

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

**OKSİDE LDL RESEPTÖR-1 (OLR-1) GENİ G501C TEK
NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİNİN KORONER ARTER
HASTALIĞINDA RİSK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Lokman AYZ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ

MERSİN – 2011

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

**OKSİDE LDL RESEPTÖR-1 (OLR-1) GENİ G501C TEK
NÜKLEOTİD POLİMORFİZMİNİN KORONER ARTER
HASTALIĞINDA RİSK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Lokman AYZAZ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Lülüfer TAMER GÜMÜŞ

Tez No: 19...

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
BAP SBE TB LA 2008-6 DR kodlu proje olarak desteklenmiştir.

MERSİN-2011

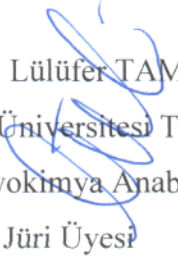
Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Okside LDL reseptör-1 (OLR-1) geni G501C Tek Nükleotid Polimorfizminin Koroner Arter Hastalığında Risk Olarak Değerlendirilmesi” başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

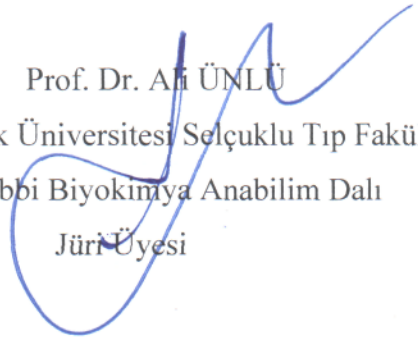
Tez Savunma Tarihi 19/09/2011



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


Prof. Dr. Ali ÜNLÜ
Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Üyesi


Doç. Dr. Gülçin ESKANDARI
Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 21/09/2011 tarih ve 2011/306 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Ülkü CÖMÜLEK OĞLU


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'a, Doç. Dr. Gülçin ESKANDARI'ye, Doç. Dr. Burak ÇİMEN'e ve Yrd. Doç. Dr. Necati MUŞLU'ya yardımları için sonsuz 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 Doç. Dr. Dilek ÇİÇEK YILMAZ'a ve şu an kardiyoloji uzmanı olarak görev yapan Dr. Ezgi MERT YAŞA'ya emeklerinden dolayı teşekkürlerimi bildiririm.

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. İlter HELVACI'ya teşekkür ederim.

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

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. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Koroner Arter Hastalığı	4
2.2. Ateroskleroz	5
2.2.1. Tarihçe	5
2.2.2. Tanımı	5
2.2.3. Aterosklerozun Fizyopatolojisi	6
2.2.3.1. Normal Arter Duvarı	6
2.2.4. Aterogenezde Rol Alan Hücreler	8
2.2.5. Aterogenezde Rol Alan Adezyon Molekülleri, Sitokinler ve Büyüme Faktörleri	12
2.2.6. Aterogenezde Temel Basamaklar	15
2.2.6.1. Endotel Disfonksiyonu	16
2.2.6.2. LDL Oksidasyonu	18
2.2.6.3. Köpük Hücre Oluşumu	18
2.2.6.4. Lipid Çekirdeğin (Lipid Core) Oluşumu	19
2.2.6.5. Fibröz Başlık (Fibrous Cap) Oluşumu	20
2.2.6.6. İmmün Mekanizmalar	21
2.2.6.7. Plak Revaskülarizasyonu	21
2.2.7. Aterosklerotik Lezyon Tipleri ve Evreleri	21

2.2.8. Aterosklerotik Risk Faktörleri	25
2.2.9. Ateroskleroz Oluşum Hipotezleri	26
2.2.10. Lipit Peroksidasyon Mekanizmaları ve Oksidatif Stres	27
2.2.11. LDL Oksidasyonu ve Aterogenez	31
2.2.12. Ateroskleroz ve Çöpçül Reseptörler	32
2.3. LOX-1 (OLR1) Tanımlanması ve Yapısı	32
2.3.1. LOX-1 (OLR1) Ligandları	35
2.3.2. Soluble LOX-1 (OLR1) Protein Sentezi	36
2.3.3. İnsan LOX-1(OLR1) Geninin Yapısı, Düzenlenişi ve Yapısal Analizi	37
2.3.4. LOX-1 (OLR1) Gen Ekspresyonu ve Düzenlenmesi	38
2.3.5. LOX-1 (OLR1) Gen Polimorfizmleri	40
2.3.6. LOX-1 (OLR1) ve Ateroskleroz İlişkisi	40
3. GEREÇ ve YÖNTEM	46
3.1. Araç ve Gereçler	46
3.1.1. Kimyasal Madde ve Çözücüler	46
3.1.2. Alet ve Gereçler	46
3.1.3. Kullanılan Kitler	46
3.2. Kullanılan Ayırıcılar	47
3.2.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Ayırıcıların Hazırlanması	47
3.3. Çalışma Grubu ve Örnek Alımı	48
3.4. Yöntemler	49
3.4.1. Koroner Anjiyoplasti	49
3.4.2. Lipit Profili Ölçümleri	49
3.4.3. Açlık Kan Şekeri Ölçümü	51
3.4.4. C-Reaktif Protein Ölçümü	52
3.4.5. Serum Okside LDL Düzeyinin Belirlenmesi	52
3.4.6. Serum sLOX-1 Düzeylerinin Belirlenmesi	53
3.4.7. LOX-1 (OLR1) G501C Gen Polimorfizminin Belirlemesi	55
3.4.7.1. DNA İzolasyonu	55
3.4.7.2. Primer ve Prob Dizaynı	56
3.4.7.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	57
3.4.7.4. PZR Koşulları	57

3.4.7.5. Genotip Belirlenmesi (Melting Curve Analizi)	58
3.5. İstatistiksel Yöntemler	59
4. BULGULAR	61
4.1. Kontrol ve Çalışma Grubunu Oluşturan Bireylerin Tanımlayıcı Bilgileri	61
4.2. Kontrol ve KAH Gruplarına Ait Biyokimyasal Parametreler	63
4.3. Kontrol ve KAH Grubunun sLOX-1 ve Okside LDL Düzeylerinin Korelasyonu	64
4.4. KAH Grubunda Statin Kullanımının sLOX-1 Düzeylerinin Üzerine Etkisi	65
4.5. sLOX-1 ve Okside LDL Düzeylerinin KAH Tanısı ile İlişkisi	66
4.6. sLOX-1 ve Okside LDL Düzeylerinin KAH'lardaki Tutulan Damar Sayısı ile İlişkisi	67
4.7. Kontrol ve KAH Grubunun OLR1 G501C Genotipleri Hardy-Weinberg Dengesinin İncelenmesi	68
4.8. Kontrol ve KAH Gruplarındaki OLR1 Genotip ve Allel Dağılımına Ait Bulgular	69
4.9. KAH Grubun OLR-1 G501C Genotiplerine Göre Yaş, Lipit Profilleri, AKŞ Düzeyleri, Cinsiyet, Diyabet, Hipertansiyon ve Sigara Kullanımı	70
4.10. Kontrol ve KAH gruplarının OLR1 G501C Genotiplere Göre Serum sLOX-1 Düzeylerinin Karşılaştırılması	72
4.11. KAH Grubunda G501C Genotiplerinin Hastalık Tanıları ve Tutulan Damar Sayısı ile İlişkisi	73
5. TARTIŞMA	76
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	90
7. KAYNAKLAR	92
ÖZGEÇMİŞ	110

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Normal arter duvarı kesiti	8
Şekil 2.2. Temel ateroskleroz süreci	16
Şekil 2.3. Endotel disfonksiyonu	17
Şekil 2.4. Aterosklerotik lezyon evreleri	24
Şekil 2.5. Aterosklerotik plak evrelemesi	24
Şekil 2.6. LOX-1 protein yapısı	33
Şekil 2.7. LOX-1'in homodimer yapısı ve okside LDL geçişi için hidrofobik tünel	35
Şekil 2.8. sLOX-1 oluşumu	37
Şekil 2.9. LOX-1 sinyal transdüksiyon yolağı ve endotel endotel hücrelerinde LOX-1'in potansiyel rolü	41
Şekil 3.1. Primer ve problemlerin amplikona bağlanma bölgeleri	57
Şekil 3.2. OLR1 G501C'ye ait melting curve analizi	59
Şekil 4.1. KAH'ların tanılarına göre dağılımları	61
Şekil 4.2. KAH grubuna ait sLOX-1 ve okside LDL arasındaki korelasyon	65
Şekil 4.3. KAH tanısı ile sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri arasındaki ilişki	66
Şekil 4.4. KAH'ların tıkalı damar sayısına göre sLOX-1 düzeyleri.	68
Şekil 4.5. Kontrol ve KAH grubuna ait OLR1 G ve C allel dağılımı	70
Şekil 4.6. OLR1 G501C genotiplere göre kontrol ve KAH gruplarının serum sLOX-1 düzeyleri	73
Şekil 4.7 KAH'larının tıkalı damar sayılarına göre genotip dağılımı	74
Şekil 4.8. KAH tanılarına OLR1 G501C genotiplerin dağılımı	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. OLR1 gen ekspresyonunu uyarıcı ve inhibe eden faktörler	39
Çizelge 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan kit içeriği	47
Çizelge 3.2. OLR1 G501C genotiplenmesi için kullanılan primer ve prob dizileri	57
Çizelge 3.3. OLR1 G501C polimorfizmi analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları	58
Çizelge 3.4. OLR1 G501C polimorfizm analizi için PZR koşulları	58
Çizelge 4.1. Kontrol ve hasta gruplarının risk faktörlerinin dağılımı, ve tanımlayıcı bilgileri	62
Çizelge 4.2. Çalışma grubunu oluşturan tüm hastaların kullandığı ilaçlar ve dağılımları	63
Çizelge 4.3. Kontrol ve KAH grubuna ait AKŞ, CRP, lipit profilleri, serum sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri	64
Çizelge 4.4. KAH'da statin kullanımının sLOX-1 düzeyleri üzerine etkisi	65
Çizelge 4.5. sLOX-1 ve okside LDL düzeylerin KAH tanısı ile ilişkisi	66
Çizelge 4.6. sLOX-1 düzeyleri ve KAH tıkalı damar sayısı arasındaki ilişki	67
Çizelge 4.7. Çalışma grubunu oluşturan koroner arter hastalarında ve kontrol gruplarında OLR1 varyantları için Hardy-Weinberg dengesi	69
Çizelge 4.8. Kontrol ve KAH gruplarında sLOX-1 genotiplerinin dağılımı ve oluşturdukları riskler	70
Çizelge 4.9. KAH grubunun OLR1 genotiplerine göre yaş, VKI, lipit profili ve AKŞ düzeyleri	71
Çizelge 4.10. KAH grubunun OLR1 genotiplerine göre cinsiyet, diyabet, hipertansiyon ve sigara kullanımı dağılımı	72
Çizelge 4.11. OLR1 G501C genotiplere göre kontrol ve KAH gruplarının serum sLOX-1 düzeyleri	73
Çizelge 4.12. KAH grubunun genotip ve tıkalı damar sayısı ilişkisi	74
Çizelge 4.13. OLR1 G501C genotiplerinin ile KAH tanısı arasındaki ilişki	75

EŞİTLİKLER DİZİNİ

Eşitlik 2.1. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile hidroksil radikali oluşumu	29
Eşitlik 2.2. Lipit radikali oluşumu	29
Eşitlik 2.3. Lipit peroksit oluşumu	29
Eşitlik 2.4. Lipit hidroperoksit oluşumu	29
Eşitlik 3.1. Total kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi	50
Eşitlik 3.2. HDL-Kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi	50
Eşitlik 3.3. Trigliserit ölçümünde yer alan tepkime denklemi	51
Eşitlik 3.4. Friedwald eşitliği	51
Eşitlik 3.5. Açlık kan şekeri ölçümünde yer alan tepkime denklemi	52

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

4-AAP	4-Aminoantiprin Atherosclerosis , Disease, Vascular & GenetiC Epidemilogy;
ADVANCE	Aterosklerotik hastalık, vasküler işlev ve genetik epidemiyoloji
AGEs	Advanced Glycation End-Products; İleri Glikasyon Son Ürünleri
AKS	Akut Koroner Sendrom
AKŞ	Açlık Kan Şekeri
ARIC	Atherosclerosis Risk in Communities
AT-II	Anjiyotensin II
bç	Baz Çifti
CARDIA	Coronary Artery Risk Development in Young Adults; Genç Yetişkinlerde Koroner Arter Risk Gelişimi
CHOD	Kolesterol Oksidaz
CRP	C-Reaktif Protein
CTLD	The C-Type Lectin-Like Domain; C-Terminal Lektin-Benzeri Domain
CYP450	Sitokrom P450
CE	Kolesterol Esteraz
DHAP	Dihidroksiaseton Fosfat
DKH	Düz Kas Hücreleri
EDHF	Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor; Endotel Derive Hiperpolarize Edici Faktör
EDTA	Etilendamin Tetraasetik Asit
ELISA	Enzim Bağlı İmmünoassay
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinases; 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-EGF	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
L\cdot	Lipit Radikali
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
LOO\cdot	Lipit Peroksit Radikali
LOOH	Lipit Hidroperoksit
LOX-1	Lektin Benzeri Okside LDL Reseptörü-1
LPL	Lipoprotein Lipaz
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	National Cholesterol Education Program; Ulusal Kolesterol Eğitim Programı
NF-κB	Nükleer Faktör Kapa B
Ng	Nanogram
NO	Nitrik Oksit
OLR-1	Okside LDL Reseptör-1
P38MAPK	P38 Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz,

PAI-1	Platelet Aktivatör İnhibitör-1
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDGF	Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
PECAM-1	Platelet/Endotel Hücre Adezyon Molekülü
PEG	Polietilen Glikol
Pg	Pikogram
PGI₂	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
SAP	Stabil Anjina Pektoris
sLOX-1	Soluble LOX-1
SNP	Tek Nükleotid 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
USAP	Unstabil Anjina Pektoris
VCAM-1	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VKI	Vücut Kitle İndeksi

ÖZET

Okside LDL Reseptör-1 (OLR-1) Geni G501C Tek Nükleotid Polimorfizminin Koroner Arter Hastalığında Risk Olarak Değerlendirilmesi

Günümüzde önemli bir mortalite ve morbidite sebebi olan koroner arter hastalığının patogeneğinde ateroskleroz önemli bir yere sahiptir. Aterosklerozun patogeneğini açıklayan LDL oksidasyonu hipotezine göre aterosklerozda lezyon oluşumu ve gelişiminden lipit ve protein oksidasyon ürünleri sorumludur. Okside LDL'nin makrofaj ve düz kas hücreleri tarafından alınımına çöpçül reseptörler aracılık etmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, okside LDL için majör çöpçül reseptörün, lektin benzeri okside LDL reseptör-1 (LOX-1, OLR1) olduğu ve aterosklerozun başlama basamağındaki anahtar rolü olan endotel disfonksiyonunun ortaya çıkmasını sağlayan okside LDL'nin toksisitesine aracılık ettiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda, koroner arter hastalarında (KAH) OLR1 G501C polimorfizmin olası rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık, Araştırma ve Uygulama Merkezi Kardiyoloji AD kliniğinde koroner anjiyografi uygulanan 198 birey çalışmaya dahil edilmiştir. Koroner arterlerinde herhangi birinde \geq %70 darlığı olan 100 birey KAH olarak, herhangi bir darlık ya da lezyon tespit edilmeyen 98 kişi kontrol olarak gruplandırılmıştır.

Kontrol ve KAH grubunda gruplarında serum okside LDL ve sLOX-1 ELISA, açlık kan şekeri ve lipid profilleri enzimatik kolorimetrik, CRP ise immünotürbidimetrik yöntemi ile belirlenmiştir. Kontrol ve KAH gruplarının OLR1 G501C polimorfizmi gerçek-zamanlı PZR ile saptandı.

KAH'larda serum sLOX-1, okside LDL, CRP ve AKŞ düzeyleri kontrol grubuna oranla yüksek saptanmıştır ($p < 0.001$). KAH grubundaki sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri arasında pozitif korelasyon belirlendi ($p < 0.001$, $r = 0,797$). Akut MI ve stabil anjina pectoris tanısı alan hastalar arasındaki sLOX-1 düzeylerinde anlamlı derecede bir fark belirlendi ($p < 0.05$). Üç damar ve üstü tıkalı damar ile 1 damar tıkalı hastalar arasındaki sLOX-1 düzeyleri için istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p = 0.005$). GG genotipine sahip KAH'ların serum sLOX-1 düzeyleri GC ve CC genotiplerine göre daha yüksek bulundu ($p < 0.001$). Tek ve çoklu damar tıkanıklığı olan hastalarda GG genotipinin GC+CC genotipinden daha yüksek oranda olduğu gözlemlendi. KAH grubunun GG, GC ve CC genotipi sıklığı %87, 11 ve 2, kontrol grubunda ise %68.4, 29.6 ve 2 olarak saptandı. GG genotipine sahip bireylerin GC ve CC genotiplerine sahip bireylere göre 3.165 kat daha fazla KAH geliştirme riskine sahip olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, OLR1 varyantına ve C alleleline sahip olmanın KAH için koruyucu bir etkisinin olabileceğini belirledik.

Anahtar Kelimeler: Lektin Benzeri Okside LDL Reseptörü-1, Okside LDL Reseptörü-1, LOX-1, OLR1, Koroner Arter Hastalığı

ABSTRACT

Risk Evaluation as G501C single nucleotide polymorphisms of the Oxidized LDL Receptor 1 (OLR-1) Gene In Coronary Artery Disease

Atherosclerosis has an important role in the pathogenesis of the main cause of coronary artery disease (CAD) which is an important cause of mortality and morbidity. According to the theory of oxidation LDL which explains pathogenesis of atherosclerosis, lipid and/or protein oxidation products are responsible for lesion formation and development in atherosclerosis. The uptake of ox-LDL by macrophages and smooth muscle cells can be mediated by a variety of scavenger receptors. Recent studies, Lectin-Like Oxidised LDL Receptor-1 (LOX-1, OLR1) has been identified the major receptor for ox-LDL, LOX-1 mediates the toxicity of ox-LDL which endothelial dysfunction or activation elicited by OxLDLs is the key step in the initiation of atherosclerosis.

Our aim is to determine the possible role of OLR1 G501C polymorphism in patients with coronary artery disease (CAD).

In this study, 198 subjects underwent coronary angiography by Mersin University Medical Faculty Cardiology Department were included. 100 subjects selected who has $\geq 70\%$ stenosis in any of the major coronary arteries as CAD and 98 subjects who have no stenosis or lesion as control were classified.

Serum oxide LDL and sLOX-1 levels have been measured by ELISA and fasting blood glucose, lipid profile by enzymatic colorimetric CRP by immunoturbidimetric methods. OLR1 G501C polymorphism of control and CAD group was detected by real-time PCR.

Serum sLOX-1, oxide LDL, CRP and fasting blood glucose levels were found significantly higher in CAD group compared with control group ($p < 0.001$). It was observed that sLOX-1 levels was positively correlated with oxide LDL ($p < 0.001$, $r = 0,797$). sLOX-1 levels were found a different significantly between the patients with acute MI and stable angina pectoris ($p < 0.05$). sLOX-1 level was different significantly between the patients with 1 and ≥ 3 vessel obstructed. In the CAD group, sLOX-1 levels were significantly higher in the GG genotype compared with both the GC and CC genotypes ($p < 0.001$). It was observed that in single and multi vessel obstructed patients, the GG genotype ratio was higher than GC+CC genotype ($p < 0.001$). It was appointed that frequencies of GG, GC and CC genotypes were 87%, 11 and 2 in CAD group and 68.4%, 29.6 and 2 in control group. It was determined that individuals with the GG genotype have a 3.165 fold increase risk of developing CAD compared to the GC and CC genotype ($p = 0.002$).

In conclusion, it was determined that C allele and variant genotypes of OLR1 G501C may be a protective effect for coronary artery disease.

Key words: Lectin-Like Oxidised LDL Receptor-1, Oxidized LDL Receptor-1, LOX-1, OLR1, Coronary Artery Disease

1. GİRİŞ

Kalbi besleyen koroner arterlerin, beslediği bölgelere yeterli kan taşıyamaması sonucu miyokartta oluşan iske mi ve nekrozun derecesine göre gelişen hastalıklar ve bunların komplikasyonları “Koroner Arter Hastalığı” (KAH) başlığı altında incelenmektedir (1). KAH'nın esas nedeni, ateroskleroz sonucu koroner arterlerin daralması ve tıkanması olduğu için KAH'nı belirtmek için genellikle aterosklerotik koroner kalp hastalığı ifadesi de kullanılmaktadır (2).

Koroner arter hastalığı, endüstrileşmiş ülkelerde en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında yer alır. KAH nedeniyle her yıl milyonlarca kişi yaşamını kaybetmekte, dünyada ve Türkiye’de ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizde TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri) çalışma sonuçlarına göre KAH sıklığı, erişkin nüfusta %2.7, 45-74 yaş arasında ise %10.2 olarak saptanmıştır (3). Türk Kardiyoloji Derneği’nin 2000 yılında yayınladığı rapora göre, aterosklerozun neden olduğu KAH ve inmeden kaynaklanan ölümler, tüm ölüm nedenlerinin %43’ünü oluşturmaktadır (4).

Koroner arter hastalığının temelinde yatan asıl olay ateroskleroz olup, etiyopatogenezinde çok sayıda genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır. KAH, koroner kalp hastalığı, inme ve periferik damar hastalıklarını da içine alan farklı hastalık gruplarını kapsar. Fakat bütün bu hastalıkların tümünün altında yatan patoloji aterosklerozdur (5, 6).

Aterosklerozun patogenezini açıklamaya yönelik birçok çalışma yapılmış ve çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Bunlardan, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonu hipotezine göre aterosklerozda lezyon oluşumu ve gelişiminden lipit ve protein oksidasyon ürünleri sorumludur. Oksidasyonun asıl hedefi intimada bulunan LDL partikülüdür. Bu hipotez, *in vitro* koşullarda oksitlenmiş LDL molekülünün proaterojenik özelliklerinin bulunmasıyla desteklenmiştir. Bu özellikler kemotaksisin uyarılması, makrofajlarda kolesterol birikimi, endotel hücrelerinde adhezyon molekülü ekspresyonu ve bazı hücre türlerinin apoptozudur (7). Oksidasyon hipotezinin geçerliliği LDL’nin endotel hücreleri ile inkübasyonu sonrası makrofajlar tarafından alınmasının artmasının gösterilmesiyle kanıtlanmıştır (7). Oksitlenmiş LDL’nin hücre içine alınması çöpçül reseptörleri (scavenger reseptör, SR) aracılığı ile olmaktadır (8). Bu reseptörler hücre içindeki kolesterol düzeyi tarafından regüle edilmez ve

subendotelyal yerleşimli makrofajlar okside LDL'yi kontrolsüz bir biçimde hücre içine alarak aterogenezde kilit rol oynayan köpük hücreleri meydana getirirler (9). LDL'nin oksidatif modifikasyonu ateroskleroz patogenezinde anahtar basamaktır. Okside LDL'nin bütün aterogenez sürecinde temel rol oynadığı düşünülmektedir (10, 11). Okside LDL'nin makrofaj ve düz kas hücreleri (DKH) tarafından alınımına SR-AI/II, CD36, ve SR-BI gibi çöpçül reseptörler aracılık etmektedir. Ancak bu reseptörlerin endotel hücrelerde olmadığı ya da çok az olduğu belirlenmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, okside LDL için majör çöpçül reseptörün lektin benzeri okside LDL reseptör-1 (LOX-1, OLR1) olduğu, aterosklerozun başlama basamağındaki anahtar rolü olan endotel disfonksiyonunun ortaya çıkmasını sağlayan okside LDL'nin toksisitesine aracılık ettiği belirlenmiştir (12).

Lektin benzeri okside LDL reseptörü-1 endotelyal hücreler, DKH, plateletler ve makrofajlarda eksprese edilmektedir. Ayrıca LOX-1 ateromdaki DKH ve makrofajlarda da bulunmaktadır. *İn vivo* olarak insan ve hayvanların aterosklerotik lezyonlarında aşırı ekspresyonu olduğu bildirilmiştir (13).

Yapılan çalışmalarda, Okside LDL reseptör-1 (OLR1) gen polimorfizmlerinin kardiyovasküler hastalıklarda potansiyel bir role sahip olduğu belirlenmiştir. OLR1'in G501C tek nükleotid gen polimorfizminin LOX-1 proteininde K167N sessiz mutasyonu ile sonuçlandığı gözlenmiştir (14).

Okside LDL reseptör-1 gen polimorfizmi ile ateroskleroz, akut miyokard infarktüsü (MI) gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişki araştırılmıştır (15, 16, 17, 18). MI'lü hastalarında OLR1 mutant varyantların kontrol grubuna göre daha yüksek frekansa sahip olduğu belirlenmiştir (14). Daha önceki yapılan bir çalışmada da G501C tek nükleotid polimorfizmi ile akut MI arasında ilişki gözlenmiş ve son yapılan çalışmalarda OLR1 gen polimorfizmi ile MI arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (14, 19).

Yapılan çalışmalarda OLR1 G501C gen polimorfizminin etnik farklılıklar gösterdiği görülmüştür. Çalışmayı planladığımız 2008 yılında yaptığımız literatür araştırmasında Türkiye'de OLR1 G501C gen polimorfizminin KAH ile ilişkisini değerlendiren bir çalışmaya rastlamadığımızdan bu çalışmayı planladık. Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda, Mersin bölgesinde G501C OLR1 gen polimorfizminin KAH olan hastalardaki rolünü araştırmayı ve kontrol grubu sonuçları değerlendirerek

sağlıklı bireylerde OLR1 G501C gen polimorfizminin allel sıklığını değerlendirerek kentte yaşıyan toplumda allellerin görülme sıklığlarını belirlemeyi hedefledik.

Çalışmamızın KAH ve risk faktörleri zerine Türkiye’de yapılan diğer çalışmalardan, genetik risk faktörlerinin çalışılması ve Türkiye’de bu konuda ilk defa çalışılacak bir mutasyonu içeriyor olması bakımından farklı olduğunu ve önemli bir yer edineceğini düşünüyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Koroner Arter Hastalığı

Kalbi besleyen koroner arterlerin, beslediği bölgelere yeterli kan taşıyamaması sonucu miyokartta oluşan iskemi ve nekrozun derecesine göre gelişen hastalıklar ve bunların komplikasyonları KAH başlığı altında incelenmektedir (1). KAH'nın esas nedeni ateroskleroz sonucu koroner arterlerin daralması ve tıkanması olduğu için KAH'nı belirtmek için genellikle aterosklerotik koroner kalp hastalığı ifadesi de kullanılmaktadır (2).

Koroner arter hastalığı ölümlerle sonuçlanabilen bir hastalık olması, çeşitli komplikasyonlara yol açması ve genellikle üretken yaş grubunda görülmesi nedeni ile önemli bir toplum sağlığı sorunudur (20, 21). KAH tüm ölümlerin %33-50'sinin, kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin ise %50-75'inin nedenidir (20). Amerika Birleşik Devletleri ve Batı Avrupa ülkelerinde sağlığı geliştirme, hastalıktan korunma ve tedavi yöntemlerindeki gelişmeler sonucu son 30 yılda koroner kalp hastalığı ve ölüm oranında bir azalma olmasına rağmen, KAH hala en önemli hastalık ve ölüm nedenidir. (20). Hastalık ve ölümün yanı sıra iş gücü kaybı ve tedavi giderleri bakımından topluma maliyeti çok yüksek bir hastalıktır (22). KAH, endüstrileşmiş ülkelerde en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında yer alır. KAH nedeniyle her yıl milyonlarca kişi yaşamını kaybetmekte, dünyada ve Türkiye'de ölüm nedenleri arasında ilk sırayı almaktadır. Onat ve ark. (3) tarafından gerçekleştirilen TEKHARF kohort çalışmasına göre, ülkemizde erişkin nüfusta KAH prevalansının % 2.7 ve, 45-74 yaş arasında prevalansın %10.2'yi aştığı gözlemlenmiştir. Türk Kardiyoloji Derneğinin 2000 yılında yayınladığı rapora göre, aterosklerozun neden olduğu KAH ve inmeden kaynaklanan ölümler, tüm ölüm nedenlerinin %43'ünü oluşturmaktadır (4). Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre koroner kalp hastalığı 2020 yılında da tüm dünya ülkelerinde ölüm nedenleri arasında ilk sırada olmaya devam edecektir (23).

2.2. Ateroskleroz

2.2.1. Tarihçe

Ateroskleroz ile ilgili bilimsel çalışmalar ilk kez 19. yüzyıl ortalarında başlamıştır. 1845 yılında patolog olan Vogel ateromda kolesterolü tespit etti (24). 1858 yılında bir Alman patolog olan Virchow, aterosklerotik lezyonların proliferatif bir sürecin sonucu olduğunu savunmuş, bir başka Alman patolog olan Rokitansky ise lezyonların arteriyel duvara yapışan trombüsün organizasyonunun sonucu olduğunu belirtmiştir (25, 26). Ondokuzuncu yüzyıl sonlarında Osler, ateromatöz plağın dejeneratif sürecin kaçınılmaz bir sonucu olduğunu belirtmiştir (27). 1913 yılında Anitschkow ve Chalatow aterosklerotik plaklarda kolesterol kristallerini saptayarak kolesterolün ateroskleroza tetikleyebileceği hipotezi ile deney tavşanlarını besleyerek, insandakine benzeyen aterosklerotik lezyonlar saptamışlardır (28). Birkaç yıl sonra Starokodonsky ve Sobolew, aortanın maruz kaldığı mekanik zedelenmelerin ateroskleroza benzer intimal lezyonlara yol açtığını gösterdiler (29). 1950'lerde Florey, intimal zedelenme ve oluşan endotel hasarının intimal lipit ve makrofaj birikimine yol açtığını göstermiştir (29). 1976 yılında Ross, aterosklerozun inflamatuvar bir süreç olduğunu ilk defa dile getirmiş ve bununla beraber, arteriyel zedelenmenin arter duvarına yapışmış trombosit ve diğer hücrelerden, platelet kaynaklı büyüme faktörü salınımına (PDGF) yol açtığını, bunun da ateroskleroza yol açacak düz kas hücre proliferasyonunu başlattığını göstermiştir (30, 31). Brown ve Goldstein'in LDL reseptörlerini ve kolesterol metabolizmasının mekanizmasını bulması kolesterol hipotezinin, etkin farmakolojik ve genetik araçlarla test edilmesine olanak sağlamıştır (32).

2.2.2. Tanımı

Gelişmiş batı ülkelerinde ölümlerin en başta gelen sebebi KAH'dır. KAH'nın temelinde yatan asıl olay ateroskleroz olup etiyopatogenezinde çok sayıda genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır. KAH koroner kalp hastalığı, inme ve periferik damar hastalıklarını da içine alan farklı hastalık gruplarını kapsar. Fakat bütün bu hastalıkların tümünün altında yatan patoloji aterosklerozdur (5, 6). Ateroskleroz terimi

Yunanca “athero” (bulamaç) ve “sclerosis”den (sertleşme) köken alır. Ateroskleroz, arteriyel intimal duvarların kronik, dejeneratif, ilerleyici ve multifaktöryel bir hastalık sürecidir. Ateroskleroz çeşitli organlara kan akımının bozulmasına yol açan kompleks bir hastalıktır (33). Karakteristik lezyonu “aterom” veya “plak”tır. Koroner arterlerde aterosklerotik plakların oluşumu ile vasküler lümeninde daralma ve bunun sonucunda da kan akımında azalmaya bağlı olarak iskemi gelişmektedir. Aterogenezde anahtar rol oynayan intimal kalınlaşma ve lipit birikmesi sıklıkla orta-büyük çaplı elastik arterleri tutar. Ateroskleroz, fetal yaşamda başlayan kompleks inflamatuvar bir süreçtir. Çocukluk ve ergenlik döneminde yavaş bir ilerleme gösterir; erişkin yaşamda ise daha hızlı bir progresyona ulaşarak yüksek morbiditeye ve ölümcül olabilen klinik durumlara yol açar (34).

2.2.3. Aterosklerozun Fizyopatolojisi

Aterosklerozun fizyopatolojisi oldukça komplekstir. Ateroskleroz, kan damarlarının subendotelyal aralığında, arter duvarının tüm yapısal elemanları, trombosit, lökosit, makrofaj ve özellikle monosit gibi çeşitli inflamatuvar hücreler ile lipit ve lipoproteinlerin birikimini içeren kronik ve inflamatuvar bir hastalıktır (5, 6). Bu süreçte merkezi rol oynayan vasküler endotel, arteriyel duvar ve kan dolaşımı arasında dinamik bir geçiş bölgesidir.

2.2.3.1. Normal Arter Duvarı

Aterosklerotik sürecin daha kolay anlaşılması için normal arter yapısının bilinmesinde yarar vardır. Normal arter duvarı üç tabakadan oluşup, normal bir arter duvarı kesiti şekil 2.1’de (21) verilmiştir. En iç tabaka, başka bir deyişle lümeni çevreleyen tabaka, intimadır. Tek sıra biçiminde dizilmiş endotel hücreleri, bunları destekleyen subendotelyal matriks ve bazal membran intimayı oluşturur. Diğer memelilerden farklı olarak, insan intimasına özel olarak az sayıda DKH de bulunmaktadır (35).

İntima tabakası, medya tabakasından internal elastik membran ile ayrılır. Bu tabakayı oluşturan ve yukarıda sıralanan temel öğeler arter yatağının her kesiminde aynı

olsa da, intima kalınlığı yerel farklılıklar gösterir. Farklılığın düzeyini, kan akımının damar duvarında oluşturduğu mekanik güçler belirler. Farklılaşmadaki amaç, kan akımını yatağın her bölümünde en iyi düzeyde tutmaktır. İntima kalınlığının en fazla olduğu bölgeler arterlerin çatallanma (bifurkasyon) yerleri ve yan dalların ağız kesimleridir. Akımın fiziksel etkisi ile intimada tek tek bulunan DKH uyarılır ve bu bölgeyi kalınlaştıran proteoglikan üretirler. Kalınlaşmış kesimlerde, bebeklik yaşlarından başlayarak çok az sayıda makrofaj görülür. Kan akımına uyum nedeniyle oluşan bu kalınlaşma, damar lümenini daraltmaz. Ancak ateroskleroz daha çok bu bölgelere yerleşir. Bu nedenle arter yatağının birçok yerinde var olan intima kalınlaşmalarının hepsinin aterosklerotik lezyonlara dönüşmemesi nedeniyle, bunları, aterosklerozun ön değişiklikleri yerine ateroskleroza yatkın bölgeler olarak tanımlanmaktadır . Bu yaklaşım ile bakıldığında arter yatağı yatkınlık derecesine göre üçe ayrılabilir (35).

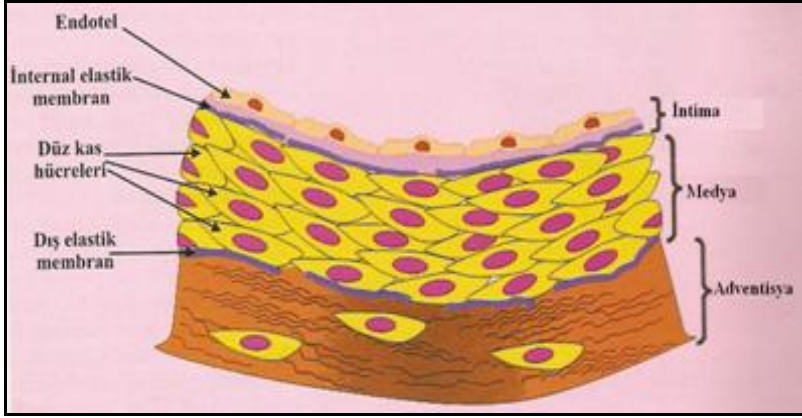
1. Aterojenik lipoprotein düzeyleri çok yüksek olmadıkça lipit birikmesinin görülmediği kesimler: Kan akımının mekanik özellikleri nedeniyle intima kalınlaşmasının bulunmadığı arterler ve göğüs aortunun inen kesimin ön yüzü bu duruma örnek verilebilir.

2. Orta derecede yatkın kesimler: Bu bölgeler köpük hücreleri içerse bile bunların aterosklerotik lezyonlara ilerlemesi çok yavaştır. İnterkostal arterlerin ağızları örnek verilebilir.

