosisteine dönüştürülür (92).

Dolaşımda yüksek düzeylerde homosistein ateroskleroz ve tromboembolik olaylarla ilişkilidir. Mekanizmalar arasında; endotel disfonksiyonu, LDL oksidasyonunda hızlanma, akım bağımlı endotel kaynaklı gevşetici faktör bozukluğuna bağlı arteriyel vazodilatasyonda azalma, trombosit aktivasyonu, proinflamatuvar cevaba yol açan monosit kemoatraktan protein ve interlökin 8 üretiminde artış ve oksidatif stres yer alır (93,94).

Yapılan çalışmalarda kardiyovasküler risk faktörleri için düzeltme yapıldıktan sonra homosistein düzeyinin %25 azalması kardiyovasküler olay riskini %11, inme riskini %19 oranında azaltmaktadır. Homosistein yüksekliğine bağlı KAH riskinin hipertansiyon, sigara, diyabet ve kronik renal yetmezlik varlığında daha yüksek olduğu saptanmıştır (95).

b) İnflamatuvar Belirteçler: Kardiyovasküler riski belirleme yönünden en çok incelenen inflamatuvar belirteçler C-reaktif protein (CRP) ve fibrinojen'dir. CRP, karaciğerde üretilen bir akut faz proteindir ve inflamasyonun spesifik olmayan bir biyokimyasal belirtecidir. CRP, inflamasyon, infeksiyon ya da doku yaralanması

durumlarında, IL-6 gibi sitokinlerin uyarısı ile karaciğerden salgılanır. Sitokinlerden farklı olarak yarılanma ömrünün uzun olması (19 saat) ve sirkadiyen değişiklikler göstermemesi, tanısal bir test olarak kolaylıkla kullanılmasını sağlar (96).

Komplemanı bağlayıp etkinleştirmesi, hücre adezyon moleküllerinin ve doku faktörünün yapımını uyarması, LDL'yi opsonize ederek endotel makrofajları tarafından fagosite edilmelerini sağlaması, arter duvarına monositlerin göçünü tetiklemesi ve monosit kemotaktik protein-1'in üretimini artırması, CRP'nin aterosklerozda dolaysız olarak üstlendiği işlevlerdir. Yüksek duyarlılık CRP'nin (Hs CRP); miyokard infarktüsü (MI), inme, periferik arter hastalığı (PAH) ve ani ölüm riski ile bağımsız olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir. Artmış Hs CRP düzeyi, tekrarlayan koroner olaylar, anjiyoplasti sonrası trombotik olaylar, kararsız angina pectoris ve koroner bypass sonrası kötü prognozla ilişkilidir (97).

Fibrinojen, glikoprotein yapıda karaciğerde sentezlenen CRP gibi bir akut faz reaktanıdır. Trombin gibi pıhtılaşma faktörlerinin aktivasyonu, trombosit agregasyonu ve düz kas hücre proliferasyonunu stimüle eder. Hipertansiyon, diyabet, sigara, obezite, hiperlipidemi ve menopoz gibi risk faktörleri yüksek fibrinojen düzeyleri ilişkili bulunurken yüksek HDL düzeyleri, egzersiz ve hormon replasman tedavisi ile fibrinojen düzeyleri düşük bulunmuştur. CRP ile karşılaştırıldığında fibrinojen düzeyi ölçümü klinikte sınırlı olarak kullanılmaktadır (97-99).

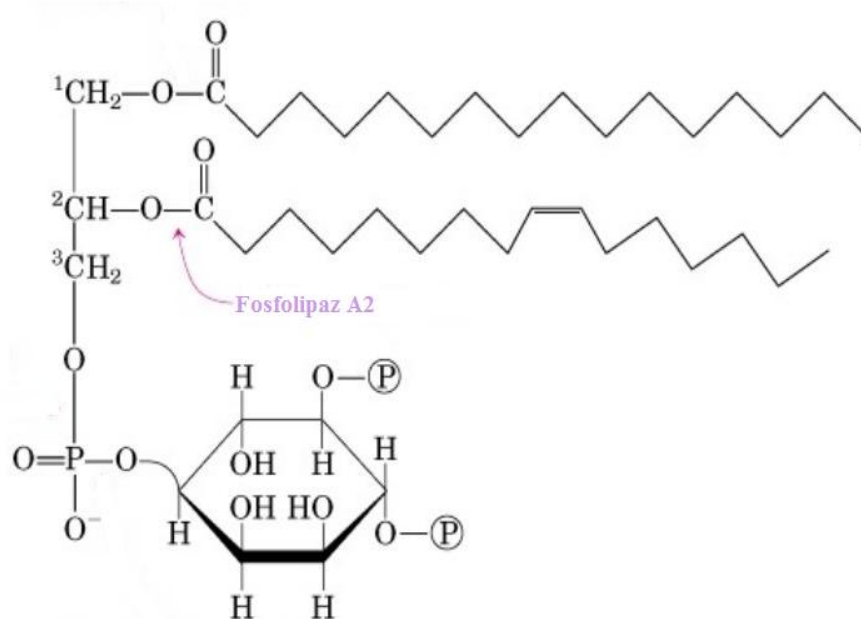
c) Lipoprotein (a): Lp (a), disülfid bağı ile apoprotein a polipeptid zincirine bağlanmış olan LDL partikülünden oluşmaktadır. Lp (a) plazminojen için yarışmalı bir inhibitör olup endojen fibrinolizisi baskıladığı öne sürülmüştür. Yüksek Lp (a) seviyesi ile kardiyovasküler hastalık, MI, beyin damar hastalığı, periferik damar hastalığı, balon anjiyoplasti sonrası restenoz veya safen ven bypas greft operasyonu sonrası restenoz arasında bağımsız bir ilişki olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (100).

d) İnfeksiyon Ajanları: Klasik risk faktörlerinin yanında infeksiyonlarda endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda klasik risk faktörleri bulunmasa da insanların koroner arter hastalığına yakalandıkları görülmektedir. Bu grup hastalarda aterosklerozdan sorumlu tutulabilecek etkenler arasında virüs ve bakteriler de dikkati çekmektedir. Hem virüslerin hem de bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların aterosklerotik plakların ilerlemesinde rol aldıkları düşünülmektedir. Özellikle Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, herpes simplex virus, Cytomegalo virus ve Coxsaki virüsler başlıca suçlanan patojenlerdir (101).

2.7. Koroner Arter Hastalığında Yeni Bir Risk Faktörü: Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2

2.7.1. Fosfolipaz A2 Enzim Ailesi

Fosfolipaz A2 (PLA2; EC 3.1.1.4) fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilserin (PS) ve fosfatidilinozitol (PI) gibi fosfolipidlerin spesifik olarak sn-2-açıl grubunun hidrolizini katalizler (Şekil 2.5) (102,103).



Şekil 2.5. Fosfolipaz A2'nin fosfolipidleri hidrolizi (103)

Fosfolipaz A2 reaksiyonunun hidroliz ürünleri serbest yağ asitleri ve lizofosfolipidlerdir. PLA2'ler tarafından serbest hale getirilen araşidonik asit (AA; 5,8,11,14-eikozatetraenoik asit) ve oleik asit (OA;9-oktadekanoik asit) gibi yağ asitleri, enerji depoları olmaları açısından önemlidirler ancak bundan daha önemli olarak AA aynı zamanda ikincil mesajcı ve inflamasyon ile sinyal iletiminin kuvvetli mediyatörleri olan eikozanoidlerin prekürsörleri olarak görev yapmaktadır (104,105).

Fosfolipaz A2 hidrolizinin diğer önemli ürünü olan lizofosfolipid, hücre sinyallerinde, fosfolipidlerin yeniden oluşumunda ve membran perturbasyonunda önemlidir. Hücre sinyallerindeki rolüne ilaveten, PLA2'nin yakın zamanda, sistemik ve akut inflamatuvar durumlardan kansere kadar değişkenlik gösteren bir aralıkta çok sayıda patofizyolojik durumda rol aldığı belirlenmiştir (105).

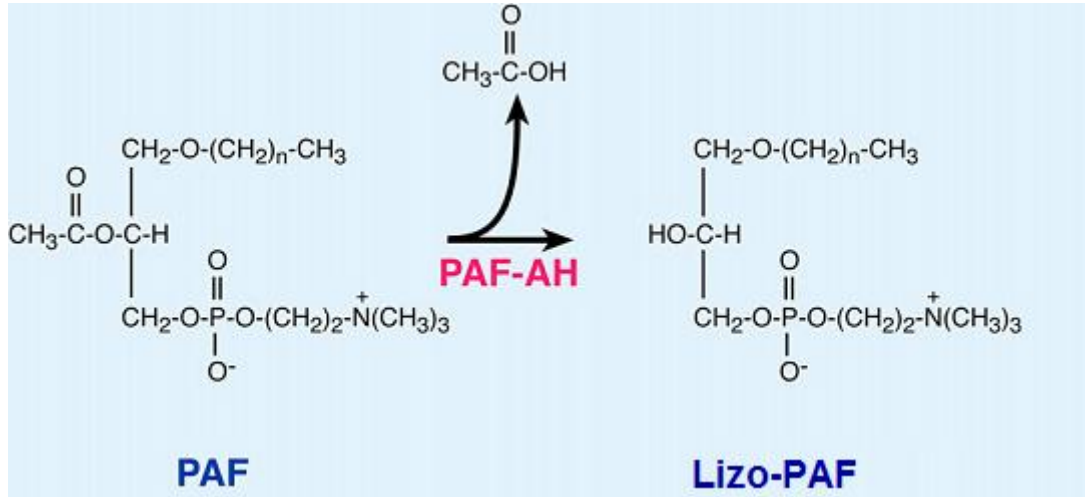
Fosfolipaz A2 akut faz yanıtında, bakteriyel invazyona karşı savunmada önemli bir role sahiptir ve fagositoz, kemotaksis, süperoksid ve lizozomal enzimlerin açığa çıkışı gibi nötrofil fonksiyon değişiklikleri ile ilişkilidir. PLA2 aynı zamanda bakterisidal, permeabilite artırıcı protein ile birlikte lökositlerde bakterilerin öldürülmesinde de rol almaktadır. Polimorf nüveli lökositlerin inflamatuvar yanıtta önemli bir işlevleri, PAF, eikozanoidler gibi mediatörlerin üretilmesidir Bu olaylardaki birinci basamak ise, hücrel fosfolipidlerin PLA2 ile hidrolizidir. Açığa çıkan AA'de, çeşitli sitokinlerin açığa çıkmasına öncülük etmektedir. PLA2 mast hücrelerinden histamin salınımında da bir mediyatör olarak kabul edilmektedir. Kandaki PLA2'nin kaynağının büyük oranda monosit, makrofajlar, trombositler ve tümör hücrelerinin olduğu bildirilmektedir. (104-106).

Fosfolipaz A2 enzim ailesi üç grup altında incelenebilir;

1. Sitoplazmik Ca⁺² bağımlı fosfolipaz A2 (cPLA2) (105)
2. Salgılanan düşük molekül ağırlıklı fosfolipaz A2 (sPLA2) (105)
3. Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 (105)

2.7.2. Lipoprotein İlişkili Fosfolipaz A2

Lipoprotein ilişkili fosfolipaz A2 (Lp-PLA2) (EC: 3.1.1.47) fosfolipaz A2 ailesinin 7. grubudur. Gliserofosfolipidlerin sn-2 pozisyonundan yağ asitlerinin hidrolizini katalizleyen ve araşidonik asit, lizofosfolipid gibi serbest yağ asitlerini oluşturan bir enzim ailesindedir. Lp-PLA2 aktivitesi Farr ve arkadaşları (107) tarafından 1980 yılında gösterilmiştir. Lp-PLA2, Platelet aktive edici faktörde (PAF) hidroliz ettiğinden aynı zamanda platelet aktive edici faktör asetilhidrolaz (PAF - AH) olarak da adlandırılmaktadır. PAF'ın PAF-AH tarafından hidroliz edilmesiyle lizo-platelet aktive edici faktör (Lizo-PAF) oluşur (Şekil 2.6) (9, 108).



Şekil 2.6. PAF'ın PAF-AH tarafından hidrolizi (108)

PAF; Patelet aktive edici faktör, PAF-AH; Patelet aktive edici faktör asetilhidrolaz, Lizo-PAF; Lizo-platelet aktive edici faktör

Şu ana kadar PAF-AH'ın üç izoformu belirlenmiştir. Bunlar;

Plazma PAF-AH (Lp-PLA2)

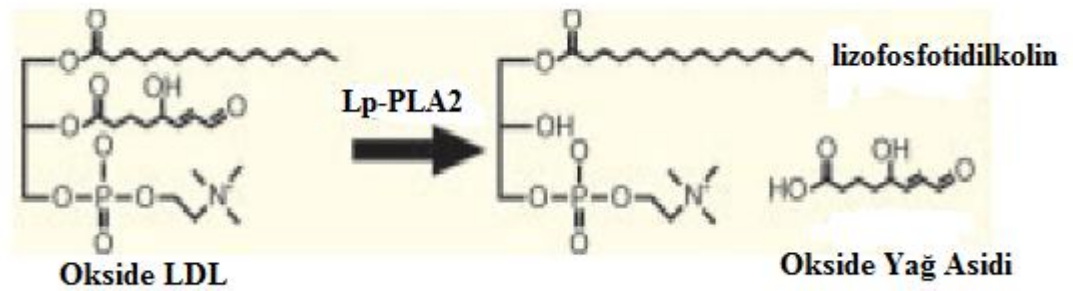
PAF-AHII ve

PAF-AH Ib'dir.

Plazma PAF-AH, lipoproteinlerle karakteristik ilişkisinden dolayı Lp-PLA2 olarak adlandırılmıştır. Lp-PLA2, moleküler ağırlığı 45 kDa olup monomerik bir polipeptittir. PAF-AH ise molekül ağırlığı 40 kDa olan bir intraselüler enzimdir. Bu enzim karaciğer ve böbreklerde yüksek düzeyde eksprese olmaktadır. Lp-PLA2 ile %41 sekuens benzerliği vardır. PAF-AH'ın intraselüler diğer bir formu olan PAF-AH Ib kompleksi, beyinde bulunur. Bu kompleks iki tane $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ 26 kDa katalitik subunitlerden oluşmaktadır. Diğer enzimlerle %3 sekuens benzerliği bulunmaktadır (109, 110).

Lp-PLA2, fosfolipaz A2 enzimlerinin aksine enzimatik aktivite için Ca^{+2} 'a ihtiyaç duymamaktadır. Lp-PLA2, başlıca, monositler ve makrofajlar, T-lenfositler ve mast hücrelerinde bulunmaktadır. Lp-PLA2'nin yaklaşık % 80'inin LDL'ye, % 20'sinin ise HDL'ye bağlandığı gösterilmiştir. Ancak daha sonra, LDL ve HDL partikülleri arasındaki Lp-PLA2 dağılımının daha değişken olabileceği açıklanmıştır. HDL ve LDL partikülleri arasındaki Lp-PLA2 dağılımının plazma Lp-PLA2 aktivitesini etkileyen glikozilasyon boyutuna bağlı olarak değiştiği kanıtlanmıştır (111, 112).

Lp-PLA2 invitro platelet aktive edici faktörü hidroliz edici etkisine ek olarak, arter duvarının etrafında LDL oksidasyonu ile üretilen okside LDL'deki modifiye fosfolipidlerin, lizofosfotidilkolin (LPC) ve okside yağ asitlerine (oxFFA) hidrolizini de gerçekleştirir (Şekil 2.7) (112-115).

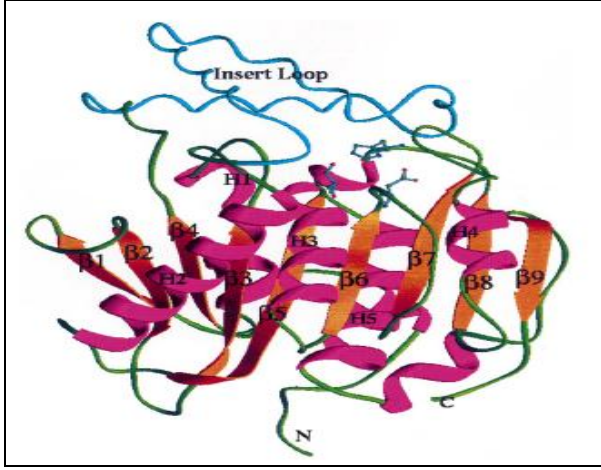


Şekil 2.7. Okside LDL'nin Lp-PLA2 tarafından hidrolizi (114)

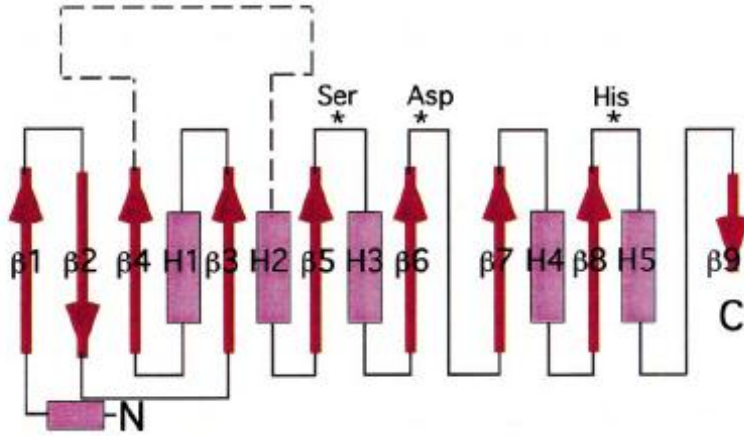
2.7.2.1. Lp-PLA2 Enziminin Yapısı

1995 yılında Tjoelker ve ark. (116) tarafından plazma Lp-PLA2'nin protein yapı karakterizasyonu ve cDNA klonlaması yapılmıştır. İnsan Lp-PLA2 cDNA'sını insan makrofaj ve T-hücre lenfoma cDNA kütüphanesini tarayarak klonlamışlardır. Kodlanan protein, 441 aminoasit rezidüsünden oluşmaktadır ve Lys-41 ve Ile-42 arasındaki bağın yıkılmasıyla 45 kDa moleküler ağırlığında olgun enzim oluşmaktadır. İlk 17 residü (Met-1 ile Ala-17) hidrofobiktir ve tipik sekresyon sinyali oluşturur ve sonraki 24 residü (Val18 ile Lys-41) plazmadan saflaştırılan proteinde bulunamamıştır (116,117).

Lp-PLA2'nin şekil 2.8'de üç boyutlu yapısı ve şekil 2.9'de tersiyer yapısı verilmiştir ve çoğunlukla 9 beta paralel tabaka ile 5 heliks yapıdan oluşmaktadır. Lp-PLA2; Glisin-X-Serin-X-Glisin (GX SXG) dizisini içermektedir bu sekuens çoğunlukla lipaz ve esterazlarda bulunmaktadır. Lp-PLA2'deki GX SXG motifin varlığı ile enzim aktivitesinin serin spesifik inhibitörleri ile bloke edilebileceği yönünde görüşler bulunmaktadır. Bu motifteki ser-273 aktif nükleofil bölgedir ve his-351 ve asp296 ile katalitik üçlü grup oluşturur. Lp-PLA2 hidrofobik sinyal peptid ayrıldıktan sonra salgılanmaktadır ve yaygın bir şekilde N-glikolize olduğu gözlemlenmiştir. İki tane N-glikozilasyon bölgesi bulunmaktadır ve şeker zincirlerinin fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte bu şeker zincirlerinin enzim aktivite fonksiyonunu etkileyebileceğini bildiren kanıtlar mevcuttur. Bölgeye özgü mutagenез kullanılarak yapılan çalışmalarda, birkaç aminoasit rezidüsünün LDL partikülünün Lp-PLA2 ye bağlanmasında önemli olduğu saptanmıştır (116-118).