3. Yüksek derecede yatkın kesimler: Bu kesimler çocukluk yaşından başlayarak akıma uyum için intima kalınlaşmasının en belirgin olduğu bölgelerdir. Buralardaki köpük hücre sayısı, damarın geri kalan kesimlerine göre çok fazladır. Sol koroner arterin, karotis arterinin ve karın aortunun distal kesimlerindeki çatallanma yerleri en tipik örnekleri oluşturur.

Arter duvarının ikinci tabakası olan medya, intimadan internal elastik membran ile ayrılan orta tabakadır. Kollajen, elastik lifler ve glikozaminoglikanlardan oluşan bir matriks içinde konsantrik olarak dizilmiş DKH'inden oluşur. Adventisyadan eksternal elastik membran ile ayrılır.

Adventisya ise arter duvarın en dış tabakası olup, gevşek bir bağ dokusu yapısındaki bu tabaka, boyuna dizilmiş kollajen liflerden, vaza vazorumlardan ve sinir uçlarından oluşur (35).



Şekil 2.1. Normal arter duvarı kesiti (21)

2.2.4. Aterogenezde Rol Alan Hücreler

1) **Endotel Hücreleri:** Endotel, arter duvarı ile kan elemanları arasında kesintisiz bir sınır oluşturan tek sıra biçiminde dizilmiş hücrelerden oluşmaktadır. Eskiden kan elemanları ile arter duvarı arasındaki sınır çizgisinden ibaret olduğu düşünülen endotelin bugün artık kilit rolleri olduğu anlaşılmıştır. Normal endotel oldukça seçici geçirgen bir engel, trombüs oluşumuna dirençli bir yüzey, çok sayıda vazoaaktif madde ile bağ dokusu yapılarının üretiminden sorumlu metabolik olarak etkin bir dokudur (36). Normal koşullarda homeostatik mekanizmanın aktivasyonunu baskılar, hücre ve lipoproteinlerin dolaşımdan dokuya geçmesini sınırlar ve vazomotor tonusun sağlanmasına katkıda bulunur. Endotel hücreleri metabolik olarak aktif hücrelerdir; parakrin veya endokrin hücreler gibi toksik kimyasal ve oksitleyici maddelere reaksiyon olarak çeşitli maddeleri sentezleyerek yanıt verirler. Bu maddeler; adhezyon molekülleri, koagülasyon faktörleri, fibrinolitik maddeler, anjiyotensin II (AT-II) ve endotelin-I gibi vazokonstriktör ajanlar, nitrik oksit (NO) gibi vazodilatör maddeler, büyüme faktörleri ve prostaglandinlerdir (37, 38). Endotel hücreleri arasındaki bağlar normalde albüminden daha büyük moleküllerin geçişine izin vermeyecek kadar sıkıdır. Lipoproteinler albüminden çok daha büyük olduğundan endotel engelini ancak transsitoz ile (plasmalemma vezikülleri aracılığıyla) geçebilirler. Bu mekanizma lipoproteinlerden bağımsızdır ve kandaki lipoprotein düzeyi ile ilişkilidir. Endotel zedelendiğinde (bu engel özelliğinin bozulduğunda) lipoproteinlerin subendoelyuma geçişinin hızlandığı öne sürülmektedir. Ancak aterosklerozun gelişimini hızlandıran esas basamağın serbest lipoprotein girişi değil, oksidasyon gibi daha sonra gelişen

olaylar olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (39). İntimaya yerleşen lipoprotein moleküllerinin ilk oksidasyonu da yine endotel hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Okside LDL'nin oluşması aterogeneizde bir dizi zincirleme olayı tetikleyen ilk basamaktır (40).

Hasar görmemiş olan endotel yüzeyi, heparan sülfatla kaplı olması nedeniyle, ayrıca salgıladığı prostasiklin (PGI_2) ve NO'e bağlı olarak trombüs oluşumuna dirençli bir yüzey oluşturmaktadır. PGI_2 kuvvetli bir vasodilatatör ve trombosit agregasyon inhibitörüdür. NO, endotelin koruyucu işlevinde önemli rol üstlenmektedir. PGI_2 güçlü antiagregan etkisi ile trombositlerin endotel yüzeyinde kümeleşmesini engellemektedir. Anti-inflamatuvar özelliği ile de ateroskleroza her evrede engelleyici bir etki göstermektedir. NO ise adezyon moleküllerinin endotel yüzeyinde belirmesini, lipitlerin endotel geçişini ve DKH'in proliferasyonunu önlemektedir (41, 42, 43). Ateroskleroza kolaylaştırdığı belirlenen hipertansiyon, diabetes mellitus, sigara içilmesi ya da süperoksit düzeyinin arttığı durumlarda endotelden NO yapımın azaldığı ya da yıkımın arttığı gösterilmiştir. Endotel hücreleri ayrıca plazminojen de dahil olmak üzere fibrin yıkıcı ürünlerde salgılamaktadır. Bununla beraber, prokoagulan etkileri de olan ve von Willebrand faktörü gibi pıhtılaşma faktörleri de salgılayan endotelin, bu özelliğinin sadece yaralanma durumunda açığa çıktığı düşünölmektedir (44).

Endotel hücrelerinin bir başka önemli özelliği de tek katlı olmaları ve iyileşirken bu özelliklerini korumak zorunda olmalarıdır. İntima tabakasında olduğu gibi, endotel hücreleri de kan akımının özelliklerine göre biçimsel değişiklikler gösterirler. Laminar akımın egemen olduğu damar kesimlerinde elips biçimindedirler. Buna karşılık çatallanma yerleri ya da yan dal ağızları gibi akımın hızlandığı ve girdaplar oluşturduğu kesimlerde çok köşeli bir yapı gösterirler. Bu yapısal değişiklik LDL-kolesterolün LDL-K) endoteli daha kolay geçmesine olanak sağlar (45). Aynı zamanda, endotel hücreleri aterogeneizde rol oynayan çok sayıda maddenin ve bağ dokusu elemanının sentezinden sorumludur. Bunlar arasında, endotelin, angiyotensin dönüştürücü enzim gibi vazoaktif aminler, PDGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi büyüme faktörleri ve tümör nekroz faktör-alfa ($TNF-α$) ve interlökin-1 (IL-1) gibi endotel proliferasyonu inhibe eden maddelerde bulunmaktadır (40).

2) Düz kas hücreleri: Normal arter duvarının medya tabakasında yer alan DKH'nin esas görevi arter tonusunu sağlamaktır. Aterosklerotik plağın oluşumu sırasında

medyadan intimaya geçen bu hücreler, lezyonun fibroproliferatif sürecinde görev alırlar. Bu yüzden DKH'nin intimada birikmesi, ilerlemiş lezyonun göstergesi kabul edilir (23). Düz kas hücre kültüründe kontraktıl ve sentetik olmak üzere iki ayrı fenotip tanımlanmıştır. Birinci grup, yoğun miyofibriller içeren kontraktıl fenotiptir. Bunlar medya tabakasında yerleşiktirler, endotelin, katekolamin, AT-II gibi vazokonstriktörlere ve prostaglandin E, PGI₂, NO, nöropeptidler ve lökotrienler gibi vazodilatörlere yanıt verirler. Bununla birlikte PDGF gibi mitojenlere karşı yanıtızsındırlar (40).

Kontraktıl fenotipin aktifleşmiş makrofajlardan ve endotelden salgılanan sitokinlerle uyarılması ile kontraktıl elemanların azalması, granüllü endoplazmik retikülüm ve golgi cisimciklerinde gelişme ile sentetik fenotipe dönüşür. Sentetik fenotip, aterosklerotik lezyonlarda bulunan gruptur ve kontraktıl fenotipin aksine vazoaktif maddelere yanıt vermez iken, PDGF gibi mitojenler tarafından uyarılarak lezyonun proliferatif aşamasında aktif rol alırlar. Bazı proteinlerin salgılanmasından ve bağ dokusu elemanlarının sentezinden sorumludurlar (46). Son zamanlarda, aterosklerotik plaklarda bulunan DKH'nin damar oluşumun erken evrelerinde yer alan DKH'ne benzemesinin gösterilmesiyle, bu hücrelerinin temel görevinin onarım olduğu düşünülmeye başlanmıştır. DKH'in hasarlanan endotelden salgılanan maddelere yanıt verip oraya göç etmeleri, nitelik değiştirip onarım için gerekli glikozaminoglikan, elastin ve kollajen gibi proteinleri salgılamaları bu düşünceyi doğrulamaktadır. DKH ayrıca, makrofajlar gibi lipoproteinleri fagosite edip kolesterol esterleri şeklinde depolayarak köpük hücre oluşumuna katkıda bulunurlar (47).

3) Makrofajlar: Makrofajlar, bebeklik çağından başlayarak endotel altı dokularda görülmeye başlarlar. Ancak bu dönemde tek tek bulunurlar ve kümeler oluşturmazlar. En yoğun olarak buldukları yerler ise, kan akımına uyum için kalınlaşmış intima tabakasının olduğu kesimlerdir. Bu evrede, makrofajlar genellikle lipit damlacıkları içermemekle birlikte, kan kolesterol düzeyi çok yüksek kişilerde genç yaşlardan başlayarak köpük hücrelerine dönüşebilmektedirler (48).

Makrofajlar, dolaşımdaki monositlerden türeyen fagositik hücrelerdir. Her inflamatuvar olayda olduğu gibi, aterosklerotik plakta da yoğunlukla bulunurlar ve okside LDL partiküllerinin uyarısı ile oluşan bazı kemotaktik maddeler monositlerin kandan intimaya geçişini sağlamaktadır. Bunlar arasında en iyi bilineni makrofaj kemotaktik protein-1 (MCP-1)'dir (30). MCP-1 endotel hücreleri, DKH ve makrofajlar

tarafından salgılanır. Dokuya geçen monosit, monosit koloni sitümüle edici faktör (M-CSF)'ün etkisi ile makrofajlara dönüşür. M-CSF'de, yine okside LDL'nin uyarısı ile endotel hücrelerinden salgılanır. Makrofajlar, lezyona yerleştikten sonra, birçok biyolojik madde salgılayarak, yeni makrofajların gelmesini, DKH, fibroblastların çoğalmasını ve bağ dokusu sentezini uyarırlar. Köpük hücre oluşturan asıl hücreler makrofajlardır. Daha önce endotel tarafından başlatılan LDL partiküllerinin oksidasyonu makrofajlar tarafından tamamlanır. Bu oksidasyon sonucunda lipoprotein partikülün üzerindeki apoB proteini, çöpçül reseptörler tarafından tanınacak şekle dönüşür. DKH üzerinde de çöpçül reseptörleri vardır, ancak aterosklerotik plaktaki esas fagositik hücreler makrofajlardır. Makrofajlar çöpçül reseptörleri aracılığı ile okside LDL'yi fagosome edip parçalarlar. Oluşan kolesterol bileşikleri, kolesterol esterleri şeklinde depolanır. Ancak hücrenin kolesterol yüklenmesi ile çöpçül reseptörlerde bir down-regülasyon mekanizması olmadığından depolanma süreci devam eder ve hücrenin ölümüne dek sürer. Böylelikle lipit damlacıkları ile dolan makrofajlar “köpük hücrelerine” dönüşür (40).

Aterosklerotik plaktaki makrofajların ömrü kesin olarak bilinmemektedir. Ancak aktif makrofajlarda apoptozis (programlanmış hücre ölümü) sık görülür. Ölen hücrenin içeriği plağın çekirdeğine katılır ve böylelikle plağın büyümesine katkıda bulunur. Daha seyrek olarak, plak üzerindeki endotelin sıyrılması ile kana karışır ve dalak ve lenf düğümleri tarafından dolaşımdan temizlenir (49).

4) Trombositler: Aterogenezin hemen her aşamasında lezyon üzerinde trombosit kümeleri veya mural trombüsler görülmektedir. Çekirdeksiz hücreler olduklarından protein üretememelerine karşın, trombositler içerdikleri granüllerde (alfa granülleri) çok sayıda değişik mitojenler, sitokinler ve vazoaktif maddeler taşımaktadırlar. Endotel hasarında olduğu gibi herhangi bir biçimde tetiklenen trombosit aktivasyon ve agregasyonu, degranülasyona ve bu maddelerin salgılanmasına neden olurlar. İnflamatuvar sitokinler, bir adezyon molekülü olan P-selektinin trombosit hücre zarında belirmesine neden olurlar. Bunu sonucunda trombositler, endotel hücreleri ve monositler ile etkileşir. Kararlı koroner arter hastalıklarında, trombosit-monosit kümelerinin gösterilmesi ve trombosit yüzeyinde inflamasyonun bir göstergesi olan CD40L saptanması, bu hücrelerin büyük olasılıkla aterogenezde rol oynadığını düşündürmektedir. Yüksek katekolamin düzeyi, stres ve sigaranın trombosit

agregasyonunu arttırarak, bu mekanizmayı hızlandırdığı düşünülmektedir (50, 51, 52, 53, 54, 55).

5) T-Lenfositleri: Aterosklerotik lezyonlarda hem CD4+ hem de CD8+ hücrelerin bulunması, aterosklerozun patogeneğinde bağışıklık sisteminin, belki de otoimmünitenin rol oynayabileceği fikrini doğurmaktadır. Makrofajların bağışıklık sisteminde T-lenfositlere antijen sunan birincil hücreler olduklarının bilinmesi ve aterosklerotik plakta T-lenfositlerle yoğun etkileşimlerinin gösterilmiş olması da bu kanıyı desteklemektedir. Bugüne kadar olası antijenlerin gösterilmesi mümkün olmamıştır. Yapılan bazı çalışmalar, bağışıklık sistemini aktive eden temel antijenlerden birinin okside LDL olabileceğine ilişkin kanıtlar ortaya konmuştur (56).

6) B-Lenfosit: Aterosklerozu olan insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda okside LDL'ye karşı dolaşımda otoantikorların tespit edilmesi ve aterosklerotik lezyonlarda immünglobulinlerin bulunması, B-lenfositlerin de ateroskleroz patogeneğinde rol aldığını düşündürmektedir. Ateroskleroz patogeneğinde T ve B lenfositlerine ait veriler karışık da olsa, çalışmaların çoğunda hücrel immünitenin ateroskleroza karşı koruyucu bir rol oynadığı ifade edilmiştir (57).

7) Nötrofiller: Nötrofiller insanda erken ve ilerlemiş ateroskleroz sürecinde nadiren saptanmıştır. Sistemik inflamasyon ve akut koroner sendromu (AKS) arasında güçlü ilişki olmasına karşın, aterosklerotik lezyonda nötrofiller fazla dikkat çekmemiştir. Naruko ve ark. (58) insanda AKS'a yol açan plaklarda nötrofil infiltrasyonunu kanıtlamışlardır. Aynı zamanda, akut MI'dan ölen hastalarda plakta oldukça değişken sayıda nötrofil tespit edilirken, kardiyovasküler olay dışında ölen hastaların plaklarında nadiren nötrofile rastlanmıştır.

2.2.5. Aterogeneizde Rol Alan Adezyon Molekülleri, Sitokinler ve Büyüme

Faktörleri

1) Adezyon molekülleri: Normal endotel hücrelerinin yüzeyinde adezyon molekülleri çok az bulunurlar. Normal endotel hücreleri, özellikle ürettikleri NO aracılığı ile lökositlerin tutunmasına direnç gösterirler. Buna karşılık, endotel fonksiyonlarının bozulması ile birlikte hücrelerin yüzeyinde daha çok adezyon molekülleri belirlemeye başlar (up-regülasyon). İmmünoglobulin üst ailesinden olan

vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve hücreler arası içi adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi adezyon molekülleri lökositlerin endotel hücresine daha kolay tutunmasını sağlamaktadırlar. İnsanlarda henüz kanıtlanmasa bile inflamatuvar hücrelerin (özellikle monosit ve T-lenfositlerin) endotele tutunup daha sonra da endotel bariyerini aşması ateroskleroza başlatan olaylardan biri olarak kabul edilmektedir. Yapılan hayvan deneylerinde aterosklerotik besinlerle (yüksek kolesterol içeren besinler) beslenen tavşanların, endotel yüzeyinde artmış VCAM-1 düzeyleri gözlenmiştir (59, 60). Endotel hücre yüzeyinde bulunan VCAM-1 ve ICAM-1 ayrıca düz kas hücre yüzeyinde de bulunmaktadır. Bu moleküller aracılığı ile DKH'leri lökositlerinden etkilenir; göç ve proliferasyonu uyarılır (61).

Lökositlerin endotele geçişine adezyon moleküllerinden sadece VCAM-1 ve ICAM-1 değil, bunun yanı sıra E-selektinler de aracılık etmektedir. Selektinler, diğer adezyon moleküllerinin aksine, proteinler yerine karbohidrat ve glikopeptidlere bağlanırlar. TNF- α ve IL-1 gibi sitokinlerin uyarısı ile endotel hücre yüzeyindeki selektin yoğunluğu artmaktadır. Hücre yüzeyinde artan E-selektin lökositlerin hücre yüzeyine tutunmasını, oradan da subendotelyal bölgeye göçünü sağlamaktadır (62, 63, 64).

Glikoprotein yapısında olan integrinler hücrelerin birbirlerine ya da çevresindeki yapılara sıkıca tutunmalarını sağlamaktadırlar. Ayrıca hücre zarındaki konumları nedeniyle, hücre dışı uyarıların hücre içine ulaşarak çeşitli hücre içi olayların gerçekleşmesine aracılık ederler. Lökositlerde bu işlevi yapan integrinler "lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1, makrofaj antijeni-1 ve geç (very late) aktivasyon antijeni-4"tür. Plak komplikasyonu sonucunda aktifleşen olan trombositlerin endotel hücrelerine, endotel altı yapılara ve birbirlerine tutunmasında rol oynayan Glikoprotein IIb/IIIa reseptörleri integrin yapısındadır (62).

2) Sitokinler: Sitokinler, aterosklozün başlamasında, adezyon moleküllerinin endotel yüzeyindeki miktarlarını arttırmada ve aterom plağın komplike olmasında rol almalarından dolayı aterosklerotik sürecin hemen her evresinde önemli bir yere sahiptirler. İnterlökin-1 β (IL-1 β) ve TNF- α gibi sitokinler endotel hücresinde VCAM-1'in ekspresyonunu arttırarak monosit ve lenfositlerin endotel altı tabakaya göçünü arttırarak aterosklerotik plağın oluşumuna yol açmaktadırlar. Aterom plağında bulunduğu gösterilen diğer bir sitokin olan MCP-1, daha fazla sayıdaki monositi plağın

olduğu bölgeye çekmektedir (59). MCP-1, okside-LDL ya da başka inflamatuvar bileşiklerin uyarısı ile endotel hücresi tarafından oluşturulmaktadır. İnsanda, MCP-1'in, aterosklerotik plaklarda diğer kesimlerine göre aterosklerotik plaklarda çok daha yoğun olduğu gözlenmiştir (65). Lezyonda bulunan T-lenfositlerin salgıladığı interferon gamanın (INF- γ) ise DKH'lerin apoptozisine neden olduğu ve bunun sonucu olarak plağın komplike olmasında önemli rol oynadığına inanılmaktadır (66, 67). IL-1 β ve TNF- α makrofajları aktiveleştirerek, matriks metaloproteinaz salgılanmasını uyarmaktadırlar (36, 39).

Aterogenezdeki rolü tartışmasız kabul edilen nükleer faktör kapa B'nin (NF- κ B) inflamasyonun tetiklenmesinde önemli bir katkısının olduğu belirlenmiştir. NF- κ B, gerekli transkripsiyonu sağlayarak MCP-1 üretimini arttırmakta ve aynı zamanda matriks metaloproteinaz genlerinin aşırı düzeyde etkinleşmesini sağlamaktadır. Yapılan çalışmalarda, insan damarlarında aktif NF- κ B'nin bulunduğu gözlenmiş ve düzeyi ile aterosklerozun yaygınlığı arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır (68).

Nükleer transkripsiyon faktörlerinden olan peroksizomal proliferatör-aktive edici reseptörlerin (PPARs) aterosklerotik süreçte önemli rol oynadığı gösterilmiştir. PPARs etkinliğinin makrofaj, endotel ve DKH işlevlerinin düzenlenmesi ve metaloproteinaz üretimi ile ilişkili olduğunu belirten bulgular bulunmaktadır. Aterosklerozlu olgularda PPARs sayısının arttığı belirlenmiştir. PPARs'ın etkinleşmesi sonucunda ise endotel hücrelerinde NO sentaz enzimi ve adezyon moleküllerinin düzeyini, monositlerin makrofajlara dönüşüm hızlarını, makrofajlarda çöpçül reseptör sayısını, makrofaj apoptozisi ve plaktaki çeşitli sitokinleri etkileyerek aterogeneze katkıda bulunmaktadırlar (69).

3) Büyüme Faktörleri

a) Platelet Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF): Trombositlerin α -granüllerinde depolanan oldukça güçlü bir mitojendir. Proliferatif yeteneği olan bütün hücreleri etkileyebilme özelliğine sahiptir. Mitojenik etki gösterdiği hücrelerde aynı zamanda kemotaktik etki de göstermektedir. DKH reseptörlerine bağlanan PDGF, hücre siklusunu uyararak hücrelerin bölünüp çoğalmasını sağlamaktadır. Bu etkilerinin yanında, PDGF DKH'lerinin pinositoz yapmasını, protein ve RNA sentezini uyarmaktadır. Ayrıca, hücre yüzeyinde de LDL reseptör sayısının artışına neden

olmaktadır. Bu mitojenle karşılaşan DKH, hem prolifer olurlar ve hem de bağ dokusu sentezini arttırır (40, 70).

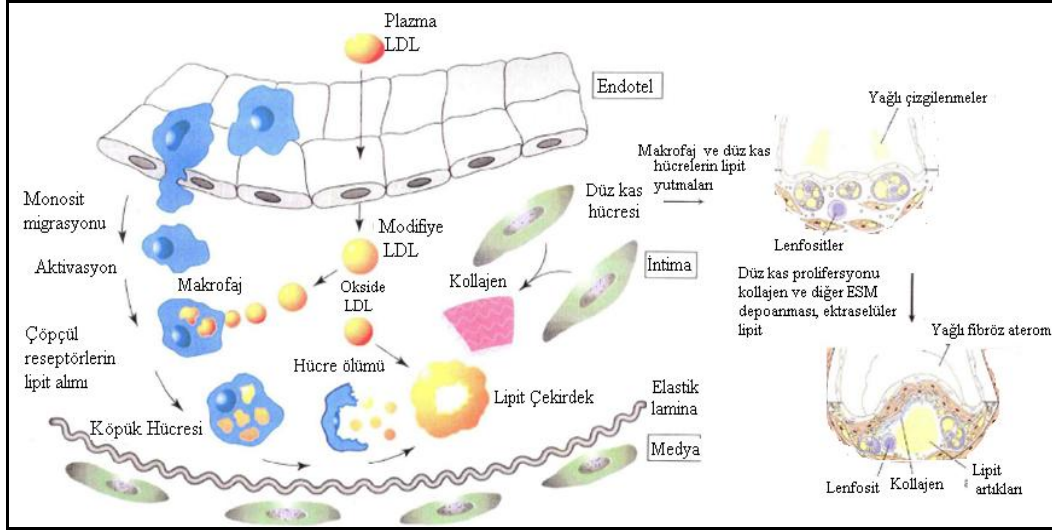
b) Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF): Makrofajlar, endotel ve DKH zedelenmesi sonucu salınır. Bu hücrelerde hücre hasarı oluştuğunda açığa çıkan FGF hem DKH hem de endotel hücrelerinin proliferasyonunu uyarmaktadırlar (40, 70).

c) Transforme Edici Büyüme Faktörü- β (TGF- β): Endotel hücreleri, trombositler, bağ dokusu hücreleri ve makrofajlar tarafından salgılanır. Düşük dozlarda kas hücrelerinin sekresyon ve proliferasyonunu uyarırken, yüksek konsantrasyonları ise güçlü bir hücre proliferasyon inhibitörüdür. Ayrıca TGF- β kollajen, proteoglikan ve elastik lif proteinleri gibi bağ dokusu sentezini uyaran en güçlü ajandır (70, 40).

d) Heparin Bağlayıcı Epidermal Büyüme Faktörü (HB-EGF): DKH'leri ve aktive aktifleşmiş makrofajlardan salgılanır. Düz kas için en az PDGF kadar güçlü mitojenik bir ajan olan HB-GF'nin aterosklerozdaki yeri henüz araştırılmaktadır (40, 70).

2.2.6. Aterogeneizde Temel Basamaklar

Aterosklerotik süreç basamakları şekil 2.2'de (71) verilmiş olup ateroskleroz oluşum, gelişim ve sonuç verme süreçleri tüm olgularda benzerlik gösterir ve çeşitli basamaklar içerir. Bu nedenle aterosklerotik süreci basamaklara ayırarak ele almak ve değerlendirmek birçok kolaylık sağlamaktadır. Aterosklerotik basamaklar endotel disfonksiyonu, LDL oksidasyonu ve köpük hücre oluşumu, lipid çekirdeği oluşumu, fibröz başlık oluşumu, immün mekanizmalar ve plak revaskülarizasyonu gibi basamaklara ayrılabilir.



Şekil 2.2. Temel ateroskleroz süreci (71)

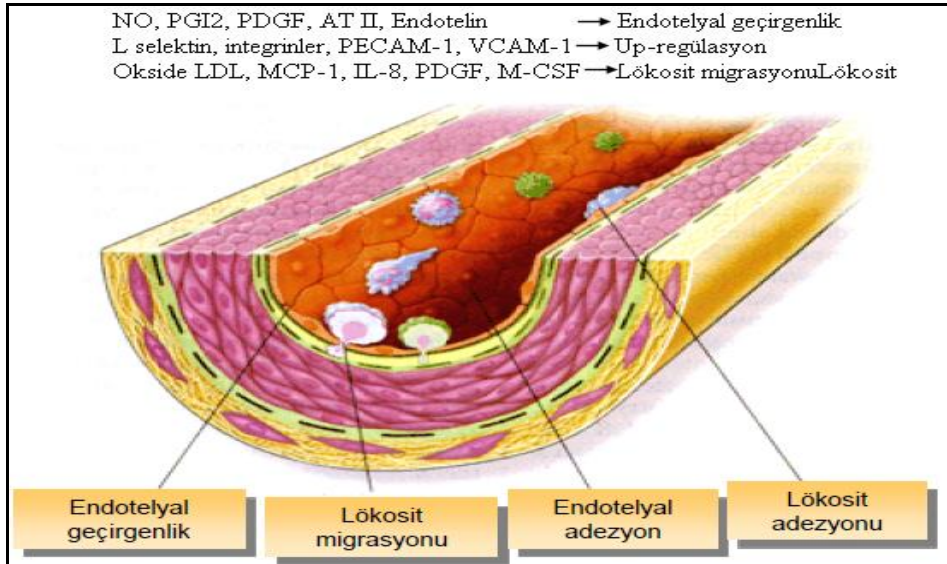
2.2.6.1. Endotel Disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu, aterosklerozun patogeneğinde bilinen ilk temel basamağı oluşturur. Yapılan çalışmalarda, KAH açısından aile anamnezi pozitif olan ancak koroner arterleri normal veya çok az hasarlı bireylerde, aile anamnezi pozitif olan fakat başka risk faktörü bulunmayan asemptomatik genç erişkinlerde (72), tip II diyabetlilerin birinci derece akrabalarında (73) ve insüline bağımlı diyabeti olan hastalarda endotel disfonksiyon varlığı gösterilmiştir. Tıkayıcı olmayan hafif düzeyde KAH'lıların olan bir başka çalışmada, ciddi endotel disfonksiyonu saptanan grubunun saptanmayan gruba göre anlamlı derecede daha yüksek MI, kardiyak ölüm ve revaskülarizasyon gibi kardiyak olaylar gösterilmiştir (74).

Endotel disfonksiyonu varlığının KAH'nı öngördüğü ve KAH'da endotel disfonksiyonunun kötü prognoz göstergesi olduğu da bilinmektedir. Bunlara ek olarak, sigara içenlerde, yaşlı kişilerde, menopozdaki kadınlarda, hipertansiyonlu kişilerde ve hiperhomosistinemisi bulunan olgularda da endotel fonksiyon bozukluğu saptanmıştır (75, 76). Aynı zamanda, inflamasyon varlığında ya da yüksek okside-LDL partiküllerinin varlığında da endotel disfonksiyonunun geliştiği belirlenmiştir (77). Fonksiyonu bozulmuş endotel hücresi bariyer özelliğini yitirdiğinden, lipoprotein moleküllerinin subendotel dokuya geçişi hızlanmaktadır. Vasoaktif maddelerin dengesinin bozulması trombojenik ve aterojenik bir ortam oluşturmaktadır. Endotel disfonksiyonunun bir başka sonucu da inflamasyona eğilimin artmasıdır (40).

Normal endotel fonksiyon bozukluğu kendini aşağıdaki durumlarla gösterir;

- a) Endotele bağımlı vazodilasyon bozulur (78).
- b) NO yapımı ve salgılanması azalır ve sonucunda trombosit agregasyonu kolaylaşır (79).
- c) Endotelin düzeyi artar ve vazokonstriksiyon gelişir (80).
- d) Endotel hücrelerinde, yıkımın azalması nedeni ile asimetrik dimetilargininin düzeyi artar ve bu da NO sentezini inhibe eder (81).
- e) Yüksek kolesterol düzeyi, endotelden serbest oksijen radikallerinin salgılanmasına neden olur ki, bunlar da NO'ye bağlanarak aktivitesini bozar (82).
- f) Hücre yüzeyinde VCAM-1, ICAM-1 ve platelet/endotel hücre adezyon molekülü (PECAM-1) gibi adezyon moleküllerinin düzeyi artar ve endotel disfonksiyonunun olduğu bölgelerde lökositlerin tutunmasını kolaylaştırır (40, 70).
- g) PGI₂ üretimi azalması, endotel hücrelerine bağlı protein kinaz C etkinleşmesinde azalma ile tromboplastin üretiminin ve platelet aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) salgılanmasının artmasına ve trombüs oluşumuna eğilim artması ile sonuçlanır (70). Endotel disfonksiyon oluşumu şekil 2.3'te (83) gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Endotel disfonksiyonu (83)

2.2.6.2. LDL Oksidasyonu

Kronik hiperlipidemide dolaşımdaki LDL endotel hücreleri tarafından oluşturulan engeli geçerek, endotel altında birikmeye başlarlar. Buradaki matrikste bulunan proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlarla etkileşirler ve LDL'nin matrikste miktarı ve kalış süresi de uzar. Bu da LDL'nin endotel, DKH ve makrofajlar tarafından oksidasyonuna neden olur. Makrofajlardaki LDL reseptör sayısı az olduğundan okside olmamış LDL'nin fagosite edilme hızı düşüktür. İntimada matrikse bağlı olarak tutulmakta olan LDL endotel, DKH ve makrofajlar tarafından okside edilirler. Fakat bu oksidasyon özellikle okside LDL adını verdiğimiz LDL partikülü değildir çünkü oksidasyon LDL'nin yapısal proteini olan apolipoprotein B-100'de (apoB-100) gerçekleşmemiştir. Bu az oksitlenmiş LDL partikülüne minimal modifiye LDL adı verilir. Bu LDL partikülleri de oksitlenmemiş LDL partikülleri gibi LDL reseptörleri tarafından algılandıkları için köpük hücre oluşumunda yer almazlar. Ancak MCP-1 yapımını arttırarak bölgeye daha fazla monosit göçüne neden olurlar. Oksidasyonun tamamlanması ile LDL'deki apoB-100 değişmektedir. ApoB-100'deki bu değişiklik, immünolojik olayların başlamasını tetiklemektedir. Okside LDL'nin makrofajlar tarafından fagosite edilmesi çöpçül reseptörler aracılığı ile olmaktadır. Bu şekilde makrofajlar içine alınan LDL kolesterol esterlerine dönüşerek birikir ve köpük hücre oluşumunu başlatır (84, 85). Okside LDL'nin aterogenezdaki etkileri başlıca;

- a. Çöpçül reseptörlerce tanınarak makrofajlar tarafından fagosite edilir. Endotel ve DKH 'leri için sitotoksiktir.
- b. Dolaşımdaki monositler için kemotaktiktir.
- c. Endotelde adezyon moleküllerinden VCAM-1 ve ICAM-1 üretimini arttırarak monosit ve lenfositlerin damar duvarına yapışmasının kolaylaştırır.
- d. Plaktaki makrofajların motilitesini inhibe ederek, lezyonda makrofaj sayısını arttırır.
- e. Bazı büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımı uyarır.
- f. İmmünojeniktir ve antikor oluşumunu tetikler.

2.2.6.3. Köpük Hücre Oluşumu

Endotel hücresinde LDL molekülünün ilk modifikasyonu ile minimal modifiye LDL oluşmaktadır. Minimal modifiye LDL daha sonra makrofajlardan salgılanan

lipooksijenaz, reaktif oksijen türleri (ROS) ve malondialdehit etkisi ile tekrar okside edilir (86). Özellikle malondialdehit, apoB proteininin lizin kalıntılarını etkileyerek okside LDL oluşumuna yol açar. Bu aşama köpük hücre oluşumu için bir başlangıçtır. Çünkü okside LDL için başta makrofajlarda olmak üzere, DKH'lerinde de bulunan çöpçül reseptörler tarafından daha kolay tanınabilecek şekilde değişmiştir (87, 88). Böylelikle makrofajlar okside LDL partiküllerini fagosite edip parçalar ve kolesterol esterleri biçiminde depo ederler. Köpük hücre oluşumuna neden olan bir diğer etken de çöpçül reseptörlerin düzenlenmelerinin diğer birçok reseptörden farklı olarak geri beslemeli inhibisyona uğramamasıdır. Fagosite edilen okside LDL hücre içerisinde yıkılır, açığa çıkan serbest kolesterol esterifiye edilir ve depolanır. Sonuçta köpük hücre oluşur. Makrofaj köpük hücreleri ise TNF- α ve metalloproteinazlar gibi inflamatuvar sitokinler ve prokoagülan faktörler salgırlar (89).

Düz kas hücreleri üzerinde de çöpçül reseptörler bulunmaktadır. Bu hücrelerde makrofajlar gibi okside LDL'yi fagosite ederek köpük hücreleri oluştururlar. Erken evredeki lezyonlarda lipit çoğunlukla hücre içerisindedir. Ancak hücre dışı aralıkta da lipit damlacıklarının bulunduğu elektron mikroskopisi ile gösterilmiştir (40).

2.2.6.4. Lipid Çekirdeğin (Lipid Core) Oluşumu

Aterosklerotik sürecin bu aşamasında lezyon dışında da lipit birikmeye başlar. Ekstrasellüler lipidin olası iki kaynağı vardır. Dolaşımdaki LDL'nin doğrudan doğruya intima tabakasındaki proteoglikanlara bağlanması ya da köpük hücrelerin apoptotik sürece girerek (depolanmış kolesterol esterlerini) hücre içeriğiyle dışarı salmasıdır. Ekstrasellüler lipit birikiminin de başlıca kaynağı olarak apoptotik köpük hücre yıkımı gösterilmektedir (40).

Köpük hücre oluşumunda rol alan iki hücre tipi vardır. Bunlar DKH ve makrofajlardır. Ancak bu hücrelerin yaşam süreleri henüz bilinmemektedir. Ancak ileri lezyonlarda DKH proliferasyonunun oldukça sınırlı olduğu gösterilmiş, bu da hücrelerin uzun ömürlü olabileceğini düşündürmektedir (40). Buna karşılık savunma sisteminin bir parçası olan ve sürekli yenilenen monositlerin dokuya geçmesi ile oluşan makrofajlar daha farklıdır. Makrofajların aterosklerotik plakta çoğalabildikleri ve monositlerin sürekli dolaşımdan plak içerisine girdikleri bilinmektedir. Fakat bu şekilde makrofaj

artışı yani kontrolsüz artışın engellenmesi fikri apoptotik sürecin makrofajlarda daha hızlı olduğunu düşündürmüştü ve yapılan çalışmalar bu fikri destekler niteliktedir (90). Makrofajların ölümünde, LDL oksidasyonu sonucunda oluşan peroksitlerin de etkisi olmakla beraber, asıl mekanizma apoptozisdir (90). Apoptotik sürecin oluşumunda M-CSF gibi büyüme faktörlerindeki azalmaya ek olarak TNF- α 'nın da rolü bulunmaktadır (40).