Şekil 2.8. Lp-PLA2'nin üç boyutlu yapısı (118)



Şekil 2.9. Lp-PLA2 enziminin tersiyer yapısı (118)

2.7.2.2. Lp-PLA2 Substratları

Lp-PLA2'nin insan plazmasındaki PAF hidrolizinin neredeyse tümünden sorumlu olduğu bildirilmiştir. Hemostatik fonksiyonunu belirli bir düzeyde tutmak için, insan plazmasın da PAF düzeyleri en az 54 pg/ml kadar olmalıdır. Lp-PLA2 yüksek V_{max} 'a sahip olduğu için plazmada PAF ömrü birkaç dakikadır. HDL-ilişkili lesitin-kolesterol açilesterazın PAF'a karşı hidrolitik aktivite göstermesine rağmen, in vivo

olarak PAF uzaklaştırmasına katkısı çok azdır. Bir diğer HDL-ilişkili enzim Paraoksanaz-1'in (PON-1) PAF'a karşı hidrolitik aktivite gösterdiği, ancak bu hidrolitik aktivitesinin büyük bir olasılıkla PON-1 preparatlarının Lp-PLA2 ile kontaminasyonu sonucu olduğu bildirilmiştir. Lp-PLA2'nin Val279Phe tek nokta mutasyona sahip bireylerden alınan plazmada PAF hidrolizinin olmadığı ve ekzojen olarak eklenen PAF'ın değişmeden kaldığı saptanmıştır. Bu yüzden Lp-PLA2'nin insan plazmasındaki PAF hidrolizinin neredeyse tümünden sorumlu olduğu bildirilmiştir (119-122).

Lp-PLA2 PAF'ın bir asetil esterini hidroliz eden enzim olarak keşfedilmesine rağmen, daha sonraki çalışmalarda, geniş bir substrat spesifitesine sahip olduğu gösterilmiştir (119).

Lp-PLA2'nin aynı zamanda fosfotidil kolinin (PC) sn-2 pozisyonundaki kısa zincirli yağ asitlerine karşı hidrolitik aktivitesi vardır. Lp-PLA2 sn-2'deki C9 açıl zincirli PC'ni nedeysen hiç degrade etmemesine karşın, ω -sonunda açıl zincirin aldehit grubu varlığında enzim aktivitesi önemli ölçüde artmaktadır. Bu artmış aktivitenin nedeni büyük bir olasılıkla substratların sudaki artmış çözünürlüğünden olabileceği ileri sürülmüştür (120).

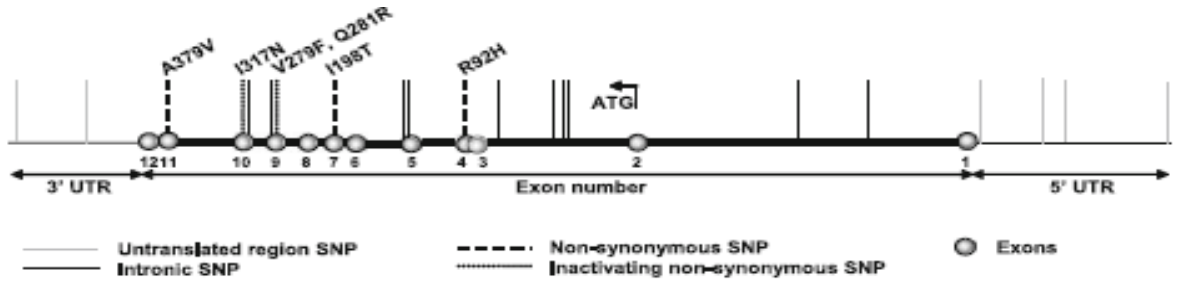
Ayrıca, sn-2 pozisyonundaki C5 açıl zincirli PAF analoglarının, ω -aldehit ya da ω -karboksil olması Lp-PLA2 tarafından hidrolizini sağlamaktadır (119).

2.7.2. 3. Lp-PLA2 Geni ve Genetik Polimorfizmler

Lp-PLA2 geni kromozomun 6q21.2-p12 bölgesinde yer alır ve 12 ekzondan oluşur. Lp-PLA2'de ilk tanımlanan V279F mutasyonu, 9. ekzonda 994. nükleotidde Guaninin yerine Timinin (G994T) yer almasıyla oluşan tek nokta mutasyonudur. Bu nükleotid değişikliği olgun proteinde Valin 279 Fenilalanin (V279F) oluşmasına ve Lp-PLA2 enziminde aktivite eksikliğine neden olmaktadır. Val 279 aktif bölge olan Ser273 ve Asp296 residuları arasında bulunur ve bu yapı enzimin doğru katlanması için oldukça önemlidir. Lp-PLA2 enzim eksikliğinin moleküler temelini başlıca enzimin aktif bölgesi yakınındaki V279F tek nokta mutasyonundan kaynaklandığı belirlenmiştir (13,123).

Miwa ve ark (124) ilk kez Lp-PLA2 aktivite değişikliğini 5 japon ailede otozomal resesif olarak kalıtsal olduğunu bildirmişlerdir. Sağlıklı Japon bireylerde V279F mutasyonunun görölme sıklığı yüksek olarak saptanmış olup heterozigot ve homozigot sıklığı sırasıyla %27 ve %4 olarak belirlenmiştir. Bu mutasyon daha sonra, Tayvan, Kore Kırgızistan, Azerbaycan ve Türkiye'deki bireylerde de olduğu belirlenmiştir. Kuzey Amerika ile ilgili herhangi bir veri bulunmamaktadır (124-126).

Lp-PLA2 geninde başka tek nükleotid polimorfizmleri de (SNP) tanımlanmıştır. En çok çalışılan SNP'ler R92H, I198T, I317N, Q281R, V279F ve A379V'dir (Şekil 2.10) (127, 128).



Şekil 2.10. Lp-PLA2 geni ve SNP'ler (123)

I198T ekzon 7'de (pozisyon 593, T-C) ve A379V ekzon 11'de (pozisyon 1136, T-C) bulunan missense polimorfizmlerdir ve Kafkaslarda tanımlanmıştır. Lp-PLA2'nin substrat affinitesini azalttığı bulunmuştur. I317N mutasyonu enzimin katalitik bölgesinde N bağlı glikolizasyon bölgesinde oluşur. V279F yakınındaki Q281R(ekzon 9, pozisyon1001, A-G) mutasyonunun aktiviteyi azalttığı ancak tamamen ortadan kaldırmadığı saptanmıştır (125,127).

2.7.2.4. Lp-LPA2 Ekspresyonu ve Ekspresyonunun Düzenlenmesi

İn vitro çalışmalarda, Lp-PLA2 nin kaynağı hematopoetik hücreler ve hepatositler olarak belirlenmiştir. Monositlerin makrofajlara farklılaşması süresince makrofajlardan Lp-PLA2 sentezlenmekte ve sekrete edilmektedir. Mast hücreleri gibi diğer hematopoetik hücreler inflamasyona yanıt olarak Lp-PLA2 sekrete etmektedir. Northern blot analizi ile timus, tonsil ve plasenta gibi makrofajların bol miktarda bulunduğu dokularda Lp-PLA2 mRNA ekspresyonu gözlemlenmiştir (128,129).

Lp-PLA2 sekresyonu, substratları, bazı sitokinler ve steroid hormonları gibi ekzojen uyarıcılar tarafından düzenlenmektedir. Ayrıca önemli ölçüde hücrel farklılaşma durumundan da etkilenmektedir (130).

Yapılan çalışmalarda anti inflamatuvar glukokortikoid olan Dexametazonun farklılaşmış HL-60 hücrelerinden Lp-PLA2 sekresyonunu artırdığını, proinflamatuvar mediatörler olan TNF alfa, IL-1 alfa ve IL-1 betanın desidul makrofajlardan sekresyonunu azalttığı gösterilmiştir. INF gama, IL-1,4,6, TNF alfa, GM-CSF, ve M-CSF ile sitümüle olan makrofajlarda Lp-PLA2 sekresyonunda azalma saptanmıştır. Diğer bir çalışmada ise proinflamatuvar uyarıcılar olan Lipopolisakkarit, IL-1 beta G-CSF ve TNF alfa'nın daha az farklılaşmış monositlerde Lp-PLA2'nin sekresyonunu ve sentezini artırdığı gösterilmiştir. Sonuç olarak pro ve anti inflamatuvar ajanların Lp-PLA2'nin ekspresyonunu düzenleme yeteneğinin hücrel farklılaşma durumuna bağlı olduğu gözlemlenmiştir. İn vivo olarak, östrojenlerin yetişkin erkek ve dişi farelerin plazma Lp-PLA2 düzeylerini azalttığı, aksine progesterinlerin ters etki yaptığı belirlenmiştir (128-131).

2.7.2.5. Lp-PLA2'nin Lipoproteinlerle İlişkisi

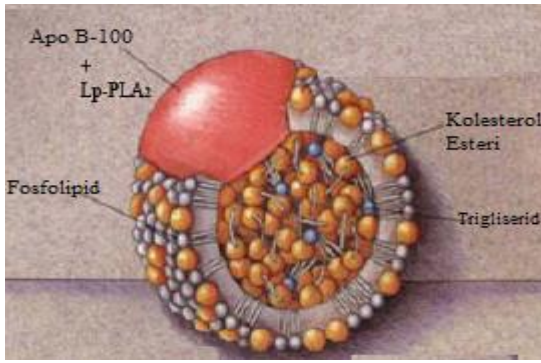
Lp-PLA2 aktivitesinin %80'i LDL-K ile ve kalan %20'si HDL-K ile ilişkilidir. İn vivo olarak, Lp-PLA2 iki lipoprotein arasında transfer olabilmektedir. Bu özellik, Lp-PLA2 aktivitesinin regülasyon mekanizmasından biridir (125).

Lp-PLA2- LDL İlişkisi

Lp-PLA2 aktivitesi lipit kompozisyonunu ve lipoprotein yapı değişikliklerinden etkilenmektedir. Hücrel Lp-PLA2 sekresyonu LDL ve diğer lipoprotein

partiküllerinin sekresyonundan bağımsız olarak oluşmakta ve Lp-PLA2 sekrete olduktan sonra plazma lipoprotein partiküllerine bağlanmaktadır. Bu lipoprotein partikülleri havuzunda Lp-PLA2 tercihen küçük, yoğun LDL (LDL-5) ve HDL3c ile ilişkidir (Şekil 2.11) (132-134).

LDL'deki ApoB'nin karboksil terminal ucu Lp-PLA2 ilişkisinde önemli rol oynar. Lp-PLA2 aktivitesinin LDL-5 içinde bol miktarda bulunan LDL'nin elektronegatif subfraksiyonu [LDL(-)] ile ilişkisi gösterilmiştir. LDL(-)'nin MCP-1 ve IL-8 gibi kemokinlerin salınımını indüklediği saptanmıştır (132,134).



Şekil 2.11. LDL ve Lp-PLA2 (134)

Lp-PLA2- HDL İlişkisi

Lp-PLA2 tercihen HDL subfraksiyonlarından HDL3c ile ilişkidir. HDL-ilişkili Lp-PLA2'nin olası rollerinden birisi Lp-PLA2 rezervuarı olarak davranmaktadır. Apolipoprotein E eksikliği farelerdeki, apolipoprotein I aşırı ekspresyonunun HDL-Lp-PLA2 düzeyini arttırdığı görülmüştür. Hiperkolesterolemi hastalarda da HDL-Lp-PLA2 aktivitesinin önemli derecede azaldığı bildirilmiştir. HDL ilişkili Lp-PLA2, HDL'nin antioksidatif ve anti-inflamatuvar potansiyeline katkı sağladığı düşünülmektedir (133,135).

2.7.2.6. Lipoproteinler Arasındaki Değişik Lp-PLA2 Dağılımı ve Ateroskleroz

Dislipidemi ateroskleroz için güçlü bir risk faktörü olarak düşünülmektedir. Lipoprotein partikülleri arasındaki Lp-PLA2 aktivite dağılımı dislipidemi hastalarında sağlıklı bireylere göre değişmiştir ve lipoproteinler arasındaki Lp-PLA2 nin bu anormal dağılımı Lp-PLA2'nin ateroprotektif rolünü etkileyebilmektedir (135).

Esansiyel hiperkolesterolemi (TipIIA dislipidemi) hastalarında artmış total kolesterol ve plazma LDL-ilişkili Lp-PLA2 aktivitesi gözlenirken, HDL-ilişkili Lp-PLA2'de önemli bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Plazma enzim aktivitesinin total plazma kolesterolü, LDL-K ve ApoB ile pozitif korelasyonu gözlemlenmiştir. Plazma ve LDL-ilişkili Lp-PLA2 enzim aktivitelerinin, hiperkolesteroleminin şiddetindeki artış ile paralel olarak arttığıda bildirilmiştir. En yüksek enzim aktivitesi ise homozigot ailesel hiperkolesterolemi hastalarda saptanmıştır (135).

Mikst hiperlipidemili (Tip IIB dislipidemi) hastalarda, total kolesterol ve LDL-ilişkili plazma Lp-PLA2 aktivitelerinde artış bulunmuştur. Bu hastalarda aynı zamanda VLDL ve IDL'deki Lp-PLA2 aktivitelerinde artış saptanmıştır. Tip IIB hastalarında azalmış HDL-K ve HDL-ilişkili Lp-PLA2 aktivitesi ve artmış TG düzeyleri belirlenmiştir (136).

Esansiyel hipertrigliseridemili (tip IV dislipidemi) hastalarda daha yüksek plazma Lp-PLA2 aktivitesi bulunmuştur. Bu hastalarda VLDL ve IDL Lp-PLA2 aktivitesi daha yüksek iken, LDL-ilişkili Lp-PLA2 aktivitesi değişmemiştir. Sonuç olarak bu tüm dislipidemiler azalmış HDL-ilişkili Lp-PLA2'nin plazma Lp-PLA2'ye oranını indüklemektedir. HDL, LDL oksidasyonunu önlemekte ve HDL-ilişkili Lp-PLA2'nin bu etkiyi diğer HDL-ilişkili enzimler olan Paraoksanaz ve Lesitin kolesterol açıl transferaz) ile birlikte yapmış olabileceği düşünülmektedir. Dislipidemi-indüklü azalmış HDL-ilişkili Lp-PLA2'nin plazma Lp-PLA2'ye oranı ateroskerozu tetiklemekte veya şiddetlendirmektedir. (137,138).

Tip IIA ve B dislipidemili hastaların hipolipidemik ilaç olan atorvastatin ile tedavi edildiklerinde, plazma LDL düzeylerindeki azalmanın bir sonucu olarak total Lp-PLA2 aktivitesi azalmakta ve tercihen LDL-5 subfraksiyonu ilişkili Lp-PLA2 aktivitesi azalmaktadır. Atorvastatin tedavisi HDL-ilişkili Lp-PLA2 aktivitesine etki etmediği için, HDL-Lp-PLA2'nin LDL-Lp-PLA2'ye oranı ilaç alımından sonra yeniden düzenlenmiştir. Öte yandan başka bir hipolipidemik ilaç olan fenofibrat tip II A B ve IV

dislipidemili hastalarda total plazma Lp-PLA2 aktivitesini azalttığı saptanmıştır. Tip II A hastalarda, bu azalış LDL-5 ilişkili Lp-PLA2' nin azalmasından kaynaklıdır. Tip IIB ve IV hastalarında ise VLDL+IDL ve LDL-5 ilişkili Lp-PLA2'deki azalıştan dolayıdır. Ayrıca fenofibrat tedavisinde HDL-ilişkili Lp-PLA2 aktivitesindeki artış, HDL3c subfraksiyonundaki Lp-PLA2 aktivitesindeki artışın bir sonucudur. Bu öngörülere göre hipolipidemik ilaçların anti aterojenik etkilerinin bir kısmı, HDL-ilişkili Lp-PLA2'nin LDL-ilişkili Lp-PLA2'ye oranında bir artış ile açıklanabileceği önerilmektedir (136,137,139).

HDL-ilişkili Lp-PLA2 aktivitesi, plazma HDL-C ve Apo A-I ile pozitif korelasyonu gözlemlenmiştir. Apo AI/PC disklerin intravenöz infüzyonu insan plazma HDL düzeylerinde artışa yol açtığı görülmüştür (140). Kujiraoka ve ark (141), sağlıklı erkeklere Apo AI/PC disklerin intravenöz infüzyonunun, total plazma Lp-PLA2 aktivitesini değiştirmeksizin HDL-ilişkili Lp-PLA2 aktivitesini artırdığını bildirmişlerdir (140-142).

2.8. Koroner Arter Hastalığı Patogenezinde Lp-PLA2'nin Rolü

Oksidatif modifikasyon, monositlerin damar duvarı içine göçü, daha sonra makrofajların aktivasyonu ve köpük hücre oluşumu aterosklerozun patogenezinde anahtar rol oynamaktadır (7-9).

PAF nükleer faktör kappaB aktivasyon yolu ile ICAM-1 ve VCAM-1 gibi adezyon moleküllerini ve MCP-1 ve CSF-1 gibi kemotaksis uyaranların ekspresyonunu indükler (7,125).

Lp-PLA2, damar duvarlarındaki okside LDL'yi hidrolize ederek LPC ve oxFFA oluşturması sonucu vasküler inflamasyon başlar, damar duvarına monosit toplanmasını ve plak içindeki apoptozisi uyarır (7-9,118).

LPC ve oxFFA inflamatuvar mediatörler olup;

Monositler ve T hücreleri için güçlü bir kemoatraktandır,

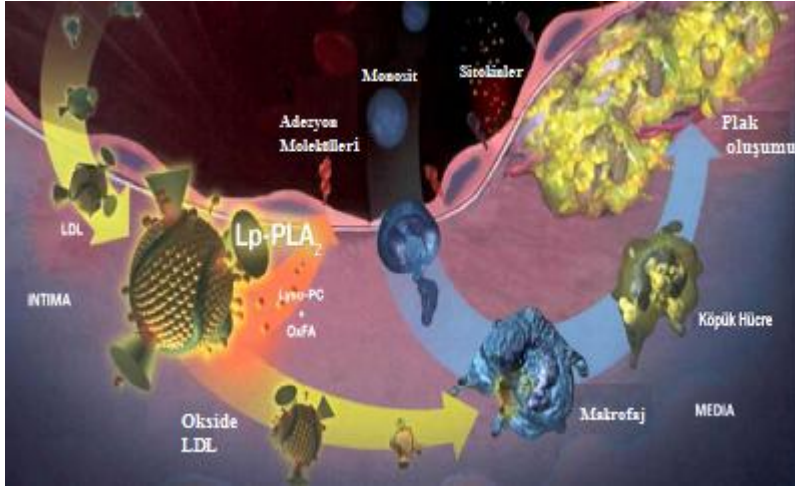
Endotel disfonksiyonunu ilerletirler, makrofaj proliferasyonu sitümüle ederler,

Düz kas hücreleri ve makrofajlarda apoptozisi indüklerler,

Adezyon moleküllerinin ekspresyonunu upregüle ederler,

Heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktör-benzeri proteinleri ve platelet-derive büyüme faktörlerin ekspresyonunu sitümüle ederler ve Endotelden NO üretimini inhibe ederler (113).