Aktif plakta lipit çekirdeğin etrafında metalloproteinaz üreten makrofaj kümeleri bulunmaktadır. Makrofaj kümelerinin ürettiği metalloproteinazlar lipit çekirdeğe yer açacak alanı bağ dokusu elemanlarını yıkarak sağlarlar. Sonuç olarak lipit çekirdek intima tabakasının bağ dokusu yapısı içerisindeki kolesterol ve hücre yıkım ürünleri ile dolu bölgesidir ve bu aşamada henüz lipit çekirdeğin üstünde fibrotik bir yapı bulunmamaktadır (40).

2.2.6.5. Fibröz Başlık (Fibrous Cap) Oluşumu

Olgunlaşmış aterom plağında lipit çekirdeğinin üstü fibröz bir başlıkla kaplıdır. Fibröz başlık yoğunlukla DKH ve onların ürettiği bağ dokusundan oluşur (40). Lezyonun yaşı ilerledikçe içerdiği DKH sayısı da artmaktadır. DKH'nin medyadan göçü ve proliferasyonu, PDGF ve FGF gibi büyüme faktörleri aracılığı ile gerçekleşir. Bu faktörler aterogenezde rol alan hemen her hücre tarafından üretilirler ve aynı zamanda göç ve proliferasyonu da uyarırlar. Aynı faktörler bağ dokusu proteinlerin üretimini de uyarırlar. TNF- β güçlü bir bağ dokusu yapıcısı olmasına karşın, bugüne dek bulunan en güçlü DKH inhibitörüdür. TNF- β , aktif makrofaj ve trombositlerden salgılanmaktadır. Uyarıcı ve baskılayıcı bu maddeler arasındaki etkileşim, DKH'nin proliferatif cevabını belirlemektedir (40).

Bugün artık fibröz başlığın dinamik bir yapı olduğu bilinmektedir. Bir yandan DKH tarafından kollajen yapımı sürerken, diğer taraftan proteazlar tarafından sürekli bağ dokusu yıkımı olmaktadır (86). Lipit çekirdek ve onun etrafında yer alan fibröz başlıktan oluşan bu ilerlemiş aterosklerotik lezyona “fibroaterom” adı verilmektedir. Lipit çekirdek ve fibröz tabakanın lezyondaki miktarı plağın kırılabilirliğini belirleyen esas etkidir. Fibröz başlık ne kadar kalınsa, plak o kadar stabil ve ne kadar ince ise plak o kadar kırılabilir ve zedelenebilir (91, 92).

2.2.6.6. İmmün Mekanizmalar

Plaklarda T-lenfositlerin bulunduğu gösterilmiştir. Bu hücrelerin görevi büyük olasılıkla interferon salgılayarak DKH proliferasyonunu düzenlemektir (40). B-lenfositler ise plakların yapısında bulunmamalarına rağmen, adventisya çevresinde bol miktarda bulunmakta ve okside LDL'ye karşı antikor üretmektedirler. Bu antikorların plazmadaki düzeyi ölçülerek, aterosklerotik olayın aktivitesi ve yaygınlığı belirlenebilmektedir (56).

2.2.6.7. Plak Revaskülarizasyonu

Normal medya damarsız bir yapıdır. Ancak plak kalınlaştıkça, damar lümeninde taşınmakta olan oksijenin difüzyonu ile damar duvarını beslemesi olanaksızlaştığından, adventisya tabakasından lezyonun tabanına doğru yönelen yeni damarlanmalar görülür. Bunun plak büyümesine bir yanıt mı, yoksa katkıda mı bulunduğu henüz bilinmemektedir. Ancak bu damarlarda yoğun biçimde adezyon molekülü sunumu olduğu gösterilmiştir (93). Yeni bulgular plak damarlanması ile komplikasyonu arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Komplike olmuş plaklarda yeniden damarlanma, olmamışlara göre çok daha fazla olduğu saptanmıştır (94).

2.2.6.8. Aterosklerotik Lezyon Tipleri ve Evreleri

Aterosklerotik lezyonların gelişim ve morfolojik değişim dönemlerine göre üç ana sınıf altında toplanmaktadır. Bunlar, yağlı çizgi, yaygın intima kalınlaşması ve fibröz plaktır (33).

a) Yağlı çizgi: On yaşındaki çocuklarda bile görülebilen aterosklerozun en erken görülen lezyonlarıdır. Makroskobik olarak damar lümeninde sarı alanlar olarak görülürler. Bu görünümün asıl nedeni endotel altında biriken, içleri yağ damlacıkları ile dolu olan köpük hücrelerdir. Bu evrede, lipitlerin lezyona giriş çıkışları arasında dinamik bir denge vardır. Örneğin kan LDL düzeyinin azaltılması ile lezyona göç eden lipit miktarı azalırken çıkan lipit düzeyi artar ve lezyon oluşumu gerileyerek yerinde sadece sikatris dokusu kalır. Aynı zamanda, lezyona giren LDL düzeyi çıkan LDL'den fazla olduğunda lezyon sonraki evrelere ilerlemektedir (95). Koroner ve sistemik

arterlerdeki yağlı çizgilerin yerleşimi ile ileri evre aterosklerotik lezyon yerleşimlerinin aynı olması, bu lezyonların bir bölümünün ilerlediklerinin kanıtı olarak kabul edilmektedir (40).

b) Yaygın intima kalınlaşması: İntima, bağ dokusu ile çevrelenmiş DKH'den oluşan bir yapıdır. Makrofajlar, T-lenfositler, hücre dışı lipit birikintileri diğer elemanlarıdır (40).

c) Fibröz Plak: Aterosklerotik lezyonların en ileri biçimidir. Kalsifikasyon içerirler ve trombüs ve/veya hemoraji ile birlikte bulunur ise komplike lezyondan söz edilir (40). Makroskobik olarak beyaz renklidir. Lümene doğru genişleyen bu lezyonlar lümeni kan akımını engelleyecek kadar daralttıklarında klinik bulgu verirler (40). Mikroskopik olarak incelendiğinde bu lezyonlarda çok miktarda DKH, makrofajlar ve T-lenfositleri bulunur. Bu evrede medyadan intimaya geçen DKH bir fibröz başlık oluşturarak dizilmişlerdir. Fibröz başlığın temel işlevi, lümendeki kan ile lezyonun merkezindeki aterojenik lipit çekirdeğini birbirinden ayırmaktır. Fibröz başlıktaki DKH'leri ekstrasellüler matriks yapma yeteneğine sahip onarıcı fenotiplerdir (63, 96). Fibröz başlıkta DKH dışında, kollajen fibrilleri, elastin, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar da bulunur (97). Fibröz başlığın bütün plak hacmine oranı klinik durumları belirlemede önemli bir etmendir (47).

Amerikan Kalp Birliği (American Heart Association) plakların dinamik yapıya sahip olmasından dolayı yukarıda yapılan lezyonların makro ve mikroskobisine göre yapılan sınıflandırmayı yeterli görmeyerek ateroskleroz lezyonlarının tanım ve evrelerini tanımlamış ve lezyonları altı tip ve beş evreye ayırmışlardır (98). Aşağıda Amerikan Kalp Birliğinin yaptığı lezyonların tipine göre ayrımı şekil 2.4'te (71) ve evrelerine göre ayrım ise şekil 2.5'te (71) gösterilmiştir.

Evre-1) Küçük bir lezyon olup, genellikle 30 yaşın altında görülür. Yıllar içinde ilerleyebilmektedirler. Tip I, II ve III lezyonlar bu evrede görülürler. Tip I lezyon, içi yağ damlacıkları ile dolu makrofaj kökenli köpük hücrelerden oluşan ilk lezyondur. Tip II lezyonda makrofaj sayısı artmıştır ve katlar oluştururlar. Makrofajların yanı sıra DKH'lerinden oluşmuş köpük hücreler de bulunmaktadır ve hücre dışı lipitler görülürler. Tip I ve II lezyonlar intimada sarı noktalar ya da çizgiler şeklinde görülebilirler. Bu iki lezyonda matriks yapısı ve hücre dışı lipit birikimi ve intima yapısında değişiklik yoktur. Medya ve adventisya tabakaları bu lezyonlardan

etkilenmezler. Tip I ve II lezyonlar puberteden itibaren hemen her bireyde görülmeye başlanır. Ancak lezyonlar çok küçük oldukları için klinik bulgu vermezler. Bir bölümü geriler ya da yaşam boyu aynı seviyede kalırlar (20, 31, 40, 98).

Tip III lezyon, aterom diye nitelenen ilk lezyon olan tip IV ile II arasında bir geçiş lezyonudur. Tip III lezyonda DKH, bağ dokusu, fibriller ve tip II'den en önemli ayırt edici yan olarak yağ birikintileri bulunur. Bu birikintilerin içinde yağ damlacıklarının yanı sıra ölmüş köpük hücrelerin kalıntıları da bulunmaktadır. Bu lezyonda intimanın yapısı bozulmaya, DKH birbirinden ayrılmaya ve proteoglikanların yerini kalıntılar almaya başlar (98).

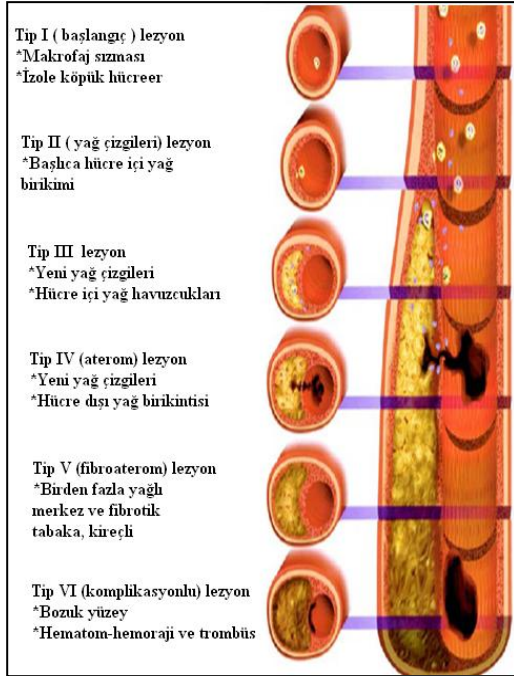
Evre 2) Bu evrede artık bir aterom plağı oluşmuştur. Histolojik olarak temel özellikleri birbirine benzeyen bu plaklar damar lümenini kritik düzeyde daraltmayabilir. Ancak intimanın temel yapısı bozulmuştur. Bu bozulmanın başlıca ortak nedeni hücre dışı birikintilerin lipit çekirdeği oluşturması, bu çekirdeğin bulunduğu yerdeki intimanın tüm elemanlarının yerini almasıdır. Sonuç olarak normal damar intimasına göre daha dirençsiz ve yumuşak bir yapıya dönüşmüştür. Lipit içeriğinin fazla olması nedeniyle bu plak komplike olmaya uygun hale gelmektedir. Bu evrede tip IV ve Va olmak üzere iki tip lezyon görülür. Tip IV lezyonda yukarıda sıralanan hücrel elemanlar yanında fibröz bir doku ile karışmış çok miktarda hücre dışı lipit birikintileri vardır. Tip Va'da ise ortada hücre dışı yağdan oluşan lipit çekirdek ve bunun üzerinde ince fibröz bir yapı vardır. Evre 2, akut faz olarak tanımlanan evre 3 ve 4'e ilerleyebilir bunun sonucunda da fibrotik evre olan evre 5'e dönüşebilir (98).

Evre 3) Akut komplike olmuş tip VI lezyonları içerir. Tip IV ya da Va lezyonların hasar görmesi ile oluşur. En dışta yer alan endotel tabaka bozulabilir ve üzerine trombüs oturabilir. Trombüs damarı tıkayabilir (98).

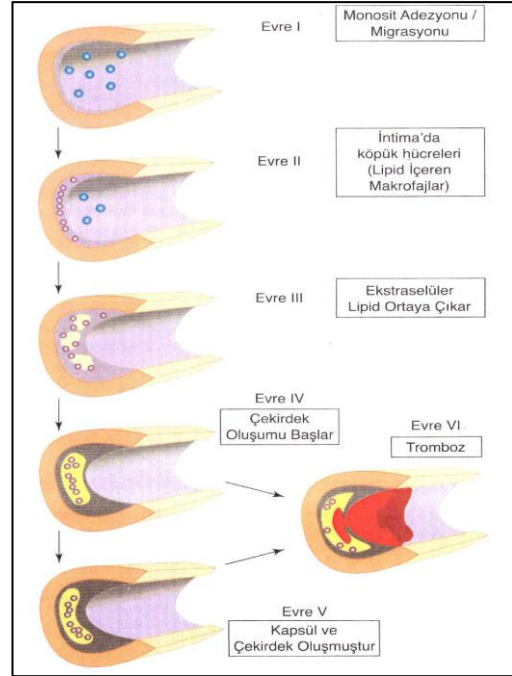
Evre 4) Bu evrede de evre 3'te olduğu gibi akut komplike olmuş tip VI lezyonlar vardır. Evre 3 ile arasındaki fark duvardaki trombüs büyüklüğüdür (98).

Evre 5) Bu evrede, evre 3 ve 4'te görülen tip IV lezyonların yüzeyinde oluşan trombüs bir hasar oluşturmuştur. Hasarın onarımı ya da dışarıda oluşan trombüsün organize olması halinde plağın boyutu büyür ve daha tıkayıcı olan Vb ve Vc lezyonlar oluşur. Bu lezyonlar bu evrenin başlıca lezyon tipidir. Bu evredeki lezyon tipleri olan, tip Vb ve Vc, damar lümeninde kritik düzeyde daralma oluşturarak angina pectorise neden

olurlar. Ancak iskemik dönemde etkili bir kollateral dolaşım oluşur ise klinik bulgu vermeden sessiz kalabilirler (98).



Şekil 2.4. Aterosklerotik lezyon tipleri (71)



Şekil 2.5. Aterosklerotik plak evrelemesi (71)

Amerikan Kalp Birliği aterosklerotik lezyonları altı tipe ayırmıştır. Amerikan Kalp Birliği'nin bu sınıflamasına 2003 yılında iki tip daha eklenmiştir (48). Elli yaşlardan sonra plakların mineral içeriğinin artmaya başlaması gösterilmiştir. Özellikle kalsiyum olmak üzere mineraller plak kesit alanının yarısı ya da daha fazlasını kaplıyorsa bu tip lezyonlar tip VII olarak adlandırılmakta. Ayrıca bu lezyonlarda birçok kez tekrarlanan hasar-onarım süreci nedeniyle bağ doku içeriğinin daha da arttığı belirlenmiştir. Lipid çekirdeğin bulunmadığı ancak intimanın zaman zaman hiyalinize olan düzensiz yapıdaki onarıcı nitelikli fibröz bağ dokusu ile kalınlaştığı durum ise tip VIII lezyon olarak adlandırılmakta. Bu lezyonda bağ dokusu ve DKH'leri onarıcı özellik taşımakta ve lezyon içinde yer yer kalsiyum kümeleşmeleri de gözlenmektedir. Plak kalsifikasyonunun klinik önemi belirgin değildir, ama lezyonları daha az elastik ve gerilim kuvvetlerine karşı daha duyarlı hale getirir (48).

2.2.7. Aterosklerotik Risk Faktörleri

Risk faktörlerinin tanımlanması ve bunların tedavisi asemptomatik kişilerde koroner kalp hastalıklarının önlenmesi (primer koruma) ve belirlenmiş hastalığı olan kişilerde tekrarlayan olayların önlenmesi (sekonder koruma) için gereklidir. Yirminci yüzyılın ilk yarısında hayvanlar üzerinde yapılan deneyler ve klinik gözlemler, hiperkolesterolemi gibi bazı değişkenleri, aterosklerotik olaylarla risk faktörü bazında ilişkilendirmişlerdir. İnsanlardaki risk faktörlerinin araştırılmasına ilişkin sistematik çalışmalar, yaklaşık olarak yüzyılın ortalarında başlamıştır. Prospektif, halk tabanlı ‘‘Framingham Kalp Çalışmaları’’, hiperkolesterolemi, hipertansiyon ve diğer faktörlerin kardiyovasküler riskle ilişkili olduğunu destekleyen önemli kanıtlar sağlamıştır. Gözleme dayanan benzer çalışmalar ABD’de gerçekleştirilmiştir ve geniş çapta yapılan yaygın, bağımsız araştırmalar kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörleri kavramını desteklemiştir (33).

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı’nın (NCEP) 2001’de yayınlanan III. Yetişkin tedavi panelinde (ATP III), KAH risk faktörleri şu şekilde sınıflandırılmıştır (99).

Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri (NCEP ATP III)

1. Lipid risk faktörleri (LDL, Trigliseridler, non-HDL-K, HDL düşüklüğü, aterojenik dislipidemi)

2. Nonlipid risk faktörleri

A. Modifiye edilebilen risk faktörleri

- a. Hipertansiyon
- b. Sigara içiyor olmak
- c. Diyabetes Mellitus
- d. Fazla kiloluluk/Obezite
- e. Fiziksel inaktivite
- f. Aterojenik diyet
- g. Trombojenik/ hemostatik durum

B. Modifiye edilemeyen risk faktörleri

- a. Yaş
- b. Erkek cinsiyeti
- c. Ailede erken koroner kalp hastalığı öyküsü

Koroner Arter Hastalığı İçin Bağımsız Risk Faktörleri (NCEP ATP III)

1. Yaş (erkeklerde ≥ 45 , kadınlarda ≥ 55)
 2. Ailede erken koroner kalp hastalığı öyküsü
 3. Sigara içiyor olmak
 4. Hipertansiyon (Kan basıncı $\geq 140/90$ mmHg veya antihipertansif ilaç kullanımı)
 5. Düşük HDL kolesterol (HDL < 40 mg/dl)
 6. Yüksek LDL kolesterol (LDL ≥ 130 mg/dl)
- *HDL > 60 mg/dl ise risk hesaplamalarında bir risk faktörü çıkarılır (Çünkü HDL kolesterol yüksekliği KAH riskini azaltır).

2.2.8. Ateroskleroz Oluşum Hipotezleri

Aterosklerozun patogenezi açıklanmaya yönelik birçok çalışma yapılmış ve çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Bugün en fazla kabul gören teoriler arasında;

a) Hemodinamik bozukluklar teorisi: İlk olarak 1950 yılında önerilen hemodinamik bozukluklar teorisi, türbülant akım ve shear stresin aterosklerotik lezyonların gelişmesinde sorumlu olduğunu ileri sürmektedir. Shear stres ve türbülant akımın arteriyel bölgelerin dallanma, ayrılma ve bükülme bölgelerinde değişiklikler göstermesi bu vasküler bölgelerde lezyon oluşumlarında önemli bir rol oynamaktadır. Türbülant akım değişimleri endotel disfonksiyonu, endotel hücre geçirgenliğinin artmasına ve endotele lökosit adezyonuna neden olur. Endotel bariyerindeki bu bozulma, içeriye kolesterolce zengin lipoproteinlerin girişine de sebep olmaktadır. Bu değişimler, sitokinler, adezyon molekülleri, koagülasyon proteinleri gibi bazı önemli moleküllerin gen ekspresyonlarında da değişimlere neden olmaktadır (45). Aterom plaklarının sıklıkla bulunduğu yerler dallanma, çaprazlanma ve dönme bölgelerinin olması bu teoriyi desteklemektedir (49).

b) Hasara yanıt hipotezi: Bugün hala aterosklerotik sürecin nasıl başladığı tam olarak anlaşılamamıştır. Bu anlamda en fazla kabul gören görüş Ross (31) tarafından ortaya atılan hasara tepki ("response to injury") hipotezidir. Bu hipotezde anahtar olay endotel hasarıdır. Endotel hasarı, normal vasküler özellikleri değiştiren bir takım kompensatuvar yanıtlara yol açar. Oluşan hasar, lökosit ve trombositlerin endotele adezyonunu arttırır ve lokal vasküler antikoagulan çevreyi prokoagulan bir çevreye

dönüştürür. Toplanan lökosit ve trombositler, sitokin, vazoaktif ajanlar ve büyüme faktörlerini salgırlar ve intima içerisine DKH migrasyonunu ve onların proliferasyonu ile karakterize olan inflamatuvar cevabı arttırlar (31). İnflamatuvar cevabın bir diğerkomponenti arter duvarı içerisine makrofajların toplanmasıdır. Bu makrofajlar LDL-K partiküllerini alarak içi lipit dolu köpük hücrelerini oluştururlar. Lipit birikimi ve köpük hücre oluşum süreci inflamatuvar yanıtla devam eder. Süregelen inflamasyon olayını, sitokin, büyüme faktörleri ve proteolitik enzimlerin salınımı ile birlikte olan hücresele nekroz izler. Lezyonun oto-katalitik olarak genişlemesiyle lezyon lümenine doğru ilerler ve sonunda kan akımını bozar (31).

c) Retansiyona yanıt hipotezi: Bu hipoteze göre ateroskleroza başlatan olay lipoprotein retansiyonudur. Arter duvarına lipoprotein retansiyonu, ekstrasellüler matriks komponentleri ile sıkı olarak bağlantılı gibi görünmektedir. Özellikle, apoB-100 içeren lipoproteinlerin, damar duvarına birikiminin inflamatuvar kaskadı tetiklediği düşünülmektedir (100).

d) Oksidatif modifikasyon hipotezi: Ateroskleroza oksidatif modifikasyon hipotezi, Goldstein ve ark. (101) kültüre makrofajların kimyasal olarak modifiye olmuş okside LDL-K varlığında lipit yüklü hücrelere dönüştüğü görüşü ile ortaya çıkmıştır. Modifiye LDL-K'ün *in vitro* düz kas hücresi ve endotel hücrelerinde MCP-1'in sentezini arttırdığı gösterilmiştir. Okside LDL-K, monosit ve lenfositler için kemotaktiktir. Okside LDL-K'ün DKH'nin proliferasyonunu uyardığı bilinmektedir. Okside LDL-K, makrofajlar tarafından köpük hücre oluşumu için daha hızlı oranda alınmaktadır. Ayrıca okside LDL-K, endotelial hücreler gibi bir takım hücreler için sitotoksiktir.

2.2.9. Lipit Peroksidasyon Mekanizmaları ve Oksidatif Stres

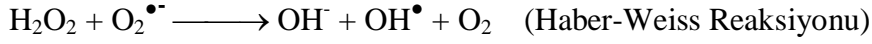
1. Oksidatif stres: Oksidatif stres, oksidanların üretimi ve organizmanın bu ürünlere karşı savunma mekanizmaları arasındaki dengenin oksidanlar lehine değişmesidir. Oksidan moleküller ROS, sülfür kaynaklı radikaller ve diğerk radikalleri içerir. Radikal oluşumu hücre tiplerine göre değişiklik göstermesine rağmen, tüm aerobik hücrelerde belirli düzeyde radikal oluşmaktadır. Oksidan moleküller birçok yolla oluşabilir. Örneğin, iyonizan radyasyon, kimyasal reaksiyonlar, enzimatik olarak serbest metal

iyonlarının rol aldığı redoks reaksiyonları ya da enzimlere bağlı metal iyonları oksidatif ürünler oluşturabilirler (102).

Biyolojik sistemlerde oksidatif stresi ortaya çıkaran reaktif moleküllerin, genellikle radikaller olduğu varsayılır. Radikaller bir veya birden fazla eşleşmemiş elektronları bulunan ve biyomoleküllere karşı reaksiyon yeteneği olan moleküllerdir. Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller, süperoksit anyonu ve hidroksil radikalidir. Hidroksil radikali son derece yüksek aktif özellikte olduğundan (meydana geldiği hücre bölümünden daha uzağa difüzyona gerek kalmadan) derhal oluştuğu yerde reaksiyona girer. Süperoksit radikali, hidroksil radikalinden daha az reaktif olduğu için açığa çıktığı hücre bölümünden daha uzak noktalara rahatlıkla diffüze olabilir. Ancak bu diffüzyon süperoksit dismutazın yüksek konsantrasyonu ile sınırlıdır. Hidrojen peroksit ise mitokondriyal, peroksizomal ve plazma membranından kolayca diffüze olarak toksik etkisini açığa çıktığı noktadan daha uzak hücre bölümlerinde gösterebilir. Lipit peroksidasyonunda hidroksil radikalinin daha etkili olduğu kabul edilmektedir (102).

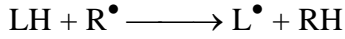
2. Lipit peroksidasyonu ve mekanizmaları: Biyolojik hasarla karakterize radikal reaksiyonlar arasında en belirgin olanı lipit peroksidasyonudur. Hücre membranlarının oksijen radikallerine maruz kalması lipit peroksidasyon reaksiyonlarını uyarır (103). Peroksidasyona en duyarlı olanlar doymamış yağ asitleridir. Lipit peroksidasyonu organizmada oluşan kuvvetli bir radikal etkisiyle zar yapısında bulunan konjuge olmayan çoklu doymamış poliansatüre yağ asidi (PUFA) zincirindeki alfa-metilen gruplarından bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde oksitleyici radikalın süperoksit anyonu (O_2^{\bullet}) ve hidroksil radikali (OH^{\bullet}) olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte, lipit peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalın hidroksil radikali olduğu benimsenmektedir. Hidroksil radikali, süperoksit radikali ve /veya hidrojen peroksit ile Fe^{+2} ve Cu^{+2} gibi geçiş metallerinin indirgenmiş şekilleri ile reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Bu dönüşümler Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları olarak bilinmektedir (Eşitlik 2.1).

Eşitlik 2.1. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile hidroksil radikali oluşumu



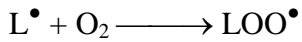
Serbest radikal etkisi ile PUFA'dan hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Böylece oluşan lipit radikali (L^\bullet) dayanıksız bir yapıya sahip olduğundan bir dizi spontan değişikliğe uğramaktadır (Eşitlik 2.2).

Eşitlik 2.2. Lipit radikali oluşumu



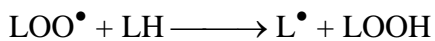
Önce molekül içi çift bağ aktarımıyla 233 nm'de karakteristik UV absorbansı veren konjuge dienler oluşmaktadır. Daha sonra lipit radikalinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu lipit peroksit radikali (LOO^\bullet) meydana gelmektedir (Eşitlik 2.3).

Eşitlik 2.3. Lipit peroksit oluşumu



Lipit peroksit radikalleri de zar yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşmektedirler (Eşitlik 2.4).

Eşitlik 2.4. Lipit hidroperoksit oluşumu



Böylece reaksiyonun oto-katalitik bir biçimde yürümesi sağlanmaktadır. Lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona ermektedir. Lipit hidroperoksitlerinin parçalanması ile etan ve pentan gibi uçucu gazlara dönüşmektedir. Bunlar da direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak da hücre komponentlerine zarar verir. Aldehitler en toksik ürünlerdir. Aldehid ve hidrokarbon gazları kolayca diffüze olarak mutageniz, vasküler permeabilite artışı, ödem, inflamasyon, kemotaksis, fosfolipaz aktifleştirilmesi endoperoksit oluşmasına yol açarak patolojik olaylara sebep olurlar. Peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de *in vivo* lipit peroksitlerinin düzeyini yansıtmaları açısından giderek önemi artan bir yöntemdir. (104, 105).

3. LDL Oksidasyonunda Rol Oynayan Etkenler

a) Metal iyonları: LDL partikülünün oksidasyonunda genellikle metal iyonları rol oynar. Doku ve hücre kültürlerinde metal bağlayan iyonların kullanılması ile LDL oksidasyonunun azaldığı gösterilmiştir. Metal iyonları ile *in vitro* oksidasyon üç evrede gerçekleşir. Endojen antioksidanların tüketimi, doymamış yağ asitlerinin hızlı oksidasyonu ve reaktif aldehitlere çevrilmesi bu evreleri oluşturur. Oluşan aldehitlerin apoB-100'deki lizin aminoasidinin pozitif yüklü amino grupları ile etkileşmesi sonucunda LDL partikülünün negatif yükü artar ve LDL reseptörüne ilgisi azalırken çöpçül reseptörüne karşı afinitesi artar (105, 106, 107, 108, 109).

b) Tiyoller: Tiyollerin otooksidasyonu süperoksit radikalleri oluşur ve metal iyonlarının varlığında, LDL partikülleri oksitlenir. L-sisteinin disülfid formu olan L-sistin içermeyen hücre kültürlerinde süperoksit oluşumu ve LDL oksidasyonu inhibe olmaktadır (110).

c) Lipooksijenaz: Makrofaj, endotel hücreleri ve DKH'lerinde bulunan lipooksijenazlar, PUFA'ları direkt olarak okside eder. Özellikle LDL'nin yapısında bulunan yağ asitlerine etki gösterir (111, 112)

d) Myeloperoksidaz: Makrofajlar, hidrojen peroksidi kullanarak kloru hipoklorik aside, L-tirozini tirozil radikaline çevirerek etki ederler (113).

e) Nitrik oksit: NO endotel hücrelerinden salgılanır ve arterlerde vasküler tonusu etkiler. Süperoksitle birleşerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur. Ayrıca,

asidik ortamda NO'dan oluşan ara ürünler de LDL oksidasyonunu hızlandırır (114).

f) Glukoz: Glike proteinler ve glukoz, metal iyonları aracılığıyla LDL oksidasyonunu stimüle ederler (115).

2.2.10. LDL Oksidasyonu ve Aterogenez

Endotel hücreleri lipoprotein lipaz, kolesterol esteraz, lipooksijenaz gibi enzimleri içerir. LDL'nin içerdiği kolesterol esterlerinin hidrolizi ile serbest kolesterol ve serbest yağ asitleri oluşur. Lipooksijenazların etkisiyle serbest yağ asitlerinin oksidasyonu gerçekleşir (116). LDL oksidasyonu hipotezine göre aterosklerozda lezyon oluşumu ve gelişiminden lipit ve protein oksidasyon ürünleri sorumludur. Oksidasyonun asıl hedefi intimada bulunan LDL partikülüdür. Bu hipotez, *in vitro* şartlarda oksitlenmiş LDL molekülünün proaterojenik özelliklerinin bulunmasıyla desteklenmiştir. Bu özellikler kemotaksisin uyarılması, makrofajlarda kolesterol birikimi, endotel hücrelerinde adhezyon molekülü ekspresyonu ve bazı hücre türlerinin apoptozudur (7).

LDL oksidasyonu aterogenezde kilit rol oynar. Oksidasyon hipotezinin geçerliliği LDL'nin endotel hücreleri ile inkübasyonu sonrası makrofajlar tarafından alınımının artmasının gösterilmesiyle kanıtlanmıştır. Oksidasyon, düşük konsantrasyonda bakır ve demirin bulunduğu ortamda 24 saat içinde gerçekleşir. Ortalama bir LDL partikülünde bir molekül apo-B, 600 molekül serbest kolesterol, 1600 molekül esterleşmiş kolesterol, 700 molekül fosfolipit, 180 molekül triaçilgliserol ve 10 molekül α -tokoferol bulunur. LDL'nin modifikasyonu sırasında tüm bileşenler oksidasyona uğrar. Ester ve serbest kolesterolün oksitlenmesiyle 7-hidroksiperoksikolesterol ve 7-ketokolesterol oluşur. Fosfolipitler ve triaçilgliserollerdeki PUFA'nın oksitlenmesiyle önce hidroperoksitler ve daha sonra malondialdehid, hekzanal gibi kısa zincirli, reaktif aldehytler meydana gelir. Araşidonik asidin non-enzimatik peroksidasyonu ile isoprostanlar gibi prostaglandin benzeri bileşikler oluşur. Kısa zincirli aldehytler ve isoprostanlardan kökenini alan isolevuglandinler, apo-B ile stabil kompleksler oluşturur ve moleküle pozitif yük getiren lizin kalıntılarının maskelenmesiyle proteindeki negatif yük artar. Tüm bu değişiklikler lipoprotein partikülünde molekül içi çapraz bağların oluşmasına ve partikülün agregasyonuna yol açar. LDL'de meydana gelen bütün bu yük

ve konfigurasyon değişiklikleri partikülün makrofajlar tarafından alınımı kolaylaştırır (7). Oksitlenmiş LDL'nin hücre içine alınması çöpçül reseptörleri aracılığı ile olur (8). Bu reseptörler hücre içindeki kolesterol düzeyi tarafından regüle edilmez ve subendotelyal yerleşimli makrofajlar okside LDL'yi kontrolsüz bir biçimde hücre içine alarak köpük hücreleri meydana getirirler. Çöpçül reseptörleri bulunmayan farelerde aterosklerozun gelişiminin yavaşladığı bildirilmiştir (9).

2.2.11. Ateroskleroz ve Çöpçül Reseptörler

Aterosklerotik lezyonlar olan köpük hücreler monosit/makrofajların subendotelyal alanda lipoproteinleri aşırı biriktirmesi ile oluşmaktadır. Bu durum doğal LDL alınımı ile değil LDL'in modifiye formlarının alınması ile oluşmaktadır. LDL vasküler dokuda birikmeye başladıktan hemen sonra süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri tarafından oksidasyona uğrar. Yapılan çalışmalar kolesterol birikimine oksidatif modifikasyonların neden olabileceğini ve okside LDL'nin aterogeneze yol açabileceğini işaret etmektedir (117). Modifiye LDL çöpçül reseptör olarak adlandırılan bir grup transmembran reseptör ile hücre içerisine alınmaktadır. Bu çöpçül reseptörler makrofajlar kolesterol esterleri ile dolana kadar okside LDL alınımı sürdürmektedirler.

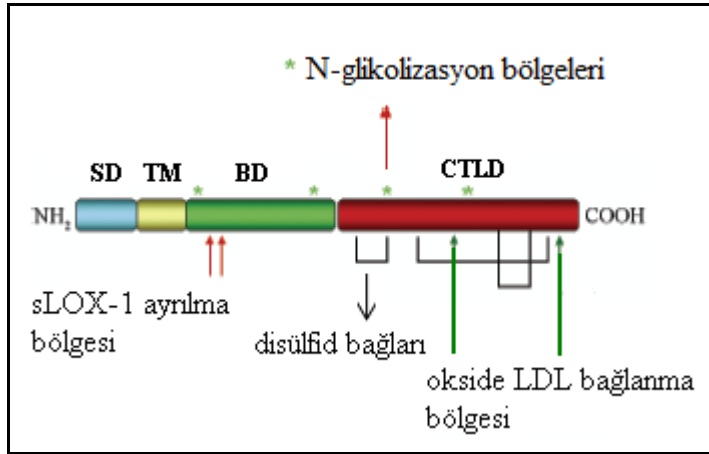
Bu reseptörler SR-AI/II, CD36, ve SR-BI'dir. Okside LDL'nin makrofaj ve DKH'leri tarafından alınımı çeşitli çöpçül reseptörler aracılık etmektedir. Ancak bu reseptörlerin endotel hücrelerinde düzeylerinin olmadığı ya da çok az olduğu bulunmuştur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, okside LDL için majör çöpçül reseptörün LOX-1 olduğu ve okside LDL'nin toksisitesine aracılık ettiği belirlenmiştir (12).

2.3. LOX-1 (OLR1) Tanımlanması ve Yapısı

İlk kez 1997'de Sawamura ve ark. (118) LOX-1'i yeni bir okside LDL reseptörü olarak sığır aort endotel hücrelerinde tanımladılar. Bu araştırmacılar, LOX-1'in endotel hücrelerinde okside LDL'nin bağlanması, internalizasyonu ve yıkılmasından sorumlu olduğunu göstermişlerdir. İzleyen çalışmalarda Mehta ve ark. insan koroner arter

endotel hücrelerinde LOX-1'in ekspresyonunu radyoligand bağlama çalışması ile belirlediler (119, 120). Daha sonraki çalışmalarda, endotel hücreleri yanı sıra makrofajlar, trombositler ve azda olsa DKH'inde LOX-1 ekspresyonunu gözlemlədiler (121, 122, 123). Chen ve ark. (124) *in vitro* olarak yaptıkları çalışmada, kalp fibroblastlarında çok düşük miktarda eksprese olduğunu belirlediler. Aynı zamanda *in vivo* çalışmalarda insan, tavşan ve fare damarlarında LOX-1 varlığı gösterildi (125, 126, 127).