Sonrasında şekillenen makrofajlar damar duvarındaki okside LDL'yi fagosit eder ve köpük hücrelerini oluştururlar, köpük hücrelerinin birikmesi lipit çekirdeğini oluşturur. Aktive makrofajlar ve köpük hücreleri daha fazla Lp-PLA2 üretir ve Lp-PLA2 plaklardan dolaşıma salınır (Şekil 2.12) (7-9,113, 143).



Şekil 2.12. Aterosklerozda Lp-PLA2'nin rolü (143)

Yapılan çalışmalar, küçük yoğun LDL'nin oksidasyona duyarlılığından dolayı Lp-PLA2 ile birleşmeyi tercih ettiğini göstermiştir. Çünkü Lp-PLA2'nin okside LDL'deki fosfolipidlerden salgıladığı bioaktif okside serbest yağ asitleri ve lizofosfatidilkolinlerin arteryal duvar üzerinde zararlı etkileri vardır. Lizofosfatidilkolinin bir monosit kemoatraktanı olarak etki gösterdiği, düz kas ve makrofaj proliferasyonunu tetiklediği, arteryal endotel fonksiyonunu bozduğu, makrofaj ve düz kas hücreleri üzerine toksik ve apoptotik etkisi olduğu ve okside LDL'nin antijenitesini artırdığı gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan birçok klinik çalışmada

Lp-PLA2'nin koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olabileceği belirtilmektedir (144-147).

Lp-PLA2 aterosklerotik plaklar içinde üretildiği için sistemik inflamasyon yerine vasküler etki gibi yansımaktadır. Plaklarda Lp-PLA2 başlıca nekrotik kor, zedelenebilir plak çevresinde ve rüptüre plaklarda eksprese olur çok az miktarda da daha az ilerlemiş plaklarda bulunur. Bu da Lp-PLA2 nin plak gelişim mediatörü olabileceğini göstermektedir. İnsan aortik aterosklerotik plaklarında artmış Lp-PLA2 ekspresyonu gözlemlenmiştir ve Lp-PLA2 ekspresyonu, zedelenebilir ve rüptüre plakların makrofajlarında ve nekrotik korda daha az ilerlemiş plaklarla karşılaştırıldığında daha fazla eksprese olmaktadır (9-12,14,148).

Bazı çalışmalarda da Lp-PLA2'nin ateroskleroza karşı koruyucu rolü olduğu düşünülmektedir. PAF ve PAF-benzeri okside fosfolipidler aterosklerotik plaktan monosit-derive dentritik hücre benzeri hücrelerin göçünü engellemekte ve bu hücreleri subendotelyumda alıkoymasını desteklemektedir. PAF ve PAF-benzeri okside fosfolipidlerin tüm etkileri Lp-PLA2'nin aterogenezde koruyucu rolü olabileceği hipotezine götürmektedir. Bu durum Lp-PLA2'nin dolaşımdaki ve aterosklerotik lezyonlardan fosfolipid mediatörlerin bu proaterojenik ve proinflamatuvarların temizlenmesi ile açıklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda LDL'nin oksidatif etkisini engellemesi, adenovirus aracılığıyla Lp-PLA2'nin Apo E eksikliği saptanan farelere transfer edildiğinde aterosklerozun azalması ve kolesterolün ana bileşeni HDL olan farelerde Lp-PLA2'nin aterosklerotik hastalık gelişimine karşı koruyucu olması ve tamamının HDL'ye bağlanması bu varsayımı destekler. Ancak bu antiaterojenik etki insanlarda gösterilmemiştir. (147-148).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Araç ve Gereçler

3.1.1. Kimyasal Madde ve Çözücüler

Mutlak etil alkol (Reidel-Haen, Almanya)

2-propandiol (Merck, Almanya)

Bidistile su

3.1.2. Alet ve Gereçler

Santrifüj (Sigma k-15-1, Almanya)

Etüv (Nüve EN 500, Türkiye)

-20 °C Derin dondurucu (Uğur Derin Dondurucu, Türkiye)

-80 °C Derin dondurucu (Jouan, Danimarka)

+4 °C Soğutucu (Bosch, Almanya)

1,5 ml'lik kapaklı ependorf tüp (Isolab, Almanya)

Otomatik ayarlanabilir pipet (Eppendorf, Almanya)

Cobas 501 otoanalizör (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

Gerçek zamanlı PCR cihazı (LightCycler480 II, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

ELİSA okuyucu (Organo Teknika, Avusturya)

ELİSA yıkayıcısı (Organo Teknika, Avusturya)

Distile su cihazı (Milli pore, Fransa)

3 ml'lik %7,5 EDTA'lı tüp (BD, Vacutainer, İngiltere)

10 ml'lik içeriksiz biyokimya tüpü (BD, Vacutainer, İngiltere)

3.1.3. Kullanılan Kitler

Total Kolesterol: (Kat. No. 2055643, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

HDL Kolesterol: (Kat. No. 2055937, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

Trigliserit: (Kat. No. 2144620, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

Açlık Kan Şekeri: (Kat. No. 2055643, Roche Diagnostics Mannheim, GmbH, Almanya)

High Pure PCR Template Kit (Kat. No. 1 796 828, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

Lp-PLA2 V279F Mutasyon Kiti (Kat. No. 947329 Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

Lp-PLA2 ELİSA Kiti (Kat.No. E90867Hu, USCN Life Science Inc, China)

3.2. Kullanılan Ayıraçlar

3.2.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Ayıraçlar ve Hazırlanması

DNA izolasyonu için High Pure PCR Template Kit kullanılmıştır. Kit içeriği çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan kitin içeriği

Kimyasal	Miktarı	İçeriği
Bağlayıcı tampon	20 ml	6 M guanidin HCl, 10 mM Tris-HCl, %20 Triton X-100 (v/v), pH:4,4
Proteinaz K	90 mg	Liyofilize preparat
İnhibitör uzaklaştırıcı tampon	53 ml	5 M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl pH:6,6
Yıkama tamponu	20 ml	20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH:7,5
Elüsyon tamponu	40 ml	10 mM Tris, pH:8,5

Yukarıda belirtilen kit içeriklerinden bağlayıcı tampon ve elüsyon tamponu doğrudan hiçbir işlem yapılmadan kullanılırken diğer içerikler kit prospektüsünde verilen uygulama talimatına göre aşağıda verilen şekilde hazırlanmıştır.

Proteinaz K: Liyofilize proteinaz K (liyofilize halde oda sıcaklığında saklanmıştır) 4,5 ml steril bidistile su ile sulandırılmış ve 500 µL'lik porsiyonlar halinde -20°C'de korunmuştur.

İnhibitör Uzaklaştırıcı Tampon: 33 ml tampona 20 ml mutlak etil alkol eklenmiştir.

Yıkama Tamponu: 20 ml yıkama tamponunun üzerine 80 ml mutlak etil alkol eklemek yolu ile hazırlanmıştır.

Ayrıca DNA izolasyon kitinin içerisinde bulunmayan fakat uygulama da gerekli olan 2-propandiol herhangi bir hazırlığa gerek duyulmadan, stok çözeltilerden doğrudan kullanılmıştır.

3.2.2.Serum Lp-PLA2 Düzeyinin Belirlenmesinde Kullanılan Ayıraçlar ve Hazırlanması

Lp-PLA2 antikorları ile kaplanmış plak (8x12=96 kuyucuk)

Standart (liyofilize)

Standart ve örnek dilüsyon tamponu

Assay diluent A ve B

Detection reagent A ve B

Tetrametilbenzidin substrat (TMB)

Yıkama çözeltisi

Stop solüsyonu

Standart çözeltilerinin hazırlanması: 10 dk oda ısısında bekletilmiş 1 ml standart diluent, liyofilize halde olan stok standart içine eklendi ve çalkalamadan hafifçe karıştırıldı. Hazırlanan stok solüsyonundaki standart konsantrasyonu 50 ng/ml dir. 8 tane ependorf alındı ve ilk yedi ependorf içerisine 0.5 ml standart diluent eklenip sonuncusu boş bırakıldı. 50 ng/ml olan stok solüsyonundan 500 µl alınıp ilk ependorfa eklendi, iyice karıştırıldı. Bundan da 500 µl alınıp bir sonrakine eklendi. Bu işlem sıradaki 7 ependorfla tamamlandı. Sonuçta, 8 farklı konsantrasyonlardan oluşan standart seri hazırlandı.

Assay Diluent A ve B: 2 kat konsantre olarak verilen reaktifler 6 ml distile su ile 12 ml olacak şekilde dilue edildi.

Detection Reagent A: Santrifüj edildikten sonra 1 ml alınıp 99 ml Assay diluent A ile 1/100 oranında dilue edildi.

Detection Reagent B: Santrifüj edildikten sonra 1 ml alınıp 99 ml Assay diluent B ile 1/100 oranında dilue edildi.

Yıkama Çözeltisi ve Yıkama Prosedürü: 20 ml'lik 30 kat konsantre yıkama çözeltisi alınıp üzerine 580 ml distile su eklenerek 600 ml lik yıkama solüsyonu hazırlandı. Her bir yıkama basamağında otomatik ELİSA yıkayıcısı her kuyucuğa 350 µl yıkama çözeltisi pipetleyecek şekilde ayarlandı ve kuyucuklar her yıkama basamağında 3 kez yıkandı.

3.3.Çalışma Grubu ve Örnek Alımı

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kardiyoloji ve kalp damar cerrahisi polikliniklerine 2010-2011 yılları arasında göğüs ağrısı ile başvuran ve yapılan koroner anjiyografi işleminde epikardiyal koroner arterlerinden en az birinde %70 ve fazlası darlığı olan 45-82 yaşları arasında 109 koroner arter hastası (17 Kadın, 92 Erkek) ve özgeçmişinde herhangi bir hastalığı bulunmayan, koroner anjiyografi sonuçları normal bulunan 37-78 yaşları arasında 71 sağlıklı birey (29 Kadın, 45 Erkek) çalışmaya dahil edildi.

Çalışma dışı bırakılan bireyler

Bireylerin istememesi

18 yaş altı bireyler

Kronik böbrek yetmezliği olan bireyler

Karaciğeri etkileyen hastalığı olan bireyler

Ağır anemili bireyler

İmmün sistem hastalığı olan bireyler

Gebeler ve emziren kadınlar

Koroner arterinde disseksiyon tespit edilen bireyler

Koroner yavaş akımlı bireyler

Maling hastalık tanısı almış olan bireyler

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu 26.05.2009 ve 6/114 nolu kararınca onaylanmıştır. Çalışmaya katılan tüm bireyler çalışma hakkında

bilgilendirilip yazılı onayları alındıktan sonra, anjiyografi işlemi sırasında femoral arterden 10 ml kan alınıp, DNA eldesi için etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içerikli tüplere ve serumları ayrılmak üzere içeriksiz biyokimya tüplerine ayrıldı.

Hasta ve kontrol gruplarında Lp-PLA2 V279F mutasyonunu saptamak için alınan tam kanları DNA izolasyonu için çalışma gününe kadar +4 °C'de saklandı. Lipid profili, AKŞ düzeyleri için içeriksiz biyokimya tüplerine alınmış periferik venöz kanları 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve Cobas 501 otoanalizöründe çalışıldı. Serum Lp-PLA2 düzeyinin çalışılması için içeriksiz tüplere alınan venöz kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrılmış ve çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı.

3.4. Yöntemler

3.4.1. Koroner Anjioplasti

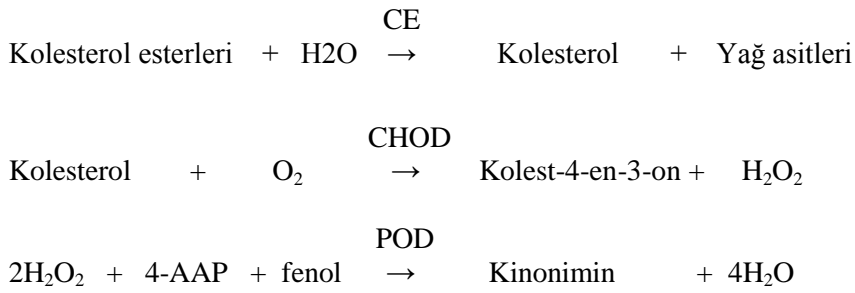
Koroner anjioplasti standart Judkin tekniği kullanılarak femoral girişimle gerçekleştirilmiştir. Koroner anjioplasti esnasında kontrast ajanı olarak Lopromide (Ultravist-370, Schering AG) manuel olarak (her pozisyonda 6-8 ml kontrast ajanı) kullanılmıştır. Yatay ekseninde her iki sağ ve sol yerleşimli koroner arterlerin kranial ve kavdal açıları gösterilmiştir. Koroner anjioplasti işlemi Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri tarafından gerçekleştirilmiştir. Anjiyografi sonrası hastaların tıkalı damar sayıları, Anabilim Dalı Öğretim üyelerince hesaplanmış ve değerlendirilmiştir. Koroner anjiyografi sonuçlarına göre koroner arterlerinden en az birinde \geq %70 darlık belirlenen KAH hastaları ateroskleroz tanısı almıştır.

3.4.2. Lipit Profili Ölçümleri

a) Total Kolesterol Ölçümü: Total kolesterol (TK) düzeyleri enzimatik kolorimetrik metod olan kolesterol oksidaz/fenol+aminofenazon (CHOD/PAP) ile çalışıldı. Yöntemde prensip, kolesterol esterlerinin kolesterol esteraz (CE) enzimi ile açığa çıkan serbest kolesterolün, kolesterol oksidaz varlığında hidrojen peroksida (H₂O₂)

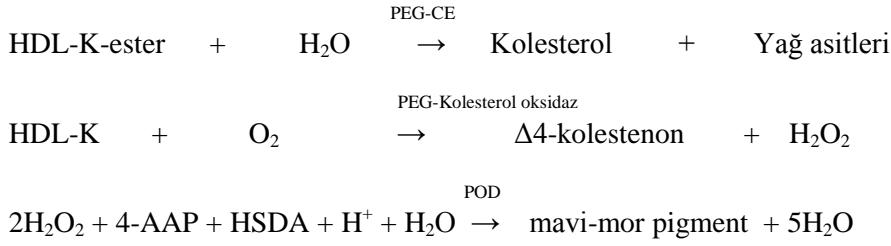
oksidasyonu ve oluşan H_2O_2 'nin ise peroksidaz (POD) ile fenol ve 4-aminoantiprin (4-AAP) varlığında, kinonimine dönüşümü ve oluşan kinoniminin 520 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır (Eşitlik 3.1).

Eşitlik 3.1. Total kolesterolün ölçümünde yer alan tepkime denklemi



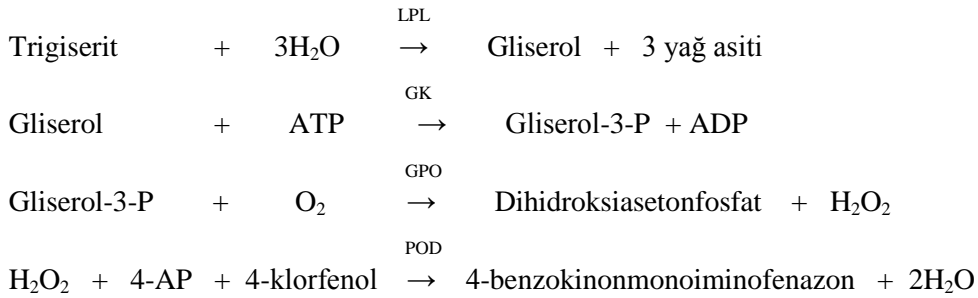
b) HDL Kolesterol Ölçümü: HDL-Kolesterol (HDL-K) ölçümünde homojen enzimatik kolorimetrik yöntem kullanıldı. Yöntemin prensibinde magnezyum sülfat ve dekstran sülfat varlığında, polietilen glikol (PEG) ile modifiye edilmiş enzimlere dirençli, suda çözünen LDL, VLDL ve şilomikron kompleksleri oluşturulur. HDL-K kolesterol içeriği PEG ile modifiye edilmiş (%40 oranında) kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz tarafından enzimatik kataliz ile belirlenir. Kolesterol esterleri kolesterol esteraz tarafından serbest kolesterol ve yağ asitlerine yıkılır (Eşitlik 3.2). Oksijen varlığında kolesterol, kolesterol oksidaz tarafından Δ^4 -kolestenon ve H_2O_2 'ye okside olur. Hidrojen peroksit, POD tarafından 4-AAP ve sodyum-N (2-hidroksi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoksianilin (HSDA) varlığında mavi-mor pigment oluşturur. Oluşan mavi-mor pigmentin 582 nm dalga boyundaki absorbansı spektrofotometrik olarak belirlenir.

Eşitlik 3.2. HDL-Kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi



c) Trigliserit Ölçümü: Trigliserit (TG) düzeyleri enzimatik kolorimetrik (gliserolfosfat oksidaz-peroksidaz) yöntem ile ölçüldü. Yöntemin prensibi, trigliseritlerin lipoprotein lipaz (LPL) tarafından serbest yağ asitleri ve gliserole hidrolizini, gliserolün gliserokinaz (GK) ile gliserol-3-fosfata katalizini, gliserol-3-fosfatın da gliserol fosfat oksidaz (GPO) tarafından dihidroksiaseton fosfata (DHAP) ve H_2O_2 'e oksidasyonunu ve oluşan H_2O_2 'in POD katalizi eşliğinde fenol ve 4-aminofenazon ile tepkimesi sonucu 4-benzokinonmonoiminofenazon oluşumuna dayanmaktadır. Oluşan kinon bileşiğinin 520 nm'de verdiği absorbans HDL-kolesterol ile doğru orantılıdır (Eşitlik 3.3).

Eşitlik 3.3. Trigliserit ölçümünde yer alan tepkime denklemi



d) LDL ve VLDL Ölçümü

LDL ve VLDL düzeyleri oransal olarak Friedwald (149) eşitliğine göre hesaplandı (Eşitlik 3.4).

Eşitlik 3.4. Friedwald Eşitliği

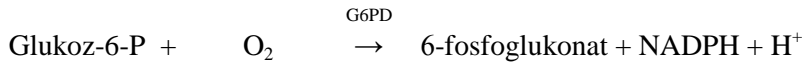
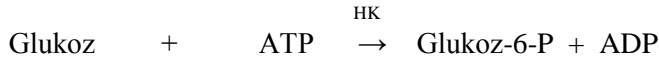
$$VLDL = \frac{\text{Trigliserit}}{5}$$

$$LDL = \text{Total} \cdot \text{kolesterol} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

3.4.3. Açlık Kan Şekeri Ölçümü

Açlık kan şekeri düzeyleri enzimatik heksokinaz metodu ile çalışıldı. Yöntem, heksokinaz (HK) ve Mg^{+2} varlığında glukoz ATP ile fosforile olur. Oluşan glukoz-6-P, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) ve $NADP^+$ varlığında okside olarak 6-fosfoglukonata dönüşür. Oluşan NADPH miktarı örnekteki glukoz konsantrasyonu ile direk orantılıdır ve 340 nm'deki artan absorbans değeri ölçülerek hesaplama yapılır (Eşitlik 3.5).

Eşitlik 3.5. Açlık kan şekeri ölçümünde yer alan tepkime denklemi



3.4.4. Serum Lp-PLA2 Düzeyinin Belirlenmesi

Serum Lp-PLA2 düzeyleri kantitatif sandviç enzim bağlı immünoassay (ELİSA) yöntemi ile çalışılmış olup yöntemin prensibinde ELİSA plak kuyucukları insan Lp-PLA2 molekülüne karşı geliştirilmiş spesifik bir antikor ile kaplanmıştır. Standartlar ve örneklerin ELİSA kuyucuklarına eklenmesi ile ortamda bulunan Lp-PLA2 molekülleri sabit antikorlara bağlanır. Yıkama ile örnekte bağlanmayan komponentler uzaklaştırılır. Yıkama sonrası biyotinlenmiş serbest antikorlar eklenir. İkinci yıkama işlemi ile ortamdan fazla antikorlar uzaklaştırıldıktan sonra Avidinle konjuge Horseradish Peroksidaz (HRP) bağlı konjugat eklenir. İnkübasyondan sonra kuyucuklar tekrar

yıkanır ve ortama peroksidazın substratı olan Tetrametilbenzidin (TMB) eklenir. Son basamakta kuyucuklara eklenen stop solusyonu ile reaksiyon durdurulur. Örneklerdeki Lp-PLA2 konsantrasyonu oluşan sarı renkle doğru orantılıdır. Bu renk 450 nm de ölçülürerek absorbans elde edilir. Daha sonra standart eğri kullanılarak konsantrasyon hesaplanır.

Çalışma Prosedürü

1. ELİSA plak kuyucuklarına standart, kör ve örneklerden 100 µL eklendi. Üzeri kapatılıp 37 °C de 2 saat inkübe edildi.
2. Yıkama işlemi yapılmadan örnekler aspire edildi.
3. Her bir kuyucuğa 100 µL Reaktif A pipetlenip 37 °C de 1 saat inkübe edildi.
4. Solüsyonlar aspire edildi ve otomatik ELİSA yıkayıcısı ile 3 kez yıkandı.
5. Her bir kuyucuğa 100 µL Reaktif B pipetlenip 37 °C de 30 dakika inkübe edildi.
6. Solüsyonlar aspire edildi ve otomatik ELİSA yıkayıcısı ile 5 kez yıkandı
7. 90 µL substrat solusyonu kuyucuklara pipetlenip 37 °C de 20 dakika inkübe edildi.
8. 50 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu.
9. 450 nm de absorbanslar ELİSA plak okuyucusunda okundu. Konsantrasyonlar standart eğriden hesaplandı.

3.4.5. Lp-PLA2 V279F Gen Polimorfizmin Belirlemesi

3.4.5.1. DNA İzolasyonu

- a) **Prensip;** Hücreler, tüm nükleazları hemen inhibe eden bir kaotropik tuz (guanidin HCl) varlığında proteinaz K ile kısa bir inkübasyon sonunda parçalanır. Hücresel nükleik asitler pürifikasyon filtre tüplerinde bulunan özel fiber cam yapıya seçici olarak bağlanır. Bağlı nükleik asitler kontamine edici hücresel elemanlardan hızlı yıkama ve çevirme işlemleri ile arındırılır. Bu işlemin gerçekleşmesinde çizelge 3.1'de içeriği verilen inhibitör temizleyici

tampon ile yıkama tamponu kullanılmaktadır. Son olarak düşük tuz elüsyonu ile nükleik asitlerin fiber cam yapıdan ayrılmaları sağlanır.

b) Protokol;

1. Steril bir tüpe (1,5 ml'lik kapaklı) 200 µL tam kan alındı ve üzerine sırası ile 200 µL bağlayıcı tampon ve 40 µL proteinaz K eklendi. Proteinaz eklenmesini takiben tüplerin kapakları kapatılarak hemen karıştırıldı.
2. Tüpler 10 dakika 72°C'de inkübe edildi.
3. İnkübasyonun ardından 100µL izopropanol eklenir, iyice karıştırılır ve karışım filtre tüpüne aktarıldı.
4. Bir dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi.
5. Toplama tüpü değiştirildi ve tüpe 500 µL inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklendi. 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi ve toplama tüpü tekrar değiştirildi.
6. Ardından tüpe 500µL yıkama tamponu eklendi ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi. Toplama tüpü değiştirildi.
7. Bu yıkama işlemi bir kez daha tekrar edildi ve toplama tüpü değiştirildi.
8. Tüpe herhangi bir çözelti eklenmeden 10 saniye 8000 rpm'de tekrar santrifüj edildi.
9. Son olarak 1,5 ml'lik kapaklı DNA saklama tüplerine filtre tüpleri yerleştirilerek içerisine 72°C'de bekletilen elüsyon tamponundan 200 µL eklenerek 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi. Bu defa DNA elüsyon tamponunun yardımı ile 1,5 ml'lik kapaklı DNA saklama tüplerine geçtiği için filtre tüpleri uzaklaştırılır ve DNA eldesi tamamlanmış olur.

3.4.5.2. Primer ve Prob Dizaynı

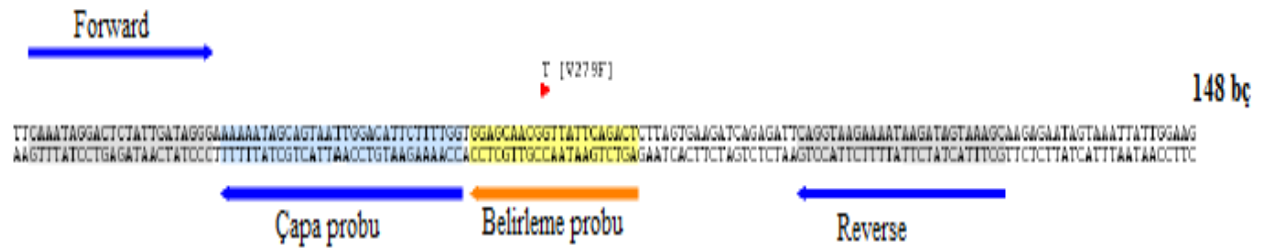
Bütün amplifikasyon primerleri standart fosforamid kimyası (MWG-Biotech) ve tüm flüorofor-işaretli problar Tib-Mol-Biol tarafından sentezlenmiş ve ters-faz HPLC ile saflaştırılmıştır. Amplifikasyonda Lp-PLA2 V279F mutasyonunu saptamak için bir set primer kullanılmıştır.

Lp-PLA2 Primer ve Prob Dizaynı: Lp-PLA2 V279F mutasyonu için primer ve prob dizileri çizelge 3.2'de verilmiştir. Primerler V279F mutasyonunun yer aldığı 148 bç'lik

amplikon eldesi için kullanılmıştır. V279F mutasyonunun belirlenmesi için çapa prob ve belirleme probu kullanılmıştır.

Belirleme probu 148 bç'lik amplikonda C alleli ile komplementerdir. Probu 5'ucu LCRed 640 ile işaretlenmiş, (Taq polimeraz tarafından olası uzamanın engellenmesi için) 3' ucu fosforile edilmiş 21-mer oligonükleotid dizisidir.

Çapa probu belirleme probundan iki baz uzaklıktaki bölgeye komplementer 3' ucu floresanlanmış 30-mer oligonükleotiddir. Şekil.3.1'de 148 bç amplikona primer ve propların bağlanması gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Primer ve propların amplikona bağlanma bölgeleri

Çizelge 3.2. Lp-PLA2 V279F mutasyonu için kullanılan primer ve prob dizileri

Primer ve Proplar	Primer ve Prob Dizileri
Forward Primer	5' _CAAATAggACTCTATTgATAggg_3'
Reverse Primer	5' _gCTTTACTATCTTATTTTCTTACCTg_3'
Belirleme Probu	5' _AgTCTgAATAACCgTTgCTCC--FL_3'
Çapa Probu	5' _LC-CCAAAAGaATgTCCAATTACTgCTATTTTT--PH_3'

3.4.5.3. Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Real Time polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) hedef DNA'daki nükleotid dizisi bilinen nokta mutasyon ya da delesyon içeren bir bölgesinin amplifiye edilerek mutasyonun tespit edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Analiz denatürasyon, amplifikasyon, melting ve cooling olmak üzere dört basamakta yapılmaktadır.

Çalışmaya başlamadan önce Taq polimeraz, iki primer ve prob, dört çeşit deoksiribonükleotid fosfat (dNTP), belirli derişimde magnezyum klorür (MgCl₂) ve üzerinde çalışılacak DNA'dan oluşan karışım hazırlanır.

Denatürasyon basamağında sıcaklık arttırılır ve DNA zincirindeki nükleotidler arasındaki bağlar koparılarak amplifikasyon işlemine hazır hale getirilir. DNA denatüre edildikten sonra oligonükleotid yapısındaki primerler sentezlenecek hedef bölgeyi belirleyecek şekilde ayrılan DNA zincirlerine yapışırlar. Termofilik bir bakteri olan *Thermus aquaticus*'dan saflaştırılan Taq polimeraz enzimi yardımıyla belirlenen bölge dört çeşit dNTP kullanılarak sentezlenir. Annealing (uzama) adı verilen sentez işlemi sırasında mutasyon olan diziyeye uygun olarak sentezlenmiş olan mutasyon probu (mutation probe) mutasyon bölgesine, diğer prob olan çapa probu (anchor probe) ise mutasyon probunun 5' ucu tarafına ve arada en fazla 5 nükleotidlik mesafe kalacak şekilde yerleşir. Amplifikasyon işlemi ortalama 40-50 kez tekrar edilerek yaklaşık 240-50 sayıda ürün elde edilmiş olur (150).

3.4.5.4. Lp-PLA2 V279F Mutasyon Analizi için Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşulları

Lp-PLA2 V279F mutasyon analizi için kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları çizelge 3.3'de, PZR koşulları ise çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Lp-PLA2 V279F mutasyonunun polimorfizm analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları

İçerik	Konsantrasyon	Miktar
Forward primer	0.5 µM	2.0 µL
Reverse primer	0.5 µM	2.0 µL
Çapa prob	0.3 µM	2.0 µL
Belirleme probu	0.3 µM	2.0 µL
Hibridizasyon tamponu 10X*	0.0	2.0 µL
MgCl ₂	3.0 mM**	1.6 µL
Örnek DNA	50 ng	3.0 µL
Distile Su	0.0	6,4 µL
Toplam Tepkime Hacmi		20 µL

*10 kat yoğun hibridizasyon tamponu nükleotidler, Taq polimeraz, 10 mM Mg²⁺ içerir.

** 3 mM MgCl₂ 20 µL toplam hacimdeki final konsantrasyondur.

Çizelge 3.4. Lp-PLA2 V279F mutasyon analizi için PZR koşulları

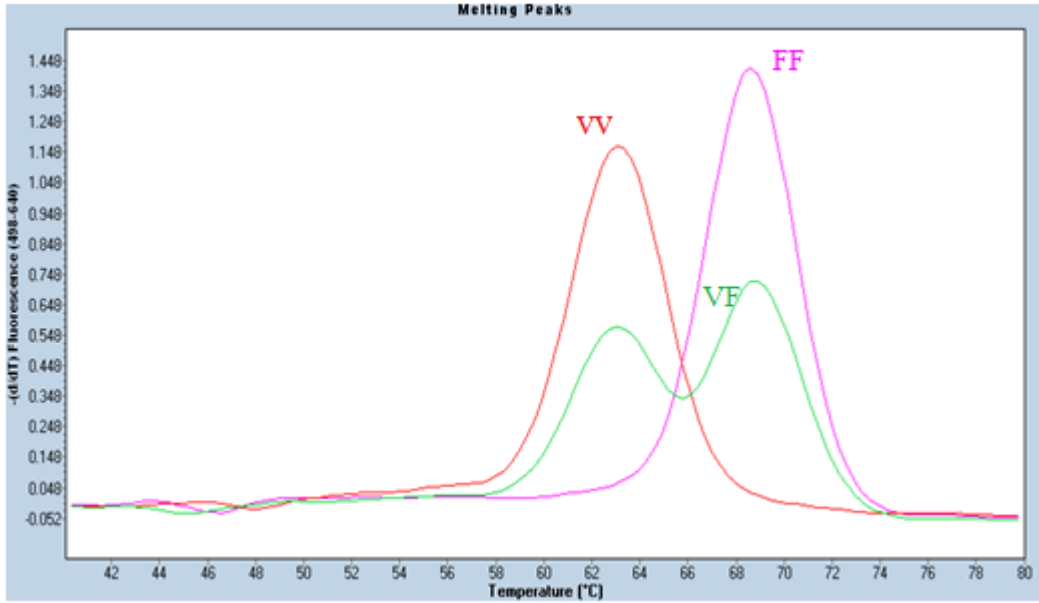
PZR aşamaları	Hedef ısı	Bekleme süresi (sn)	Isı geçiş oranı (°C/sn)	Floresan okuma
Denatürasyon (1 Döngü)	95°C	10	4.4	Yok
Amplifikasyon (45 Döngü)	Denatürasyon	95°C	10	Yok
	Yapışma	53°C	26	Tek
	Uzama	72°C	16	Yok
Melting Curve (1 Döngü)	Dinlenme 1	95°C	30	Yok
	Dinlenme 2	40°C	60	Yok
	Okuma	80	0.0	Sürekli
Soğuma (1 Döngü)	40°C	60	2.2	Yok

3.4.5.5. Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu Melting Curve Analizi ile Lp-PLA2 V279F'ye ait Genotip Belirlenmesi

Bir DNA molekülünün erime ısı (Melting temperature: T_m) içerdiği G+C (guanin+sitozin) miktarına, uzunluğuna ve iki zincir arasında gösterdiği homolojiye bağlı olarak değişmektedir.

Melting curve analizi ile genotip belirlenmesi iki hibridizasyon probu kullanılarak yapılmaktadır. Hibridizasyon problemlerinden ilki mutasyon olan diziyeye bağlanan ve 5' ucundan LightCycler-Red (LC-Red) fluorophore (LC-Red 640 yada LC-Red 705) ile işaretlenmiş olan mutasyon probudur. Diğer hibridizasyon probu ise 3' ucundan fluorescein ile işaretlenmiş olan çapa probudur. İki hibridizasyon probu hedef dizilere yapıştıktan sonra verici prob olan çapa probundaki fluorescein maddesi LightCycler cihazının ışık kaynağı tarafından eksite edilir ve eksitasyon enerjisinin bir kısmı mutasyon probunda bulunan LC-Red'e transfer edilir (Fluorescence Resonance Transfer Energy: FRET). LC-Red tarafından saçılan floresan LightCycler cihazı tarafından ölçülür. Melting basamağında sıcaklık yavaş yavaş (0.1 sn⁰C) arttırılır. Mutasyon probunun bağlandığı bölgede mutasyon varsa nükleotidlerin eşleşmesi tam olarak gerçekleşmediği için T_m daha düşük olacak ve prob bağlandığı yerden daha düşük sıcaklıkta ayrılacaktır. Eğer mutasyon yoksa prob daha yüksek sıcaklıkta ayrılacaktır. Mutasyon probunun bağlandığı diziden kopmasıyla iki prob arasındaki FRET gerçekleşmez, cihaz tarafından ölçülen floresan düzeyi azalır ve ekrana bir pik olarak yansır (150).

Çalışmada genotipik görüntülemesi yapılan Lp-PLA2 V279F mutasyonunun Melting Curve analiz görüntüleri ve değerlendirmeleri şekil 3.2’de verilmiştir. Şekil 3.2’de V279F mutasyonunun erime ısıları verilmiş olup VV genotipi için erime ısısı (T_M) :61.0 °C, VF genotipi için ise 61.0 ve 69 °C ve FF genotipi için ise 69 °C’dir.



Şekil 3.2. Lp-PLA2 V279F’e ait Melting Curve analizi

3.5. İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel analizler için SPSS 17 (Statistical Package for Social Sciences version) paket programı kullanıldı. AKŞ, TK, HDL-K, LDL-K, VLDL, Lp-PLA2 ve yaş değerlerinin normal dağılım gösterip göstermedikleri Shapiro-Wilk testi ile incelenmiş, test sonucuna göre TK, HDL-K, LDL-K, VKI ve yaş değerlerinin normal dağılım gösterdikleri bulundu. Bu sonuçlara TK, HDL-K, LDL-K, VLDL, Lp-PLA2 ve yaş değerleri bakımından çalışma grubu ve kontrol grubun karşılaştırılması için bağımsız iki grup karşılaştırma testlerinden Independent sample t testi kullanıldı. Hastaların AKŞ, T-Kol, HDL-K, LDL-K, VLDL, Lp-PLA2 ve yaş değerleri ortalama±standart sapma cinsinden verildi. Kategorik değişkenlerle KAH ilişkisinin araştırılmasında ise Chi-Square testlerinden yararlandı. Hasta grubu içinde Lp-PLA2 düzeylerinin tıkalı damar sayısına göre karşılaştırılmasında One-Way ANOVA, plak

oluşumuna göre karşılaştırılmasında ise Independent Samples t test kullanılmıştır. Sonuçlar için $p < 0.05$ anlamlılık değeri olarak belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Bireylerin Tanımlayıcı Bilgileri

Çalışma grubumuzu, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kardiyoloji ve Kalp Damar Cerrahisi polikliniklerine 2010-2011 yılları arasında göğüs ağrısı ile başvuran 46'sı kadın, 134'ü erkek olmak üzere toplam 180 birey oluşturmuştur. Koroner anjiyografi ile majör epikardiyal damarlarda veya dallarında çapa göre en az \geq %70 darlık tespit edilen 109 kişi hasta grubu olarak, normal koroner tespit edilen 71 kişi ise kontrol grubu olarak belirlendi.

Kontrol ve KAH gruplarında risk faktörlerinin dağılımı ve tanımlayıcı bilgileri çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kontrol ve KAH gruplarının risk faktörlerinin dağılımı ve tanımlayıcı bilgiler

		Kontrol Grubu n=71	KAH Grubu n=109	Odd's Oranı	Güven Aralığı (%95)	p değeri
Yaş		55,89±11,68	62,69±9,44			0,001
Cinsiyet	Kadın	29 (40,8)	17 (15,6)	-----		0,001
	Erkek	42 (59,2)	92 (84,4)	3,73	1,85-7,53	
Diyabet (Tip 2)	Yok	55 (77,5)	74 (68,0)	-----		0,16
	Var	16 (22,5)	35 (32,0)	-----		
Hipertansiyon	Yok	33 (46,5)	37 (32,1)	-----		0,092
	Var	38 (53,5)	72 (67,9)	-----		
Sigara kullanımı	Yok	54 (76,1)	67 (61,5)	-----		0,04
	Var	17 (23,9)	42 (38,5)	2,00	1,02-3,88	
Aile Öyküsü	Yok	54 (72,6)	57 (52,3)	-----		0,002
	Var	17 (27,4)	52 (47,7)	2,89	0,473-1,86	
Tıkalı damar sayısı	0	71	----			
	1	----	31 (30,0)			
	2	----	49 (31,0)			
	3 ve üstü	----	29 (39,0)			

Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

n: Örnek sayısı, p: Gruplararası anlamlılık derecesi

Koroner arter hastası grubunun yaşları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,001$).

Koroner arter hastası grubundaki erkek hasta sayısı kontrol grubuna oranla yüksek olarak belirlendi ve erkeklerin kadınlara göre KAH açısından 3.7 kat daha riskli olduğu saptandı (Odd's Oranı 3.73, %95 Güven Aralığı 1.85-7.53; $p=0,001$).

Koroner arter hastalığı bulunan bireylerin KAH oluşturması açısından Sigara kullanımını 2 kat ($p=0,023$), aile öyküsü olan hastalarda da 2.89 kat ($p=0,002$) risk taşıdığı belirlendi.

Koroner arter hastalığının risk faktörleri arasında yer alan hipertansiyon ($p>0,05$) ve diyabet varlığının ($p>0,05$) KAH açısından risk taşımadığı saptandı.