Lektin benzeri okside LDL reseptör-1, OLR1 geni tarafından kodlanmakta ve 50 kDa ağırlığında bir protein olarak sentezlenmektedir. Yapısal olarak, kalsiyuma bağımlı şekilde karbohidratları bağlayan C-tip lektin ailesine ait bir tip-II membran proteindir. LOX-1 başıca, dört domainden oluşmaktadır. Kısa bir N-terminal sitoplazmik domain (SD), bir transmembran domain (TM), birleştirici bir boyun domaini (BD) ve bir de C-terminalde okside LDL'yi bağlayan C-terminal lektin-benzeri domainden (CTLD) oluşmaktadır. LOX-1 aynı zamanda iki potansiyel N-glikozilasyon bölgesi, üç disülfid bağlanma bölgesi ve iki tanede soluble LOX-1 (sLOX-1) salınımı için membrana bağılı LOX-1'in ayrılma bölgelerini içermekte olup şekil 2.6' LOX-1 yapısı gösterilmiştir (13).

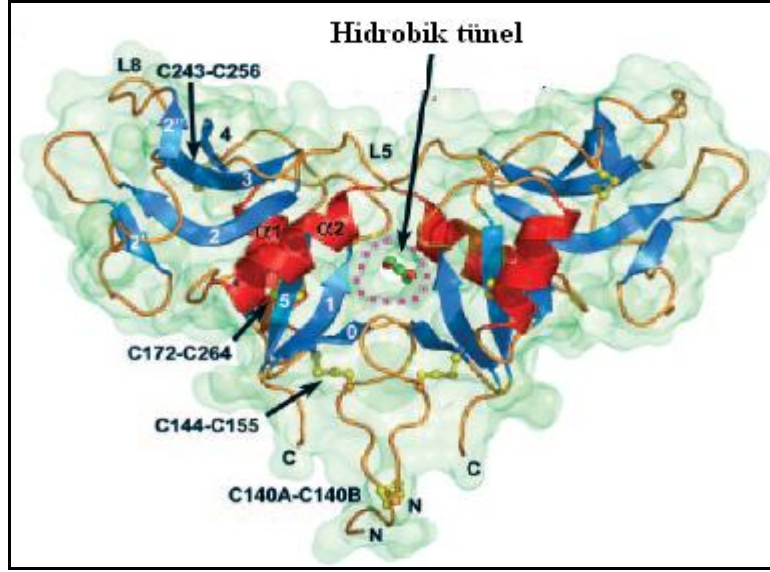


Şekil 2.6. LOX-1 protein yapısı (13)

Lektin benzeri okside LDL reseptör-1 proteini, insan, fare, rat, tavşan, domuz ve sığırlarda sırası ile 273, 363, 364, 278, 274 ve 270 aminoasitten oluşmaktadır. İnsan LOX-1 proteininin sığırdaki karşılığına %72 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda, tavşan, fare ve domuz LOX-1'in hem dizi hem de domain

yapılanması açısından insana çok benzediği saptanmıştır (128). LOX-1'in lektin benzeri bölgesi türler arasında korunmuştur. Özellikle CTLD'deki altı sistein rezidülerinin bulunduğu pozisyonlar korunmuştur. Bu bölge aynı zamanda ligand bağlama domaini olup, internalizasyon ve fagositozis süreçlerinin başlatıcısıdır (129).

Mutagenesis çalışmaları karbohidrat tanıma domainindeki sekuens ve rezidülerin proteinin hücre yüzeyine yerleşimi ve ligand bağlanması için esansiyel olduğunu göstermişlerdir. LOX-1'in düzgün katlanması, işlenmesi ve transportu için zincir içi disülfid bağlarındaki altı sistein ve C-terminal sekuensinin (KANLRAQ) gerekli olduğu belirlenmiştir. C-terminaldeki on aminoasidin (261-270) delesyonu veya lizin-262/263 alaninle değişmesinin bağlanma aktivitesini bozduğu ya da azalttığı gözlemlenmiştir. LOX-1'in CTRD bölgesindeki pozitif yüklü aminoasitlerin, lipit peroksidasyonu ve apo-B'ye bağlanma sonucu negatif yükle yüklenen okside LDL'nin tanınmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (130, 131). Bir diğer çalışmada CTLD'nin yalnız başına okside LDL'yi bağlama için yeterli olduğunu buldular (132). Chen ve ark. (133) LOX-1 CTLD domainin okside LDL'yi bağlama fonksiyonunu doğrularak, LOX-1'in hücre yüzey lokalizasyonun sitozolik jukstamembran bölgesindeki pozitif yüklü yapıya bağlı olduğunu göstermişlerdir. Ohki ve ark. (134) LOX-1'in ekstraselüler domainin kristal yapısını inceleyerek yaptıkları bir çalışmada, ligand bağlama bölgesi ve transmembran domaini bağlayan boyun bölgesindeki kısa bir alanın, zincirler arası disülfid bağı ile bağlanan bir homodimer oluşturduğunu ve boyun bölgesinin LOX-1'in ligand bağlayabileceğini gösterdiler. Park ve ark. (135) ekstraselüler LOX-1 lektin-benzeri domainin 1.4 angstromluk kristal yapı analizi sonucunda, LOX-1'in kalp şeklinde bir homodimer olduğunu ve merkezden molekülün içine doğru genişleyen hidrofobik bir tünel sahip olduğunu belirlediler. LOX-1'in homodimer yapısı içindeki bu hidrofobik tünel kolesterol molekülünün, bir yağ asidi zincirin ya da altı aminoasitli non-polar peptidin bağlanarak tanınmasına ve yerleşmesi için yeterince geniş olduğunu gözlemladiler. Bu durum bu yapıları taşıyan ekstraselüler ligandların tanınmasında rol oynanabileceğini göstermektedir. Okside LDL'nin yanı sıra LOX-1 multiple ligand bağlanma aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Şekil 2.7'de LOX-1'in homodimer yapısı hidrofobik tünel yapısı gösterilmiştir (135).



Şekil. 2.7. LOX-1'in homodimer yapısı ve okside LDL geçişi için hidrofobik tünel (135)

2.3.1. LOX-1 (OLR1) Ligandları

Diğer çöpçül reseptörleri gibi LOX-1 de birden fazla ligand bağlama aktivitesine sahiptir. İlk yapılan çalışmalarda okside LDL'yi bağlama aktivitesi insan ve sığır kültür hücrelerinde araştırılmış ve LOX-1'in sınıf A çöpçül reseptörlerinden daha fazla afinitiyeye sahip olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda Çin hamster ovaryum hücrelerinde, iyot¹²⁵ işaretli asetil-LDL'nin LOX-1 tarafından parçalandığı gözlenmiş ve asetil-LDL için reseptör olduğu gözlenmiştir (136). Proteinlerin şekerle etkileşimi sonucu oluşan ileri glikasyon son ürünlerin (AGEs) CD36 ve SR-B reseptörlerine bağlanarak endositik olarak alınmakta ve lizozomal olarak yıkılmaktadır. Sığır LOX-1 Çin hamster ovaryum hücrelerinde, LOX-1'in AGEs için bağlanma aktivitesi olduğu gözlemlenmiştir. Bundan dolayı AGEs LOX-1 için ligand olabileceği önerilmektedir (137). Ayrıca LOX-1, gram pozitif ve gram negatif bakteriler için hücre yüzey reseptörü olarak davrandığı gözlemlenmiştir (138). Aynı zamanda yaşlı ve apoptotik hücrelerin LOX-1 için ligand olarak hizmet ettiği bulunmuştur (139).

Şu ana kadar dört farklı ligand grubu tanımlanmıştır.

- i. Modifiye lipoproteinler (okside LDL, asetil-LDL, hipokloröz asit ile modifiye olmuş HDL)
- ii. Polianyonik kimyasallar (poliinosinik asit)
- iii. Anyonik fosfolipidler (fosfatidil serin ve inositol)

iv. Hücresel ligandlar (apoptotik/yaşlı hücreler, aktive plateletler, bakteriler)

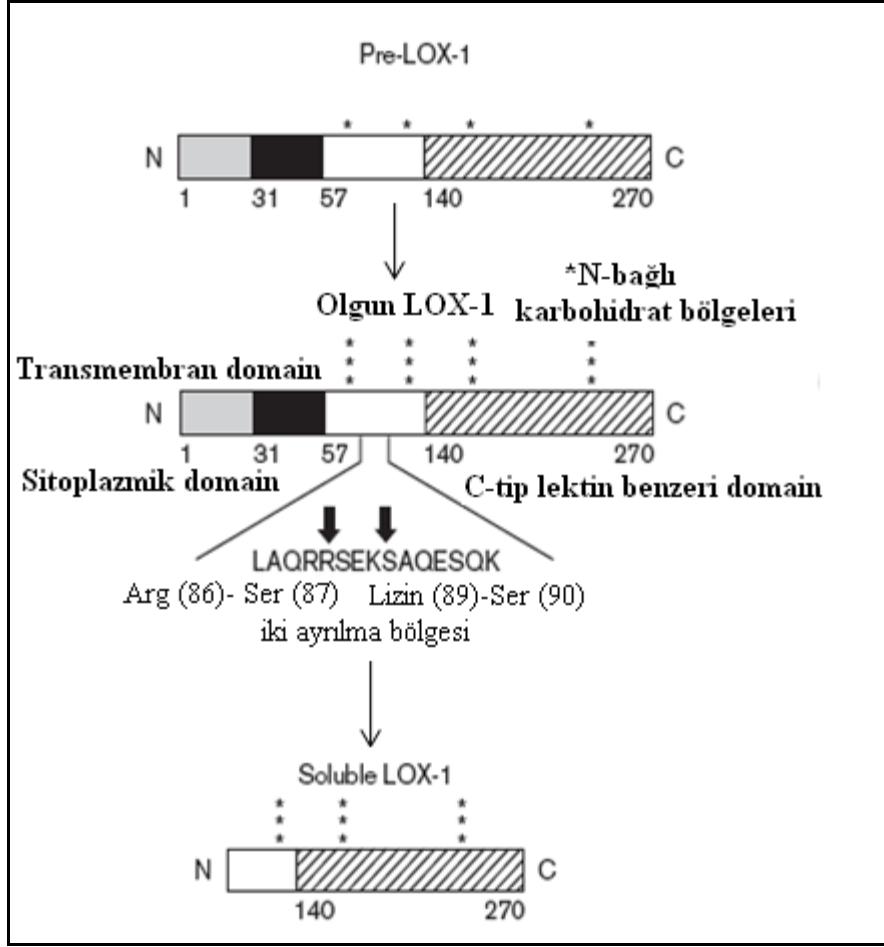
Bu ligandların LOX-1'e bağlanabiliyor olması LOX-1'in çok yönlü fizyolojik fonksiyonlara sahip olduğunun bir göstergesidir (140).

2.3.2. Soluble LOX-1 (OLR1) Protein Sentezi

Murase ve ark. (141) olgun LOX-1 proteinin bilinmeyen bazı proteazlar tarafından ekstraselüler domainin jukstamembran bölgesinden bölerek, dolaşıma sLOX-1 formu olarak salgılandığını belirlediler. Kume ve ark. (142) ise sLOX-1 oluşumunun, kültür ortamına fenilmetilsulfonil florid'in eklenmesi ile inhibe olduğunu ve fenilmetilsulfonil florid ise serin proteazların bir inhibitörü olduğundan, bu işleme katılabileceğini önermektedirler.

Lektin benzeri okside LDL reseptör-1, N-bağlı yüksek mannoz rezidüleri içeren glikoz ile 40 kDa'lük bir prekürsör protein olarak sentezlenmektedir. Daha sonra, daha fazla glikozilenecek ve işlenerek 40 dakika içinde 48 kDa olgun forma dönüşmektedir. N-bağlı şeker zincirleri ko-translasyonel ve post-translasyonel işlemlerden sorumludur. N-bağlı karbonhidrat modifikasyonları LOX-1'in hücre yüzeyine taşınmasını ve okside LDL'nin bağlanma affinitesini etkilemektedir (143). Olgun LOX-1 iki farklı bölgeden bölünerek 35 kDa ağırlığında sLOX-1 protein forma dönüşmektedir. Bu ayrılma bölgeleri Arg (86)- Ser (87) ve Lizin (89)-Ser (90) arasındadır. sLOX-1 oluşumu şekil 2.7'de gösterilmiştir (142).

Koroner kalp hastalarında özellikle AKS'unda serum sLOX-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı bulunmuştur. sLOX-1'in AKS'unu diğer gruplardan yüksek sensitivite ve spesifitede ayırdığı gözlemlenmiştir. Bundan dolayı sLOX-1'in AKS'un erken tanısı için kullanışlı bir marker olabileceği önerilmektedir (144).



Şekil 2.8. sLO X-1 oluşumu (142)

2.3.3. İnsan LOX-1 (OLR1) Geninin Yapısı, Düzenlenişi ve Yapısal Analizi

Okside LDL reseptör-1'in sekuens ve yapısal analizi sonucunda bu reseptörün herhangi bir çöpçül reseptöre benzemediği gözlenmiştir. Aksine CD94 ve natural killer reseptör protein-1 gibi natural killer hücre reseptörlerine önemli derecede benzerlik göstermektedir (145, 132). Yamanaka ve ark. (139) OLR1 geninin natural killer hücrelerle ilişki reseptörleri kodlayan natural killer gen kompleksi içinde yerleşik olduğunu belirlediler. Aoyama ve ark. (145) insan OLR1 geninin analizi sonucunda tek-kopya gen olduğunu ve insan kromozom 12'nin kısa kolu üzerindeki p12.2-p13.2 bölgesinde bulunduğunu saptadılar. İnsan OLR1 geni 7000 baz çifti (bç), 5 intron tarafından ayrılan 6 ekzondan oluşmaktadır. Ekzon-1'den 5' kadar olanlar 102-246 arasındaki bç arasında değişirken, ekzon-6 daha uzun olup 1722 bç'den oluşmaktadır. Ekzon-6 dahil edilmediğinde ortalama ekzon uzunluğu 148 bç olup ortalama ekzon uzunluğu ile uyumludur. İtron büyüklükleri 324 bç'den 6000 bç'ne kadar

değişmektedir. Ekzonlar ve intronlar arasındaki tüm bitişme noktaları, intronlar GT dinükleotidiyle başlar ve AG dinükleotidiyle biter şeklindeki genel kurala uymamaktadır. Birinci ekzon; 5' translasyon olmayan bölge ve sitoplazmik domaini, ikinci ekzon; sitoplazmik domain kalıntısını ve transmembran domaini, üçüncü ekzon; boyun domaini, 4. 5. ve 6. ekzonlar ise lektin-benzeri domain'i ve 3' translasyon olmayan bölgesini kodlamaktadır.

Aoyama ve ark (145) ve Yamanaka ve ark. (139) OLR1 genin 5'-promotör/enhancer bölgesinde, 5'-flanking (çevreleyen) bölgesinin proksimal kısmında TATA ve CAAT kutularını buldular. Bilgisayar temelli analiz sonucunda da, OLR1 geninin çok farklı potansiyel transkripsiyon faktörleri bağlama bölgelerini tanımladılar. Tüm bu çalışmalar, bazal promotör aktivite için 180 bç'lik (nt-150 bç den +30 bç'e kadar) bir proksimal kısmın yeterli olduğunu önermektedirler. Okside LDL ile indüklenen insan OLR1 gen ekspresyonuna ilişkin olarak transkripsiyonel mekanizması "promoter bashing" metodu ile araştırılmış ve okside LDL indüklü OLR1 promotör aktivasyon için nt-1494 ve -1599 nükleotid arasındaki promotör bölgenin olması gerektiği belirlenmiştir (140). Mutasyon analizleri ve elektroforetik hareketlilik kaydırma deneyleri ile bu bölge içindeki oktamer-1 bağlanma bölgesinin okside LDL'ye yanıt olarak ortaya çıkan insan LOX-1 promotör çapraz etkinliğinde önemli bir rol oynadığını gösterdiler (140). Ayrıca AT-II ile uyarılan LOX-1 promotör etkinliği aynı tekniği kullanarak yaptıkları çalışmalarında, OLR1 gen ekspresyonu için güçlü bir uyarıcı olduğunu gözlemladılar. AT-II ile uyarılan LOX-1 promotör çapraz etkinliği için nt-2131 ve -2247 arasında bulunan bölgenin gerekli olduğunu belirlediler (140).

2.3.4. LOX-1 (OLR1) Gen Ekspresyonu ve Düzenlenmesi

Yamanaka ve ark. (139) yaptıkları çalışma sonucunda insan LOX-1 ekspresyon paternlerini ortaya çıkarmışlardır. LOX-1'in *in vivo* olarak plasenta, akciğer, kemik iliği ve spinal korda yüksek düzeyde, hipokampus ve testislerde orta düzeyde, kalp, iskelet kası ve overlerde ise çok az miktarda eksprese olduğunu gözlemlemişlerdir (146). Hücre özgüllüğünde ise LOX-1'in makrofaj, monosit, DKH, endotel hücrelerinde, insan ve rat kültürü kontroditlerinde eksprese olduğu bildirilmiştir (118, 128, 138). Endotel hücrelerde LOX-1 bazal ekspresyonun düzeylerinin *in vitro* olarak çok

düşük olduğu belirlenmiştir. Ancak okside LDL (147) AT-II (120), TNF- α (148) ve shear stres (149) gibi proinflamatuvar, pro-oksidan ve mekanik uyarıcılar tarafından hızlı bir şekilde indüklendiği gözlenmiştir. Tüm bunlar ateroskleroz bölgelerinde ve diğer vasküler hasar formlarında rol oynamaktadır (140).

In vivo koşullarda bazal LOX-1 ekspresyonunun düşük olmasına rağmen, hipertansiyon (126), diyabet (150, 151) ve hiperlipidemi (125) gibi çeşitli patolojik koşullarda arttığını belirlediler. Bu patolojik koşulların birçoğu direk ya da indirek olarak aterogenezis ile ilişkilidir ve bunların varlığı LOX-1 gen ekspresyonu regülasyonu için aditif ya da sinerjik etkiye sahiptir (140). LOX-1 gen ekspresyon regülasyonuna neden olan *in vivo* ve *in vitro* uyarıcılar ile inhibitör faktörler çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1: OLR1 gen ekspresyonunu uyarıcı ve inhibe eden faktörler

<i>In vitro</i> uyarıcılar	<i>In vivo</i> uyarıcılar	İnhibitör faktörler
AT-II	Ateroskleroz	ACE inhibitörleri
C-reaktif protein (CRP)	Hiperlipidemi	Süperoksit dismutaz
Endotelin-1	Hipertansiyon	PPAR γ aktivatörü
Homosistein	Diabetes Mellitus	Statinler
Glukoz;	İskemi-reperfüzyon hasarı	
L-arginin	Transplantasyon	
Histamin		
İnsan sitomegalovirüs		
TNF- α		
TGF- β		
IL-1 α		
IL-1 β		
İnterferon- γ		
ROS		
Forbol ester		
Süperoksit anyonları		
Okside LDL		
Shear stres		

2.3.5. LOX-1 (OLR1) Gen Polimorfizmleri

Tansuguchi ve ark. (14) 2003 yılında ilk kez insan LOX-1 geninde tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlandılar. Belirledikleri bu polimorfizmi 501 pozisyonundaki G→C SNP'in LOX-1 proteinin 167. aminoasitindeki lizinin asparagin (K167N) ile substitusyonu ile sonuçlandığını belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar, MI hastalarındaki 501G/C polimorfizminin sağlıklı bireylere göre daha yüksek frekansa sahip olduğunu gözlemlerler.

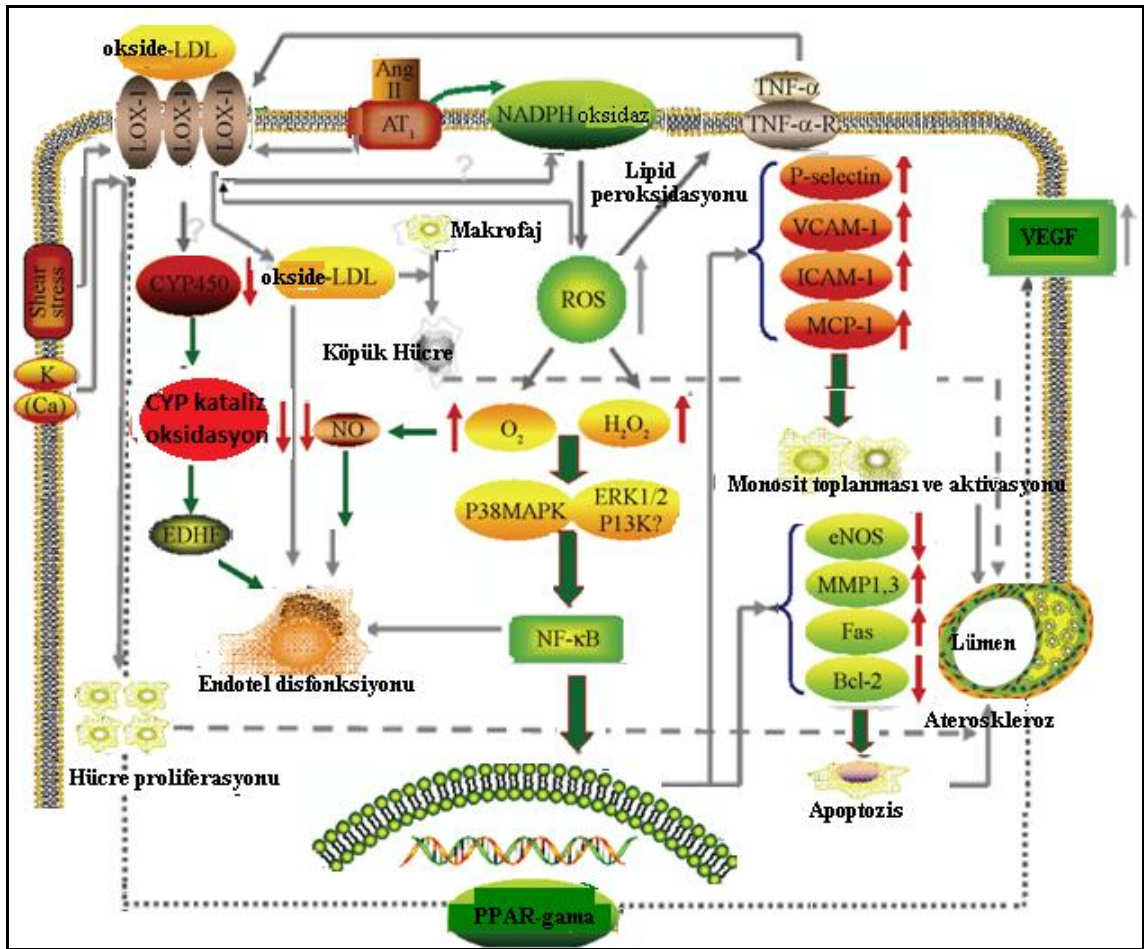
Mango ve ark (19) ise LOX-1 genin 3' UTR bölgesinde C188T adlı başka bir polimorfizmi belirlediler. MI geçirmiş hastalarda bu polimorfizmin belirgin risk oluşturduğunu saptadılar. Aynı grup, 6'sı 4. ve 5. intronlarda ve biri 3' translyasyon olmayan bölgesinde olmak üzere 7 farklı SNP belirlediler.

2.3.6. LOX-1 (OLR1) ve Ateroskleroz İlişkisi

Lektin benzeri okside LDL reseptör-1 keşfedildiğinden beri, fizyolojik ve patolojik önemi yoğun bir şekilde çalışılmıştır. LOX-1 ekspresyonu sadece yapısal değil, aynı zamanda proinflamatuvar, oksidatif ve mekanik uyarıcıların indüksiyonları da çalışıldı (10, 11). Bu çalışmaların sonucunda, upregüle olan LOX-1'in endotel hücrelerinin aktivasyonuna, DKH'lerin transformasyonuna ve makrofajlarda lipit birikimine katıldığı belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda, okside LDL, TNF- α , shear stress, ROS, endotelin-1 (ET-1) ve AT-II'nin LOX-1 ekspresyonunu arttırdığı belirlenmiştir (152). Okside LDL'nin LOX-1'e bağlanması hücre membranındaki NADPH oksidazı aktive etmektedir. Bu da hücre içi süperoksit anyonu (O_2^-) ve H_2O_2 içeren ROS artışı ile sonuçlanmaktadır. Artmış O_2^- 'nin intraselüler NO ile reaksiyonu sonucu NO düzeyleri azalmaktadır. Aktive LOX-1 aynı zamanda sitokrom P450 (CYP450) aktivitesini düşürerek CYP katalizli endotel bağımlı hiperpolarize edici faktörün (EDHF) azalmasına neden olmaktadır. Hücre içi NO ve EDHF'deki azalma endotel hücrelerinin disfonksiyonu ile sonuçlanmaktadır. Artmış ROS p38 mitojen aktive edici protein kinaz (P38MAPK), ekstraselüler sinyal regüle edici kinaz (ERK1/2) ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) yollarının aktivasyonuna ve bunun sonucunda da NF- κ B aktivasyonuna neden olmaktadır. Aktifleşen NF- κ B'de P-selektin, VCAM-1, PCAM-1, ICAM-1 ve MCP-1

ekspresyonunu artırmakta ve monosit aktivasyon ve adezyonu ile sonuçlanmaktadır. Aynı zamanda NF- κ B aktivasyon yoluyla sonucu, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve Bcl-2 ekspresyonu azalırken, matriks metalloproteinaz (MMP)-1,3 ve Fas ekspresyonu artmakta, bu da endotelial hücre apoptozu ve hasarı ile sonuçlanmaktadır. LOX-1 tarafından alınan okside LDL'nin makrofajlar tarafından fagosite edilmesi köpük hücre oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Okside LDL'nin LOX-1'e bağlanması PPAR- γ aktivasyonuna neden olmaktadır, aktif PPAR- γ da vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonunu artırmaktadır. LOX-1 aynı zamanda hücre proliferasyonuna neden olmaktadır (152). Tüm bu süreçler ateroskleroz gelişimini kolaylaştıran hücre hasarı ve apoptozis ile sonuçlanmaktadır. Bu süreçteki LOX-1'in potansiyel rolü şekil 2.9'da özetlenmiştir (152).



Şekil 2.9. LOX-1 sinyal transdüksiyon yolu ve endotel hücrelerinde LOX-1'in potansiyel rolü (152,153)

Ateroskleroz ve LOX-1 arasındaki ilişki altı başlık altında toplanabilir;

1. Okside LDL'nin endositozu: Aterosklerozda okside LDL'nin önemli rol oynadığı bilinmektedir. H_2O_2 , Cu^{+2} , Fe^{+2} , Co^{+2} ya da Mn^{+2} gibi bileşikler tarafından LDL'nin oksidasyonu *in vivo* ve *in vitro* olarak yoğun bir şekilde çalışılmıştır (154, 155, 156, 157). Çalışmalar okside LDL'nin birçok aterojenik olayları indüklediğini ortaya çıkarmıştır. Okside LDL monositler için kemotaktiftir. Okside LDL, monosit kemoatraktanların endotel hücre sekresyonunu ve monosit adezyon molekülerinin ekspresyonunu indüklemektedir. Okside LDL aynı zamanda köpük hücre oluşumunu ilerletmekte ve vasküler düz kas, endotelial hücreler ve makrofajlardan sitokinleri ve çeşitli büyüme faktörlerinin ekspresyonunu ve sekresyonunu artırmaktadır. Bunun yanında okside LDL DKH'in proliferasyonunu ve göçünü indüklemekte, endotel hücre göçünü ve endotel aracılı relaksasyonunu engellemektedir. Endotelial hücreler, DKH ve makrofajların doku faktör ekspresyonunu arttırarak vasküler hücrelerin prokoagülant özelliklerini ilerletmektedir (158). Aynı zamanda okside LDL, CD40/CD40L sinyal yolağını tetikleyerek endotel hücrelerinde inflamatuvar reaksiyona ve ateroskleroz ilişkili özellikleri aktive etmektedir (159). Ayrıca okside LDL metalloproteinaz doku inhibitörlerinden etkilenmeksizin matriks metalloproteinazların salınımına neden olmaktadır (160). Bu AKS'lardaki plak rüptürünün temeli olabilir. Okside LDL'nin sığır endotel hücrelerinde süperoksit anyon üretimini indüklediği (161) ve endotelial NO sentaz aktivitesini azaltarak NO salınımını azalttığı belirlenmiştir (162). Bu etkileri, endotel disfonksiyonunun majör uyarıcısı olan hücre içi oksidatif stres artışı ile sonuçlanmaktadır. Sonuçta, okside LDL hem apoptozisi hem de nekrozu indüklemektedir (163, 164, 165, 166, 167). Okside LDL için birkaç hücre yüzey reseptörleri belirlenmiştir. Okside LDL'nin makrofaj ve DKH'i tarafından alınımına çeşitli çöpçül reseptörler aracılık etmektedir. Bu reseptörler SR-AI/II, CD36, ve SR-BI'dir (12). Ancak bu reseptörlerin endotel hücrelerde olmadığı ya da çok az olduğu bulunmuştur (168). LOX-1, okside LDL için majör reseptör olup, okside LDL'yi kuvvetli bağlama, internalizasyonu ve proteolitik olarak parçalama özelliğine sahip olduğundan okside LDL'nin bu proaterojenik etkilerinin çoğuna aracılık etmektedir (118).

2. LOX-1 ekspresyonu ve aterosklerotik lezyonlarla ko-lokalizasyonu: Aterosklerotik lezyonlar, vasküler lokasyonlarda ve geniş arterlerde oluşmayı tercih

ederler. Tipik olarak plaklar geniş ve orta büyüklükte damarların vasküler çatallanma noktalarında oluşur (169, 170). *In vivo* olarak, LOX-1'in başlıca büyük arterlerde (aortik, karotid, torasik, koroner) ve venlerde yüksek düzeyde eksprese olduğu belirlenmiştir (118, 130). Ayrıca LOX-1, makrofaj, vasküler DKH ve endotel hücrelerinde de yüksek düzeyde eksprese olmaktadır (171, 172, 152). LOX-1 plateletlerde belirlenmiş ve platelet aktivasyon ve trombus oluşumunda önemli rol oynadığı gözlemlenmiştir (122). Bu hücre tipleri ateroskleroz patogenezinde çok önemlidir. Ayrıca, insan ve hayvan aterosklerotik lezyonlarında ve ateroma-derive hücrelerinde LOX-1 ekspresyonu varlığı belirlenmiştir. Ateroskleroz olmayan aortlarda LOX-1 ekspresyonunun olmadığı, aksine erken ateroskleroz lezyonlarındaki karotid arter endotel hücrelerinde LOX-1 ekspresyonu daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ilerlemiş aterosklerotik plakların intimadaki DKH ve makrofajlarında LOX-1 pozitif olduğundan, LOX-1'in aterosklerozun erken safhasında rol oynayabileceği önerilmektedir (13).

3. Aterosklerotik risk faktörleri tarafından LOX-1 ekspresyonunun arttırılması: *In vitro* olarak, LOX-1 ekspresyonunun, kimyasal, inflamatuvar sitokinler, oksidatif stres, ve patolojik koşullar gibi birçok faktör tarafından indüklendiği ya da inhibe olduğu gözlemlenmiştir (154, 13). Proinflamtuvar sitokin olan TNF- α 'nın plak zedelenebilirliği ile ilişkisi bulunmuştur (173, 174). TNF- α 'nın, bovin aortik endotel hücrelerde konsantrasyona-bağımlı tarzda LOX-1 ekspresyonunu arttırdığı ve zaman-planlı (time-course) deneylerde ise LOX-1 mRNA düzeylerinin 2 saatte pik yaptığı ve 21 saat artmış olarak kaldığını gözlenmiştir. Aynı zamanda TNF- α 'nın LOX-1 transkripsiyonunu aktive ettiğini saptanmıştır (148). Renin-anjiyotensin sisteminin aterogenezde önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Renin-anjiyotensinin anjiyotensin-dönüştürücü enzim inhibitörleri tarafından inhibisyonu anti-aterojeniktir. AT-II'nin çoğu etkilerine AT-II tip 1 reseptör aktivasyonunun aracılık ettiği düşünülmektedir. Kültüre karotid arteriyel ve insan umbilikal ven endotel hücrelerinde AT-II'nin belirgin şekilde LOX-1 mRNA protein ekspresyonunu arttırdığı belirlenmiştir. Bu etkinin de AT-II tip 1 antogonisti tarafından engellendiği bildirilmiştir (120, 175). Aynı zamanda AT-II insan DKH'lerinde lipooksijenaz-bağımlı yolak ile LOX-1 ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur. AT-II okside LDL alımını arttırarak, endotel hücre hasarına neden

olmaktadır. Okside LDL'nin AT-dönüştürücü enzim ekspresyonunu LOX-1 aracılığıyla arttırdığı gözlemlenmiştir (176, 177).

4. Kardiyovasküler hastalıklarda artmış LOX-1 proteini: Trombozis genellikle MI ve inmeye neden olmaktadır. Plateletler bu süreçteki olağan başlatıcılardır (178). Plateletlerin okside LDL'yi internalize ettiği ve bunun plateletlerde azalmış eNOS aktivitesi ve platelet agregasyonu ile sonuçlandığı gözlenmiştir (179). Ehara ve ark. (180) plateletlerde az miktarda LOX-1'in eksprese olduğunu belirlediler. Kakatani ve ark. (138) LOX-1 antikorumun ratlardaki arteriyal trombüs oluşumunu azalttığını buldular. Okside LDL aracılı platelet aktivasyon ve tromboziste LOX-1'in yardımcı rolü olduğunu önerdiler.

Lektin benzeri okside LDL reseptör-1'in MI hasarındaki zararlı rolü için bazı kanıtlar gösterilmiştir. Bunlardan birincisi ruptüre-pron segmentlerin aterosklerotik dokularında okside LDL varlığı (180), ikincisi miyokardial iskemi derecesinin oksidatif durum ile karakterizasyonu (180), üçüncüsü bir *in vitro* çalışmada, izole rat kalbinde okside LDL perfüzyonunun miyokardiyal kasılmayı önemli derecede azalttığıdır (181). Hayashida ve ark (144) koroner arter hastalarında serum sLOX-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğunu belirlediler.

5. LOX-1'in ateroskleroz ilişkili etkileri: LOX-1, aterosklerozdaki birçok patofizyolojik etkilere aracılık etmektedir. LOX-1'in hücre adezyon molekülü olarak fonksiyonu platelet-endotel etkileşim aracılıklıdır. LOX-1, aterosklerozu başlatan ve ilerleten endotoksin-indüklü inflamasyona katılmaktadır (182, 183). LOX-1 ayrıca mononükleer lökosit ve monositlerin statik ya da akış koşulları altında yapışmasını desteklemektedir (184). Okside LDL insan koroner arter endotel hücrelerinde E, P-selektin, VCAM-1, ICAM-1, metaloproteinazlar-1, 3, ve 9'ün ekspresyonunu upregüle etmektedir. Bu etkilerini LOX-1 aracılıklı olarak göstermektedir (182, 185, 186).

Apoptosis çeşitli apoptozis-ilişkili proteinler tarafından düzenlenmektedir. Bu proteinler arasında, Bcl-2 anti-ölüm faktör olarak etki etmekte ve mitokondriden sitokrom c ve apopitojenik faktörlerin salınımını engellemektedir (187). Aksine Bax ise mitokondri membran potansiyelini azaltarak sitokrom c salınımını ve kaspaz aktivasyonuna yol açmaktadır. Hem Bcl-2 hem de Bax insan aterosklerozlarında eksprese olmaktadır. Bu faktörlerin aterosklerotik plaklarda apoptotik hücre ölümünü düzenledikleri bilinmektedir (188, 189). Yapılan çalışmalarda, okside LDL'nin LOX-1

tarafından alınması ile Bax'ın indüklendiği ve Bcl-2'nin down regülasyona uğrayarak vasküler DKH'inde apoptozisi indüklediği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, Bax ve LOX-1 ekspresyonunun insan aterosklerotik lezyonlarında ko-lokalize olduğu bulunmuştur. LOX-1'in aterosklerotik lezyonlardaki hücrelerin apoptozisinde rolü olduğu görülmüştür (123).