4.2. Kontrol ve KAH Gruplarında AKŞ ve Lipit Profili Düzeylerine Ait Bulgular

Kontrol ve KAH grubunu oluşturan tüm bireylerin AKŞ ve lipid profili düzeylerine ait bulgular çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Kontrol ve KAH gruplarına ait AKŞ ve lipid profili düzeyleri

	Kontrol Grubu	KAH Grubu	p değeri
Açlık Kan Şekeri*	99,87±19,99	112,89±45,44	0,01
Total Kolesterol*	183,07 ± 50,88	175,52 ± 39,87	0,27
HDL-Kolesterol*	42,05 ± 12,02	40,64 ± 10,07	0,41
LDL-Kolesterol*	99,11 ± 35,44	111,6 ± 41,59	0,56
VLDL-Kolesterol*	31,18 ± 18,91	31,51 ± 19,45	0,91
Trigliserit*	155,91±94,59	170,00±88,88	0,15

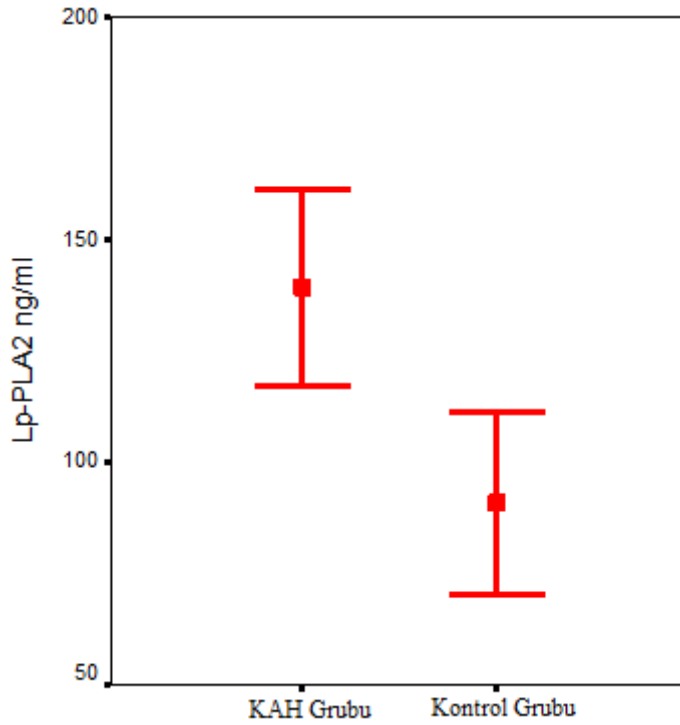
* Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma olarak verilmiş olup konsantrasyon birimleri mg/dl'dir
p: Gruplar arası anlamlılık derecesi

Serum AKŞ düzeyleri KAH grubunda kontrol grubuna oranla yüksek saptandı ($p<0,05$). KAH grubunun kolesterol düşürücü etkiye sahip statin grubu ilaç

kullanımından dolayı, aslında KAH için önemli risk faktörleri olan kolesterol düzeyleri açısından her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

4.3. Kontrol ve KAH Gruplarında Lp-PLA2 Düzeylerine Ait Bulgular

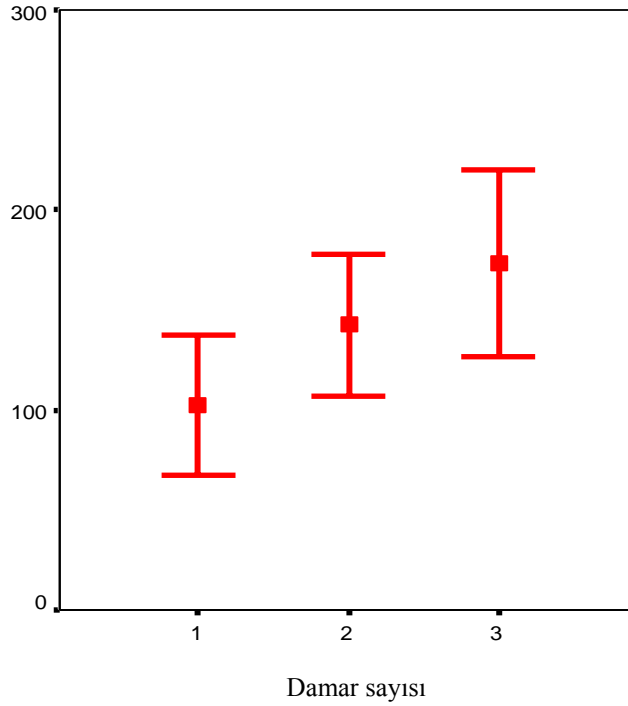
Kontrol ve KAH grubuna ait Lp-PLA2 düzeyleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Kontrol grubunda Lp-PLA2 düzeyi $90,65\pm 87,03$ ng/ml olarak bulunurken, KAH grubunda $140,54\pm 119,92$ ng/ml olarak bulundu. Serum Lp-PLA2 düzeyleri KAH grubunda kontrol grubuna oranla yüksek saptandı ($p<0,05$).



Şekil 4.1. Koroner arter hastaları ve kontrol gruplarında Lp-PLA2 düzeyleri

4.4. Lp-PLA2 Düzeylerinin KAH'lardaki Tıkalı Damar Sayısı ile İlişkisi

KAH şiddeti tıkalı büyük damar (Sol ana koroner arter, sol anterior inen arter, sirkumfleks arter ve sağ koroner arter) sayısına göre 1 damar, 2 damar ve 3 damar ve üstü olarak 3 alt gruba ayrılmıştır. Lp-PLA2 düzeyleri ile KAH tıkalı damar sayısı arasındaki ilişki şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Koroner arter hastalarının tıkalı damar sayısına göre Lp-PLA2 düzeyleri

1 damar, 2 damar ve 3 damar üstüne göre Lp-PLA2 düzeyleri sırasıyla 102.31 ± 94.74 , 142.44 ± 123.9 , 173.17 ± 122.3 ng/ml olarak bulundu. Lp-PLA2 düzeylerinin tıkalı damar sayısına göre artış olduğu saptanmış olup, 3 damar ve üstü hastaların en yüksek Lp-PLA2 düzeylerine sahip olduğu belirlendi. 2 damar Lp-PLA2 düzeyleri 1 damara göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,106$), aynı zamanda 3 damar ve üstü Lp-PLA2 düzeyleri 2 damara göre yüksek olmasına rağmen farkın anlamlı olmadığı saptandı ($p=0,291$). Sadece 3 damar ve üstü ile 1 damar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,016$).

4.5. KAH Grubunda Plaklı Hastalarda Lp-PLA2 Düzeylerine Ait Bulgular

KAH grubunda koroner arterlerinde plak bulunan ve plak bulunmayan hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3 KAH grubunda plaklı ve plaksız hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri

	n (%)	Lp-PLA2	p değeri
Plaklı KAH’ları	54 (49,5)	153,93±118,03	0,198
Plaksız KAH’ları	55 (50,5)	124,74 ±117,08	

* Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma olarak verilmiş olup konsantrasyon birimleri ng/ml’dir
n: Örnek sayısı, p: Gruplar arası anlamlılık derecesi

KAH grubunda koroner arterlerinde plaklı ve plaksız hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri karşılaştırıldığında plaklı hastalarda Lp-PLA2 düzeyi yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

4.6. KAH Grubunun LDL-Kolesterol, HDL- Kolesterol, Yaş, Cinsiyet, Diyabet, Hipertansiyon, Sigara Kullanımı ve Aile Öyküsüne Göre Lp-PLA2 Düzeyleri

Koroner arter hastalığında risk faktörleri olan LDL-Kolesterol, HDL- Kolesterol, yaş, cinsiyet, diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı ve aile öyküsü parametreleri Lp-PLA2 düzeyi ile karşılaştırılarak çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4 Koroner arter hastalarında LDL-kolesterol, HDL-kolesterol, yaş, cinsiyet, diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı ve aile öyküsü parametreleri ile Lp-PLA2 düzeyleri

Parametreler		n (%)	Lp-PLA2 ng/ml	p değeri
LDL-Kolesterol	>130 mg/dL	29 (26,6)	154,72±131,03	0,411
	<130 mg/dL	80 (73,4)	133,57±113,16	
HDL-Kolesterol	>40 mg/dL	60 (55,0)	134,95±119,69	0,736
	<40 mg/dL	49 (45,0)	142,67±117,3	
Yaş	>50	99 (90,8)	142,09±117,72	0,424
	<50	10 (9,20)	110,61±122,36	
Cinsiyet	Kadın	17 (15,6)	111,06± 89,76	0,197
	Erkek	92 (84,4)	144,40±122,11	
Diyabet	Yok	74 (68,0)	136,62±116,22	0,741
	Var	35 (32,0)	144,66±122,99	
Hipertansiyon	Yok	37 (32,1)	128,62±111,66	0,193
	Var	72 (67,9)	159,79 ± 128,33	
Sigara kullanımı	Yok	67 (61,5)	128,17±102,61	0,252
	Var	42 (38,5)	156,80±138,43	
Aile Öyküsü	Yok	57 (68,0)	124,59±123,24	0,177
	Var	52 (32,0)	155,22±111,94	

n: Örnek sayısı, p: Gruplar arası farkın anlamlılık derecesi

LDL-Kolesterolü 130 mg/dl'den yüksek ve HDL- Kolesterolü 40 mg/dl'den düşük olan hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri de yüksek olmasına rağmen gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Yaşın risk faktörü olması açısından 50 yaş üzeri ve 50 yaş altı bireyler karşılaştırıldığında, Lp-PLA2 düzeylerinde anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($p>0,05$).

Cinsiyete göre erkeklerde kadınlara göre Lp-PLA2 düzeyi daha yüksek bulunmakla beraber bu yükseklik anlamlı değildi ($p>0,05$).

Hipertansiyonu olan hastalarla, hipertansiyonu olmayan hastalar arasında bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$).

Sigara kullanan hastalarda ve aile öyküsü bulunan hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri yüksek görünmesine rağmen, sigara kullanmayan ve aile öyküsü bulunmayan hastalara göre anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$) (çizelge 4.4).

4.7. Lp-PLA2 V279F Tek Nokta Mutasyonu ile KAH Arasındaki İlişkiye Ait Bulgular

Lp-PLA2 V279F tek nokta mutasyonu ile KAH arasındaki ilişkiye ait bulgular çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Kontrol ve hasta gruplarında Lp-PLA2 V279F genotipleri

Mutasyon	Genotip	Kontrol grubu n (%)	KAH grubu
V279F	VV	71 (%100)	109 (%100)
	VF	0 (%0,0)	0 (%0,0)
	FF	0 (%0,0)	0 (%0,0)

Koroner arter hastası ve kontrol grubunda sadece Lp-PLA2 V279V (wild) genotipi kontrol grubunda ve KAH grubunda %100 olarak saptandı ve Lp-PLA2 V279F heterozigot ve homozigot mutant genotipler saptanmadı.

5. TARTIŞMA

KAH'ın görülme sıklığı ve buna bağlı ölüm oranları yaşa, cinsiyete, diğer risk faktörlerine, toplumlara, ülkelerin gelişmişlik düzeylerine ve coğrafi bölgelere göre farklılıklar göstermektedir. KAH'da koroner arterleri daraltan temel etiyolojik neden aterosklerozdur. Ateroskleroz; inflamasyon, hücre proliferasyonu ve lipit metabolizma bozukluğunu içeren multifaktöriyel bir süreç olarak kabul edilmektedir. Aterosklerozun erken evresinde, LDL'nin oksidatif modifikasyonuna karşı kronik enflamatuvar yanıtın, makrofajlar ve T-lenfositler gibi enflamatuvar hücrelerin subendotelyal birikimine yol açtığı düşünülmektedir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, sigara, kolesterol, hipertansiyon, diabetes mellitus gibi risk faktörlerinin ateroskleroz gelişimindeki rolünü kanıtlamıştır. Deneysel çalışmalar ise bu risk faktörlerinin genel enflamatuvar bir yanıt başlatarak vücutta yaygın bir reaksiyon oluşturduğunu göstermiştir. Risk faktörlerine yanıt olarak hem sistemik akut faz reaktanları aktive olur, hem de endotelden bir sinyal trafiği başlar (1, 151).

Çalışmamızda, bu risk faktörleri KAH ve kontrol grubunun özgeçmişlerinin sorgulanması ile elde edildi. Bulduğumuz sonuçlara göre, KAH grubunun yaş ortalamalarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p=0.001$). Yapılan birçok çalışmada KAH'ın görülme sıklığı ve buna bağlı ölüm oranları yaş ile yakından ilgilidir. 40 yaştan sonra, ateroskleroz oluşumu ve buna bağlı KAH görülme sıklığı, yaşın artışına paralel olarak artmaktadır. KAH'ın en sık görüldüğü yaş erkeklerde 50-60, kadınlarda ise 60-70 arasındadır. Ayrıca uzun dönem Framingham prospektif kalp çalışmalarında ileri yaşın bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir (152).

KAH'ın görülme sıklığı bakımından cinsiyetler arasında da farklılıklar vardır. KAH erkekleri daha fazla etkiler ve bu nedenle cinsiyetin erkek olması bir risk faktörüdür. Daha önceki birçok çalışmada KAH riskinin erkeklerde kadınlara göre yaklaşık olarak 10 yıl daha erken başladığı bildirilmektedir. Ancak kadınlarda menapoz ile birlikte KAH insidansı hızla artmaktadır. 40 yaştan önce KAH'nın görülme sıklığının erkek/kadın oranı 8/1'dir ve 40-60 yaş arası 4/1'dir (153). Framingham Kalp Çalışması sonuçlarına göre erkeklerde kadınlara göre KAH insidansı 2 kat daha yüksek saptanmıştır. Yaşları 25-64 arasında olan 14786 kişinin izlendiği bir çalışmada erkeklerde kadınlara göre koroner arter hastalığı insidansı üç kat ve mortalite beş kat daha yüksek bulunmuştur (154). Bizim çalışmamızda ise erkek cinsiyet oranı KAH

grubunda % 84.4, kontrol grubunda ise % 59.2 olarak bulundu ve erkek cinsiyetin diğer çalışmalara benzer şekilde KAH için yaklaşık 3.73 kat daha riskli olduğu saptandı (p=0.001).

Diabetes Mellitus, KAH için bağımsız bir risk faktörü olup, KAH riskini erkeklerde iki kat ve kadınlarda dört kat artırmaktadır (155). KAH'da değiştirilebilir risk faktörlerinden bir diğeri de hipertansiyondur. Framingham Kalp Çalışmasında normalin üst sınırındaki kan basıncının bile düşük seviyelerle karşılaştırıldığında kardiyovasküler hastalık riskini iki kat arttırdığı görülmüştür (156). Diğer bir çalışmaya göre diastolik kan basıncında her 7 mmHg'lık artışın KAH riskinde %27 oranında bir artışa neden olduğu saptanmıştır (157). Çalışmamızda KAH grubunun %32'sinde diyabet, %67.9'unda hipertansiyon olduğu belirlenirken (p=0.16), bu sıklık kontrol grubunda %22.5 ve % 53.5 olarak belirlendi. Hipertansiyon (p=0.092) ve diyabet açısından (p=0.16) KAH ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Çizelge 4.1).

Sigaranın KAH gelişiminde major risk faktörü olduğunu gösteren çok sayıda çalışma vardır. Yapılan çalışmalarda sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında, günde 20 adet veya daha fazla sigara tüketenlerde KAH'ın 2-3 kat daha fazla görüldüğü ortaya konmuştur (158). Bizim sonuçlarımıza göre KAH grubunda sigara kullanımı %38, kontrol grubunda ise %23.9 olarak belirlendi ve sigara kullanımının KAH riskini 2 kat arttırdığı saptandı.

Yapılan çalışmalarda aile öyküsü olmasının KAH için kuvvetli bir bağımsız risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Koroner hastalık için en güçlü aile öyküsü birinci derece bir yakında erken yaşta koroner kalp hastalığı öyküsü olmasıdır. Baba veya diğer birinci derece erkek akrabalarda 55 yaşından önce, anne veya diğer birinci derece kadın akrabalarda 65 yaşından önce erken koroner arter hastalığı gelişiminin olması, o kişide ateroskleroz gelişim riskini 1.3-1.6 kat artırmaktadır. (159). Elde ettiğimiz sonuçlara göre aile öyküsü KAH grubunda %47.7, kontrol grubunda %27.4 olarak saptandı ve KAH grubunda aile öyküsünün bulunması KAH'ın gelişimini 2.89 kat arttırdığı belirlendi (p=0.002).

Kanda TK ve LDL-K düzeylerinin yüksekliği kardiyovasküler hastalıklar için bir diğer risk faktörüdür. Koroner arter hastalıklarının birçoğunda yalnız LDL-K yükselmesi değil, HDL-K azalması, TG artması ve postprandial lipemi yüksekliğide risk faktörlerini oluşturmaktadır. Çalışmalar, TK, TG ve LDL-K yüksekliğinin koroner

ateroskleroz gelişmesinde belirgin rolleri olduğunu göstermektedir. Çalışmalarda serum kolesterol seviyesi % 300 mg'ın üstünde bulunan bireylerin koroner aterosklerotik arter hastalığı gelişmesi riski, serum kolesterol seviyesi %200 mg'ın altındaki bireylerden 4 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (160,161 161, 162). Çalışmamızda TG (p=0.15), VLDL-K (p=0.91), TK (p=0.27), LDL-K (p=0.56) ve HDL-K düzeyleri (p=0.41) bakımından KAH ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı (çizelge 4.2). Aslında KAH için önemli risk faktörleri olan total kolesterol ve LDL-K düzeyleri arasında fark bulunmamasının nedeni, KAH grubunun kolesterol düşürücü etkiye sahip statin grubu ilaç kullanmasıdır.

KAH grubunda AKŞ düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi (p=0.01). Bu farkın nedeni olarak KAH grubunda diyabetin (% 32) kontrol grubuna (% 22.5) göre daha sık görülmesine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz (çizelge 4.2). Yapılan çalışmalarda he”m diyabetik hem de diyabetik olmayanlarda yüksek kan şekerinin kardiyovasküler risk ile korele olduğu görülmüştür (162).

Aterosklerozun birçok hastalığın gelişiminde rol oynaması, yüksek morbidite ve mortaliteye yol açması bu konuya olan ilgiyi arttırmış, özellikle ateroskleroza bağlı komplikasyonları önleyebilmek ve bu konuda asemptomatik aşamadayken kolay uygulanabilir tetkiklerle tanı koyup gerekli önlemleri alabilmek son derece önemli hale gelmiştir. Geleneksel kardiyovasküler risk faktörü taşımayan hastaların da kardiyovasküler olaylara maruz kalması, araştırmacıları kardiyovasküler riski daha iyi tahmin ettirecek yeni belirteçleri araştırmaya yönlendirilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda KAH için yeni bir risk faktörü olan Lp-PLA2 düzeyleri ve Lp-PLA2 V279F tek nokta mutasyonu çalışıldı.

LP-PLA2 aynı zamanda platelet aktive edici faktör asetil hidrolaz (PAFAH) olarakta adlandırılır ve aterosklerozun patofizyolojisinde önemli rol oynar. Bazı araştırmacılar Lp-PLA2'nin KAH ile ilişkili bağımsız bir risk faktörü olarak yeni bir inflamatuvar belirteç olabileceğini öne sürmüşlerdir (163,164).

Bazı araştırmacılarda Lp-PLA2'nin PAF ve proinflamatuvar okside fosfolipidleri degrade ettiğinden dolayı güçlü bir anti-inflamatuvar ve antiaterojenik etkiye sahip bir enzim olduğunu düşünmektedirler. Bu yüzden Lp-PLA2'nin aterosklerozda iki farklı etkisi olabilir (116,165).