Vasküler disfonksiyonun ateroskleroz oluşumuna katıldığı bildirilmektedir (190, 191). Uzun zamandan beri okside LDL'nin kan damarlarının vazomotor özellikleri üzerinde direk etkileri olduğu bildirilmiştir. İzole kan damarlarının okside LDL'ye maruz bırakılması vasküler relaksasyonu inhibe etmektedir. Okside LDL'nin kan damarları üzerindeki bu inhibitör etkisi endotel bağımlı ve NO aracılıdır. LOX-1 keşfedilmeden önce, çalışmalar bu etkinin çok yönlü mekanizma içerdiğini önermekteydiler. Bunlar; NO direk inaktivasyonu, salınan NO biyoaktivitesinde azalma, endotel NO sentaz mRNA düzeylerindeki azalma, NO sentaz protein düzeylerinin düşmesi NO üretiminin azalması ile sonuçlanmaktadır (192). Yapılan yeni araştırmalarda aynı zamanda LOX-1'in de katıldığını gözlemlədiler. Xu ve ark. (193) sıçan ateroskleroz modelinde, LOX-1 endoteldeki rolünü araştırdılar. Anti-LOX-1'in sıçanların NO aracılı koroner arteriyoller dilatasyonunu onardığını, ancak kontrollerdeki endotel bağımlı vazodilatasyona etki etmediklerini belirlediler. Okside LDL'nin endotel-bağımlı NO-aracılı koroner arteriyoller vazodilasyonu LOX-1'in katıldığını sinyal kaskat aktivasyonu ile bozduğunu önermektedirler.

6. Antiaterosklerotik ilaçların etkileri: Ateroskleroz lezyonlarındaki LOX-1 ekspresyonunun anti-aterosklerotik ilaçlar tarafından azaltılması ya da inhibe edilmesi vasküler hasarı düzeltmeye yol açmaktadır. 3-OH-3-metilglutaril koenzim A redüktaz inhibitörleri gibi bazı anti-aterosklerotik ilaçlar ateroskleroz-ilişkili faktörlerin indüklediği LOX-1 upregülasyonunu inhibe etmektedirler. Statinler okside LDL aracılı LOX-1 ekspresyonunu, okside LDL alımını, adhezyon molekül ekspresyonunu ve eNOS down-regülasyonunu inhibe etmektedir. LOX-1 ekspresyonunun inhibisyonu vasküler hastalıklarda statinlerin yararlı etkilerinden bir tanesi olabilir (194, 195, 196). Pravastatinin, kültüre insan makrofaj ve aort DKH'lerinde LOX-1 ekspresyonunu down-regüle ettiği belirlenmiştir (197).

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 (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)
- HDL Kolesterol (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

- Trigliserit (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)
- Açlık Kan Şekeri (Roche Diagnostics Mannheim, GmbH, Almanya)
- CRP (Roche Diagnostics Mannheim, GmbH, Almanya)
- sLOX-1 (Cat. No: E1859hu, insan sLOX-1 ELİSA kit, Uscn Life Science Inc., Wuhan, Çin)
- Okside LDL (Cat no:K7810, insan Ox-LDL ELİSA kit, Immunodiagnostik AG, Bensheim, Almanya)
- High Pure PCR Template Kit (Cat. No. 1 796 828, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Almanya)

3.2. Kullanılan Ayraçlar

3.2.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Ayraçların Hazırlanması

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

Çizelge 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan kit 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) 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 eklenerek hazırlanmıştır.

Yıkama tamponu: 20 mL yıkama tamponunun üzerine 80 mL mutlak etil alkol eklenerek hazırlanmıştır.

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

3.3. Çalışma Grubu ve Örnek Alımı

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi (Hastanesi) Kardiyoloji ve Kalp Damar Cerrahisi polikliniklerine göğüs ağrısı ile başvuran ve koroner anjiyografi ile koroner arterlerinde %70 ve fazlası darlığı olan, yaşları 34 ile 87 arasında değişen 28'i kadın, 72'si erkek olmak üzere toplam 100 koroner arter hastası ve koroner anjiyografi sonucu normal koroner tespit edilen yaşları 20 ile 82 arasında değişen 59'ü kadın, 39'ü erkek olmak üzere toplam 98 kişi kontrol olarak çalışmamıza dahil edilmiştir. Çalışma Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulun 28.10.2008 ve 8/85 nolu kararınca onaylanmış, çalışmaya katılan tüm bireyler çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onanmaları alınmıştır.

Çalışmaya katılan hasta ve kontrol grubundaki bireylerin yaşları, cinsiyetleri, boyu, kilosu, sigara, alkol, aile öyküsü ve ilaç kullanımı ile ilgili bilgileri kaydedildi. Hastalar ateroskleroz risk faktörleri açısından sorgulandı. Diyabet öyküsü olan, insülin veya oral anti-diyabetik ajan kullanan, ya da daha önce bu ajanları kullanmış olup, şu an diyetle kontrol altında olan hastalar veya özgeçmişinde diyabeti olmayıp ardışık birden fazla ölçümde açlık kan şekeri (AKŞ) ≥ 126 mg/dl olan hastalar diyabet hastası olarak değerlendirildi. Özgeçmişlerinde hipertansiyon öyküsü olan, anti-hipertansif ilaç alan hastalar veya özgeçmişinde hipertansiyon öyküsü olmayıp, ardışık yapılan üç ölçüm sonrasında tansiyon değeri 140/90 mmHg'nın üzerinde olan hastalar hipertansiyon hastası olarak değerlendirildi.

Çalışma grubunu oluşturan KAH ve kontrol grubundan etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içerikli tüplere tam kanları ve serumları ayrılmak üzere içeriksiz biyokimya tüplerine periferik venöz kanları alınmıştır.

Hasta ve kontrollerin OLR1 (LOX-1) G501C gen polimorfizmi saptamak için alınan tam kanları DNA izolasyonu için çalışma gününe kadar +4 °C’de saklanmıştır. Lipid profili, AKŞ ve CRP düzeyleri için periferik venöz kanları içeriksiz biyokimya tüplerine alınmış ve takiben 10 dakika sonra 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmış ve Cobas 501 otoanalizöründe çalışılmıştır. Serum okside LDL ve sLOX-1 düzeyleri çalışması için içeriksiz tüplere alınan venöz kan örnekleri 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrılmış ve çalışma gününe kadar -80 °C’de saklanmıştır.

3.4. Yöntemler

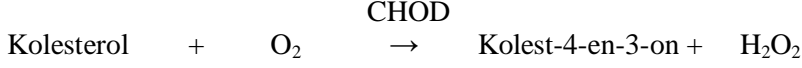
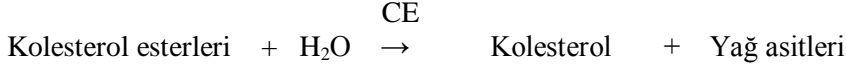
3.4.1. Koroner Anjiyoplasti

Koroner anjiyoplasti standart Judkin tekniği kullanılarak femoral girişimle gerçekleştirilmiştir. Koroner anjiyoplasti 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 anjiyoplasti 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

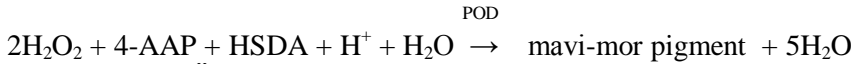
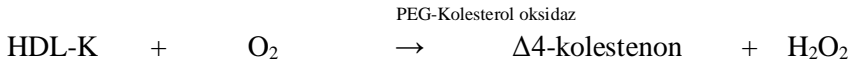
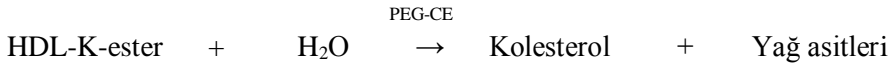
a) Total Kolesterol Ölçümü: Total kolesterol (TK) düzeyleri enzimatik kolorimetrik metod (CHOD/PAP) ile çalışılmıştır. Yöntemde prensip, kolesterol esterlerinin kolesterol esteraz (CE) enzimi ile açığa çıkan serbest kolesterolün, kolesterol oksidaz varlığında hidrojen peroksida (H_2O_2) oksidasyonu ve 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 kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi



b) HDL Kolesterol Ölçümü: HDL-Kolesterol (HDL-K) ölçümünde homojen enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılmıştır. 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 absorpsiyonu spektrofotometrik olarak belirlenir.

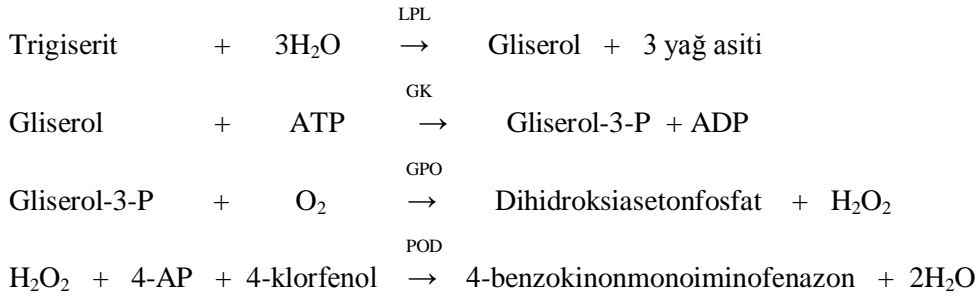
Eşitlik 3.2. HDL-Kolesterol ölçümünde yer alan tepkime denklemi



c) Trigliserit Ölçümü: Trigliserit (TG) düzeyleri enzimatik kolorimetrik (gliserolfosfat oksidaz-peroksidaz) yöntem ile ölçülmüştür. 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 TG konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Eşitlik 3.3).

Eşitlik 3.3. Trigliserit ölçümünde yer alan tepkime denklemleri



d) LDL ve VLDL Ölçümü

LDL ve VLDL düzeyleri oransal olarak Friedwald (98) eşitliğine göre hesaplanmıştır (Eşitlik 3.4).

Eşitlik 3.4. Friedwald Eşitliği

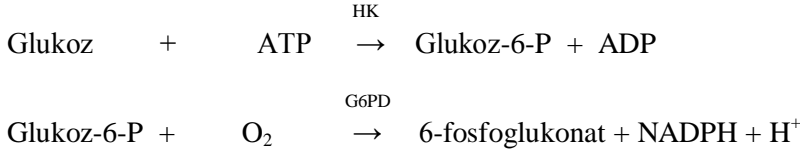
$$VLDL = \frac{\text{Trigliserit}}{5}$$

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

3.4.3. Açlık Kan Şekeri Ölçümü

Açlık kan şekeri düzeyleri enzimatik heksokinaz metodu ile çalışılmıştır. 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 denklemleri



3.4.4. C-Reaktif Protein Ölçümü

Serum CRP düzeyleri partikülle güçlendirilmiş immünotürbidimetrik yöntemle CRP LX (Roche Diagnostics GmpH Mannheim, Germany) kiti kullanılarak Cobas İntegra 800 (Roche Diagnostics, Germany) biyokimya otoanalizöründe analiz edildi. Yöntemin prensibi, latex partikülleri ile birlikte olan insan kaynaklı CRP'nin monoklonal anti-CRP antikorları ile kaplanması ve oluşan presipitatın türbidimetrik olarak 552 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır.

3.4.5. Serum Okside LDL Düzeyinin Belirlenmesi

Serum okside LDL düzeyleri kantitatif sandviç enzim bağlı immünoassay (ELİSA) yöntemi ile çalışılmış olup yöntemin prensibinde ELİSA plak kuyucukları insan okside LDL'sine karşı geliştirilmiş spesifik bir antikor ile kaplanmıştır. Standartlar veya örneklerin ELİSA kuyucuklarına eklenmesi ile ortamda bulunan okside LDL molekülleri antikorlara bağlanır. Yıkama ile örnekte bağlanmayan komponentler uzaklaştırılır. Peroksidaz bağlı konjugat antikor eklenir. Ortama peroksidazın substratı olan Tetrametilbenzidin (TMB) eklenir. Son basamakta kuyucuklara eklenen stop çözeltisi ile reaksiyon durdurulur. Örneklerdeki okside LDL konsantrasyonu ile oluşan sarı renk ile doğru orantılıdır. Bu renk 450 nm'de ölçülürerek absorbans elde edilir. Daha sonra standart eğri kullanılarak konsantrasyon hesaplanır.

Kullanılan araç, gereç ve çözeltiler

- ✓ Okside LDL antikorları ile kaplanmış plak (8x12=96 kuyucuk)
- ✓ Standart ve kontroller (liyofilize)
- ✓ Örnek dilüsyon tamponu
- ✓ Konjugat
- ✓ TMB substrat
- ✓ Yıkama çözeltisi (30 kat konsantre)

✓ Stop solüsyonu

Standart çözeltilerinin hazırlanması: Liyofilize halde olan 0, 9, 27, 80 ve 250 ng/mL standartlar 500 µL distile suda çözülerek hazırlandı. Kontroller de 500 µL distile suda çözülerek hazırlandı.

Konjugat hazırlanması: 100 kat konsantre olarak verilen konjugattan 100 µL alınıp üzerine 10 mL yıkama solüsyonu ile seyreltildi.

Yıkama çözeltisi ve yıkama prosedürü: 10 kat konsantre yıkama çözeltisinden 100 mL alınıp üzerine 900 mL distile su eklenerek hazırlandı. Her bir yıkama basamağında otomatik yıkayıcı (otomatik ELİSA yıkayıcısı) kuyucuğa 400 µL yıkama çözeltisi pipetleyecek şekilde ayarlandı ve kuyucuklar her yıkama basamağında 3 kez yıkandı.

Çalışma prosedürü;

- Her bir kuyucuk, otomatik ELİSA yıkayıcısı ile 250 µL yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
- ELİSA plak kuyucuklarına standart, kontrol, kör ve örneklerden 100 µL eklendi. Üzeri kapatıldı ve oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi.
- Otomatik ELİSA yıkayıcısı ile 250 µL yıkama tamponu ile tekrar 5 kez yıkandı
- 100 µL dilüe konjugat pipetlenip oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi.
- Otomatik ELİSA yıkayıcısı ile 250 µL yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
- 100 µL substrat kuyucuklara pipetlenip oda sıcaklığında 15-20 dakika inkübe edildi.
- 50 µL stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu.
- 450 nm'de absorbanslar ELİSA plak okuyucusunda okundu. Konsantrasyonlar standart eğriden hesaplandı.

3.4.6. Serum sLOX-1 Düzeylerinin Belirlenmesi

Serum sLOX-1 düzeyleri kantitatif sandviç ELİSA yöntemi ile çalışılmış olup yöntemin prensibinde ELİSA plak kuyucukları insan LOX-1'e karşı geliştirilmiş spesifik bir antikor ile kaplanmıştır. Standartlar ya da örneklerin plak kuyucuklarına eklenmesi ile ortamda bulunan LOX-1 molekülleri sabit faza yapışık antikorlarca tutulurlar. Daha sonra tutulan molekülleri LOX-1'e karşı spesifik poliklonal antikor olan bir biyotinle işaretlenmiş konjugatla tekrar bağlanır ve sandviç yapısı oluşur. Avidin ile

işaretli peroksidaz enzimi biyotinle işaretli konjugatlara bağlanır. Ortama peroksidazın substratı olan TMB'nin eklenmesiyle oluşan reaksiyon sonucunda, örnek içindeki sLOX-1 konsantrasyonu ile doğru orantılı yoğunlukta kuyucuklarda mavi renk oluşur. Son basamakta kuyucuklara eklenen stop çözeltisi ortam pH'ını düşürerek peroksidazın katalizlediği reaksiyonu durdurur, aynı zamanda kuyucuk içindeki çözeltinin rengini de maviden sarıya dönüştürür. Oluşan bu rengin yoğunluğu 450 nm de ölçülür. Daha sonra standart eğri kullanılarak konsantrasyon hesaplanır.

Kullanılan araç, gereç ve çözeltiler

- ✓ LOX-1 antikorları ile kaplanmış plak (8x12=96 kuyucuk)
- ✓ Standart (liyofilize)
- ✓ Standart dilüsyon tamponu
- ✓ Deteksiyon reaktifi A
- ✓ Deteksiyon reaktifi B
- ✓ Assay Diluent A (2 kat konsantre)
- ✓ Assay Diluent B (2 kat konsantre)
- ✓ TMB substrat
- ✓ Stop solüsyon
- ✓ Yıkama çözeltisi (30 kat konsantre)

Standart çözeltilerinin hazırlanması: Liyofilize halde olan standart standart dilüsyon tamponundan 1mL eklenerek 600 pg/mL'lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Stok standart çözeltilerinden seri dilüsyonlar yapılarak 7 farklı derişimde standart çözeltileri hazırlandı. Bunlar; 300, 150, 75, 37.5, 18.75 ve 9.38 pg/mL'lik derişimde standart çözeltilerdir. Son tüpe sadece standart dilüsyon tamponu koyuldu ve 0 pg/mL olarak işaretlendi.

Assay dilüent A ve B'nin hazırlanması: 2 kat konsantre olarak verilen assay dilüentlerden 6 mL alınıp üzerine 6 mL distile tamponu ile seyreltildi.

Deteksiyon reaktifi A ve B'nin hazırlanması: Deteksiyon reaktifi A ve B, assay dilüent A ve B ile 1/100 dilüe edilerek hazırlandı.

Yıkama çözeltisi ve yıkama prosedürü: 30 kat konsantre yıkama çözeltisinden 20 mL alınıp üzerine 580 mL distile su eklenerek hazırlandı. Her bir yıkama basamağında otomatik yıkayıcı (otomatik ELISA yıkayıcısı) kuyucuğa 400 µL yıkama çözeltisi pipetleyecek şekilde ayarlandı ve kuyucuklar her yıkama basamağında 3 kez yıkandı.

Çalışma prosedürü

- a. Her bir kuyucuğa, 100 µL standart, kör ve örnekler eklendi. Üzeri kapatıldı ve 37 °C'de 2 saat inkübe edildi.
- b. Yıkama yapılmadan tüm kuyucuklar boşaltıldı.
- c. 100 uL deteksiyon reaktifi A eklendi 37 °C'de 1 saat inkübe edildi ve yıkandı.
- d. 100 µL deteksiyon reaktifi B çözeltisinden pipetlenip 37 °C'de 1 saat inkübe edildi ve yıkandı.
- e. 90 µL substrat kuyucuklara pipetlenip 37 °C'de 25 dakika inkübe edildi.
- f. 50 µL stop çözeltisi kuyucuklara pipetlendi.
- g. 450 nm'de absorbanslar ELİSA plak okuyucusunda okundu. Konsantrasyonlar standart eğriden hesaplandı.

3.4.7. LOX-1 (OLR1) G501C Gen Polimorfizmin Belirlemesi

3.4.7.1. DNA İzolasyonu

a) Prensipte; Hücreler, tüm nükleazları hemen inhibe eden bir kaotropik tuz (guanidin HCl) varlığında proteinaz K ile kısa bir inkübasyon sonunda parçalanır. Hücresel nükleik asitler purifikasyon 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;

- ✓ 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.
- ✓ Tüpler 10 dakika 72 °C'de inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyonun ardından 100 µL izopropanol eklenir, iyice karıştırılır ve karışım filtre tüpüne aktarıldı.
- ✓ Bir dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi.

- ✓ Toplama tüpü değiştirildi ve tüpe 500 µL inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklendi. 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi ve toplama tüpü tekrar değiştirildi.
- ✓ Ardından tüpe 500 µL yıkama tamponu eklendi ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi. Toplama tüpü değiştirildi.
- ✓ Bu yıkama işlemi bir kez daha tekrar edilerek, toplama tüpü değiştirildi.
- ✓ Tüpe herhangi bir çözelti eklenmeden 10 saniye 13.000 rpm'de tekrar santrifüj edildi.
- ✓ 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.

3.4.7.2. 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 OLR1 varyant G501C için bir set primer kullanılmıştır.

OLR1 Primer ve Prob Dizaynı: Okside LDL Reseptör-1 genotiplenmesi için primer ve prob dizileri çizelge 3.2'de verilmiştir. Primerler G501C varyantın yer aldığı 198 bç'lik ampikon eldesi için kullanılmıştır. G501C mutasyonunun belirlenmesi için çapa prob ve belirleme probu kullanılmıştır.

Belirleme probu 198 bç'lik ampikonda G alleli ile komplementerdir. Probun 5'ucu LCRed 640 ile işaretlenmiş, (Taq polimeraz tarafından olası uzamanın engellenmesi için) 3' ucu fosforile edilmiş 23-mer oligonükleotid dizisidir.

Çapa probu belirleme probundan iki baz uzaklıktaki bölgeye komplementer 3' ucu floresanlanmış 25-mer oligonükleotiddir. Şekil.3.1'de 198 bç ampikona primer ve propların bağlanması gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Primer ve problemlerin amplikona bağlanma bölgeleri

Çizelge 3.2. OLR1 G501C genotipleme için kullanılan primer ve prob dizileri

Primer ve Problar	Primer ve Prob Dizileri
Forward Primer	5'_CACAAACATAACTGACTGATGA_3'
Reverse Primer	5'_ACTCACCAGATCAGCTGTGCTA_3'
Belirleme Probu	5'_TTTAACTGGGAAAACAGCCAAGA--FL_3'
Çapa Prob	5'_LC-AGTGCCTTGTCTTTGGATGCCAAGTT--PH_3'

3.4.7.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

İnsan genomik DNA'sından elde edilen spesifik primerlerle hedef gen bölgesinden uygun baz çifti uzunluğunda gen fragmanı amplifiye edilir. Amplikon özel bir çift hibridizasyon probu aracılığı ile işaretlenir. Hibridizasyon problemleri, polimeraz zincir tepkimesinin (PZR) yapışma fazı esnasında amplifiye fragmanın iç dizilerine bağlanan iki farklı oligonükleotidden oluşur. Problemlerden biri 5' ucundan LightCycler-Red ile işaretli, 3' ucundan ise fosforile edilmiştir. Diğeri ise 3' ucundan floresanlanmıştır. Problemler dizi üzerinde birbirlerinden en fazla iki baz uzak olarak yerleşirler. İki floresan birbirine oldukça yakın konumlanırlar (maksimum 2 baz) ve aralarında, cihaz ışık kaynağı tarafından uyarılması ile floresan rezonans enerji transferi (FRET) gerçekleşir. Bu işlemde ışık kaynağından gelen uyarı Floresan probu uyarır ve oluşan rezonans enerjisi LightCycler-Red'i uyarır. Emilen floresan LightCycler cihazı tarafından ölçülür.

3.4.7.4. PZR Koşulları

Okside LDL Reseptör-1 G501C mutasyon analizi için kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları çizelge 3.3'de, G501C polimorfizm analizi için PZR koşulları çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. OLR1 G501C polimorfizm analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları.

İçerik	Konsantrasyon	Miktar
Forward primer	0,5 µM	2 µL
Reverse primer	0,5 µM	2 µL
Çapa prob	0,3 µM	2 µL
Belirleme probu	0,3 µM	2 µL
Hibridizasyon tamponu 10X*		2 µL
MgCl ₂	3 mM**	1,6 µL
Örnek DNA	50 ng	3 µL
Distile Su		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. OLR1 G501C polimorfizm analizi için PZR koşulları

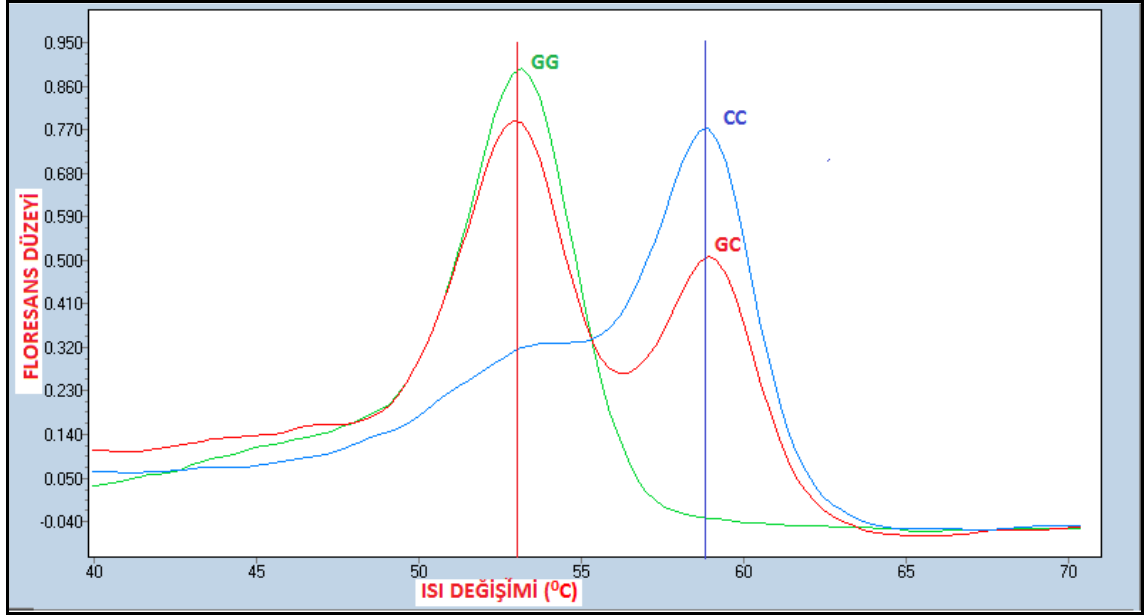
PZR aşamaları	Hedef ısı (°C)	Bekleme süresi (sn)	Isı geçiş oranı (°C/sn)	Floresan okuma	
Denatürasyon	95	10	4,4	Yok	
Amplifikasyon (45 Döngü)	Denatürasyon	95	10	4,4	Yok
	Yapışma	57	20	2,2	Tek
	Uzama	72	10	20	Yok
Melting Curve	Dinlenme 1	95	30	4,4	Yok
	Dinlenme 2	40	0	0,1	Yok
	Okuma	80	0	0,14	Sürekli
Soğuma	40	30	2,2	Yok	

3.4.7.5. Genotip Belirlenmesi (Melting Curve Analizi)

Genotip belirlemede hibridizasyon problemleri kullanılır ve problemlerin erime ısıları farkından faydalanılarak yapılır. Problemlerden birisi (belirleme prob) mutasyonlu yöreye bağlanır. Diğer prob ise belirleme probdan en fazla iki baz uzaklıkta aynı dizinin devamına bağlanır. Mutasyonlu ve doğal tip dizi arasındaki baz farkı bağlanan problemlerin artan ısı ile birlikte farklı zamanlarda ayrılmalarına neden olur. Melting Curve analizi bu farktan faydalanarak doğal ve mutant tipleri birbirinden ayırır.

Ayrılma işleminde yani Melting Curve analizinde ısı belirli bir alt seviyeden (genellikle 40 °C) belirli bir üst seviyeye (genellikle 75-85 °C) kadar saniyede yaklaşık 0,1 °C artar. Problemler bağlı buldukları diziden ayrıldıklarında iki prob arasındaki FRET kesilir ve sinyal üretimi olmaz.

Çalışmada genotipik görüntülemesi yapılan G501C mutasyonunun Melting Curve analiz görüntüleri ve değerlendirmeleri şekil 3.1’de verilmiştir. Şekil 3.1’de G501C varyantlarının erime ısıları verilmiş olup GG genotipi için erime ısı (T_M) 53.0 °C, GC genotipi için ise 53.0 ve 59 °C ve CC genotipi için ise 59 °C’dir.



Şekil 3.1. OLR1 G501C’ye ait Melting Curve analizi

3.5. İstatistiksel Yöntemler

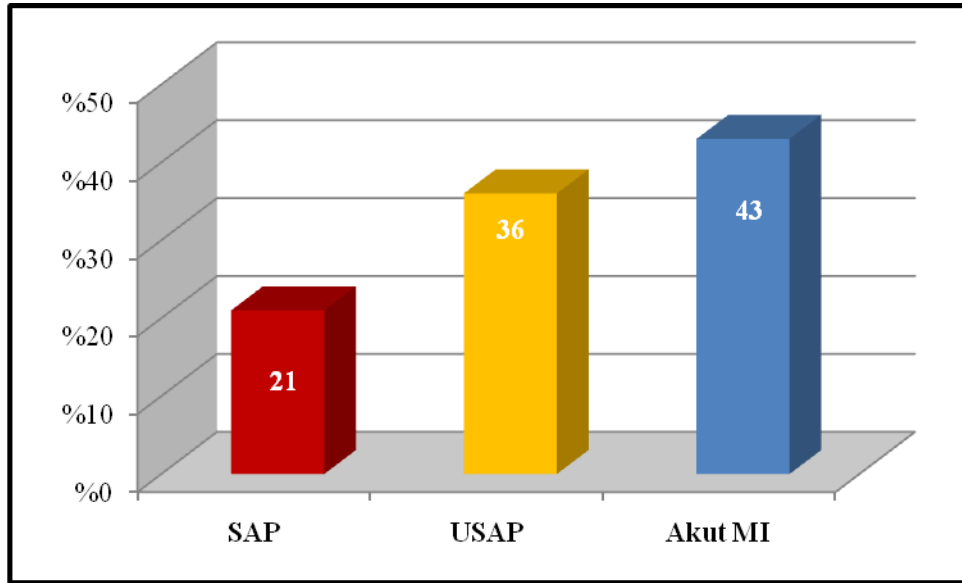
Çalışmanın örnek genişliği PASS power programının istatistiksel analiz sonucuna göre, 0.05 yanılma payı ve %80 güç ile her bir gruptan toplam en az 90 denek yeterli olacağını belirledikten sonra çalışma dizayn edildi. İstatistiksel analizler için SPSS 17 (Statistical Package for Social Sciences version) paket programı kullanılmıştır. AKŞ, CRP, T-Kol, HDL-K, LDL-K, VLDL, VKI (vücut kitle indeksi), sLOX-1, okside LDL 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. TG, VLDL-K, AKŞ, CRP, sLOX-1 ve okside LDL değerlerinin ise normal dağılım göstermediği bulunmuştur. Bu sonuçlara TK, HDL-K, LDL-K, VKI ve yaş değerleri bakımından çalışma grubu ve kontrol grubunun karşılaştırılması için bağımsız iki grup karşılaştırma testlerinden Independent sample t testi, TG, AKŞ, CRP, sLOX-1 ve okside LDL değerleri için bağımsız iki grup karşılaştırma testlerinden

Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Hastaların TK, HDL-K, LDL-K, VKI ve yaş değerleri ortalama±standart sapma cinsinden belirtilmiş olup, normal dağılmayanlar AKŞ, CRP, TG, serum sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri ise medyan cinsinden verilmiştir. sLOX ve okside LDL arasındaki korelasyon için Pearson korelasyon analizi uygulandı. KAH grubun tıkalı damar sayılarına göre sLOX-1 ve okside-LDL arasındaki karşılaştırılma için çoklu grup karşılaştırma testlerinden One-Way ANOVA testi uygulanmıştır. Allellerin genotiplere dağılımı ve bu dağılımın beklenen değerlerle uyumunun (Hardy-Weinberg dengesi) incelenmesinde Ki-kare testi uygulanmış ve Court lab HW calculator Exel programı kullanılmıştır. Genotiplerin olası riskleri binary lojistik regresyon analiz modeli kullanılarak belirlenmiştir. Genotiplerin diğer parametrelerle karşılaştırılması için Ki-kare testi kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar için $p<0.05$ anlamlılık değeri olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Bireylerin Tanımlayıcı Bilgileri

Çalışma grubumuzu, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi (Hastanesi) Kardiyoloji ve Kalp Damar Cerrahisi polikliniklerine 2008-2010 yılları arasında göğüs ağrısı ile başvurmuş 87'si kadın, 111'i erkek olmak üzere toplam 198 birey oluşturmuştur. Koroner anjiyografi ile majör epikardiyal damarlarda veya dallarında çapa göre en az \geq %70 darlık tespit edilen 100 kişi hasta grubu olarak, normal koroner arter tespit edilen 98 kişi ise kontrol grubu olarak belirlendi. Koroner arter hastalarının tanılarına göre dağılımları şekil 4.1'de verilmiş olup bunlardan 21'i stabil anjina pektoris (SAP), 36'sı unstabil anjina pektoris (USAP) ve 43'üne akut MI tanısı almıştır.



Şekil 4.1 KAH'ların tanılarına göre dağılımları

SAP; Stabil anjina pektoris, USAP; Unstabil anjina pektoris, MI; Miyokard İnfarktüsü

Kontrol ve KAH gruplarında risk faktörlerinin dağılımı ve tanımlayıcı bilgileri ise çizelge 4.1'te verilmiştir. KAH grubunun yaşları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.01$). KAH grubundaki erkek hasta sayısı kontrol grubuna oranla yüksek olarak belirlenmiş, erkeklerin

kadınlara göre KAH açısından 4.7 kat riskli olduğu saptanmıştır (p=0.000). Sigara kullanımının 2.84 (p=0.001), hipertansiyonun 2.38 (p=0.009) ve diyabet varlığının ise 2.55 kat (p=0.012) KAH oluşturması açısından risk taşıdığı belirlenmiştir.

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

		Kontrol Grubu	KAH Grubu	Relatif Risk (Odd's Oranı)	Güven Aralığı (%95)	P değeri
Yaş		56.66 ± 13.7	61.33±11.44			0.010
VKI [#]		28.07 ± 3.71	27.75 ± 3.48			0.535
Cinsiyet N(%)	Kadın	59 (60.2)	28 (28)	-----		0.000
	Erkek	39 (39.8)	72 (72)	4.747	2.42-9.312	
Diyabet (Tip 2) N(%)	Yok	75 (76.5)	68 (68)	-----		0.012
	Var	23 (23.5)	32 (32)	2.557	1.226-5.33	
Hipertansiyon N(%)	Yok	61 (62.2)	47 (47)	-----		0.009
	Var	37 (37.8)	53 (53)	2.382	1.238-4.58	
Sigara kullanımı N(%)	Yok	78 (79.6)	58 (58)	-----		0.001
	Var	20 (20.4)	42 (42)	2.824	1.502-5.312	
Aile Öyküsü N(%)	Yok	71 (72.6)	68 (68)	-----		0.855
	Var	27 (27.4)	32 (32)	0.938	0.473-1.86	
Alkol kullanımı N(%)	Yok	98 (100)	100 (100)			
	Var	----	----			
MI Öyküsü N(%)	Yok	----	81 (81)			
	Var	----	18 (18)			
Tıkalı damar sayısı N(%)	0	98	----			
	1	----	30 (30)			
	2	----	31 (31)			
	3 ve üstü	----	39 (39)			

[#]VKI: vücut kitle indeksi (kg/m²)

Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma, kategorik veriler n (%) olarak verilmiştir.

N: örnek sayısı

p: gruplar arası anlamlılık derecesi

Koronar arter hastalarının yaşam standartlarının artırılması ve olası MI riskinin azaltılması için hastalara hekimler tarafından önerilen dozlarda kan kolesterol düzeyleri, kan basınçları, trombotik ve iskemik durumları düzenlemek amaçlı ilaçlar kullanmışlardır. Çizelge 4.2’de çalışma grubunu oluşturan tüm KAH grubunun kullandığı ilaçlar ve dağılımları verilmiştir.

Çizelge 4.2. Çalışma grubunu oluşturan tüm hastaların kullandığı ilaçlar ve dağılımları

Kullanılan İlaçlar	İlaç Kullanımı		Sıklığı (%)
	VAR (N)	YOK (N)	
Statinler	30	70	30
Anti-Hipertansif	53	47	53
Anti-Diyabetikler	32	68	32
Anti-Trombotikler	18	82	18
Anti-İskemikler	21	79	21

N: örnek sayısı

4.2. Kontrol ve KAH Gruplarına Ait Biyokimyasal Parametreler

Kontrol ve KAH grubunu oluşturan tüm bireylerin serum AKŞ, lipid profilleri, sLOX-1 ve okside LDL düzeylerine ait değerler çizelge 4.3’de verilmiştir. Serum sLOX-1, okside LDL ve CRP ve AKŞ düzeyleri KAH grubunda kontrol grubuna oranla yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$). 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 bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Çizelge 4.3. Kontrol ve KAH grublarına ait lipit profilleri, AKŞ, serum sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri

	Kontrol Grubu	KAH Grubu	P değeri
TK†	174.20 ± 45.99	170.92 ± 45.32	0.615
HDL-K†	41.10 ± 10.52	38.95 ± 13.07	0.205
LDL-K†	101.78 ± 33.65	117.12 ± 36.90	0.693
VLDL-K†	28.59 ± 12.94	30.21 ± 15.79	0.434
Açlık Kan Şekeri*	92.06	100.6	0.003
CRP*	3.37	9.86	0.000
Trigliserit*	125.8	127.9	0.755
Okside LDL*	34.90	54.92	0.000
sLOX-1*	23.65	81.72	0.000

† Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma olarak verilmiş olup konsantrasyon birimleri mg/dL'dir

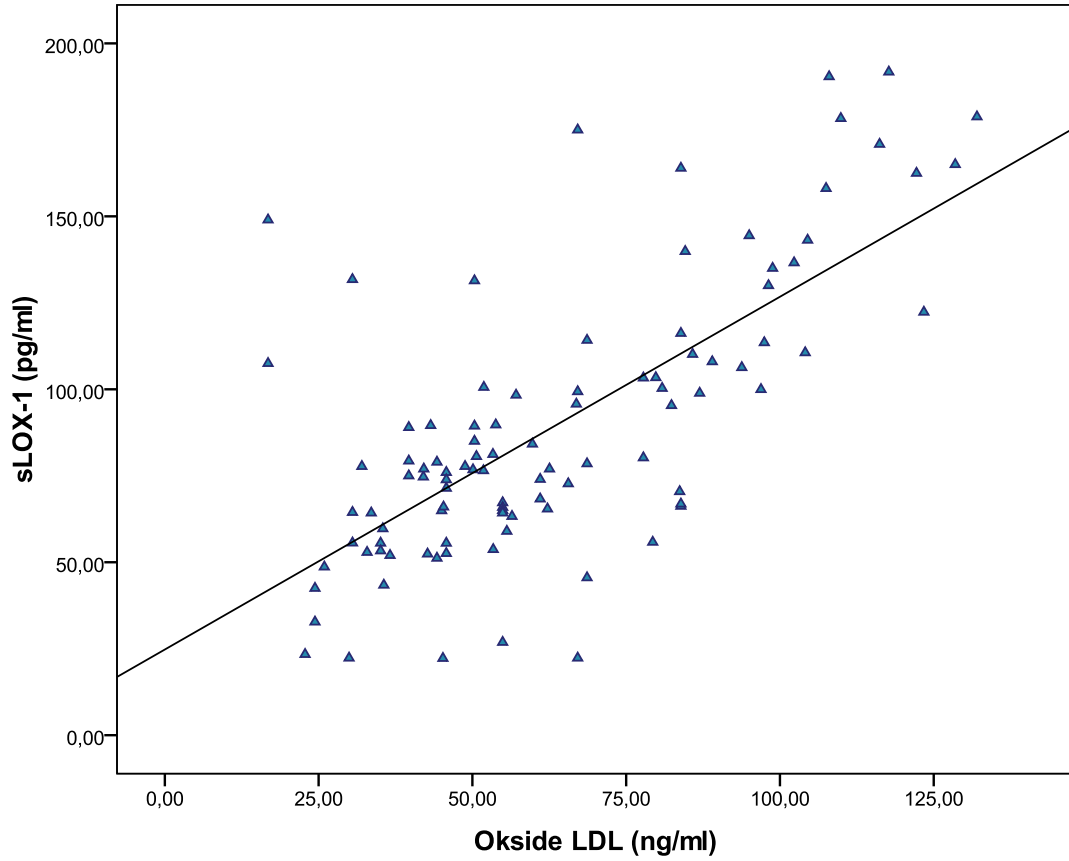
* Değişkenlik katsayıları % 20'den fazla olan parametreler medyan değerleri ile değerlendirilmiştir.

p: gruplar arası anlamlılık derecesi

4.3. Kontrol ve KAH Grubunun sLOX-1 ve Okside LDL Düzeylerinin

Korelasyonu

Kontrol ve KAH grupların sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri arasındaki korelasyon Pearson korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda kontrol grubunda sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon bulunmaz iken ($r=0.023$, $p= 0.819$), aksine KAH grubunda sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri arasında güçlü bir pozitif korelasyon belirlenmiştir ($r=0.797$, $p=0.000$). Artmış okside LDL düzeylerine karşılık sLOX-1 düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır. KAH grubuna ait sLOX-1 ve okside LDL arasındaki korelasyon grafiği şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. KAH grubuna ait sLOX-1 ve okside LDL arasındaki korelasyon

4.4. KAH Grubunda Statin Kullanımının sLOX-1 Düzeylerinin Üzerine Etkisi

KAH grubunu statin kullanan ve kullanmayan olarak iki alt gruba ayırdıktan sonra sLOX-1 düzeyleri iki bağımsız değişken Independent sample t testi ile karşılaştırılmıştır. Analiz sonucunda statin kullanan ve kullanmayan hastaların sLOX-1 düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. KAH'ların statin kullanımının sLOX-1 düzeylerine etkisi çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. KAH'da statin kullanımının sLOX-1 düzeyleri üzerine etkisi

	sLOX-1 (pg/mL)	P değeri
Statin Kullanan KAH	88.83±40.13	0.824
Statin Kullanmayan KAH	91.07±40.08	

İstatistik değerlendirmeler iki bağımsız değişken karşılaştırması Independent Sample t testi ile yapıldı.

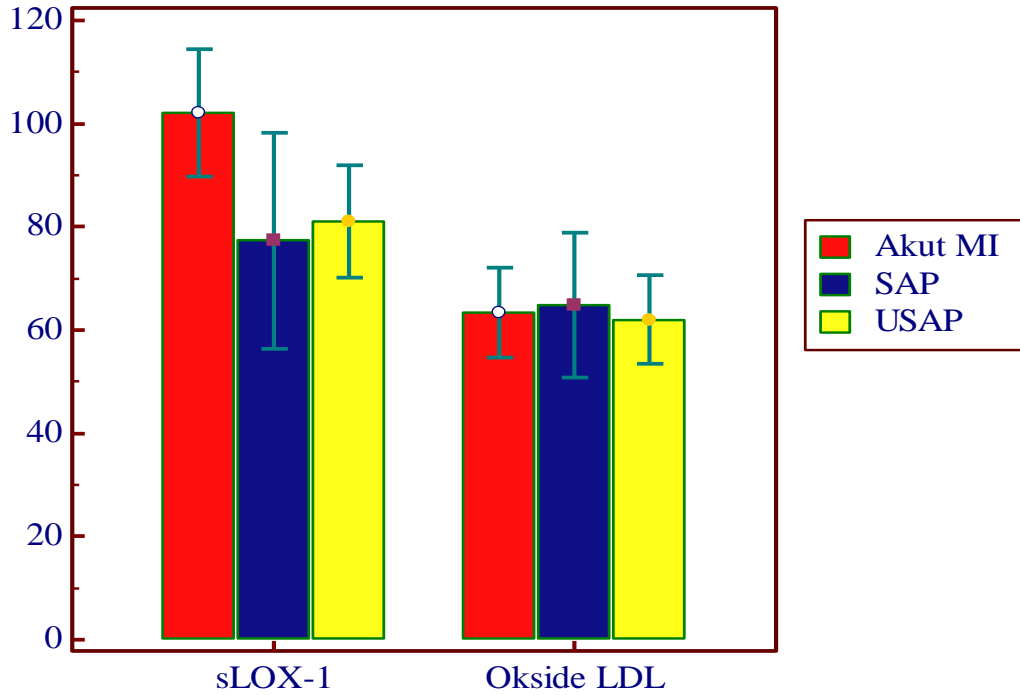
4.5. sLOX-1 ve Okside LDL Düzeylerinin KAH Tanısı ile İlişkisi

Koroner arter hasta grubu, tanılarına göre SAP, USAP ve akut MI olarak üç alt grubu ayrılmıştır. Kruskal-Wallis testi ile USAP, SAP ve akut MI hastaların serum sLOX-1 ve okside LDL düzeylerini birlikte karşılaştırdığımızda, sLOX-1 düzeylerinde anlamlı derecede bir fark gözlenirken ($p < 0.05$), okside LDL düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). sLOX-1 ve okside LDL düzeylerin KAH tanıları arasındaki ilişki çizelge 4.5 ve şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. sLOX-1 ve okside LDL düzeylerin KAH tanıları ile ilişkisi

KAH Tipi	sLOX-1 (pg/mL)	Okside LDL (ng/mL)
SAP (n=21)	77.30±46.10	64.85±30.79
USAP (n=36)	80.95±32.18	62.04±25.71
Akut MI (n=43)	102.09±40.15*	63.25±27.65

İstatistik değerlendirmeler Kruskal-Wallis testi (post hoc Mann-Whitney U testi) ile yapıldı. Akut MI ve SAP arasında * $p = 0.030$; Okside LDL için SAP, USAP ve Akut MI arasında $p > 0.05$.



Şekil 4.3. KAH tanısı ile sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri arasındaki ilişki

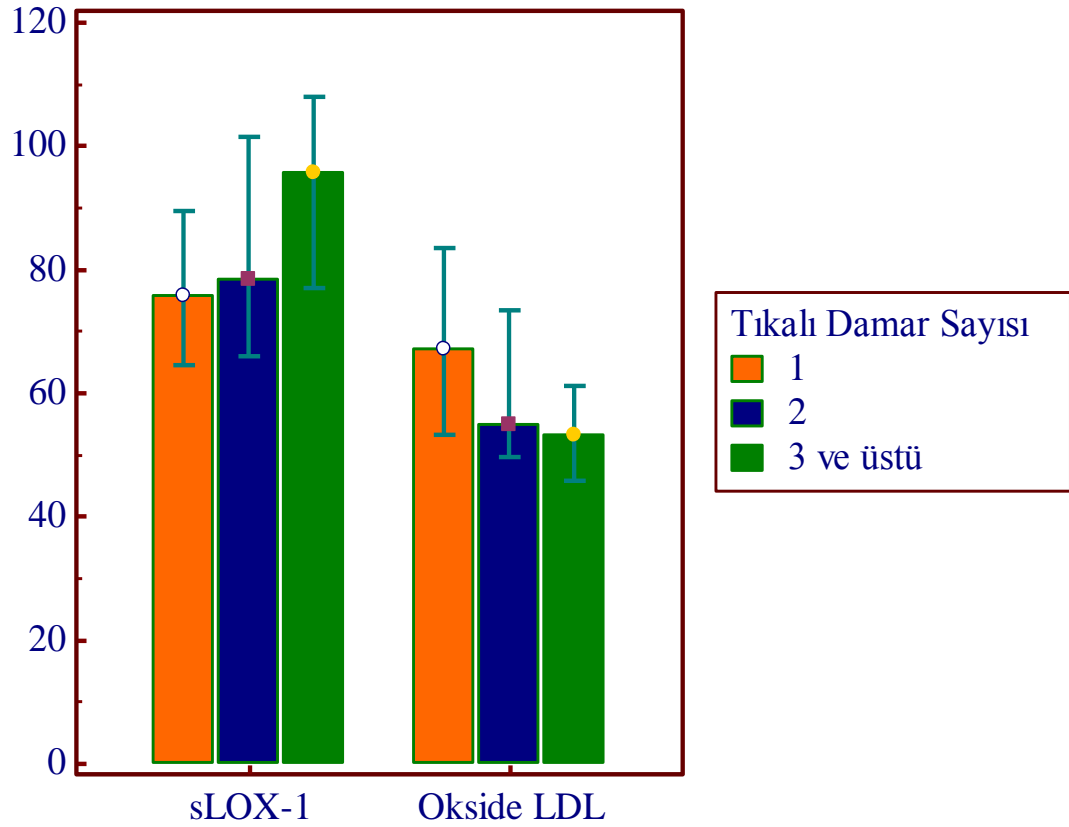
4.6. sLOX-1 ve Okside LDL Düzeylerinin KAH'lardaki Tıkalı Damar Sayısı ile İlişkisi

Koroner arter hastalığı 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. Grupların karşılaştırılması çoklu grup karşılaştırma testlerinden Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. sLOX-1 düzeylerinde tıkalı damar sayısına göre artış olduğu saptanmış olup, 3 damar ve üstü hastalarda en yüksek sLOX-1 düzeyleri belirlenmiştir. 2 damar sLOX-1 düzeyleri 1 damara göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.564$), aynı zamanda 3 damar ve üstü sLOX-1 düzeyleri 2 damara göre yüksek olmasına rağmen farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p=0.085$). Sadece 3 damar ve üstü ile 1 damar arasında istatistiksel anlamlı bir fark saptanmıştır ($p=0.005$). Okside LDL ve tıkalı damar sayısı arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri ile KAH tıkalı damar sayısı arasındaki ilişki çizelge 4.6 ve şekil 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri ile KAH tıkalı damar sayısı arasındaki ilişki

Tıkalı Damar Sayısı	sLOX-1	Okside LDL	P değeri
1 damar (n=30)	75.72	[¥] 67.10	0.564*
2 damar (n=31)	78.5	54.92	0.085 [#]
3 damar ve üstü (n=39)	95.75	53.39	0.005 [‡]

İstatistik değerlendirmeler Kruskal-Wallis testi (post hoc Mann-Whitney U testi) ile yapıldı. Sonuçlar medyan olarak verildi. sLOX-1 için; *1 damar ile 2 damar arasında; [#]2 damar ile 3 damar ve üstü arasında; [‡]1 damar ile 3 damar ve üstü arasında. [¥]Okside LDL için 1, 2 ve 3 ve üstü arasında $p > 0.05$.



Şekil 4.4. KAH'ların tıkalı damar sayısına göre sLOX-1 düzeyleri

4.7. Kontrol ve KAH Grubunun OLR1 G501C Genotiplerine ait Hardy-Weinberg Dengesinin İncelenmesi

Çalışma grubunu oluşturan kontrol ve KAH grubunda OLR1'e ait G501C varyantına ait olan G/C allellerin oluşturduğu genotiplerle olması beklenen genotipler arasındaki uyum (Hardy-Weinberg dengesi) çizelge 4.7'da verilmiştir. G501C'ye ait tüm genotipik dağılımın Hardy-Weinberg dengesinde olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.7. Çalışma grubunu oluşturan koroner arter hastalarında ve kontrol gruplarında OLR1 varyantları için Hardy-Weinberg dengesi

	Genotipler	Gözlenen değer	Beklenen değer	Ki kare	P değeri*
KAH Grubu	GG	87	85.6	3.47	0.08
	GC	11	13.9		
	CC	2	0.6		
Kontrol Grubu	GG	67	67.8	0.315	0.574
	GC	29	27.4		
	CC	2	2.8		

*“H0 hipotezi gözlenen genotipik varyasyonların beklenen genotipik varyasyonlarla uyumlu bir dağılım göstermektedir olarak” kabul edildiği için p değeri 0.05’ten büyük olan olasılıklar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4.8. Kontrol ve KAH Gruplarındaki OLR1 Genotip ve Allel Dağılımına Ait

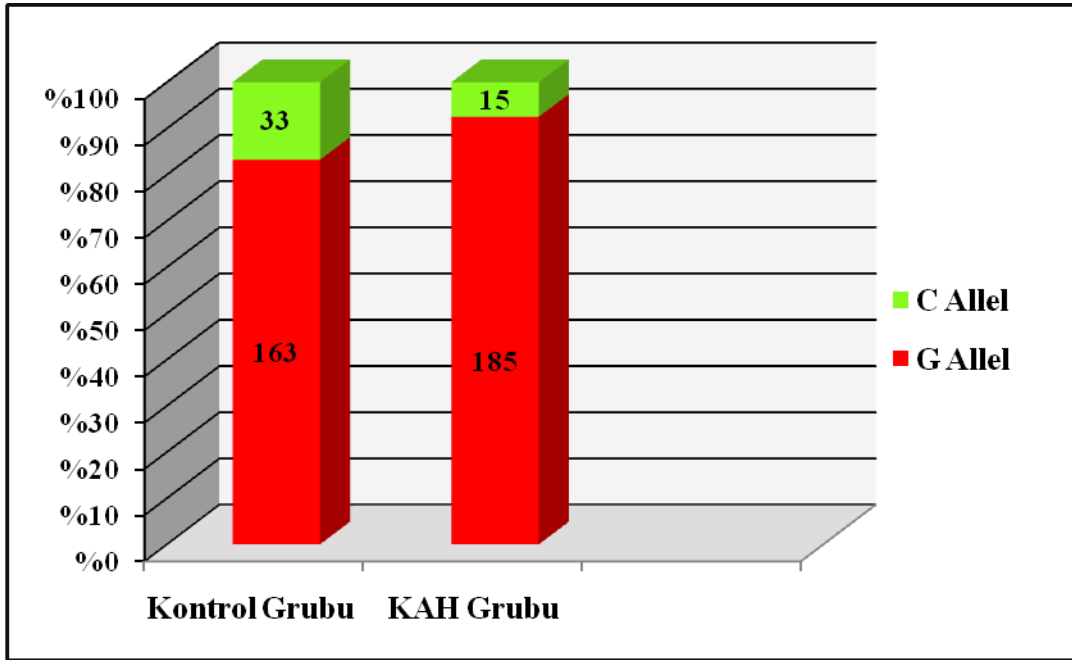
Bulgular

Kontrol ve KAH grupları arasındaki genotip ve allellerin oluşturduğu riskler binary logistik regresyon analizi ile yapılmış olup, OLR1 G501C genotipleri ve allellerin dağılımı ve oluşturdukları riskler çizelge 4.8’de verilmiştir. Kontrol ve KAH gruplarına ait allel dağılımları aynı zamanda şekil 4.5 ‘te verilmiştir. Bu çalışmada GG, GC ve CC üç farklı genotip belirlenmiştir. KAH ve kontrol grubunda sadece 2 tane CC genotipi belirlenmiştir. KAH grubundaki GG (%87) genotiplerinin kontrol grubuna (%68.4) göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Risk analizinde GG genotipinin referans genotip olduğu belirlenmiştir. İstatistiksel analiz buna göre dizayn edilerek, kontrol ve KAH grupları arasındaki OLR1 genotip ve allel dağılımlarında ileri derecede anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). GG genotipi ve G alleli taşıyan bireylerin KAH yakalanma riskine sahip olduğu (GG genotipi için Odd’s Oranı = 3.423, %95 güven aralığı; 1.595-7.347; G alleli için Odd’s Oranı = 2.497, %95 güven aralığı; 1.309-4.760), aksine GC ve CC genotipine sahip bireylerin ise KAH için koruyucu etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.8. Kontrol ve KAH gruplarında sLOX-1 genotiplerinin dağılımı ve oluşturdukları riskler

OLR1 Genotip	Kontrol Grubu N (%)	KAH Grubu N (%)	Relatif Risk (Odd's Oram)	Güven Aralığı (%95)	P değeri
GC	29 (29.6)	11 (11)	-----		
CC	2 (2)	2 (2)	1.008	0.10-14.617	0.882
GG	67 (68.4)	87 (87)	3.423	1.595-7.347	0.002
Genotip Kombinasyonları					
GC+CC	31 (31.6)	13(13)	----		
GG	67 (68.4)	87 (87)	3.096	1.505-6.372	0.002
Alel sıklığı					
C	33 (16.8)	15 (7.5)	-----		
G	163 (83.2)	185 (92.5)	2.690	1.391-5.202	0.005

n: hasta sayısı, p: gruplar arası anlamlılık derecesi



Şekil 4.5. Kontrol ve KAH grubuna ait OLR1 G ve C allel dağılımı

4.9. KAH Grubun OLR1 G501C Genotiplerine Göre Yaş, Lipit Profilleri ve AKŞ Düzeyleri, Cinsiyet, Diyabet, Hipertansiyon ve Sigara Kullanımı

KAH grubunda homozigot normal (GG) ve OLR1 varyant (GC+CC) genotipleri olmak üzere 2'şer grup oluşturuldu. KAH'ların GG ve GC+CC genotiplerine göre yaş, VKI, AKŞ ve lipit profilleri karşılaştırıldı. GG ve GC+CC genotipleri arasında yaş,

AKŞ, VKI ve lipit profilleri arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). KAH gruplarının OLR1 genotiplerine göre yaş, VKI, AKŞ ve lipit profilleri çizelge 4.9'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. KAH grubunun OLR1 genotiplerine göre yaş, VKI, lipit profili ve AKŞ düzeyleri

OLR1	GG	GC+CC	P değeri
Yaş	61.67±11.68	59.08±9.75	0,449
VKI	27.75±3.55	27.75±3.13	0.999
AKŞ	126.77±70.42	114.87±56.6	0.504
TK	168.70±43.81	185.78±53.96	0.207
HDL-K	38.07±11.68	44.86±19.67	0.081
LDL-K	104.14±33.028	110.18±39.20	0.344
Trigliserit	150.50±80.18	154.66±73.22	0.860
VLDL-K	30.10±16.04	30.93±14.64	0.786

KAH grubunun aynı şekilde GG ve GC+CC genotiplerine göre cinsiyet, diyabet, hipertansiyon ve sigara kullanımı gibi risk faktörleri karşılaştırıldı. GG ve GC+CC genotipleri arasında cinsiyet, sigara kullanımı, diyabet ve hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p > 0.05$, çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. KAH grubunun OLR1 genotiplerine göre cinsiyet, diyabet, hipertansiyon ve sigara kullanım dağılımı

OLR1		GG	GC+CC	P değeri
Parametreler		N (%)	N (%)	
Cinsiyet	Kadın	27 (31)	1 (7.7)	0.104
	Erkek	60 (69)	12 (92.3)	
Diyabet	Yok	59 (67.8)	9 (69.2)	0.996
	Var	28 (32.2)	4 (30.8)	
Hipertansiyon	Yok	41 (47.1)	6 (46.2)	0.593
	Var	46 (52.9)	7 (53.8)	
Sigara kullanımı	Yok	51 (58.6)	7 (53.8)	0.104
	Var	36(41.4)	6 (46.2)	

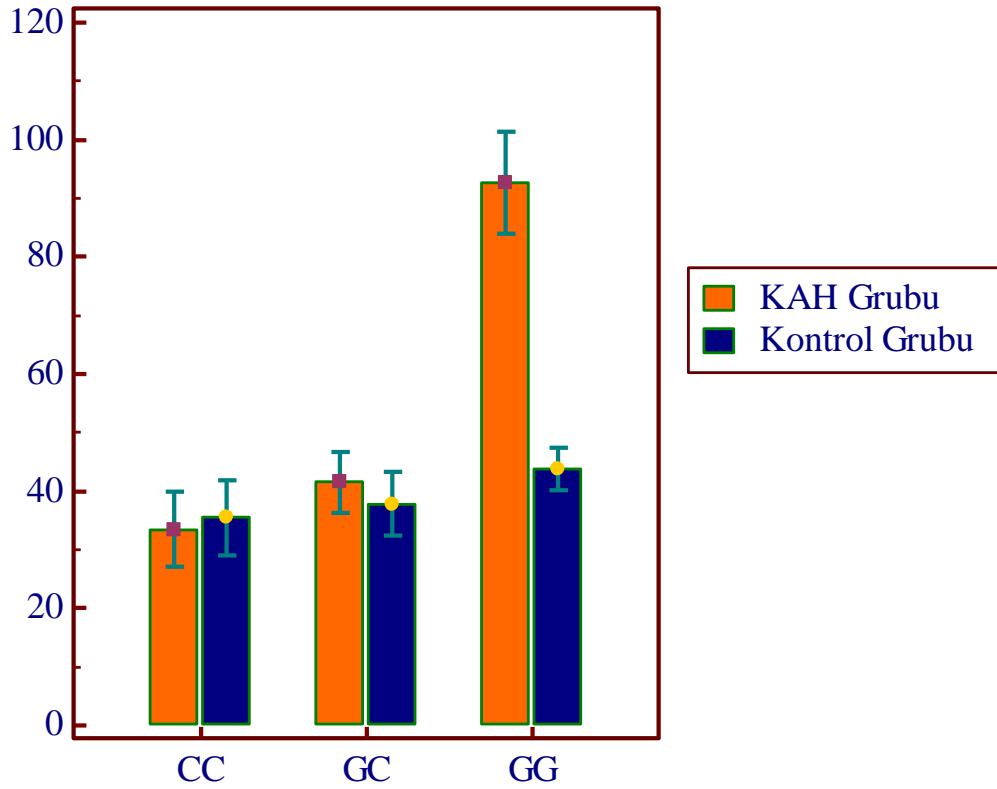
4.10. Kontrol ve KAH gruplarının OLR1 G501C Genotiplere Göre Serum sLOX-1 Düzeylerinin Karşılaştırılması

OLR1 G501C genotiplerine sahip KAH grubu serum sLOX-1 düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırılmadan önce grupların genotip açısından homojenliği sağlandı. OLR1 G501C genotiplerine ait KAH grubu serum sLOX-1 düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, GG genotiplilerin serum sLOX-1 düzeylerinde anlamlı derecede artış saptanmıştır ($p < 0.001$). GC ve CC genotipleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). KAH grubu kendi arasında genotiplerine göre sLOX-1 düzeyleri karşılaştırıldığında, GG genotipine sahip bireylerin serum sLOX-1 düzeylerinin GC ve CC genotiplerine göre daha yüksek olduğu ($p < 0.001$), GC ve CC arasında ise anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p = 0.960$). Kontrol grubunda ise genotipler arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). Kontrol ve KAH grubundaki OLR1 G501C genotiplerine ait sLOX-1 düzeyleri çizelge 4.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. OLR1 G501C genotiplere göre kontrol ve KAH gruplarının serum sLOX-1 düzeyleri

Genotip	Kontrol Grubu (N=98)	KAH Grubu (N=100)	P değeri	
sLOX-1 (pg/mL)	GG	43.69±14.78*	92.75±32.89**	0.000
	GC	37.76±13.23	41.54±7.65	0.153
	CC	35.5±0.707	33.5±0.806	0.667

*Kontrol grubunda GG, GC ve CC arasında $p > 0.05$, **KAH grubunda GG'nin GC ve CC karşın $p=0.000$, GC ve CC arasında $p=0.960$



Şekil.4.6. OLR1 G501C genotiplere göre kontrol ve KAH gruplarının sLOX-1 düzeyleri

4.11. KAH Grubunda G501C Genotiplerinin Hastalık Tanıları ve Tıkalı Damar Sayısı ile İlişkisi

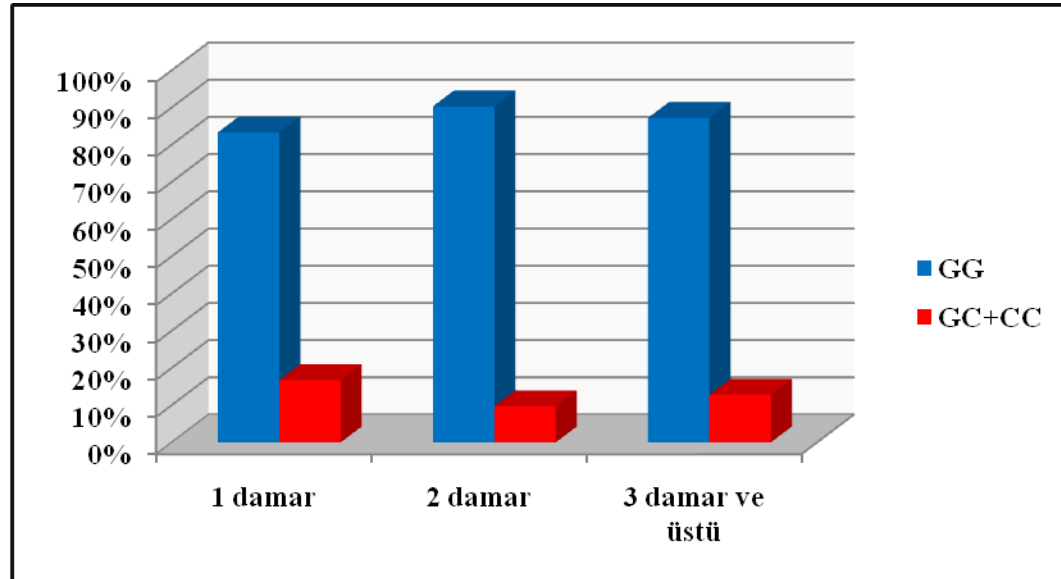
KAH grubunda homozigot normal (GG) ve OLR1 varyant (GC+CC) genotipleri olmak üzere 2'şer alt grup oluşturuldu. OLR1 G501C gen polimorfizmleri hasta damar

sayıları açısından GG genotipin GC+CC genotipleri olarak karşılaştırıldığında tek ve çoklu damar tıkanıklığı olan hastalarda GG genotipin daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda 3 damar ve üstü tıkalı olan bireylerinin çoğunun KAH için riskli GG genotipine sahip olduğu belirlenmiştir. OLR1 G501C genotipleri ve tıkalı damar sayıları arasındaki ilişki çizelge 4.12 ve şekil 4.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.12. KAH grubunun genotip ve tıkalı damar sayısı ilişkisi

Tıkalı damar sayısı	OLR1 Genotip N (%)		P değeri
	GG	GC+CC	
1 damar	25 (83.3)	5 (16.7)	0.013
2 damar	28 (90.3)	3 (9.7)	0.007
3 damar ve üstü	34 (87.2)	5 (12.8)	0.002

p: gruplar arası anlamlılık derecesi



Şekil 4.7. KAH'ların tıkalı göre damar sayılarına genotip dağılımı

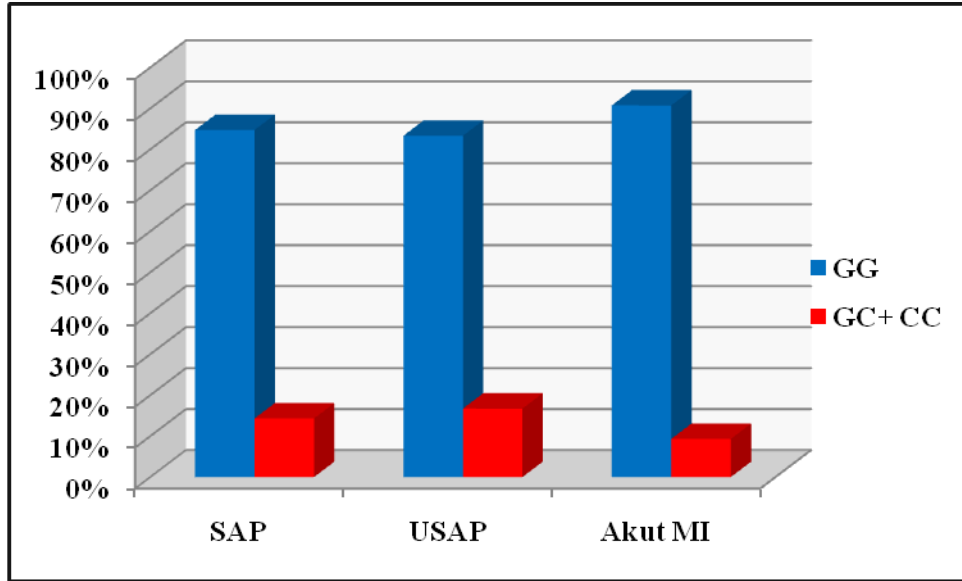
OLR1 G501C genotipleri KAH'ların tanıları kendi içlerinde incelendiğinde GG genotipini taşıyan bireylerin %84.7'si SAP, %83.3'ü USAP ve %90.7'si ise akut MI tanısı almış hastalardan oluşmaktadır. USAP, SAP ve akut MI GG genotipli hastaların GC+CC genotipine göre yüksek oranda bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı

bir fark saptanmamıştır ($p > 0.05$). OLR1 G501C genotipleri ve KAH tanısı arasındaki ilişki çizelge 4.13 ve şekil 4.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.13. OLR1 G501C genotiplerinin ile KAH tanısı arasındaki ilişki

Genotip KAH tipi	GG N (%)	GC+ CC N (%)	P değeri
SAP	18 (84.7)	3 (14.3)	0.607
USAP N	30 (83.3)	6 (16.7)	
Akut MI	39 (90.7)	4 (9.3)	

p: gruplar arası anlamlılık derecesi, N; örnek sayısı



Şekil 4.8. KAH tamlarına OLR1 G501C genotiplerin dağılımı

5. TARTIŞMA

Koroner arter hastalığı, kalbi besleyen koroner arterlerin beslediği bölgelere yeterli kan taşıyamaması sonucu miyokartta oluşan iskemi ve nekrozun derecesine göre gelişen hastalık ve bunların komplikasyonudur (1). KAH'nın esas nedeni, ateroskleroz sonucu koroner arterlerin daralması ve tıkanmasıdır (2).

Koroner arter hastalığı, endüstrileşmiş ülkelerde en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında yer almaktadır. KAH nedeniyle her yıl milyonlarca kişi yaşamını kaybetmekte, dünyada ve Türkiye'de ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizde 2007 yılında TEKHARF çalışması sonuçlarına göre KAH sıklığı, erişkin nüfusta % 2.7, 45-74 yaş arasında ise % 10.2 olarak saptanmıştır (3). Türk Kardiyoloji Derneği'nin 2000 yılında yayınladığı rapora göre, aterosklerozun neden olduğu KAH ve inmeden kaynaklanan ölümler, tüm ölümlerin % 43'ünü oluşturmaktadır (4).

Koroner arter hastalığının başlıca nedeni olan ateroskleroz, büyük ve orta çaplı musküler arterleri tutan endotel disfonksiyonu ve damar duvarının intima tabakasında lipit ve inflamatuvar hücre birikimi ile karakterize sistemik bir hastalıktır. Endotel fonksiyonlarının bozulması ile başlayan bu aterotrombotik süreç, damarlarda yağlı çizgilenme ile başlayıp değişik risk faktörlerinin de etkisiyle progresif olarak ilerler. Sonuçta efor anginasından, ani kardiyak ölüme kadar değişen ciddiyette klinik olaylara neden olan bu progresif sürecin önlenmesinde, hastalarda risk faktörlerinin erken tanı ve tedavisi en önemli olaydır (199).

Risk faktörlerinin tanımlanması ve tedavisi, asemptomatik kişilerde koroner kalp hastalıklarının ve belirlenmiş hastalığı olan kişilerde tekrarlayan olayların önlenmesi için gereklidir. Risk faktörlerinin araştırılmasına ilişkin sistematik çalışmalar bu yüzyılın ortalarında başlamıştır. Prospektif, halk tabanlı "Framingham Kalp Çalışmaları" hiperkolesterolemi, hipertansiyon ve diğer faktörlerinin kardiyovasküler riskle ilişkili olduğunu destekleyen kanıtlar sağlamıştır. Gözleme dayanan benzer çalışmalar ABD'de gerçekleştirilmiştir. Geniş çapta yapılan yaygın, bağımsız araştırmalarla kardiyovasküler hastalıklar için risk faktörleri kavramı desteklenmiştir (31). NCEP 2001'de yayınlanan ATP III panelinde, aterosklerozun oluşumu ve gelişiminde sorumlu tutulan, hiperlipidemi, düşük HDL, sigara kullanımı,

hipertansiyon, diyabet, cinsiyet gibi etkenler KAH için risk faktörü olarak belirlenmiştir (99).

Çalışmamızda, bu risk faktörleri KAH ve kontrol grubunun özgeçmişlerinin sorgulanması ile elde edildi ve lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi.

Çalışmamızda, KAH grubunun yaş ortalamalarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p=0.01$). Erkek cinsiyet oranı KAH grubunda % 72, kontrol grubunda ise % 39.8 olarak bulundu ($p=0.000$) ve erkek cinsiyetin KAH için yaklaşık 4.7 kat daha riskli olduğu saptandı. KAH grubunun % 32'sinin diyabetik olduğu ($p=0.012$), % 53'ünde hipertansiyon ($p=0.009$) ve % 42'sinin sigara kullandığı ($p=0.023$) belirlendi. Bu sıklık kontrol grubunda ise sırası ile % 23.5, % 37.8 ve % 20.4 olarak saptandı. Elde ettiğimiz bu sonuçlara göre KAH'nın gelişimi için diyabetin 2.5, hipertansiyonun 2.3 ve sigara kullanımının ise 2.2 kat daha riskli olduğu belirlendi. Benzer şekilde aile öyküsü ($p=0.855$) açısından KAH ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bununla birlikte KAH grubunda aile öyküsü varlığı oranının (%32) kontrol grubundan (% 27.4) daha yüksek olması dikkat çekiciydi (çizelge 4.1).

Çalışmamızda trigliserit ($p=0.755$), VLDL-K ($p=0.434$), TK ($p=0.615$), LDL-K ($p=0.693$) ve HDL-K düzeyleri ($p=0.205$) bakımından KAH ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Aslında KAH için önemli risk faktörleri olan TK ve LDL-K düzeyleri arasında fark bulunmamasının nedeni, KAH grubunun %30'nün kolesterol düşürücü etkiye sahip statin grubu ilaç kullanmasıdır. KAH grubunda AKŞ düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu belirlendi ($p=0.003$). Bu farkın nedeni olarak KAH grubunda diyabetin (% 32) kontrol grubuna (% 23.5) göre daha sık görülmesine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz (çizelge 4.3).