Epidemiyolojik çalışmalarda Lp-PLA2'nin bu iki etkisini desteklemektedir. Fakat çoğu çalışmada da Lp-PLA2 aktivitesinin KAH'da bağımsız bir belirleyici olduğu gösterilmiştir (166-168).

Koenig ve ark. (169) Lp-PLA2'nin diğer kardiyak risk belirteçlerinden bağımsız olarak, kardiyovasküler hastalığı olanlarda yüksek oranda bulunduğunu belirlemişlerdir.

Oei ve ark. (170) yaptığı popülasyon tabanlı kohort çalışmasına göre Lp-PLA2 aktivitesini kontrol grubuna göre daha yüksek bularak, LP-PLA2 aktivitesinin KAH ve iskemik inmede bağımsız bir belirleyici olduğunu göstermişlerdir.

Kleber ve ark. (171) LURIC (Ludwigshafen Risk ve Kardiyovasküler Sağlık Çalışması) çalışmasında anjiyo olan 2513 KAH grubu ve 719 bireyden oluşan kontrol grubu arasında Lp-PLA2 aktivitesi kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuştur.

Kicchl ve ark (172) yaptıkları çalışmada Lp-PLA2 düzeylerini KAH grubunda kontrol grubuna göre 1 standart sapma (SS) daha yüksek bulmuşlardır. [Risk oranı: 1.4 (1.1-1.4) p=0.001] (128).

Ballantyne ve ark. (173) tarafından yapılan, 6 yıllık bir periyotta 12000'in üzerinde sağlıklı orta yaşlı bireylerde ateroskleroza değerlendirmek için planlanmış prospektif bir çalışmada, Lp-PLA2 ve CRP düzeyleri önemli ve bağımsız bir şekilde KAH ile ilişkili bulmuşlardır.

Caslake ve ark. (174) 94 KAH ve 54 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada Lp-PLA2 düzeylerini kontrol grubuna göre daha yüksek saptamışlardır.

Bizim bulgularımızda da, yapılan diğer epidemiyolojik çalışmalar ve Caslake ve ark.'nın yaptığı çalışmaya benzer şekilde, Lp-PLA2 düzeyi KAH grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulundu (p=0.002). Lp-PLA2 düzeylerini tıkalı damar sayısına göre karşılaştırdığımızda da 3 damar ve üstü tıkalı damara sahip KAH'ın tek tıkalı damara sahip olan KAH'a göre daha yüksek olduğu belirlendi (p=0.016). Yapılan literatür taramasında ise tıkalı damar ile Lp-PLA2 düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmadı.

Lp-PLA2'nin, okside-LDL'deki fosfatidilkolini hidroliziyle oldukça proenflamatuvar moleküller olan lizofosfatidilkolin ve okside serbest yağ asitleri ortaya çıkar. Hidroliz sonucu ortaya çıkan bu ürünler adezyon molekülleri ve sitokinlerin ekspresyonunu düzenleyerek monositlerin lümeninden intimaya göçünü sağlayarak makrofajlara değişmesine ve aterosklerotik plak oluşumuna neden olurlar.

Lizofosfotidilkolin aynı zamanda araşidonik asitin salınmasını gerçekleştirerek vasküler endotelin diastolik fonksiyonu ile hücrel apopitozu indükler ve böylece vasküler endotelial hücreler hasarlanır. Sonuç olarak lokal inflamatuvar reaksiyon başlayarak plaklar oluşur (175).

Lp-PLA2 ekspresyonu, zedelenebilir ve rüptüre plakların makrofajlarında ve nekrotik korda da eksprese olmaktadır. Bu durum Lp-PLA2'nin plak gelişim mediatörü olabileceğini göstermektedir (148).

Hakkinen ve ark. (176) in situ hibridizasyon ve immünhistokimya yöntemlerini kullanarak Lp-PLA2'yi insan ve tavşan aterosklerotik lezyonlarında saptamışlardır. Hiperlipidemik tavşanların aterosklerotik aortu ile kontrol grubunun normal aortu karşılaştırıldığında Lp-PLA2 aktivitesinin yaklaşık 6 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir (176).

Yine yapılan birçok çalışmada artmış Lp-PLA2 düzeylerinin, aterosklerotik plaklarda proinflamatuvar ürünlerin üretimiyle KAH ve diğer vasküler hastalıklar için bir risk faktörü olduğu görülmüştür (148).

Bizim sonuçlarımıza göre ise koroner damarlarında plak bulunan KAH hastalarının plak bulunmayan hastalara göre Lp-PLA2 düzeyi daha yüksek bulunmasına rağmen bu yükseklik anlamlı değildi ($p>0.05$) (çizelge 4.3).

Lp-PLA2 düzeylerinin yaş, beden kitle indeksi, sistolik ve diastolik kan basıncı ile sigara kullanımı gibi bazı kardiyovasküler risk faktörlerinden bağımsız olduğu belirtilmiştir. Bununla beraber yükselen Lp-PLA2 düzeylerinin statin, niasin gibi lipid düşürücü ilaçlarla düzeltilebildiği fakat, klinik durumun düzelmesiyle beraber hastalarda istenen Lp-PLA2 düzeylerine ulaşamadığı görülmektedir. (177).

Atik ve ark'ları (178) Lp-PLA2'nin aterosklerozdaki inflamasyona aracılık ettiği görüşünden yola çıkarak, karotid endarterektomi yapılan 42 hastada serum Lp-PLA2 aktivite düzeyleri, plak Lp-PLA2 düzeyleri, serum homosistein düzeylerini araştırmışlardır. Hastaların aterosklerotik risk faktörleri ile serum ve plaktaki Lp-PLA2 seviyeleri arasında bir ilişki gösterilmemiştir. Fakat plaktaki Lp-PLA2 ile serum homosistein düzeyleri, plak makrofajları arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır.

İskoçya Koroner Önleme Çalışmasında (WOSCOPS) yüksek Lp-PLA2 düzeylerinin iki kat artmış KAH riski ile ilişkisi saptanmış ve geleneksel risk faktörlerinin ve CRP'nin KAH'dan bağımsız olduğu belirlenmiştir (169).

Çalışmamızda LDL-Kolesterol, HDL-kolesterol düşüklüğü, yaş, cinsiyet, aile öyküsü, sigara kullanımı ve hipertansiyon gibi KAH gelişmesinde önemli risk faktörleri ile Lp-PLA2 düzeyleri arasında istatistiksel bir ilişki olup olmadığı da araştırılmıştır. LDL-K 130 mg/dl'den yüksek ve HDL- K 40 mg/dl'den düşük olan hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri de yüksek olmasına rağmen anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$). KAH grubu içerisinde 50 yaş üzeri ve 50 yaş altı bireyler karşılaştırıldığında, Lp-PLA2 düzeyi 50 yaş üzeri bireylerde daha yüksek bulunmasına rağmen anlamlı bir farklılık yoktu. Cinsiyete göre erkeklerde kadınlara göre Lp-PLA2 düzeyi daha yüksek bulunmakla beraber bu yükseklik anlamlı değildi ($p>0.05$). Yapılan bir çalışmada Lp-PLA2 düzeylerinin erkeklere göre kadınlarda daha düşük olduğu bildirilmiştir ve bu düşüklüğün nedeni kadınlarda kardiyovasküler riskin daha az bulunması ile ilişkili olabileceğine bağlanmaktadır (166). Çalışmamızda, hipertansiyonu olan, sigara kullanan ve aile öyküsü bulunan hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri yüksek olmasına rağmen anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Sonuçta, Lp-PLA2 düzeyleriyle KAH risk faktörlerinin hiçbiri ile anlamlı bir ilişki olmadığı saptanmıştır (çizelge 4.4). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre hem KAH grubunda hem de 3 ve üstü tıkalı damar hastalarında Lp-PLA2 düzeylerinin yüksek olması, Lp-PLA2'nin KAH için bağımsız bir risk faktörü olarak yeni bir inflamatuvar belirteç olabileceği yönündeki görüşleri desteklemektedir (166- 170, 173, 178).

Bazı çalışmalarda Lp-PLA2 enzim aktivitesinin, enzim kütlesine göre lipid belirteçleri ile daha güçlü ilişkide olması ve lipoprotein sınıfları arasında enzimin dağılımının farklı olması nedeniyle Lp-PLA2 aktivitesinin yanısıra Lp-PLA2 kütlesi de çalışılmıştır (174).

Lori ve ark. (179) 1077 sağlıklı kadın ve erkeği KAH risk faktörleri ayarlamaları yapıldıktan sonra 16 yıl takip etmiş, ortalama yaşı 72 olan bireylerin 228'inde KAH geliştiğini ve Lp-PLA2 kütle düzeyi düşük ¼'lük gruba göre yüksek ¼'lük grupta KAH riskinde artış bulduklarını ileri sürmüşlerdir ($p<0.05$).

Malmo Diet ve Kanser çalışmasında, 5402 olguda kardiyovasküler risk faktörleri ile enzimin aktivitesi, kütlesinden daha güçlü ilişkili bulunarak Lp-PLA2 kütlesi ve aktivitesi arasında, enzimin etkinliğini göstermesi açısından güçlü ilişki olduğunu ileri sürülmüştür. Bu çalışmada, enzimin kütlesi ile lipid arasındaki bağlantı, enzimin

aktivitesindeki bağlantı kadar güçlü bulunmazken, hem aktivitede hem kütlede gözlenen artış, karotid intima ve media kalınlığı ile bağlantı gösterdiği saptanmıştır (180).

Koenig ve ark. (181) 934 orta-yaş sağlıklı erkeklerden oluşan bir kohort çalışma ile KAH'da Lp-PLA2 kütlesi ve değerlendirilmiş ve Lp-PLA2 kütlesindeki 1 SS artmanın koroner olayların riskinde %37 artma ile ilişkili bulunmuştur.

Bir başka MONICA çalışmasında, KAH teşhisi konulan 97 erkek hastada kontrole göre artmış Lp-PLA2 kütle düzeyleri belirlenmiştir (182).

Packard ve ark. (183) hiperlipidemik, 5 yıldır takip edilen orta yaşlı 580 KAH olan erkek, ve 1160 kontrolün katıldığı çalışmada artmış Lp-PLA2 kütle düzeylerini belirlemişlerdir ve CRP gibi diğer inflamasyon belirteçlerinden bağımsız olarak KAH için kuvvetli bir risk faktörü olabileceğini bildirmişlerdir.

Orta yaş kadından oluşan 123 KAH ve 123 kontrollü bir çalışmada, Lp-PLA2 kütle düzeyleri kontrole göre yüksek bulunmasına rağmen, geleneksel risk faktörleri ve CRP için düzenleme yapıldıktan sonra Lp-PLA2'nin risk prediktif değerinin önemli ölçüde azalmadığı belirlenmiştir (173).

Günümüze kadar yapılan çalışmaların çoğunda Lp-PLA2'nin çok sayıda hastayla yapılan epidemiyolojik çalışmalarda inflamasyon belirteçleri ve bilinen kardiyovasküler risk faktörlerinden bağımsız olarak, KAH tahmininde önemli bir yere sahip olduğu ileri sürülmüştür. Sağlıklı bireylerde, KAH veya inmelı stabil hastalarda yapılan birçok çalışmada da benzer sonuçlar görülmüştür (163, 169-175).

Lp-PLA2 aktivitesinin KAH'da kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu önceki çalışmalarda belirtilmişti. Lp-PLA2 düzeyi hastalığın şiddeti, fazı (akut, kronik), süreci ile ilişkili çeşitli faktörler tarafından etkilenebilir. Lp-PLA2 aktivitesindeki değişikliğin sebebi aterosklerotik hastalıklarda nedensel bir faktör veya belkide aterosklerotik değişikliklere bir yanıt sonucunda olup olmadığını belirlemek için hastanın Lp-PLA2 genotip değerlendirilmesi de önemlidir.

Lp-PLA2 V279F genotip dağılımı ırklar arasında farklılık gösterir. Güney Amerika ve Avrupada 2000'den fazla bireyin katıldığı çalışmada heterozigot veya homozigot genotip saptanmamıştır (125).

V279F mutasyonu öncelikle Japon toplumunda bulunmuştur. Daha sonra Türk ve Kırgız gibi etnik gruplarda saptanmasına rağmen beyaz ırkta saptanmamıştır. V279F mutasyonunun Türk toplumunda da görülmesi nedeniyle Türk ve Japon

populasyonunun binlerce yıl önce Asya kökenli olduğu ve iki populasyon arasında etkileşim olduğu düşünülmektedir. V279F mutasyonu, enzim sekresyonundaki defekt nedeniyle heterozigot Japon bireylerin %27'sinde, homozigot bireylerin %4'ünde Lp-PLA2 düzeyinin azalmasıyla ilişkilidir. V279F mutasyonu Japon toplumunda erkeklerde MI ve inme, aterosklerotik oklüziv hastalıklar, abdominal aortik anevrizma risk faktörü olduğu, aynı zamanda serebral kanama, ailesel olmayan dilate ve hipertrofik kardiyomyopati ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (125,126)

Yamada ve ark. (185) V279F miyokard infarktüsü geçiren Japon erkek hastalarda heterozigot genotipi %33, homozigot genotipi %2.1; kontrol grubunda heterozigot genotipi %21, homozigot genotipi % 2.2 bularak, hastalarda heterozigot genotipin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Mutant genotip ile KAH arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Hiramoto ve ark. (186) inme geçiren Japon hastalarda V279F mutasyonunu heterozigot genotipi %39.2; homozigot genotipi %4.2 bulurken kontrol grubunda heterozigot genotipi %22.4; homozigot genotipi %3 olarak saptamışlardır. Hasta grubunda homozigot genotipi kontrol grubuna göre yüksek bularak aterosklerotik hastalıklarda V279F mutasyonunun genetik bir risk faktörü olabileceğini öne sürmüşlerdir (186).

Çeşitli çalışmalar bu varyantın Japon taşıyıcılarında kardiyovasküler hastalık prevalansının daha yüksek olduğunu göstermesine rağmen bu araştırmaların bazılarında heterozigot ve homozigot arasında hiçbir fark olmadığı belirlenmiştir (134).

Başka bir çalışmada 4152 Japon bireyde V279F varyantı ve MI riski arasında bir ilişki bulunamamıştır (187).

Balta ve ark. (126) tarafından yapılan bir çalışmada, Japon olmayan toplumlarda da V279F mutasyonunun varlığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada, sağlıklı 358 Türk, 143 Kırgız ve 100 Azeri incelenmiş ve bu bireyler arasında heterozigot mutasyon sırasıyla 3 (0.84%), 12 (% 8.4) ve 0 olarak bulunmuş ve mutant genotip ise saptanmamıştır (126).

Korede 2914 (1182erkek, 1732 kadın) bireyde yapılan bir çalışmada 2217 birey homozigot V279V, 641 birey heterozigot V279F, 46 birey ise homozigot F279F olarak saptanmıştır. V279F genotipi ile yaş, cinsiyet, BMI, sigara kullanımı, alkol tüketimi, kan basıncı, ve serum trigliserit, total kolesterol, HDL-kolesterol, apolipoprotein B ve glukoz arasında anlamlı bir ilişki bulunmamasına rağmen V279F genotipi ile LDL-K

arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. LDL-K düzeyi FF genotipe sahip bireylerde V279V genotipe sahip bireylere göre daha düşük bulunmuştur. Lp-PLA2 aktivitesini V279F genotipi V279V genotipine göre %24 azaltırken, F279F genotipte enzim aktivitesi görülmemiştir (188).

Hou ve ark. (189) Çin toplumunda V279F ve F279F genotipe sahip bireylerde koroner arter hastalığı gelişme riskinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Diğer çalışmaların aksine Korede Jang ve ark. (190) tarafından 532 KAH olan erkek ve 670 sağlıklı bireyde yapılan başka bir çalışmada homozigot F279F genotipinin KAH riskini azalttığını göstermişlerdir.

Şekuri ve ark (184) 164 hasta ve 142 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada hasta grubunda heterozigot mutasyon oranını % 2.60 olarak saptarken, kontrol grubunda bütün bireyler VV genotip olarak bulunmuştur. V279F heterozigot genotip ile KAH arasında anlamlı bir ilişki saptamamışlardır.

Beyaz Irkta Lp-PLA2 V279F mutasyonu bulunmamasına rağmen epidemiyolojik çalışmalarda Lp-PLA2 düzeyinin artmasıyla KAH riskinin arttığı gösterilmiştir (172-174,181). Fakat Asya kökenli bireylerde yapılan çalışmalarda enzim aktivitesini azaltan V279F mutasyonunun inme, KAH ve MI riskini arttırdığını ve dolayısıyla LP-PA2'nin bu hastalıklarda antiaterojenik rolü olduğu öne sürülmüştür (185-189). Çalışmalar arasındaki bu farklılık Beyaz Irk ve Asya toplumu arasındaki genetik çeşitliliğe dayanmasından ve Lp-PLA2 enziminin hem proaterojenik hem de anti-aterojenik etkilerinden kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda hem KAH grubu ve hem de kontrol grubunda bütün bireylerin VV genotipe sahip olduğunu belirledik. Balta ve ark. (126) çalışmalarında sağlıklı 358 Türk bireyde 3 heterozigot genotip, Şekuri ve ark. (184) ise 164 KAH'lı bireyde sadece 3 heterozigot genotip olduğunu belirlemişlerdir. Her iki çalışmada da mutant genotip saptanmamıştır. Türk bireylerin katıldığı bu çalışmalarda V279F heterozigot genotip oranlarının çok düşük olduğu ve hem bu çalışmalarda hem de bizim bulgularımızda mutant genotip görülmediği için Türk toplumunda V279F mutasyonunun görülmediğini, heterozigot genotip sıklığında çok düşük olduğunu söyleyebiliriz.

Bütün bu çalışmalar bize gösteriyor ki Lp-PLA2 birçok araştırmacı tarafından araştırılmış ve uzun süreli araştırmalara konu olmuştur. Araştırma verileri genel olarak

değerlendirildiğinde, çoğunlukla Lp-PLA2 düzeyinin yüksekliği ile KAH arasında bir ilişki olabileceği görüşü hakim olsa da, aksi bulgular da dikkati çekmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda Lp-PLA2 düzeyi KAH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunurken Lp-PLA2 V279F mutasyonu her iki grupta görülmedi. Bu nedenle, Lp-PLA2 geninde yer alan ve protein düzeyinde farklılıklara yol açabilecek mutasyonların dizi analizi ile saptanması ve aynı zamanda R92H, I198T, I317N, Q281R, A379V, V279F polimorfizmlerinin protein ekspresyon düzeyleri ile karşılaştırılmaları ile ilgili daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sonucunda;

- ✓ Çalışmaya katılan KAH ve kontrol grubunda erkek cinsiyet, hipertansiyon, sigara kullanımı ve diyabet gibi KAH için risk faktörleri değerlendirildiğinde, erkek cinsiyetin 3.7, aile öyküsünü 2.8 ve sigaranın 2 kat risk oluşturduğu saptandı.
- ✓ Açlık kan şekeri düzeyleri KAH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.
- ✓ Lp-PLA2 düzeyleri, KAH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.
- ✓ Lp-PLA2 düzeyleri ile KAH grubunda tıkalı damar sayısı arasındaki ilişki değerlendirilmesinde, Lp-PLA2 düzeylerinde tıkalı damar sayısına göre artış olduğu saptandı. 2 damarı tıkalı hastaların Lp-PLA2 düzeylerinin 1 damarı tıkalı hastalara göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı, aynı zamanda 3 damar ve üstü tıkalı olan hastalarda Lp-PLA2 düzeylerinin 2 damar tıkalı hastalara göre yüksek olmasına rağmen farkın anlamlı olmadığı saptandı. Sadece 3 damar ve üstü tıkalı olan hastalar ile 1 damarı tıkalı hastalar arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptandı.
- ✓ Koroner arter hastaları arasında plak olan ve plak olmayan hastalar da Lp-PLA2 düzeyleri karşılaştırıldığında, plaklı hastalarda Lp-PLA2 düzeyleri yüksek bulunmasına rağmen anlamlı bir fark saptanmadı.
- ✓ LDL-K 130 mg/dl'den yüksek ve HDL- K 40 mg/dl'den düşük, yaşı 50'den büyük, erkek cinsiyete, aile öyküsüne sahip, hipertansiyon ve sigara kullanımı olan KAH'da Lp-PLA2 düzeyleri yüksek olmasına rağmen anlamlı bir farklılık bulunmadı.
- ✓ Lp-PLA2 V279F mutasyonu, hem KAH grubunda hem de kontrol grubunda V279V (wild) genotipi saptandı, V279F (heterozigot) ve F279F (mutant) genotipleri ise saptanmadı .

Yukarıda sıraladığımız sonuçlar doğrultusunda, Lp-PLA2 yüksekliğinin belirteç olarak kullanılabileceğini ancak çalışma ve kontrol grubunda heterozigot ve mutant

genotip saptamadığımız için Lp-PLA2 V279F mutasyonunu KAH için genetik risk faktörü olarak değerlendiremedik.

Lp-PLA2 geninde yer alan ve protein düzeyinde farklılıklara yol açabilecek mutasyonların dizi analizi ile saptanması ve aynı zamanda R92H, I198T, I317N, Q281R, A379V, V279F polimorfizmlerinin protein ekspresyon düzeyleri ile karşılaştırılmaları ile ilgili daha ileri çalışmaların yapılmasını önermekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. **Libby P, Theroux P.** Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* **2005**; 111:3481-3488.
2. **Ross R.** Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J*, **1999**; 138 (52): 19-20.
3. **Koenig W, Löwel H, Baumert J, Meisinger C.** C-reactive protein modulates risk prediction based on the framingham score : implications for future risk assessment: results from a large cohort study in Southern Germany. *Circulation*, **2004**;109:1349-1353.
4. **Vaina S, Stefanadis C.** Detection of the vulnerable coronary atheromatous plaque. Where are we now? *Int J Cardiovasc Intervent*, **2005**; 7:75-87.
5. **Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, Oates JA, Peck CC, Schooley RT, Spilker BA, Woodcock J, Zeger SL.** Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*, **2001**; 69:89-95.
6. **Ferri N, Paoletti R, Corsini A.** Lipid-modified proteins as biomarkers for cardiovascular disease: a review. *Biomarkers*, **2005**; 10:219-237.
7. **Lavi S, McConnell JP, Rihal CS, Prasad A, Mathew V, Lerman LO, Lerman A.** Local production of lipoprotein associated phospholipase A2 and lysophosphatidylcholine in the coronary circulation: association with early coronary atherosclerosis and endothelial dysfunction in humans. *Circulation*, **2007**; 115:2715–2721.
8. **Kolodgie FD, Burke AP, Skorija KS, Ladich E, Kutys R, Makuria AT, Virmani R.** Lipoprotein-associated phospholipase A2 protein expression in the natural progression of human coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2006**; 26:2523–2529.
9. **Stafforini DM.** Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A2). *Cardiovasc Drugs Ther*, **2009**; 23:73–83.
10. **Corson MA, Jones PH and Davidson MH.** Review of the evidence for the clinical utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 as a cardiovascular risk marker. *Am J Cardiol*, **2008**;101:51-50.
11. **Lerman A, McConnell JP.** Lipoprotein-associated phospholipase A2: A risk marker or a risk factor? *Am J Cardiol*, **2008**;101:11–22.
12. **Anderson JL.** Lipoprotein-associated phospholipase A2: An independent predictor of coronary artery disease events in primary and secondary prevention. *Am J Cardiol*, **2008**;101:23–33.

13. **Jang Y, Kim OY, Koh SJ, Chae JS, Ko YG, Kim JY, Cho H, Jeong TS, Lee WS, Ordovas JM, Lee JH. Jang Y, Kim OY, Koh SJ, Chae JS, Ko YG, Kim JY, Cho H, Jeong TS, Lee WS, Ordovas JM, Lee JH.** The Val279Phe variant of the lipoprotein-associated phospholipase A2 gene is associated with catalytic activities and cardiovascular disease in Korean men. *J Clin Endocrinol Metab*, **2006**; 91(9):3521-7.
14. **White PD.** Angina pectoris: historical background In: Paul O. Eds. *Angina pectoris*, New York: Medcom Press, **1974**:1-11.
15. **Ross R, Glomset JA.** Atherosclerosis and arterial smooth muscle cell. *Science*, **1973**; 180: 1332-1339.
16. **Jorde LB, Williams RR.** Relation between family history of coronary artery disease and coronary variables. *Am J Cardiol*, **1988**; 62: 708.
17. **Schland RC, Alexande RW.** *The heart*. 8nd. Ed., New York: Mc Graw Hill Inc, **1994**: 84-89.
18. **Ross R.** Atherosclerosis an inflammatory disease. *NEJM*, **1999**;340:115-126. 58.
19. **Farmer J, Gotto AM.** *Risk factors for coronary artery disease*, In,Braunwald E, Heart Disease Fourth Edition. W.B. Saunders Company **1992**:1125.
20. **Onat A, Sansoy V, Soydan İ, Tokgözoğlu L, Adalet K.** TEKHARF; Oniki Yıllık İzleme Deneyimine Göre Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı.. Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve TicaretAnonim Şirketi. **2003**, İstanbul.
21. **Özcan N.** *Koroner Kalp Hastalıkları*, Ankara, **1997**: 31-33.
22. **Thomson GR.** Hiperlipidemi el kitabı. Uycan yayınları A.Ş. İstanbul **1990**.45-50.
23. **Onat T, Emerk K, Sözmen EY.** *İnsan Biyokimyası*. 2. baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2002:346-347.
24. **Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB.** A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis prone regions. *Circulations*, **1992**; 85: 391- 405.
25. ankaraklinikbiyokimya.files.wordpress.com/2011/02/lpfla.ppt. (ErişimTarihi:03.03.2012).
26. **Stary HC.** *Atlas of atherosclerosis progression and regression*. 2nd. Ed: The Partheonon Pulishing Group, New York, USA, **2003**:13-15.

27. **Vallace P.** Vasculer endotelium, its physiology and pathophysiology. In; Weatherall DJ et al. Oxford Text Book of Medicine, 3 ed. Oxford Medical Publications, Oxford, UK, **1996**; 2: 2295-2300.
28. **Tsao PS, Buitrago R, Chan JR, Cooke LP.** Nitric oxide regulates monocytes chemotactic protein-1. *Circulation*, **1997**; 96:934-40.
29. **De Caterina R, Libby P, Peng HB, et al.** Nitric oxide decreases cytokine induced endothelial activation: nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest*, **1995**;96:60-68.
30. **Furchgott RF, Zawadzki JW.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, **1980**; 288: 373-376.
31. **Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, et al.** Beyond cholesterol, modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*, **1989**;320:915-24.
32. **Ongen Z, Yılmaz Y.** Aterosklerozun Patogenezi. Kultursay H (editor). Koroner Kalp Hastalığı Primer ve Sekonder Korunma **2001**. İstanbul: Argos İletişim Hizmetleri, **2001**:31-66.
33. **Reidy MA, Fingerle J, Lindner V.** Factors controlling the development of arterial lesions after Injury. *Circulation*, **1992**;86:11143-6.
34. **Crawford MH, DiMarco JP.** *Crawford Kardiyoloji* 1. baskı. İstanbul, And Yayıncılık, **2003**;1:2-14.
35. **Farugi RM, Di Corleto PE.** Mechanisms of monocyte recruitment and accumulation. *BHJ*, **1993**;69:19-29.
36. **Öngen Z.** *Klinik kardiyoloji*, MN Medikal and Nobel Basımevi, **2000**; 89-92.
37. **Ross R.** *Factors Influencing atherogenesis*. In:Alexander RW,et al. Hurst's The Heart, 9th ed. McGraw-Hill, New York, USA, **1998**;1:1139-1159.
38. **Kök H.** *Klinik Kardiyoloji*. 2.Baskı, Konya: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd.Şti, **2002**; 201-214.
39. **Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, **1993**;362: 801-947.
40. **Steinberg D, Witztum JL.** Lipoproteins and atherosclerosis: current concepts. *J Am Med Assoc*, **1990**;264: 3047-52.
41. **Williams KJ, Tabas I.** The response to retention hypothesis of early atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1995**; 15: 551- 61.
42. **Kadar A, Glasz T.** Development of atherosclerosis and plaque biology. *Cardiovasc Surg*, **2001**;2: 109-21.

43. Wick G, Romen M, Amberger A, Metzler B, Mayr M, Falkensammer G, Xu Q. Atherosclerosis, autoimmunity, and vascular-associated lymphoid tissue. *FASEB J*, **1997**; 1199 – 1207.
44. Koenig W. Atherosclerosis involves more than just lipids: focus on inflammation. *Eur Heart J*, **1999**;19-26.
45. Rong JX, Rangaswamy S, Shen L, Dave R, Chang YH, Peterson H, et al. Arterial injury by cholesterol oxidation products causes endothelial dysfunction and arterial wall cholesterol accumulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1998**;18: 1885-1894.
46. Libby P. *The Vascular Biology of Atherosclerosis*. Braunwald E, Zipes DP, Libby P. Braunwald's Heart Disease. 7 th Edition. Elsevier Saunders **2005**;35: 921-939.
47. Van der Wal AC, Das PK, Tigges AJ. Adhesion molecules on the endothelium and mononuclear cells in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol*, **1992**; 141: 1427-33.
48. <http://www.evgn.org/endothelial-dysfunction-for-general-public> (Erişim tarihi: 03/03/2012)
49. Boyle EM, Lille ST, Allaire EA, Clowes W, Verrier ED. Atherosclerosis. *Ann Thorac Surg*, **1997**;64: 47–56.
50. Hansson GK.: Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2001**;21: 1876–1890.
51. Henniga B, Toborek M.: Nutrition and endothelial cell function: implications in Atherosclerosis. *Nutr Res*, **2001**;21: 279–293,
52. Ongen Z, Yılmaz Y. Aterosklerozun Patogenezi. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci*, **2006**;2:1-9.
53. Raines EW, Ross R. Smooth muscle cells and pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *BHJ*, **1993**;69:30-37.
54. Kaperonis EA, Liapis CD, Kakisis JD, Dimitroulis D, Papavassiliou VG. Inflammation and atherosclerosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, **2006**;31: 386-393.
55. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, **2002**;105: 1135-1143.
56. Cem H. *Multidisipliner Kardiyoloji*, 1. Baskı. İstanbul: Nobel-Güneş **2002**; 105-35.
57. Ören Z. Aterotrombozun Fizyopatolojisi. *Türk Kardiyoloji Semineri*, **2004**; 4(2): 180-5.

58. **Van Der Wal A, Becker AE.** Atherosclerotic plaque rupture- pathologic basis of plaque stability and instability. *Cardiovasc Res*, **1999**; 41: 334-344.
59. **Davies MJ.** *Atlas of Coronary Artery Disease*. Philadelphia: Lipincott-Raven **1998**.
60. **Burring KF.** The endothelium of advanced atherosclerotic plaques in humans. *Artheroscler Thromb*, **1991**; 11: 1678-89.
61. **Fuster V, Fayad ZA, Badimon JJ.** Acute coronary syndromes: Biology. *Lancet*, **1999**; 353: 5-9.
62. **Falk E, Shan PK, Fuster V.** Coronary plaque disruption. *Circulation*, **1995**; 92:657-71.
63. **Toschi V, Gallo R, Lettino M, et al.** Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation*, **1997**;95: 594-9.
64. **Mann JM, Davies MJ.** Vulnerable plaque: Relation of characteristics to degree of stenosis in human coronary arteries. *Circulation*, **1996**; 94: 928-31.
65. **Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW.** A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, *American Heart Association Circulation*, **1995**;92(5):1355-74.
66. **Biberoğlu İ, Ünal S.** *İç Hastalıkları* .Güneş Kitabevi , 2. baskı, **2003**: 449-474.
67. **Schaefer EJ, Genest JJ, Ordovas JM.** Familial lipoprotein disorders and premature coronary artery disease. *Atherosclerosis*, **1994**; 108:541-552.
68. **Grundey SM, Bilheimer D, Chait A, Luther T, Clark LT, Denke M, Richard J, Havel RJ, Hazzard WR, Hulley SB, Hunninghake DB, Kreisberg RA, KrisEtherton P, McKenney JM, Newman MA, Schaefer EJ.** Summary of the second report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment II). *JAMA*, **1993**; 269.
69. **Grundey SM, Pasternak R, Greenland P, Smith SJr, Fuster V.** Assesment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assesment equations: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation*, **1999**;100.
70. **Braunwald E, Brown WV, Chait A, Dalen JE, Fuster V, Ginsberg HN, Gotto AM, Krauss RM, LaRosa JC, Lee TH, Meyers L, Newman M, Pearson T, Rader DJ, Sacks FM.** National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the

National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*, **2002**;106:3143-3421.

71. **Hergenç G.** Lipoprotein Fizyolojisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medicine Sciences*, **2005**;1(20):1-11.
72. **Flavahan NA.** Atherosclerosis or lipoprotein induced endothelial dysfunction: Potential mechanisms underlying reduction in EDRF/nitric oxide activity. *Circulation*, **1992**;85:1927-1938.
73. **Mannien V, Huttunen JK, Heinonen OP, Tenkanen L, Frick MH.** Relation between baseline lipid and lipoprotein values and the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Am J Cardio*, **1989**;63:42-47.
74. **Genest JJr, Martin-Munley SS, McNamara JR, Ordovas JM, Jenner J, Myers RH.** Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation*, **1992**;85:2025-2033.
75. **Gibbons RJ, Abrams J, Chatterjee K, Daley J, Deedwania PC, Douglas JS, Ferguson TB Jr, Fihn SD, Fraker TD Jr, Gardin JM, O'Rourke RA, Pasternak RC, Williams SV, Gibbons RJ, Alpert JS, Antman EM, Hiratzka LF, Fuster V, Faxon DP, Gregoratos G, Jacobs AK, Smith SC.** ACC/AHA guideline update for the management of patients with chronic stable angina summary article. a report of the american collage of cardiology/ american heart association task force on practice guidelines. (committee on the management of patients with chronic stable angina) *Circulation*, **2003**;107-149.
76. **Wilhelmsson C, Elmfeldt D, Elmfeldt D, Tibblin G, Wilhelmsen L.** Smoking and myocardial infarction. *Lancet*, **1975**;1:415-19.
77. **Migas OD.** The lipid effects of smoking. *Am Heart J*, **1988**;115:272.
78. **Tiwari AK, Gode JD and Dubey GP.** Effect of cigarette smoking on total cholestrol and HDL in normal subjects and coronary heart disease patients. *Indian Heart J*, **1989**,41:92.
79. **Trap-Jensen J,** Effects of smoking on the heart and peripheral circulation. *Am Heart J*, **1988**;115: 263.
80. **Green MS, Juciha E and Luz Y.** Blood pressure in smokers and non-smokers. Epidemiologic findings. *Am Heart J*, **1986**;111: 932.
81. **Meade TW, Immeson J and Stirling Y.** Effects of changes in smoking and other characteristics on clothing factors and the risk of ischemic heart disease. *Lancet*, **1987**; 2:986.
82. **Kannel WP:** Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *JAMA*, **1996**;275:1571-76.

83. **Franklin SS, Khan SA, Wong ND, Larson MG, Levy D.** Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart disease ? The Framingham Heart Study. *Circulation*, **1999**;100: 354-360.
84. **Gifford RW.**The fifth Report of the Joint National Committee on detection,evaluation and treatment of high blood pressure. *Arch Intern Med*, **1993**; 153:161.
85. **Wong ND, Cupples LA, Ostfeld AM, Levy D, Kannel WB.** Risk factors for long-term coronary prognosis after initial myocardial infarction: the Framingham Study. *Am J Epidemiol*, **1989**;130:469-80.
86. **Ridker PM, Libby P.** *Risk Factors for Atherothrombotic Disease.* Braunwald E, Zipes DP, Libby P. Braunwald's Heart Disease. 7 th Edition. Elsevier Saunders. **2005**;36:939-959.
87. **Grundey SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV.** Diabetes and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, **1999**;100:1134-1140.
88. **Reaven GM.** Insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia:Role in hypertension, dyslipidemia and coronary heart disease. *Am Heart J*, **1991**;121:1283.
89. **Blair SN, Kohl HW,Paffenberger RS.** Physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy men and woman. *JAMA*,**1989**;262:2395.
90. **Rao SV, Donahue M, Pi-Sunyer X, Fuster V.** Obesity as a risk factor in coronary artery disease. *Am Heart J*, **2001**;142:1102-7.
91. **Higgins M, Kannel W, Garrison R.** Hazards of obesity-The framingham experience. *Acta Med Scand*,**1988**;723:23.
92. **Mangoni AA, Jackson SH.** Homocysteine and cardiovascular disease: current evidence and future prospects. *Am J Med*, **2002**;112:556-565.
93. **Welch GN, Loscalzo J.** Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med*, **1998**; 338:1042-1050.
94. **Werstuck GH, Lentz SR, Dayal S, et al.** Homocysteine-inducedendoplasmic reticulumstress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride bioynthetic pathways. *J Clin Invest*, **2001**;107:1263-1273.
95. **Homocystein Studies Collaboration.** Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta analysis. *JAMA*, **2002**;288:2015-2022.
96. **Libby B,Ridker MP, Attilio M.** Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, **2002**;105:1135-1143.

97. **Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET.** Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, **2000**;102:2165-2168.
98. **Griffin BP, Topol EJ.** *Manual of Cardiovascular Medicine*. Lippincott Williams & Wilkins, 2th Edition USA, **2004**;525:550-555.
99. **Weksler BB.** *Hemostasis and thrombosis in douglas PS* (ed): Cardiovascular health and disease in women. Philadelphia, WB Saunders. **1993**;58:231-38.
100. **Cantin B,** Gagnon F, Moorjani S, Despres JP, Lamarche B, Lupien PJ, Dagenais GR. Is lipoprotein (a) an independent risk factor for ischemic heart disease in men? The Quebec Cardiovascular Study. *JACC*, **1998**;31:519-525.
101. **Chuib B, Viira E, Tucker W, Fong IW.** Chlamydia pneumoniae, Cytomegalovirus, and Herpes simplex virus in atherosclerosis of carotid artery. *Circulation*, **1997**;96:2144-8.
102. **Shukla D.** Platelet-activating factor receptor and signal transduction mechanisms. *FASEB J*, **1992**; 6: 2296-2301
103. **Nelson DL, Cox MM.** Lehninger. *Biyoimyanın İlkeleri* (Çeviri editörü: Prof. Dr. Nedret Kılıç). 3. Baskı Palme Yayıncılık, Ankara, **2005**.sayfa 374.
104. **Kaiser E.** Phospholipase A2: Its usefulness in laboratory diagnostics. *Crit Rev Clin Lab Sci*, **1999**; 36(2): 65.
105. **Nevalainen JT.** Serum phospholipase A2 in inflammatory diseases. *Clin Chem*, **1993**; 39(12): 2453.
106. **Nevalainen JT, Hietaranta AJ, Gronroos JM.** Phospholipase A2 in acute pancreatitis. New biochemical and pathological aspects. *Hepato-gastroenterology*, **1999**; 46: 2731.
107. **Farr RS, Cox CP, Wardlow ML, Jorgensen R.** Preliminary studies of an acid-labile factor (ALF) in human sera that inactivates plateletactivating factor (PAF). *Clinical Immunology and Immunopathology*, **1980**;15:318–30.
108. **Karabina SA, Gora S, Atout R, Nino E.** Extracellular phospholipases in atherosclerosis. *Biochimie*, **2010**;XXX:1-7
109. **Hattori K, Hattori M, Adachi H, Tsujimoto M, Arai H, Inoue K.** Purification and characterization of plateletactivating factor acetylhydrolase II from bovine liver cytosol. *J Biol Chem*, **1995**;270:22308–13.