Tip II membran glikoproteini olan LOX-1, endotel hücrelerinde okside LDL için majör reseptör olarak tanımlanmıştır. LOX-1 proteazlar tarafından ekstraselüler domaini jukstamembran bölgesinden bölünerek, sLOX-1 formu salgılanmaktadır (141).

Dolaşımdaki sLOX-1 düzeyleri LOX-1 ekspresyonunun bir göstergesi olarak kullanılabilirliği belirlenmiştir (200). LOX-1 aktivasyonu endotel disfonksiyonuna, DKH'lerin apoptozisine, makrofajlarda lipit birikimine ve MMP oluşumuna katılarak aterosklerotik plak oluşumu ve gelişimini kolaylaştıran hücre hasarına neden olmaktadır. sLOX-1 düzeylerinin KAH'nın ilerlemesi süresince up-regüle olduğu

gözlenmiştir. (201).

Li ve ark. (201) yaptıkları bir çalışmada, metabolik sendromlu KAH'da sLOX-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır ($p < 0.01$) (201). Çalışmamızda da KAH grubunun sLOX-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ($p=0.000$, çizelge 4.3) ve yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu saptandı. KAH'da artmış sLOX-1 düzeylerinin bu hastalardaki LOX-1 indükleyicileri olan ROS ve okside LDL düzeylerinin artışına bir yanıt olabileceğini düşünmekteyiz.

Birçok klinik çalışmada, statin tedavisinin plazma LDL-K düzeylerini azaltarak ateroskleroz gelişimini önlediği bildirilmiştir (202). Statinin sLOX düzeylerine üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada, LDL-K düzeyleri 160-220 mg/dl arasında olan, antihiperlipidemi tedavisi almayan, KAH, konjetif kalp yetmezliği, renal ya da karaciğer hastalığı ve ailesel hiperkolesterolemi hikayesi olmayan 25 hastada pitavastatin tedavisinin sLOX-1 düzeyleri üzerinde etkisinin olmadığı gösterilmiştir (203). Çalışmamızda da statinin sLOX-1 düzeyleri üzerine etkisinin olmadığı ($p=0.84$, çizelge 4.3) ve yapılan çalışma ile benzer olduğu gözlemlendi.

Okside LDL'nin aterosklerozun gelişimi ve oluşumu yanı sıra endotel disfonksiyonunda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda okside LDL'nin birçok aterojenik olayları indüklediği gösterilmiştir (158). Okside LDL'nin endotelial NO sentaz aktivitesini azaltarak NO salınımının azalmasına, endotel disfonksiyonunun majör uyarıcısı olan hücre içi oksidatif stresin artışına neden olmaktadır (163). Okside LDL için birkaç hücre yüzey reseptörü belirlenmiştir. Okside LDL'nin makrofaj, endotel ve DKH'leri tarafından hücre içine alımı için majör reseptör olarak LOX-1 tanımlanmıştır. LOX-1, okside LDL'yi kuvvetli bağlama, internalizasyon ve proteolitik olarak parçalama özelliğine sahip olduğundan, okside LDL'nin bu proaterojenik etkilerinin çoğuna aracılık ettiği belirlenmiştir (118). Yapılan çalışmalarda, KAH'larının plazma okside LDL düzeylerindeki artış ile KAH'ın şiddeti arasında ilişki olduğu gözlenmiştir (180, 204). Başka bir çalışmada, plazma okside LDL düzeylerinin koroner endotel disfonksiyonunun değerlendirilmesinde kullanışlı bir belirteç olduğu bildirilmiştir (205).

Koubaa ve ark. (206) yaptıkları bir çalışmada, KAH'larının plazma okside LDL düzeylerinin sağlıklı bireylere göre daha yüksek olduğunu belirlemiştirler ($p < 0.001$). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre, KAH grubunun serum okside LDL

düzeylerinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu saptandı (p=0.000, çizelge 4.3). Diğer araştırmacıların bulguları ile paralel olan bulgularımız okside LDL'nin aterosklerozun patogeneğinde önemli rol aldığını göstermektedir.

Çalışmamızda ayrıca KAH grubunda sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptandı (r=0.797, p=0.000, şekil 4.2). Yaptığımız literatür araştırması sonucunda KAH'da okside LDL ve sLOX-1 düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmaya rastlanılmadı. Bulgularımız, okside LDL'nin LOX-1 indükleyicisi olduğunu doğrulamaktadır.

Yapılan çalışmalarda, endotelial hücrelerde LOX-1 bazal ekspresyon düzeylerinin *in vitro* olarak çok düşük olduğu, ancak okside LDL gibi pro-oksidan bir ajan tarafından hızlı bir şekilde indüklendiği gözlenmiştir (147). KAH'da artmış ROS ve azalmış antioksidan düzeyleri LDL oksidasyonu ile sonuçlanabilmektedir. sLOX-1 düzeylerindeki artışın olası nedeni ise artmış okside LDL düzeylerine yanıt olabilir. Aynı zamanda, LOX-1 ligandı olan okside LDL artışının LOX-1 ekspresyonun artışına ve hücre yüzeyinden artmış sLOX-1 salınımına neden olabileceğini düşünmekteyiz.

Akut koroner sendromunun patogeneğinde ateromatöz plakların rüptürünü takiben trombüs oluşumu kritik basamaktır. AKS tiplerinden olan unstabil anjina pektoriste damar alanında kısmi daralma olması ve zaman içinde trombüste gerileme göstermesi ise klinikte iyileşme görülen vakalardır. Lümenin tam tıkanığı ya da ileri düzeyde ve geri dönüşümsüz olarak azaldığı durumlarda ise MI görülür (207).

Koroner arter hastalarının tanısı ile sLOX-1 düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Hayashida ve ark. (144) AKS'da serum sLOX-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını belirlemişlerdir. sLOX-1 düzeylerinin AKS'nu diğer gruplardan yüksek sensitivite ve spesifitede ayırdığını gözlemlemişler ve bu araştırmacılar sLOX-1 düzeylerinin AKS'un erken tanısı için kullanışlı bir belirteç olabileceğini önermektedirler. Sonrasında bazı araştırmacılar tarafından sLOX düzeylerinin AKS'un tanısı için biyobelirteç olan TnT ve kalp tipi yağ asit bağlayıcı proteininden daha spesifik ve sensitif olduğu gösterilmiştir (208).

Okside LDL düzeylerini akut MI, SAP ve USAP tanısı alan hastalara göre inceleyen bir çalışmada okside LDL düzeylerinin gruplar arasında anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir (p=0.79) (209).

Yaptığımız çalışmada, akut MI tanısı alan hastaların sLOX-1 düzeylerinin SAP

ve USAP tanısı alan hastalara göre daha yüksek olduğu ($p=0.030$), USAP tanısı alan hastaların sLOX-1 düzeylerinin SAP tanısı alan hastalara göre yüksek olmasına rağmen bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. Okside LDL düzeyleri açısından ise akut MI, USAP ve SAP tanısı alan hastalar arasında anlamlı bir fark belirlenmedi ($p> 0.05$, çizelge 4.5). USAP ve akut MI tanısı alan (AKS'lu hastalar) hastaların sLOX-1 düzeylerinin SAP tanısı alan hastalara göre daha yüksek olduğu saptandı. Çalışma bulgularımızın literatür ile benzer olduğu gözlemlendi.

Yapılan çalışmalarda, aterosklerotik plakların lipit-yüklü makrofajlarla dolması, intimada DKH aktivasyonuna ve rüptüre eğilimi arttırdığı gözlenmiştir (210). Zedelenabilir plaklarda, LOX-1'in başlıca DKH ve makrofajlarda eksprese olduğu, DKH'nin apoptozisine ve matriks metalloproteinaz üretimine katıldığı belirlenmiştir (13, 123, 211). Bu koşulların proteaz aktivitesini arttırarak LOX-1'in başlıca eksprese olduğu vasküler hücrelerin yüzeyinden sLOX-1 salınımını arttırmış olabileceğini düşünmekteyiz. Bu da çalışmamızdaki artmış sLOX-1 düzeylerinin nedenini açıklayabilmektedir.

Koroner arter hastalığının şiddeti ile sLOX-1 düzeyleri arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada, 94 stabil KAH'sında serum sLOX-1 düzeylerinin hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğu ve artmış sLOX-1 düzeylerinin süperoksit dismutaz aktivitesi ile ters korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmacılar, vasküler duvarda sLOX-1 düzeylerinin artmış oksidatif stresi yansıtabileceğini önermektedirler (212).

Başka bir çalışmada, sLOX-1 düzeyleri ile KAH'ların tıkalı damar sayısı arasında bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, koroner anjiyografi sonucuna göre KAH tanısı alan 60 hastayı tek-iki damarı tıkalı olan ve üç-dört damarı tıkalı olan hastalar olmak üzere iki alt gruba ayırmışlardır. Çalışma sonucunda, üç ve dört damarı tıkalı olan hastaların sLOX-1 ve okside LDL düzeylerinin tek-iki damarı tıkalı olan hastalara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır ($p< 0.01$). (213).

Okside LDL düzeylerinin 1, 2 ve 3 damarı tıkalı KAH'larının karşılaştırıldığı bir çalışmada, 2 ve 3 damarı tıkalı olan hastaların okside LDL düzeyleri ile tek tıkalı damara sahip hastaların okside LDL düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p=0.26$) (209).

Yaptığımız çalışmada, sLOX-1 düzeylerinin tıkalı damar sayısına göre arttığı, 3 damar ve üstü tıkalı damara sahip KAH'nın tek tıkalı damara sahip olan KAH'na göre

sLOX düzeylerinin daha yüksek olduğu belirlendi (P=0.005). 3 ve üstü tıkalı damarı olan KAH'nın okside LDL düzeylerinin ise tek tıkalı damara sahip KAH'na göre daha düşük saptanmasına rağmen anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$, çizelge 4.6). Çalışma bulgularımızın yapılan çalışmalarla paralel olduğu gözlemlendi. 3 ve üstü damar tıkanıklığına sahip hastaların diğer tıkalı damar hastalarına göre biraz daha düşük okside LDL ($p > 0.05$) ve yüksek sLOX-1 düzeylerinin gözlenmesinin sLOX-1-aracılı okside LDL alımındaki artışa bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Elde ettiğimiz sonuçlara göre sLOX-1 düzeylerinin aterosklerotik plak gelişiminde önemli rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. 3 ve üstü tıkalı damara sahip olan KAH'da yüksek sLOX-1 düzeylerinde LOX-1 ligandı olan okside LDL'nin hücre içine alımı artacağından daha fazla köpük hücre oluşacaktır. Buradan da etkilenmiş damar sayısındaki artışa neden olabileceğini düşünmekteyiz. Daha önceki çalışma sonuçlarına ve bulgularımıza dayanarak sLOX-1 düzeylerinin KAH şiddetini ön görmede yararlı olabileceğini önermekteyiz.

Aterosklerozun patogenezi açıklamaya yönelik birçok çalışma yapılmış ve çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Bunlardan, LDL oksidasyonu hipotezine göre aterosklerozda lezyon oluşumu ve gelişiminden lipit ve protein oksidasyon ürünleri sorumlu tutulmuştur. Oksidasyonun asıl hedefi intimada bulunan LDL partikülüdür. Bu hipotez, *in vitro* şartlarda oksitlenmiş LDL molekülünün pro-aterojenik özelliklerinin bulunmasıyla desteklenmiştir. Bu özellikler kemotaksisin uyarılması, makrofajlarda kolesterol birikimi, endotel hücrelerinde adezyon molekülü ekspresyonu ve bazı hücre türlerinin apoptozudur (7). Oksitlenmiş LDL'nin hücre içine alınması çöpçül reseptörleri aracılığı ile olmaktadır (8). Bu reseptörler hücre içindeki kolesterol düzeyi tarafından regüle edilmez ve subendotelyal yerleşimli makrofajlar okside LDL'yi kontrolsüz bir biçimde hücre içine alarak aterogenezde kilit rol oynayan köpük hücreleri meydana getirirler. (9). LDL'nin oksidatif modifikasyonu ateroskleroz patogenezinde anahtar basamaktır. Okside LDL'nin bütün aterogenez sürecinde temel rol oynadığı düşünülmektedir (10, 11). Okside LDL'nin makrofaj ve DKH'leri tarafından alınımına SR-AI/II, CD36, ve SR-BI gibi çöpçül reseptörler aracılık etmektedir. Ancak bu reseptörlerin endotel hücrelerinde olmadığı ya da çok az olduğu bulunmuştur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, okside LDL'nin makrofaj, endotel ve DKH'i tarafından alınımında majör reseptörün LOX-1 olduğu, okside LDL'yi kuvvetli bağlama aktivitesi,

internalizasyonu ve proteolitik olarak parçalanmadığı için okside LDL'nin toksik etkilerine aracılık ettiği belirlenmiştir (118).

Lektin benzeri okside LDL reseptörü-1, OLR1 geni tarafından kodlanmakta ve 50 kDa ağırlığında bir protein olarak sentezlenmektedir. Yapısal olarak, kalsiyum-bağımlı C-tip lektin ailesine ait bir tip-II membran proteindir (13). LOX-1'in başlıca endotelial hücreler, DKH, plateletler ve makrofajlarda eksprese edilmektedir. Ayrıca LOX-1 ateromdaki hücrelerde de bulunmaktadır. *In vivo* olarak insan ve hayvanların aterosklerotik lezyonlarında aşırı eksprese olduğu bildirilmiştir (13)

Yapılan çalışmalarda, OLR1'in 6'sı 4. ve 5. intronlarda ve biri ise 3' translyasyona uğramayan bölgesinde olmak üzere toplam 7 farklı nokta mutasyonu belirlenmiştir (19). OLR1 gen polimorfizmi ile ateroskleroz, akut MI gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkisi araştırılmış ve karidovasküler hastalıklarda LOX-1'in potansiyel bir role sahip olduğu belirlenmiştir (15, 16, 17, 18). OLR1'in G501C tek nükleotid gen polimorfizminin LOX-1 proteininde K167N sessiz mutasyon ile sonuçlandığı saptanmıştır (14).

Koroner arter hastalığı ve OLR1 G501C varyantlarının çalışıldığı bazı çalışmalar bulunmaktadır. Wang ve ark. (214) Çin Han popülasyonda AKS'lu hastalarda yaptıkları bir çalışmada, OLR1 CC genotip frekansının (%5.6) kontrol grubuna (%1.5) göre daha yüksek olduğu bildirilmiş ve CC genotipi taşıyan hastaların AKS için risk oluşturduğunu belirlemişlerdir.

Mango ve ark (19) ise akut MI hastalarında OLR1 G501C polimorfizmine ait GG genotipi taşıyan hastaları (%91.3) kontrol grubuna (%82.5) göre yüksek bulmalarına rağmen anlamlı bir ilişki saptamamışlardır. Ancak allel frekanslarında G alleli taşıyan hastaları (%95.7) kontrol grubuna göre (%90.8) daha yüksek bulmuşlardır. C allel görülme sıklığınının MI hastalarında kontrol grubuna göre (% 4.3 karşın % 9.2) daha düşük olduğunu ve C allelinin koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini göstermişlerdir (p=0.04). Aynı zamanda kontrol grubunda bir tane CC genotip saptamışlar hasta grubunda ise CC genotipine rastlamamışlardır.

Trabetti ve ark (215) İtalyan toplumunda, 350 KAH, 190 akut MI ve 327 kontrolden oluşan bir çalışmada, KAH ve akut MI olan kişilerde CC genotiplerinin görülme sıklığının kontrol grubuna göre yüksek olduğunu, ancak anlamlı bir fark olmadığını saptamışlardır. KAH'da GG, GC ve CC genotiplerinin görülme sıklığını

sırası ile 0.851, 0.143 ve 0.006, kontrol grubunda 0.85, 14.7 ve 0.003, akut MI hastalarında ise 0.847, 0.147 ve 0.006 olarak bildirmişlerdir. GG genotipinin GC+CC genotipine göre KAH için 1.02 (p=0.98) ve akut MI için 0.97 kat (p=0.88) risk oluşturduğunu belirlemişlerdir. Aynı zamanda, KAH, akut MI hastaları ve kontrol grubunda G ve C allel görülme sıklığını sırası ile 0.92 ve 0.08 olarak benzer olduğunu bildirmişlerdir .

Tatsuguchi ve ark. (14) Japon toplumunda, OLR1 G501C varyantları (GG+CC) ile MI ilişkisini değerlendirdikleri bir çalışmada, MI hastalarında OLR1 varyant genotipleri (%38.2) ve allel sıklığının (% 20.6) kontrol grubuna (% 17.6 ve % 9.3) göre daha yüksek olduğunu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptamışlardır (p<0.002).

Knowles ve ark. (216) yakın zamanda yaptıkları popülasyon bazlı vaka-kontrol çalışmalarında OLR1 gen polimorfizmi ile KAH arasındaki ilişkiyi incelemişler. Hasta ve kontrolleri Atherosclerosis, Vascular, Disease & Genetic Epidemiology (ADVANCE) çalışmasından sağlamışlardır. Koroner arterlerinde herhangi birinde >% 50 darlığı olan 1808 bireyi KAH olarak, 1731 sağlıklı bireyi (479 Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) çalışmasından almışlardır) ise kontrol grubu olarak çalışmaya dahil etmişlerdir. Çalışmaya alınan kontrol ve hastaları ırk/etnik yapıya göre, beyaz ırk/Avrupalılar, siyah ırk/Afrika-Amerikalılar, Hispanikler, Güney Asyalılar, Doğu Asyalılar, Pasifik Adalılar, asıl Amerikalılar, karma Hispanikler, karma Hispanik olmayanlar olarak 9 alt gruba ayırmışlardır. ADVANCE çalışmasına aldıkları bireylerde yaptıkları çalışma sonucunda (çalışmaya katılan tüm bireylerde) C allel görülme sıklığını Beyaz/Avrupalılarda %9, Siyah/Afrika-Amerikalılarda %20, Doğu Asyalılarda %16 ve Hispaniklerde %6 olarak belirlemişlerdir. OLR1 G501C genotiplerinin dağılımını ırk ve etnik yapıya göre incelediklerinde, KAH'da GG, GC ve CC genotiplerini sırası ile beyaz ırkta %86.13 ve 0, siyah ırkta/Afrika-Amerikalılarda %68, 31 ve 1, Doğu Asyalılarda ise %77, 20 ve 0 olarak saptamışlardır. Kontrol grubunda ise sırası GG genotipi için %80, 19 ve 0, GC genotipini %61, 36 ve 1, CC genotipini ise %64, 32 ve 0 olarak saptamışlardır. Kontrol grubunda GG genotipinin daha düşük görülme sıklığına sahip olduğunu belirlemişlerdir. GG genotipine sahip bireylerin GC genotipine göre KAH için daha yüksek riske sahip olduğunu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptamışlardır (p< 0.001). Irk ayrımı yapmadan, kontrol ve hasta

grubunda GG, GC ve CC genotiplerinin görülme sıklığını hasta grubunda sıra ile %83, %16 ve %1, kontrol grubunda ise %76, % 22 ve %2 olarak saptamışlardır. Risk analizinde ise GG genotipine sahip bireylerin GC ve CC genotiplerine göre KAH için daha yüksek riske sahip olduğunu belirlemişlerdir ($p < 0.001$). Beyaz ırkta hasta grubunda kontrol grubuna göre yaş, cinsiyet (erkek olma), sigara içme, diyabet ve hipertansiyon gibi KAH risk faktörlerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır ($p < 0.001$). Aynı araştırmacıların, Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) çalışmasındaki 1156 KAH'sı ve 8702 kontrolü dahil ettikleri toplam 9858 bireyde, Beyaz ırkta GG, GC ve CC genotiplerinin hasta ve kontrol grubunda görülme sıklıklarını sırası ile %81, 18 ve 1 gibi benzer olduğunu saptamışlardır. Afro-Amerikalılarda ise CC genotipine rastlanmazken GG ve GC genotiplerinin görülme sıklığını hasta grubunda %59 ve %38, kontrol grubunda ise %60 ve %35 olarak bulmuşlardır. Tüm bireylerde ise hastaların %76'sının GG, %22'sinin GC ve %3'ünde CC genotipine sahip olduğu, kontrol grubunda ise %76'sının GG , %18'sinin GC ve %5'nin de CC genotipine sahip olduğunu belirlemişlerdir .

Predazzi ve ark. (217) Afrikalılarda (Mısır, Libya, Benin, Nijerya), Asyalılarda (Moğolistan, Sibiry, Japonya, Han Çinlileri), Avrupalılarda (İtalya, İspanya, Bulgaristan, Sırbistan, Türkiye) ve Birleşik Devletleri gibi çeşitli popülasyonlara ait 1229 sağlıklı bireyde OLR1 gen polimorfizmi sıklığını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, Avrupalılarda OLR1 G501C varyant sıklığının %2-10 arasında değiştiğini, bu varyantın Avrupalıları Avrupalı olmayan gruplardan ayırma için bir kanıt olduğunu ileri sürmüşlerdir. Mısırlar ve Türklerdeki G501C polimorfizminin dağılımının Avrupalı popülasyona daha çok benzediğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada Türk popülasyonunun GG ve GC genotiplerinin görülme sıklığını %95.4 ve %4.6 olarak saptamışlar ve CC genotipine rastlanmadığını belirlemişlerdir. Aynı çalışmada GG genotipinin görülme sıklığını İtalyan KAH (%82.4), akut MI hastalarında (%88.5) İtalyan kontrol grubuna göre (%80.6) daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Ülkemizde, Kurnaz ve ark. (218) 2010 yılında OLR1 G501C varyantları ve KAH arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir çalışma yayınlamışlardır. Araştırmacılar, koroner anjiyografi sonucuna göre majör koroner arterlerinde herhangi birinde > 50 darlık görülen 91 kişiyi KAH olarak, KAH semptomları taşımayan koroner anjiyografi uygulanmayan sağlıklı bireylerden 72 kişiyi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil

etmişlerdir. Kontrol ve hastaların OLR1 G501C genotip analizinde Restriksiyon fragmanı uzunluk polimorfizmi (RFLP) bazlı PZR yöntemi kullanılmıştır. Çalışmalarında KK (GG), NK (GC) ve NN (CC) genotiplerin KAH grubunda görülme sıklığını sırası ile %74.7, 2.2 ve 23.1, kontrol grubunda ise %54.2, 2.8 ve 43.1 olarak bulmuşlardır. KAH grubunda GG genotipinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu ve KAH için yaklaşık 2.5 kat risk ($p=0.006$) oluşturduğunu saptamışlardır. G ve C allellerin görülme sıklığını KAH grubunda %75.8 ve %24.2, kontrol grubu için ise %55.6 ve %44.4 olarak belirlemişlerdir. G allelin KAH için 2.5 kat ($p=0.007$) daha fazla risk taşıdığını belirtmişlerdir. G501C varyantların KAH için koruyucu etkiye sahip olabileceğini önermişlerdir.

Çalışma grubumuzu oluşturan tüm KAH ve kontrol grupların OLR1 genine ait G501C bölgesine ait G/C allellerinin oluşturduğu genotiplerle olması beklenen genotipler arasındaki uyum (Hardy-Weinberg dengesi) incelendi ve tüm genotipik dağılımın Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edildi (çizelge 4.7).

Çalışmamızda, GG, GC ve CC genotiplerinin KAH grubunda görülme sıklığı sırası ile %87, 11 ve 2, kontrol grubunda ise %68.4, 29.6 ve 2 olarak belirlendi. KAH grubunda GG genotipinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve KAH için yaklaşık 3.42 kat risk oluşturduğu saptandı ($p=0.002$). GC ve CC genotiplerinin varyant genotipler (GC+CC) olarak değerlendirildiğinde, kontrol ve hasta gruplarındaki G501C genotip sıklıkları sırası ile GG için %68.4-87, GC+CC varyant genotipi için % 31.6-13 olarak saptandı. KAH grubunda GG genotipini taşıyanların kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve KAH için yaklaşık 3.1 kat risk oluşturduğu belirlendi ($p=0.002$, çizelge 4.8). Allel sıklıkları açısından değerlendirdiğimizde, G ve C allellerinin görülme sıklığını KAH grubunda %92.5 ve %7.5, kontrol grubunda ise %83.2 ve %16.8 olarak belirlendi. G allelin KAH için 2.69 kat daha fazla risk taşıdığı saptandı ($p=0.002$, çizelge 4.8). Yaptığımız çalışma sonucunda G501C varyantların ve C allelin KAH için koruyucu etkiye sahip olabileceği düşüncesindeyiz.

OLR1 G501C polimorfizmi ile KAH arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların çelişkili sonuçlar bulduğu belirlendi. Çalışmaların çoğu KAH için CC genotipini koruyucu bulurken, çok azı herhangi bir ilişki saptamamış ya da CC genotipinin risk taşıdığını saptamışlardır. Yapılan çalışmalarda G501C OLR1 gen polimorfizmin etnik farklılıklar gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızın, yapılan çalışmaların çoğu ile uyumlu

olduğunu bir kısmı ile çelişmesinin nedenin ise etnik farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Kurnaz ve ark. (218) çalışmalarında GC ve CC genotiplerinin KAH için koruyucu olması ve GG genotipinin risk taşıması açısından benzer sonuçları saptadık. Ancak OLR1 G501C genotip sıklıkları açısından ise farklı sonuçlar gözlemledik. Çalışmalarında kontrol ve hasta grubunda CC genotipinin sıklığı sırası ile %43.1-%23.1 iken GC genotip sıklığı %2.2- % 2.8 olarak belirtmişleridir. Çalışmamızda GC ve CC genotiplerinin görülme sıklığını kontrol grubunda %29.6 ve 2'i olarak, KAH grubunda ise %11 ve 2'i olarak saptandı. Çalışmamızda CC genotipini KAH grubunda (%2) ve kontrolde (%2) çok az sayıda bulurken, Kurnaz ve ark. çok fazla sayıda mutant, az sayıda ise heterozigot bulmuşlardır. Şu ana kadar popülasyon temelli ve KAH ile ilişkili dünyada yapılan tüm çalışmalarda CC allel sıklığının %2-10 arasında olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda, Predazzi ve ark. (217) İtalya'da yaşayan Türklerde GG ve GC genotiplerinin görülme sıklıklarını sırası ile %95.4 ve 4.6 olarak saptamışlar ve CC genotipine rastlanmadığını belirlemişlerdir. Knowles ve ark.'nın (216) ırk ve etnik yapıya göre popülasyon bazlı çalışmalarında, CC genotipine rastlanmaz iken, GC genotipinin görülme sıklığını beyaz ırk kontrol ve KAH'da sırası ile %19 ve 13 olarak, Doğu Asyalılarda ise %32 ve 20 olarak saptamışlar. Türkler hem beyaz ırka hem de etnik olarak Doğu Asyalılara dahil olduğundan, çalışmamızın yapılan çalışmalara daha uyumlu olduğu Kurnaz ve ark.'nın sonuçları ile çelişkili olduğu belirlendi. Çalışma bulgularımızın farklı olmasının olası nedenleri; a) Kurnaz ve ark. (218) kontrol grubunu koroner anjiyografi uygulamadan oluştururken, çalışmamızda kontrol grubu koroner anjiyografi sonuçlarına göre koronerlerinden herhangi birinde lezyon olmayan bireylerden oluşturuldu. Kurnaz ve ark çalışma grubu, anjiyografi sonucu koroner arterlerinin herhangi birinde ≥ 50 darlık olan hastaları alırken, çalışmamızda ≥ 70 darlık olan hastalar dahil edildi. Kontrol ve hasta grubu oluşturma açısından çalışmamızın Kurnaz ve ark.'nın (218) çalışmalarından daha spesifik olarak dizayn edildiği kanaatindeyiz. b) Bir diğeri ise, çalışmamızda gerçek zamanlı PZR ve hibridizasyon prob yöntemi ile OLR1 G501C genotip belirleme yöntemini kullanırken, Kurnaz ve ark ise restriksiyon enzimine dayalı geleneksel RFLP-PZR yöntemini kullanmışlardır. Ancak RFLP-PZR yönteminde tamamlanmamış enzim kesimi gibi olası problemler yanlış genotiplendirmeye neden olabilmektedir. Bianchi ve ark. (219) 2010 yılında

protrombotik polimorfizmlerine ait genotip belirlemede PZR-RFLP ve real time PZR yöntemlerini karşılaştıran çalışmalarında, real time PZR tekniğinin RFLP'ye göre daha sensitif olduğunu saptamışlardır. Çalışma bulgularımızın farklı olmasının bir diğer nedeninin OLR1 G501C genotip belirleme yöntemlerimizin farklılığından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

OLR1 G501C varyantların KAH'da sLOX-1 düzeylerinin üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır.

Brinkley ve ark (200) sağlıklı bireylerde OLR1 gen varyasyonunun plazma sLOX-1 düzeyleri ile ilişkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, çalışmaya yaşları 50 ile 70 yaş arasında değişen 97 erkek ve kadından oluşan, sedanter, sigara içmeyen, diyabeti, hipertansiyonu, hiperlipidemisi, kalp, karaciğer, renal, akciğer rahatsızlığı olmayan, KAH ve kronik hastalıktan yoksun sağlıklı bireyleri dahil etmişlerdir. GG genotipinin görülme sıklığı %70 iken, GC genotipinin görülme sıklığını %20 olarak saptamışlardır. Bireylerin OLR1 G501C genotiplerine göre sLOX-1 düzeylerinin karşılaştırılmasında, GC genotipine sahip bireylerin plazma sLOX-1 düzeylerinin GG genotipine sahip bireylere göre anlamlı yüksek olduğunu belirlemişlerdir ($p < 0.05$). C allel frekansı %10 olduğundan bu çalışmanın en büyük eksikliği GG ve GC arasındaki sLOX-1 düzeylerini ayırmada güçsüzlüğüdür.

Biocca ve ark. (220) insan endotel ve fibroblast kültüre hücrelerinde sLOX-1 ve OLR1 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmalarında, wild (GG), heterozigot (GC) ve mutant (CC) LOX-1 transfekte ettikleri fibroblast kültüre hücrelerini floresan işaretli 1,1'-dioktadesil-3,3,3'-tetrametil-indokarbosiyanin perklorat-konjuge LDL (dil-okside LDL) ile inkübe etmişler ve inkübasyon sonrası GG, GC ve CC genotiplerinin okside LDL bağlama ve okside LDL'nin hücre içindeki birikimini ölçmüşlerdir. Ölçüm sonucuna göre GG genotipin GC ve CC genotiplerine göre daha fazla miktarda okside LDL'yi bağladığını ve hücre içinde daha çok biriktiğini belirlemişlerdir. Bu farkı anlamlı olarak saptamışlardır ($p < 0.05$). GC genotipinin görülme sıklığını CC genotipine göre yüksek bulmalarına rağmen, bu farkın anlamlı olmadığını belirlemişlerdir. Aynı çalışmada, okside LDL indüklü LOX-1'in hücre içi sinyal yolağı olan ERK1/2 üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Aynı şekilde GG, GC ve CC LOX-1 transfekte ettikleri fibroblast kültüre hücrelerini LDL ya da LDL olmadan ve okside LDL ile inkübe etmişlerdir. İnkübasyon sonrası okside LDL'ye

maruz bırakılan GG genotipli hücrelerinin LDL'ye maruz kalan hücrelere göre ERK1/2 aktivitesinin 8 kat arttığını, okside LDL ile inkübe edilen GC ve CC genotiplerine göre de anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır ($p < 0.05$). Çalışmanın bir diğer basamağında, doz bağımlı okside LDL'ye maruz bırakılan GG ve GC genotiplerini taşıyan insan makrofaj kültür hücrelerinde bu dozların LOX-1 üzerindeki etkilerini değerlendirilmiştir. Bu çalışma için, OLR1 G501C varyantları taşıyan bireylerin periferal kan mononükleer hücrelerinden insan monositleri izole edilmiştir. Daha sonra bu monositler *in vitro* ortamda makrofajlara transistasyonu için kültüre edilmiştir. Hücrelerin artan dozlarda okside LDL ile inkübasyonu sonrası okside LDL düzeyleri arttıkça GG genotipli makrofaj hücrelerinde LOX-1 düzeylerinin katlanarak arttığını GC genotipli hücrelerin ise değişmediğini, ancak GC ve CC genotipi taşıyan hücrelerin daha düşük LOX-1 aktivitesine sahip olduğunu saptamışlardır.

Yaptığımız çalışmada, OLR1 G501C genotiplerine ait KAH grubununun serum sLOX-1 düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, GG genotipine sahip hastaların serum sLOX-1 düzeylerinde anlamlı derecede artış saptandı ($p < 0.001$). GC ve CC genotiplerine sahip KAH ve kontrol grublarının sLOX-1 düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). KAH grubu kendi arasında genotiplerine göre sLOX-1 düzeyleri karşılaştırıldığında, GG genotipine sahip hastaların serum sLOX-1 düzeylerinin GC ve CC genotipine sahip hastalara göre daha yüksek olduğu ($p < 0.001$), GC ve CC genotiplerine sahip hastalar arasında ise anlamlı bir fark bulunmadığı belirlendi ($p = 0.960$, çizelge 4.11).

Akut faz reaktanı ve inflamasyon belirteci olan CRP'nin lokal adhezyon moleküllerinin ekspresyonunun arttırması, endotel NO biyoaktivitesinin azaltması, makrofajlar tarafından modifiye LDL alımını etkilemesi gibi bir çok mekanizma üzerinden ateroskleroz patogeneze katıldığı gözlenmiştir (221). Çalışmamızda, KAH'larda CRP düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğunu saptadık (çizelge 4.3, $p = 0.003$). Çalışmamızda GG genotipine sahip KAH'larında artmış sLOX-1 düzeylerinin CRP indüklü LOX-1 gene ekspresyonunun artışına (222) bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Yapılan çalışmalarda, OLR1 genin 501 pozisyonundaki G→C SNP'in 167. kodonundaki lizin-asparagin (K167N) aminoasit değişimi ile sonuçlandığı belirlenmiştir (14). Bu polimorfizmin LOX-1 ligand bağlama domaini olan CTRD'de lokalize

olduğundan, okside LDL bağlanmasını ve alımını ve daha sonra LOX-1 aktivitesini bozduğu ya da azalması ile sonuçlandığı belirlenmiştir (131-134). Çalışma bulgularımız, OLR1 gen varyantlarının sLOX-1 düzeylerini etkileyebildiğini gözlemledik. Sonuç olarak, GG genotipinin GC ve CC genotiplerine göre okside LDL'yi bağlama ve alımında, sinyal yolağı üzerinde ve okside LDL indüklü LOX-1 üzerindeki etkilerinin daha fazla olduğunu ve KAH gelişiminde etkili olduğunu düşünmekteyiz. LOX-1 inhibisyonunun KAH için terapötik bir strateji olabileceği düşüncesindeyiz.

Koroner arter hastalığının şiddeti ile OLR1 genotipleri arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalar bulunmaktadır. Bunlardan, Ohmori ve ark.'nın (16) yaptıkları bir çalışmada, OLR1 G501C varyantları ile KAH'nın şiddeti arasında ters ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmaya alınan 587 hasta koroner anjiyografi sonuçlarına göre majör koroner arterlerin herhangi birinde <%25 darlığı olan 128 bireyi normal/minimal darlık olan grup, %26-50 darlığı olan 39 kişiyi orta darlık olan grup ve darlığı >% 50 yüksek olan 419 kişiyi ciddi kritik darlığı olan grup olarak üç alt gruba ayrılmıştır. OLR1 gen varyantlarına sahip ciddi darlığı olan hastaların normal/minimal darlığı olan bireylere göre daha az (%36 ve 49) olduğunu ve istatistiksel olarak bu farkın anlamlı olduğunu belirlemişlerdir ($p < 0.025$). Aynı çalışmada kritik darlığı bulunan hastaları damar tıkanıklığına göre tek, iki ve üç damar tıkanıklığı olarak alt gruplara ayırmışlardır. Tek, iki ve üç damarı tıkalı olan hastalarda OLR1 varyant genotiplerinin görülme sıklıklarını sırası ile %39, 35 ve 32 olarak saptamışlardır. OLR1 G501C varyanta sahip hasta yüzdesi azaldıkça KAH şiddetinin arttığını belirlemişlerdir.