110. **Hattori M, Adachi H, Tsujimoto M, Arai H, Inoue K.** Miller-Dieker lissencephaly gene encodes a subunit of brain platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature*, **1994**;370:216–8.
111. **Stafforini DM, McIntyre TM, Carter ME, Prescott SM.** Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase: association with lipoprotein particles and role in the degradation of platelet-activating factor. *J. Biol Chem*, **1987**; 262 4215–4222.
112. **McConnell JP, Hoefner DM.** Lipoprotein-associated phospholipase A2. *Clin Lab Med*, **2006**;26:679-97.
113. **MacPhee CH, Moores KE, Boyd HF, Dhanak D, Ife RJ, Leach CA, Leake DS, Milliner KJ, Patterson RA, Suckling KE, Tew DG, Hickey DM.** Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, generates two bioactive products during the oxidation of low-density lipoprotein: use of a novel inhibitor. *Biochem J*, **1999**;338:479-87.
114. <http://www.case.edu/artsci/chem/faculty/salomon/CardiovascularDisease.htm>
(Erişim Tarihi:26.03.2012)
115. **Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI.** Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J*, **2001**;354:1–7.
116. **Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C, Stafforini DM, Dietsch G, Schimpf B, Hooper S, Trong HL, Cousens LS, Zimmerman GA, Yamada Y, McIntyre TM, Prescott SM, Gray PW.** Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature*, **1995**; 374:549–553
117. **Tjoelker LW, Eberhardt C, Unger J, Trong HL, Zimmerman GA, McIntyre TM, Stafforini DM, Prescott SM, Gray PW.** Plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is a secreted phospholipase A2 with a catalytic triad. *J Biol Chem*, **1995**;27:270(43):25481-7.
118. **Derewenda ZS, Ho YS.** PAF-acetylhydrolases. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1999**; 1441:229-236.
119. **Strempler KE, Stafforini DM, Prescott SM, McIntyre TM.** Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase. Oxidatively fragmented phospholipids as substrates. *J Biol Chem*, **1991**;266:11095–103.
120. **Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, McIntyre TM.** Platelet-activating factor and related lipid mediators. *Annu Rev Biochem*, **2000**;69:419–45.
121. **Min JH, Jain MK, Wilder C, Paul L, Apitz-Castro R, Aspleaf DC, et al.** Membrane-bound plasma platelet activating factor acetylhydrolase acts on substrate in the aqueous phase. *Biochem*, **1999**;38:12935–42.
122. **Min JH, Wilder C, Aoki J, Arai H, Inoue K, Paul L, et al.** Platelet-activating factor acetylhydrolases: broad substrate specificity and lipoprotein binding does not modulate the catalytic properties of the plasma enzyme. *Biochem*, **2001**;40:4539–49.

- 123. Stafforini DM, Satoh K, Atkinson DL, Tjoelker LW, Eberhardt C, Yoshida H, Imaizumi T, et al.** Platelet activating factor acetylhydrolase deficiency. A missense mutation near the active site of anti-inflammatory phospholipase. *J Clin Invest*, **1996**;97:2784–91.
- 124. Miwa M, Miyake T, Yamanaka T, Sugatani J, Suzuki Y, Sakata S, et al.** Characterization of serum plateletactivating factor (PAF) acetylhydrolase. Correlation between deficiency of serum PAF acetylhydrolase and respiratory symptoms in asthmatic children. *J Clin Invest*, **1988**;82:1983–91.
- 125. Karasawa K, Harada A, Satoh N, Inoue K, Setaka M.** Plasma platelet activating factor-acetylhydrolase (PAF-AH). *Progress in Lipid Research*, **2003**, 42:93–114.
- 126. Balta, G, Gurgey, A, Kudayarov, DK, Tunc, B, Altay, C.** Evidence for the existence of the PAF acetylhydrolase mutation (Val279Phe) in non-Japanese populations: a preliminary study in Turkey, Azerbaijan, and Kyrgyzstan. *Thromb Res*, **2001**; 101:231-234.
- 127. Yamada Y, Yokota M.** Loss of activity of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase due to a novel Gln281Arg mutation. *Biochem Biophys Res Commun*, **1997**;236:772–5.
- 128. Elstad MR, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA.** Platelet-activating factor acetylhydrolase increases during macrophage differentiation. A novel mechanism that regulates accumulation of plateletactivating factor. *J Biol Chem*, **1989**;264:8467–70.
- 129. Tjoelker LW, Wilder C, Eberhardt C, Stafforini DM, Dietsch G, Schimpf B.** Anti-inflammatory properties of a platelet-activating factor acetylhydrolase. *Nature*, **1995**;374:549–53.
- 130. Nakajima K, Murakami M, Yanoshita R, Samejima Y, Karasawa K, Setaka M, Nojima S, Kudo I.** Activated mast cells release extracellular type platelet-activating factor acetylhydrolase that contributes to autocrine inactivation of platelet-activating factor. *J Biol Chem*, **1997**;272:19708–13.
- 131. Narahara H, Frenkel RA, Johnston JM.** Secretion of platelet-activating factor acetylhydrolase following phorbol ester-stimulated differentiation of HL-60 cells. *Arch Biochem Biophys*, **1993**;301:275–81.
- 132. Stafforini DM, Carter ME, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM.** Lipoproteins alter the catalytic behavior of the platelet-activating factor acetylhydrolase in human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1989**;86:2393–7.
- 133. Ostermann G, Kostner GM, Gries A, Malle E, Till U.** The contribution of individual lipoproteins to the degradation of platelet-activating factor in human serum. *Haemostasis*, **1989**;19:160–8.

- 134. Zalewski A, Macphee C.** Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2005**;25:923-931.
- 135. Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AK, Bairaktari E, Miltiadous G, Goudevenos JA, Cariolou MA, Chapman MJ.** Altered distribution of platelet-activating factor acetylhydrolase activity between LDL and HDL as a function of the severity of hypercholesterolemia. *J Lipid Res*, **2002**; 43:256–263.
- 136. Tsimihodimos V, Kakafika A, Tambaki AP, Bairaktari E, Chapman MJ, Elisaf M, Tselepis AD.** Fenofibrate induces HDL-associated PAF-AH but attenuates enzyme activity associated with apoB-containing lipoproteins. *J Lipid Res*, **2003**; 44:927–934.
- 137. Tambaki AP, Rizos E, Tsimihodimos V, Tselepis AD, Elisaf M.** Effects of antihypertensive and hypolipidemic drugs on plasma and high density lipoprotein-associated platelet activating factor-acetylhydrolase activity. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, **2004**; 9:91–95.
- 138. Navab M, Berliner JA, Subbanagounder G, Hama S, Lusic AJ, Castellani LW, Reddy S, Shih D, Shi W, Watson AD, Van Lenten BJ, Vora D, Fogelman AM.** HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2001**; 21:481–488.
- 139. Tsimihodimos V, Karabina SA, Tambaki AP, Bairaktari E, Goudevenos JA, Chapman MJ, Elisaf M, Tselepis AD.** Atorvastatin preferentially reduces LDL-associated platelet-activating factor acetylhydrolase activity in dyslipidemias of Type IIA and IIB. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2002**;22:306–311.
- 140. Kujiraoka T, Iwasaki, Ishihara M, Ito M, Nagano M, Kawaguchi A, Takahashi S, Ishii J, Tsuji M, Egashira T, Stepanova IP, Miller NE, Hattori H.** Altered distribution of plasma PAF-AH between HLDs and other lipoproteins in hyperlipidemia and diabetes mellitus. *J Lipid Res*, **2003**; 44:2006–20014.
- 141. Kujiraoka T, Hattori H, Ito M, Nanjee N, Ishihara M, Nagano M, Iwasaki T, Cooke CJ, Olszewski WL, Stepanova IP, Egashira T, Miller NE.** Effects of intravenous apolipoprotein A-I/phosphatidylcholine discs on paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase in human plasma and tissue fluid. *Atherosclerosis*, **2004**; 176(1):57-62.
- 142. Nanjee MN, Doran JE, Lerch PG, Miller NE.** Acute effects of intravenous infusion of Apo A-I/phosphatidylcholine discs on plasma lipoproteins in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1999**; 19: 979–989.
- 143. Sudhir K.** Lipoprotein-associated phospholipase A2, a novel inflammatory biomarker and independent risk predictor for cardiovascular disease. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2005**; 90(5):3100–3105.
- 144. Karabina SA, Liapikos TA, Grekas G, Goudevenos J, Tselepis AD.** Distribution of PAF-acetylhydrolase activity in human plasma low-density lipoprotein subfractions. *Biochim Biophys Acta*, **1994**;1213:34-8.

- 145.de Graaf J, Hak-Lemmers HL, Hectors MP, Demacker PN, Hendriks JC, Stalenhoef AF.** Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb*, **1991**;11:298-306.
- 146.Safaya R, Chai H, Koungias P, Lin P, Lumsden A, Yao Q, Chen C.** Effect of lysophosphatidylcholine on vasomotor functions of porcine coronary arteries. *J Surg Res*, **2005**;126:182-8.
- 147.Tselepis AD, John Chapman M.** Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl*, **2002**;3:57-68.
- 148.Kolodgie FD, Burke AP, Taye A, Liu W, Sudhir K, Virmani R.** Lipoprotein-associated phospholipase A2 is highly expressed in macrophages of coronary lesions prone to rupture. *Circulation*, **2004**; 110 3:246-247.
- 149.Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS.** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, **1972**;18:499-502.
- 150. Yıldırım H.** Kalp kapağı replasmanı sonrasında antikoagülan tedavide CYP2C9 gen polimorfizminin rolü. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin, **2006**.
- 151.Ferri N, Paoletti R, Corsini A.** Biomarkers for atherosclerosis: pathophysiological role and pharmacological modulation. *Current Opinion in Lipidology*, **2006**; 17(5):495-501.
- 152.Bierman EL, Ross L.** Aging and atherosclerosis. *Atherosclerosis Rev*, **1987**; 2:7-11.
- 153.Koroner kalp hastalıklarından korunma ve tedaviye ilişkin ulusal kılavuz.** *Türk Kardiyoloji Derneği*, **1995** (Erişim: <http://www.tkd.org.tr/kilavuz/k02.htm>).
- 154.Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J.** Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: A prospective follow-up study of 14,786 middle -aged men and women in Finland. *Circulation*, **1999**; 99:1165.
- 155.Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eeckel RH, Howard BV.** Diabetes and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, **1999**;100:1134-1140.
- 156.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
- 157.Yılmaz Y, Öngen Z.** Lipid dışı risk faktörlerinin aterosklerozda önemi: C-reaktif protein odaklı bir değerlendirme. *Türk Kardiyol Dern Arş*, **2009**; 37: 7- 13

- 158.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.
- 159.Fuster V, Alexander RW, O'Rourke R.** *Hurt's the heart*. 10. Baskısının Türkçe çevirisi. And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti. 1. Basım. **2002**:1065-1109.
- 160.Gotto AM Jr.** Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol*, **1998**; 82: 220- 250.
- 161.Ravi GR, Pradeepa R, Mohan V.** Hypertriglyceridemia and coronary artery disease-an update. *Indian Heart J*, **2004**; 56: 21- 26.
- 162.Vaccaro, O, Eberly, LE, Neaton, JD.** Impact of diabetes and previous myocardial infarction on long termsurvival: 25-year mortality follow-up of primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Arch Intern Med*, **2004**; 164:1438.52. 59.
- 163.Packard CJ, Denis DS.** Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. *N Engl J Med*, **2000**; 343:1148–1155.
- 164.Rader DJ.** Inflammatory markers of coronary risk. *N Engl J Med*, **2000**; 343:1179–11825.
- 165.Itabe H.** Oxidized phospholipids as a new landmark in atherosclerosis. *Prog Lipid Res*, **1998**; 37:181–207
- 166. Blake GJ, Dada N, Fox JC, Manson JE, Ridker PM** (2001) A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase (2) levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J Am Coll Cardiol*, **2001**; 38:1302–1306.
- 167.Corsetti JP, Rainwater DL, Moss AJ, Zarba W, Sparks CE.** High lipoprotein-associated phospholipase A2 is a risk factor for recurrent coronary events in postinfarction patients. *Clin Chem*, 2006; 52:1331–1338
- 168.Zheng GH, Chen HY, Xiong SQ, Chu JF.** Lipoprotein-associated phospholipase A2 gene V279F polymorphisms and coronary heart disease: a meta-analysis. *Molecular Biology Reports*, **2011**;38(6): 4089-4099
- 169. Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D.** Lipoprotein-associated phospholipase A2 predicts future cardiovascular events in patients with coronary heart disease independently of traditional risk factors, markers of inflammation, renal function, and hemodynamic stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2006**;26:1586-93.
- 170.Oei HH, van der Merr IM, Koudstaal P, Stijnen T, Breteler MMB, Witteman JCM.** Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*, **2005**;8:111(5):570-5.

- 171. Kleber ME, Wolfert RL, De Moissl GD, Grammer TB, Dietz S, Winkelmann BR, Boehm BO, Marz W.** Lipoprotein associated phospholipase A2 concentration predicts total and cardiovascular mortality independently of established risk factors (The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study). *Clin Lab*, **2011**;57(9-10):659-67.
- 172. Kiechl S, Willeit J, Mayr M, Viehweider B, Oberhollenzer M, Kronenberg F, Wiedermann CJ, Oberthaler S, Xu Q, Witztum JL, Tsimikas S.** Oxidized phospholipids, lipoprotein(a), lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and 10-year cardiovascular outcomes: prospective results from the Bruneck study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2007**;27(8):1788-95.
- 173. Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, Sharret AR.** Lipoprotein-associated phospholipase A2, high sensitivity C reactive protein an risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and woman in the Atherosclerosis Risk in Communities study (ARIC). *Circulation*, 2004; 109:837-42.
- 174. Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, Holmes SD, Chamberlain P, Macphee CH.** Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary heart disease. *Atherosclerosis*, **2000**;150:413-419
- 175. Khakpour H, Frishman WH.** Lipoprotein-associated phospholipase A2: an independent predictor of cardiovascular risk and a novel target for immunomodulation therapy. *Cardiol Rev*, **2009**;17(5):222-229.
- 176. Hakkinen T, Luoma JS, Hiltunen MO, et al.** Lipoprotein-associated phospholipase A(2), platelet-activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1999**;19(12):2909-2917.
- 177. Winkler K, Hoffmann MM, Winkelmann BR, Friedrich I, Schäfer G, Seelhorst U, Britta Wellnitz, Heinrich Wieland, Bernhard O Boehm, Winfried März.** Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Predicts 5-Year Cardiac Mortality Independently of Established Risk Factors and Adds Prognostic Information in Patients with Low and Medium High-Sensitivity C-Reactive Protein (The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study). *American Association for Clinical Chemistry*, **2007**; 53: 1440-1447.
- 178. Atik B, Johnston SC, Dean D.** Association of Carotid Plaque Lp-PLA2 with Macrophages and Chlamydia pneumoniae Infection among Patients at Risk for Stroke. *PLoS One*, **2010**; 9;5(6):11026-11028.
- 179. Lori B Daniels, Gail A Laughlin, Mark J Sarno B, Ricki Bettencourt MS, Robert L Wolfert, Elizabeth Barrett-Connor.** Lipoprotein –associated phospholipase A2 is an independent predictor of incident coronary heart disease ün an apperently healthy older population: the rancho bernardo study. *J Am Coll Cardiol*, **2008**; 51: 913-919.
- 180. Khuseyinovaa N, Imhofa A, Rothenbacherb D, Trischler G, Kuelba S, Scharnaglc H, Maerzc W, Brennerb H, Koeniga W.** Association between Lp-PLA2 and coronary artery disease: Focus on its relationship with lipoproteins and markers of inflammation and hemostasis. *Atherosclerosis*, **2005**; 182: 1, 181-188.

- 181.Koenig W, Khuseyinova N, Löwel H, Trischler G, Meisinger C.** Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany. *Circulation*, **2004**;110:1903-8.
- 182.Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D.** Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Predicts Future Cardiovascular Events in Patients With Coronary Heart Disease Independently of Traditional Risk Factors, Markers of Inflammation, Renal Function, and Hemodynamic Stres. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, **2006**; 26: 1586-1593
- 183.Packard CJ, O'Reilly DSJ, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J, Macphee CH.** Lp-PLA2 an indepent predictor of coronary heart disease WOSCOPS Group. *Engl J Med*, **2000**; 343: 1148-1155.
- 184.Şekuri C, Çam S, Tengiz İ, Ercan E, BayturanM Ö, Berdeli A.** Association of platelet-activating factor acetylhydrolase gene polymorphism with premature coronary artery disease in Turkish patients. *Anadolu Kardiyol Derg*, **2006**;6(2):132-4.
- 185.Yamada Y, Ichihara S, Fujimura T, Yokota M.** Identification of the G994T missense mutation in exon 9 of the plasma platelet activating factor acetylhydrolase gene as an independent risk factor for coronary artery disease in Japanese men. *Metabolism*, **1998**; 47: 177-81
- 186.Hiramoto M, Yoshida H, Imaizumi T, Yoshizumi N, Satoh K.** A mutation in plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (Val279Phe) is a genetic risk factor for stroke. *Stroke*, **1997**; 28: 2417-20.
- 187.Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, Takatsu F, Ishihara H, Hirayama H, Sone T, Tanaka M, Yokota M.** Prediction of the risk of myocardial infarctionfrom polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med*, **2002**; 12;347(24):1916-23.
- 188.Paik JK, Chae JS, Jang Y, Kim JY, Kim OY, Jeong TS, Lee SH, Lee JH.** Effects of V279F in the Lp-PLA2 gene on markers of oxidative stress and inflammation in Koreans. *Clim Chin Acta*, **2010**; 2:411(7-8):486-93.
- 189.Hou L, Chen S, Yu H, Lu X, Chen J, Wang L.** Association between Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Gene Polymorphism and Coronary Artery Disease in the Chinese Han Population: the Beijing atherosclerosis study. *Hum Genet*, **2009**;125: 11–20.
- 190.Jang Y, Waterworth D, Lee JE, Song K, Kim S, Kim HS.** Carriage of the V279F Null Allele within the Gene Encoding Lp-PLA2 Is Protective from Coronary Artery Disease in South Korean Males. *Plos One*, **2011**;5;6(4):e18208.

ÖZGEÇMİŞ

Hatice YILDIRIM YAROĞLU, 20 Kasım 1979 tarihinde Adana'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini bitirdikten sonra 2001 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun olarak Biyolog ünvanını aldı. 2002 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. 2004 yılında araştırma görevlisi kadrosuna atandı. 2005 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında "Kalp Kapağı Replasmanı Sonrasında Antikoagülan Tedavide CYP2C9 Gen Polimorfizminin Rolü" adlı yüksek lisans tezini tamamlayarak biyokimya bilim uzmanı ünvanını aldı. Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.