Trabetti ve ark. (215) GG genotipine sahip 3 damar tıkanıklığı olan KAH'larının tek ya da iki damar tıkanıklığı olan hastalara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu belirlemişlerdir ($p=0.045$).

Çalışmamızda, KAH grubunda tek ve çoklu damar tıkanıklığı olan hastalarda GG genotipinin GC+CC genotipine göre daha yüksek oranda olduğu saptandı ($p < 0.01$, çizelge 4.12). Aynı zamanda 3 damar ve üstü tıkalı olan bireylerinin çoğunun KAH açısından riskli GG genotipine sahip olduğu belirlendi. Çalışma bulgularımızın, yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu gözlemlendi. GG genotipine sahip hastaların KAH şiddetini arttırdığı düşüncesindeyiz.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sonucunda;

- ✓ Çalışmaya katılan KAH ve kontrol grubunda erkek olma, hipertansiyon, sigara kullanımı ve diyabet gibi KAH için risk faktörleri değerlendirilmesinde, bu faktörlerin KAH gelişimi için, erkek cinsiyetin 4.7, diyabetin 2.55, hipertansiyonun 2.3 ve sigaranın 2.82 kat risk oluşturduğu saptandı.
- ✓ AKŞ, okside LDL ve sLOX-1 düzeyleri, KAH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.
- ✓ KAH grubunda sLOX-1 düzeyleri ile okside LDL düzeyleri arasında güçlü bir pozitif korelasyon saptandı.
- ✓ KAH grubunda statin kullanımının sLOX-1 düzeyleri üzerine etkisinin olmadığı saptandı.
- ✓ KAH tanısına göre SAP, USAP ve akut MI olarak üç alt grubu ayırdığımız bu çalışmada SAP, USAP ve akut MI tanısı alan hastalar arasında sLOX-1 düzeylerinde anlamlı derecede bir fark bulunurken, okside LDL düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı.
- ✓ sLOX-1 ve okside LDL düzeyleri ile KAH grubunda tıkalı damar sayısı arasındaki ilişki değerlendirilmesinde, sLOX-1 düzeylerinin tıkalı damar sayısına göre artış olduğu gözlemlendi. 2 damar tıkalı hastaların sLOX-1 düzeylerinin 1 damarı tıkalı hastalara göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, aynı zamanda 3 damar ve üstü tıkalı olan hastalarda sLOX-1 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. Okside LDL ve tıkalı damar sayısı arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı.
- ✓ Bu çalışmada GG, GC ve CC üç farklı genotip belirlendi. KAH ve kontrol grubunda sadece 2 tane CC genotipi belirlendi.
- ✓ GG genotipi ve G alleli taşıyan bireylerin KAH yakalanma riskine sahip olduğu (GG genotipi için 3.42 ve G alleli için ise 2.69) belirlendi.
- ✓ OLR1 G501 varyantları olan GC+CC genotiplerine göre GG genotipinin yaklaşık 3.1 kat KAH için risk oluşturduğu saptandı.

- ✓ GC ve CC genotiplerinin ve C allelin KAH için koruyucu etkiye sahip olduğu belirlendi.
- ✓ KAH'larının GG ve GC+CC genotiplerine göre yaş, VKI, AKŞ ve lipit profilleri karşılaştırıldı. GG ve GC+CC genotipleri ile yaş, AKŞ, VKI ve lipit profilleri cinsiyet, diyabet, hipertansiyon ve sigara kullanımı arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
- ✓ OLR1 G501C genotiplerine ait KAH grubu serum sLOX-1 düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, GG genotiplilerin serum sLOX-1 düzeylerinde anlamlı derecede artış saptandı. GC ve CC genotiplerinin sLOX-1 düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı.
- ✓ Hasta grubunda GG genotipine sahip bireylerin serum sLOX-1 düzeyleri GC ve CC genotiplerine sahip bireylere göre daha yüksek olduğu, GC ve CC genotipine sahip bireylerin sLOX-1 düzeyleri arasında ise anlamlı bir fark olmadığı belirlendi.
- ✓ KAH grubunda tek ve çoklu damar tıkanıklığı olan hastalarda GG genotipinin GC +CC genotiplerine göre daha yüksek oranda olduğu gözlemdi. GG genotipinin görülme sıklığı ile KAH şiddeti arasında ilişki olduğu saptandı.
- ✓ OLR1 G501C genotipleri KAH'ların tanılarına göre incelendiğinde, SAP, USAP ve akut MI tanısı alan grupların GG ve GC+CC genotipleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Yukarıda sıraladığımız sonuçlar doğrultusunda, OLR GC ve CC genotiplerinin KAH açısından korucuyucu iken, GG genotipinin KAH için genetik risk faktörü olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamız kapsamında bu ilişkinin ortaya konması KAH genetik alt yapısının aydınlatılmasına ışık tutacak, KAH'ın erken teşhis edilmesine ve tedavisinde yeni yaklaşımlar oluşturulmasına katkıda bulunacaktır. Genetik yatkınlığı olan hastaların erken teşhis edilmesi, alınacak önlemler ile koroner arter hastalığının sebep olduğu mortalite ve morbiditenin azaltılması açısından önemlidir.

Yeni bir çalışmada, daha ileri ve daha geniş çalışma grubu ile KAH hastalarında OLR1 G501C prevalansı saptanarak KAH gelişiminde major risk oluşturup oluşturmadığı belirlenebilir.

7. KAYNAKLAR

1. **Robert E, Rozensweig G, Rozensweig A.** Coronary Atherosclerosis. In: Jameson JL. Eds *Principles of Molecular Medicine*, New Jersey: Humana Press Tawata, **1998**:133-140.
2. **Fuster V, Lewis A.** Conner Memorial Lecture: Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation*, **1995**;91:256-264.
3. **Onat A, Dursunoğlu D, Bulur S, Küçükdurmaz Z, Kaya Z.** TEKHARF çalışması 2007 taraması: Mortalite ve koroner mortalitede azalma eğilimi sürüyor. *Türk Kardiyol Dern Arş*, **2008**;36:77-81
4. Türk halkında kalp kökenli ölümler. Türk Kalp Raporu, Yenilik basımevi, 11-15: **2000**
5. **Ford ES.** Leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate and diabetes incidence in a national sample of U.S. adults. *Am J Epidemiol*, **2002**; 155:57-64.
6. **Crook MA, Tutt P, Pickup JC.** Elevated serum sialic acid concentration in NIDDM and its relationship to blood pressure and retinopathy. *Diabetes Care*, **1993**; 16:57-60.
7. **Jessup W, Kritharides L, Stocker R.** Lipid oxidation in atherogenesis: An overview. *Biochemical Society Transactions*, **2004**; 32:134-138.
8. **Binder CJ, Chang M, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K.** Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nature Medicine*, **2002**;8(11):1218-1226.
9. **Rifai N, Bachorik PS, Albers JJ.** Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood. Eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd Ed. Philadelphia: WB Saunders Company, **2005**:462-485.
10. **Chen M, Masaki T, Sawamura T.** LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Pharmacol Ther*, **2002**;95:89-100.
11. **Mehta JL, Li D.** Identification, regulation and function of a novel lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor. *J Am Coll Cardiol*, **2002**;39:142-35.
12. **Steinbrecher UP.** Receptors for oxidized low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta* 1999;1436:279-298.
13. **Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, Minami M, Moriwaki H, Murase T.** Expression of lectin like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in human atherosclerotic lesions. *Circulation*, **1999**; 99: 3110-3117.

14. **Tatsuguchi M, Furutani M, Hinagata J, Tanaka T, Furutani Y, Imamura S, Kawana M, Masaki T, Kasanuki H, Sawamura T, Matsuoka R.** Oxidized LDL receptor gene (OLR1) is associated with the risk of myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun*, **2003**;303:247-250.
15. **Puccetti L, Pasqui AL, Bruni F, Pastorelli M, Ciani F, Palazzuoli A.** Lectin-like oxidized-LDL receptor-1 (LOX-1) polymorphisms influence cardiovascular events rate during statin treatment. *Int J Cardiol*, **2006**;25;119(1):41-7.
16. **Ohmori R, Momiyama Y, Nagano M, Taniguchi H, Egashira T, Yonemura A.** An oxidized low-density lipoprotein receptor gene variant is inversely associated with the severity of coronary artery disease. *Clin Cardiol*, **2004**;27(11):641-4.
17. **Chen Q, Reis SE, Kammerer C, Craig WY, LaPierre SE, Zimmer EL.** Genetic variation in lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 (LOX1) gene and the risk of coronary artery disease. *Circulation*, **2003**;107 (25):3146-51.
18. **Novelli G, Borgiani P, Mango R, Romeo F, Mehta JL.** OLR1 gene and coronary artery disease/acute myocardial infarction: replication in an independently collected sample. *Eur J Hum Genet*, **2006**;14(8):894-5.
19. **Mango R, Clementi F, Borgiani P, Forleo GB, Federici M, Contino G, Giardina E, Garza L, Fahdi IE, Lauro R, Mehta JL, Novelli G, Romeo F.** Association of single nucleotide polymorphisms in the oxidized LDL receptor 1 (OLR1) gene in patients with acute myocardial infarction. *J Med Genet*, **2003**;40:933-936.
20. American Heart Association. Heart diseases and stroke statistics-2004 update. Dallas, American Heart association, **2004**.
21. **Özcan N Pay S, Çalışkaner Z.** Koroner Kalp Hastalıklarında Risk Faktörleri, Korunma ve Tedavi. In: Özcan N Eds. *Koroner Kalp Hastalıkları*, Ankara, **1997**:31-58.
22. **McEwan SR, Davies HT, Allan E, Maclean D, Forbes CD.** Measurement and management of cardiovascular risk factors-is screening worthwhile?. *Scott Med J*, **1993**;38(6):173-7.
23. **Murray CJ, Lopez AD.** Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study, *Lancet*. **1997**;349:1436-1442.
24. **Gaw A.** Hyperlipidemia as a risk factor for vascular disease. In: Gaw A, Packard CJ, Shepherd J. Eds *Statins: The HMG CoA Reductase Inhibitors in Perspective*, 2nd Ed. London: Martin Dunitz, **2000**; 7-8.
25. **Virchow R.** *Cellular Pathology as Based Upon Physiological and Pathological Histology*. London: John Churchill, **1860**:325.

26. **Rokitansky K.** *The Organs of Circulation: A Manuel of Pathological Anatomy, Vol IV.* Philadelphia: Blanchard & Lea, **1855**.
27. **Osler W.** *The Principles and Practice of Medicine.* Baltimore: Appleton, **1892**.
28. **Anitschkow N, Chalатов S.** On experimental cholesterin steatosis and its significance in the origin of some pathological processes. *Zentrbl Allg Pathol Pathol Anatl*, **1913**;24:1-9.
29. **Hameed A, Elkayam U.** Peripartum cardiomyopathy. In: Crawford M, DiMarco J. Eds. *Cardiology*, 1st Ed. London: Mosby, **2001**:513
30. **Ross R.** Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*, **1999**; 340:115-126.
31. **Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis. A perspective for the 1990s. *Nature*, **1993**; 362:801-9.
32. **Brown MS, Goldstein JL.** A receptor-mediated pathway for cholesterol hemostasis. *Science*, **1986**; 223: 34-47.
33. **Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis. In: Braunwald E. Eds. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 5th Ed. Philadelphia: WB Saunders Company, **1997**;1105-1125.
34. **Binder CJ, Chang M, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K.** Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nature Medicine*, **2002**; 8 (11):1218-1226.
35. **Vallance P.** Vascular endothelium, its physiology and pathophysiology. In: Wetherall DJ, Ledingham JGG, Warrell DA. Eds. *Oxford Textbook of Medicine*. Oxford: Oxford University Press, **1995**;2295-2300.
36. **Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis-an update. *N Engl J Med*, **1986**;314(8):488-500.
37. **Osiecki H.** The role of chronic inflammation inflammation in cardiovascular disease and its regulation by nutrients. *Alternative Medicine Review*, **2004**; 9(1):32-53.
38. **Worthley SG, Osende JI, Helft, Badimon JJ, Fuster V.** Coronary Artery Disease: Pathogenesis and Acute Coronary Syndromes. *The Mount Sinai Journal of Medicine*, **2001**;68:167-181.
39. **Schwenke DC, Carew TE.** Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbits. I. Focal increases in arterial LDL concentration precede development of fatty streak lesions. *Arteriosclerosis*, **1989**;9(6):895-907.
40. **Öngen Z.** Aterosklerotik Kalp Hastalıkları. In: Erol Ç. Eds. *Klinik Kardiyoloji*, 1nd Ed. Ankara ;Nobel **2004**;1-15.

41. **Tsao PS, Wang B, Buitrago R, Shyy JY, Cooke JP.** Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1. *Circulation*, **1997**;96(3):934-40.
42. **Tsao PS, Buitrago R, Chan JR, Cooke JP.** Fluid flow inhibits endothelial adhesiveness. Nitric oxide and transcriptional regulation of VCAM-1. *Circulation*, **1996**;94(7):1682-9.
43. **De Caterina R, Libby P, Peng HB, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA Jr, Shin WS, Liao JK.** Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest*, **1995**;96(1):60-8.
44. **Li H, Förstermann U.** Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol*, **2000** ;190(3):244-54.
45. **Gimbrone MA Jr.** Vascular endothelium, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Am J Pathol*, **1999**;155(1):1-5.
46. **Libby P, Warner SJ, Saloman RN, Brinyi LK.** Production of platelet-derived growth factor like mitogen by smooth muscle cells from human atheroma. *NEJM*, **1988**;18: 333-338.
47. **Shanahan CM, Weissberg PL.** Smooth muscle cell heterogeneity: patterns of gene expression in vascular smooth muscle cells in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1998** ;18(3):333-8.
48. **Stary HC.** Atlas of atherosclerosis progression and regression, 2nd Ed. New York: Parthenon Publishing, **2003**;13-15.
49. **Zaman AG, Helft G, Worthley SG, Badimon JJ.** The role of plaque rupture and thrombosis in coronary artery disease. *Atherosclerosis*, **2000**;149(2):251-66.
50. **Larsson PT, Wallen NH, Hjerdahl P.** Norepinephrine-induced human platelet activation in vivo is only partly counteracted by aspirin. *Circulation*, **1994**;89(5):1951-7.
51. **Grignani G, Soffiantino F, Zucchella M, Pacchiarini L, Tacconi F, Bonomi E, Pastoris A, Sbaffi A, Fratino P, Tavazzi L.** Platelet activation by emotional stress in patients with coronary artery disease. *Circulation*, **1991**;83:128-36.
52. **Fuster V, Chesebro JH, Frye RL, Elveback LR.** Platelet survival and the development of coronary artery disease in the young adult: effects of cigarette smoking, strong family history and medical therapy. *Circulation*, **1981**;63(3):546-51.
53. **Celi A, Pellegrini G, Lorenzet R, De Blasi A, Ready N, Furie BC, Furie B.** P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, **1994**;13;91(19):8767-71.

54. **Furman MI, Benoit SE, Barnard MR, Valeri CR, Borbone ML, Becker RC, Hechtman HB, Michelson AD.** Increased platelet reactivity and circulating monocyte-platelet aggregates in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, **1998**;31(2):352-8.
55. **Henn V, Slupsky JR, Grafe M, Anagnostopoulos I, Förster R, Müller-Berghaus G, Kroczeck RA.** CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature*, **1998**;391(6667):591-4.
56. **Salonen JT, Ylä-Herttuala S, Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R, Nyssönen K, Palinski W, Witztum JL.** Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet*, **1992**;339(8798):883-7.
57. **Frostegard J, Ulfgren AK, Nyberg P.** Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: Dominance of proinflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. *Atherosclerosis*, **1999**;145:33-43.
58. **Naruko T, Ueda M, Haze K.** Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation*, **2002**;106: 2894-99.
59. **Libby P.** Atheroma: more than mush. *Lancet*. **1996**;348 (1):4-7.
60. **Celermajer DS.** Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible?. *J Am Coll Cardiol*, **1997**;30(2):325-33.
61. **Braun M, Pietsch P, Schrör K, Baumann G, Felix SB.** Cellular adhesion molecules on vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res*, **1999**;41(2):395-401.
62. **Hillis GS, Flapan AD.** Cell adhesion molecules in cardiovascular disease: a clinical perspective. *Heart*, **1998**;79(5):429-31.
63. **Frenette PS, Wagner DD.** Adhesion molecules-Part 1. *N Engl J Med*, **1996**;334(23):1526-9.
64. **Frenette PS, Wagner DD.** Adhesion molecules-Part II: Blood vessels and blood cells. *N Engl J Med*, **1996**;335(1):43-5.
65. **Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Wilcox JN.** Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest*, **1991**;88(4):1121-7.
66. **Libby P.** Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*, **1995**;91(11):2844-50.
67. **Falk E, Shah PK, Fuster V.** Coronary plaque disruption. *Circulation*, **1995**;92(3):657-71.
68. **Mulvihill NT, Foley JB.** Inflammation in acute coronary syndromes. *Heart*, **2002**;87(3):201-4.

69. **Robbins M, Topol EJ.** Inflammation in acute coronary syndromes. In: Topol EJ, Eds. *Acute Coronary Syndromes*. 2nd Ed. New York: Marcel Dekker, **2001**;1 -31.
70. **Libby P.** The vascular Biology of Atherosclerosis. In: Braunwald E, Bonow RO, Libby P, Zipes DP. Eds. *Braunwald's Heart Disease*. 7th Ed. Philadelphia: Sanders, **2005**;921-939.
71. **Davies MJ.** Atlas of Coronary Artery Disease, atherosclerosis, Lippincott Raven Publishers **1998**.
72. **Clarkson P, Celermajer DS, Powe AJ, Donald AE, Henry RM, Deanfield JE.** Endothelium-dependent dilatation is impaired in young healthy subjects with a family history of premature coronary disease. *Circulation*, **1997**;96(10):3378-83.
73. **Balletshofer BM, Rittig K, Enderle MD, Volk A, Maerker E, Jacob S.** Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance. *Circulation*, **2000**;101(15):1780-1784.
74. **Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr, Lerman A.** Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation*, **2000**;101(9):948-954.
75. **Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE.** Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*, **1993**;88:2149-55.
76. **Bellamy MF, McDowell IF, Ramsey MW, Brownlee M, Bones C, Newcombe RG, Lewis MJ.** Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation*, **1998**;98(18):1848-52.
77. **Vink H, Constantinescu AA, Spaan JA.** Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer : implications for platelet-endothelial cell adhesion. *Circulation*, **2000**;101(13):1500-2.
78. **Kuhn FE, Mohler ER, Satler LF, Reagan K, Lu DY, Rackley CE.** Effects of high-density lipoprotein on acetylcholine-induced coronary vasoreactivity. *Am J Cardiol*, **1991**;68(15):1425-30.
79. **Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JC.** Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*, **1997**;95(8):2068-74.
80. **Wenzel RR, Duthiers N, Noll G, Bucher J, Kaufmann U, Lüscher TF.** Endothelin and calcium antagonists in the skin microcirculation of patients with coronary artery disease. *Circulation*, **1996**;94(3):316-22.

81. **Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP.** Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation*, **1998**;98(18):1842-7.
82. **Vergnani L, Hatrik S, Ricci F, Passaro A, Manzoli N, Zuliani G, Brovkovych V, Fellin R, Malinski T.** Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production: key role of L-arginine availability. *Circulation*, **2000**;101(11):1261-6.
83. <http://www.evgn.org/endothelial-dysfunction-for-general-public> (erişim tarihi: 17/12/2010)
84. **Steinberg D, Lewis A.** Conner Memorial Lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation*, **1997**; 95(4), 1062-71.
85. **Parthasarathy S.** Low density lipoproteins and atherogenesis. In: Wilson PWF. *Atlas of atherosclerosis*. 2nd. Ed. Philadelphia: Current Medicine, **2000**; 91-109.
86. **Takahashi M, Kitagawa S, Masuyama JI, Ikeda U, Kasahara T, Takahashi YI, Furukawa Y, Kano S, Shimada K.** Human monocyte-endothelial cell interaction induces synthesis of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Circulation*, **1996**;93(6):1185-93.
87. **Witztum JL.** The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*, **1994**;344(8925):793-5.
88. **Witztum JL, Steinberg D.** Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest*, **1999**;88(6):1785-92.
89. **Annex BH, Denning SM, Channon KM, Sketch MH Jr, Stack RS, Morrissey JH, Peters KG.** Differential expression of tissue factor protein in directional atherectomy specimens from patients with stable and unstable coronary syndromes. *Circulation*, **1995**;91(3):619-22.
90. **Ball RY, Stowers EC, Burton JH, Cary NR, Skepper JN, Mitchinson MJ.** Evidence that the death of macrophage foam cells contributes to the lipid core of atheroma. *Atherosclerosis*, **1995**;114(1):45-54.
91. **Davies MJ, Thomas AC.** Plaque fissuring-the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J*, **1985**;53(4):363-73.
92. **Mann JM, Davies MJ.** Vulnerable plaque. Relation of characteristics to degree of stenosis in human coronary arteries. *Circulation*, **1996**;94(5):928-31.
93. **O'Brien KD, McDonald TO, Chait A, Allen M, Alpers C.** Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation*, **1996**;93:672-82.
94. **Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA.** Atherothrombosis and high risk plaque: Part I: Evolving concepts. *J Am Coll Cardiol*, **2005**;46:937-54.

95. **Fuster V, Fayad ZA, Badimon JJ.** Acute coronary syndromes: biology. *Lancet*, **1999**;353 (1 2):5-9.
96. **Weissberg P.** Mechanisms modifying atherosclerotic disease-from lipids to vascular biology. *Atherosclerosis*, **1999**;147 (1):S3-10.
97. **Shah PK.** New insights into the pathogenesis and prevention of acute coronary syndromes. *Am J Cardiol*, **1997**;79(12B):17-23.
98. **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. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1995** ;15(9):1512-31.
99. 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. National Cholesterol Education Program National Heart, Lung, and Blood Institute. National Institutes of Health, NIH Publication No. 02- 5215. **2002**
100. **Williams KJ, Tabas I.** The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1995**;15:551-61.
101. **Goldstein JL, Brown MS.** Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu.Rev.Biochem*, **1983**;52:223-261.
102. **Abujua PM, Albertini R.** Methods for monitoring oxidative stress, Lipid peroxidation and oxidatin resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, **2001**; 306:1-17.
103. **Esterbauer H, Wag G, Puhl H.** Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Br Med Bull*, **1993**;49(3):566-576.
104. **Uysal M.** Serbest radikaller, lipidperoksitleri ve organizmada pro-oksidanantioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*, **1998**;11:336-341.
105. **Dormandy TL.** An approach to free radicals. *The Lancet*, **1983**;29:1010-1013.
106. **Chen YT, Zheng RL, Jia ZJ, Ju Y.** Flavonoids as superoxide scavengers anad antioxidants. *Free Radic Biol Med*, **1990**; 9(1): 19-21.
107. **Tsujimoto Y, Hashizume H, Yamazaki M.** Superoxide radical scavenging activity of phenolic compounds. *Int J Biochem*, **1993**; 25(4): 491-494.
108. **Del Maestro R.** Free radicals as mediators of tissue injury. In: Dreosti IE. Eds. *Trace elements, micronutrients and free radicals*. Clifton: Humano Press Inc, **1991**; 25-51.

109. **Rosengreen A, Wilhelmsen L, Eriksson E.** Lipoprotein (a) and coronary heart disease: a prospective case-controlled study in a general population sample of middle aged men. *Br Med J*, **1990**;301:1248.
110. **Heinecke JW, Rosen H, Chait A.** Iron and copper promote modification of low density lipoprotein by human arterial smooth muscle cells in culture. *J. Clin. Invest*, **1984**; 74: 1890-1894.
111. **Akkuş İ.** *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri.* Konya: Mimoza Yayınları, **1995**.
112. **Hinder RA, Stein HJ.** Oxygen derived free radicals. *Arch Surg*, **1991**; 126: 104-106.
113. **Cooke JP, Tsao PS.** Is NO an endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler. Thromb*, **1994**; 14: 653-655.
114. **Chang GJ, Woo P, Honda HH, Ignarro LJ, Berliner JA, Demer LL.** Oxidation of LDL to a biologically active form by nitric oxide and nitrite and in the absence of superoxide-dependence on pH and oxygen. *Arterioscler. Thromb*, **1994**; 1808-1804.
115. **Sakurai T, Kimura S, Nakano M, Kimura H.** Oxidative modification of glycated low density lipoprotein in the presence of iron. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, **1991**;177: 433-439.
116. **Cao G, Sofic E, Prior RL.** Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure activity relationship. *Free Radic Biol Med*, **1997**; 22(5): 749-760.
117. **Steinberg D, Witztum JL.** Lipoproteins, lipoprotein oxidation, and atherogenesis. In: Chien KE. Eds. *Molecular Basis of Cardiovascular Disease*. Philadelphia: W.B. Saunders, **1999**:428-476.
118. **Sawamura T, Kume N, Aoyama T, Moriwaki H, Hoshikawa H, Aiba Y.** An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Nature*, **1997**; 386: 73-77.
119. **Mehta JL, Li DY.** Identification and autoregulation of receptor for Ox-LDL in cultured human coronary artery endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, **1998**;248:511-4.
120. **Li DY, Sawamura T, Mehta JL.** Upregulation of endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein (LOX-1) in cultured human coronary artery endothelial cells by angiotensin II type-1 receptor activation. *Circ Res*, **1999**;84:1043-9.
121. **Yoshida H, Kondratenko N, Green S, Steinberg D, Quehenberger O.** Identification of the lectin-like receptor for oxidized low-density lipoprotein in human macrophages and its potential role as a scavenger receptor. *Biochem J*, **1998**;334 (1):9-13.
122. **Chen M, Kakutani M, Naruko T.** Activation-dependent surface expression of LOX-1 in human platelets. *Biochem Biophys Res Commun*, **2001**;282:153-8.

123. **Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, Minami M, Morimoto M, Hayashida K.** Oxidized LDL modulates Bax/Bcl-2 through the lectin-like Ox-LDL receptor-1 in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2001**; 21:955-960.
124. **Chen K, Chen J, Liu Y, Xie J, Li D, Sawamura T.** Adhesion molecule expression in fibroblasts. Alteration in fibroblast biology after transfection with LOX-1 plasmids. *Hypertension*, **2005** ;46(3): 622-7.
125. **Chen M, Kakutani M, Minami M.** Increased expression of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 in initial atherosclerotic lesions of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2000**;20:1107-15.
126. **Nagase M, Hirose S, Sawamura T, Masaki T, Fujita T.** Enhanced expression of endothelial oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) in hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun*, **1997**;237:496-8.
127. **Li D, Chen H, Staples ED, Ozaki K, Annex B, Singh BK.** Oxidized low-density lipoprotein receptor LOX-1 and apoptosis in human atherosclerotic lesions. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* **2002**;7:147-53.
128. **Mingyi C, Tomoh M, Tatsuya S.** LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Pharmacol Ther*, **2002**; 95:89-100.
129. **Chen M, Narumiya S, Masaki T, Sawamura T.** Conserved C-terminal residues within the lectin-like domain of LOX-1 are essential for oxidized low-density-lipoprotein binding. *Biochem J*, **2001**; 355:289-296.
130. **Shi X, Niimi S, Ohtani T, Machida S.** Characterization of residues and sequences of the carbohydrate recognition domain required for cell surface localization and ligand binding of human lectin-like oxidized LDL receptor. *J Cell Sci*, **2001**; 114:1273-1282.
131. **Chen M, Inoue K, Narumiya S, Masaki T, Sawamura T.** Requirements of basic amino acid residues within the lectin-like domain of LOX-1 for the binding of oxidized low-density lipoprotein. *FEBS Lett*, **2001**; 499:215-219.
132. **Xie Q, Matsunaga S, Shi X, Ogawa S, Niimi S, Wen Z.** Refolding and characterization of the functional ligand-binding domain of human lectin-like oxidized LDL receptor. *Protein Expr Purif*, **2003**;32:68-74.
133. **Chen M, Sawamura T.** Essential role of cytoplasmic sequences for cell-surface sorting of the lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1). *J Mol Cell Cardiol*, **2005**;39:553-61.
134. **Ohki I, Ishigaki T, Oyama T, Matsunaga S, Xie Q, Ohnishi-Kameyama M, Murata T, Tsuchiya D, Machida S, Morikawa K, Tate S.** Crystal structure of human lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor 1 ligand binding domain and its ligand recognition mode to OxLDL. *Structure*, **2005** ;13(6):905-17.

135. **Park H, Adsit FG, Boyington JC.** The crystal structure of the human oxidized low density lipoprotein receptor Lox-1. *J Biol Chem*, **2005**; 280:13593-13599.
136. **Xie Q, Matsunaga S, Niimi S, Ogawa S, Tokuyasu K, Sakakibara Y.** Human lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 functions as a dimer in living cells. *DNA Cell Biol* 2004; 23:111-117.
137. **Moriwaki H, Kume N, Sawamura T, Aoyama T, Hoshikawa H, Ochi H.** Ligand specificity of LOX-1, a novel endothelial receptor for oxidized low density lipoprotein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1998**; 18: 1541-1547.
138. **Kakutani M, Ueda M, Naruko T, Masaki T, Sawamura T.** Accumulation of LOX-1 ligand in plasma and atherosclerotic lesions of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits: identification by a novel enzyme immunoassay. *Biochem Biophys Res Commun*, **2001**; 282:180-185.
139. **Yamanaka S, Zhang XY, Miura K, Kim S, Iwao H.** The human gene encoding the lectin-type oxidized LDL receptor (OLR1) is a novel member of the natural killer gene complex with a unique expression profile. *Genomics*, **1998**; 54:191-199.
140. **Mehta JL, Chen J, Hermonat PL, Romeo F, Novelli G.** Lectin-like, oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1): a critical player in the development of atherosclerosis and related disorders. *Cardiovasc Res*, **2006**;69(1):36-45.
141. **Murase, T, Kume, N, Kataoka, H, Minami, M, Sawamura, T, Masaki, T, Kita, T.** Identification of soluble forms of lectin-like oxidized LDL receptor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2000**;20:715-720.
142. **Kume N, Kita T.** Roles of lectin-like oxidized LDL receptor-1 and its soluble forms in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol*, **2001**;12:419-423.
143. **Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, Minami M, Murase T, Sawamura T.** Biosynthesis and post-translational processing of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 (LOX-1). N-linked glycosylation affects cell-surface expression and ligand binding. *J Biol Chem*, **2000**; 275:6573-6579.
144. **Hayashida K, Kume N, Murase T, Minami M, Nakagawa D, Inada T.** Serum soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 levels are elevated in acute coronary syndrome: a novel marker for early diagnosis. *Circulation*, **2005**; 112:812-818.
145. **Aoyama T, Sawamura T, Furutani Y, Matsuoka R, Fujiwara H, Masaki T.** Structure and chromosomal assignment of the human lectin-like oxidized low-density-lipoprotein receptor-1 (LOX-1) gene. *Biochem J*, **1999**;39:177-84.
146. **Kita T, Kume N, Minami M, Hayashida K, Murayama T, Sano H.** Role of oxidized LDL in atherosclerosis. *N Y Acad Sci*, **2001**; 947:199-205.

147. **Li D, Mehta JL.** Upregulation of endothelial receptor for oxidized LDL (LOX-1) by oxidized LDL and implications in apoptosis of human coronary artery endothelial cells: evidence from use of antisense LOX-1 mRNA and chemical inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2000**;20:1116–22.
148. **Kume N, Murase T, Moriwaki H, Aoyama T, Sawamura T, Masaki T, Kita T.** Inducible expression of lectin-like oxidized LDL receptor-1 in vascular endothelial cells. *Circ Res*, **1998**;83:322-327.
149. **Murase T, Kume N, Korenaga R, Ando J, Sawamura T, Masaki T, et al.** Fluid shear stress transcriptionally induces lectin-like oxidized LDL receptor-1 in vascular endothelial cells. *Circ Res*, **1998**;83: 328– 33.
150. **Chen M, Nagase M, Fujita T, Narumiya S, Masaki T, Sawamura T.** Diabetes enhances lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) expression in the vascular endothelium: possible role of LOX-1 ligand and age. *Biochem Biophys Res Commun*, **2001**;87:962-8.
151. **Kita T, Kume N, Ishii K, Arai H, Yokode M.** Oxidized LDL and expression of monocyte adhesion molecules. *Diabetes Res Clin Pract*, **1999**;45:123-6.
152. **Chen XP, Du GH.** Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1: Protein, ligands, expression and pathophysiological significance. *Clin Med J (Engl)*, **2007**;120:421-426.
153. **Chen XP, Zhang TT, Du GH.** Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1, a new promising target for the therapy of atherosclerosis? *Cardiovasc Drug Rev*, **2007**;25(2):146-61.
154. **Gunther J, Henry TH, Guy MC, Hermann E.** Modification of human serum low density lipoprotein by oxidation-characterization and pathophysiological implications. *Chem Phys Lipid*, **1987**;45:315-336.
155. **Hermann E, Martina DR, GeorgW, Georg S, Gunther J.** Biochemical, structural, and functional properties of oxidized low-density lipoprotein. *Chem Res Toxicol*, **1990**;2:77-92.
156. **Hermann E, Janusz G, Herbert P, Gunther J.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidativemodification of LDL. *Free Radic Biol Med*, **1992**;13:341-390.
157. **Thomas MJ.** Physiological aspects of low-density lipoprotein oxidation. *Curr Opin Lipidol*, **2000**;11:297-301.
158. **Colles SM, Maxson JM, Carlson SG, Chisolm GM.** Oxidized LDL-induced injury and apoptosis in atherosclerosis. Potential roles for oxysterols. *Trends Cardiovasc Med*, **2001**;11:131-138.
159. **Li D, Liu L, Chen H, Sawamura T, Mehta JL.** LOX-1, an oxidized LDL endothelial receptor, induces CD40/CD40L signaling in human coronary artery endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2003**;23:816-21.

160. **Li D, Liu L, Chen H, Sawamura T, Ranganathan S, Mehta JL.** LOX-1 mediates oxidized low-density lipoprotein-induced expression of matrix metalloproteinases in human coronary artery endothelial cells. *Circulation*, **2003**;107:612-7.
161. **Cominacini L, Pasini AF, Garbin U, Davoli A, Tosetti ML, Sawamura T.** Oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) binding to ox-LDL receptor-1 in endothelial cells induces the activation of NF-kappaB through an increased production of intracellular reactive oxygen species. *J Biol Chem*, **2000**;275:12633-8.
162. **Chavakis E, Dernbach E, Dimmeler S.** LDL Oxidized inhibits vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell migration by an inhibitory effect on the Akt/endothelial nitric oxide synthase pathway. *Circulation*, **2001**;103:2102-7.
163. **Martinet W, Kockx MM.** Apoptosis in atherosclerosis: Focus on oxidized lipids and inflammation. *Curr Opin Lipidol*, **2001**;12:535-541.
164. **Mayr M, Xu Q.** Smooth muscle cell apoptosis in arteriosclerosis. *Exp Gerontol*, **2001**;36:969-987.
165. **Benoist H, Salvayre R, Negre-Salvayre A.** Oxidized LDL-induced apoptosis. *Subcell Biochem*, **2002**;36:123-150.
166. **Salvayre R, Auge N, Benoist H, Negre-Salvayre A.** Oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis. *Biochim Biophys Acta*, **2002**;1585:213-221.
167. **Napoli C.** Oxidation of LDL, atherogenesis, and apoptosis. *Ann N Y Acad Sci*, **2003**;1010:698-709.
168. **Mehta JL.** The role of LOX-1, a novel lectin-like receptor for oxidized low density lipoprotein, in atherosclerosis. *Can J Cardiol*, **2004**;20:32B-36B.
169. **Lusis AJ.** Atherosclerosis. *Nature*, **2000**;407:233-241.
170. **Davies PF, Shi C, Depaola N, Helmke BP, Polacek DC.** Hemodynamics and the focal origin of atherosclerosis: A spatial approach to endothelial structure, gene expression, and function. *Ann NY Acad Sci*, **2001**;947:7-16.
171. **Shimaoka T, Kume N, Minami M, Hayashida K, Sawamura T, Kita T.** LOX-1 supports adhesion of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Immunology*, **2001**;166:5108-14.
172. **Nagase M, Abe J, Takahashi K, Ando J, Hirose S, Fujita T.** Genomic organization and regulation of expression of the lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) gene. *J Biol Chem*, **1998**;273:33702-33707.

173. **Barath P, Fishbein MC, Cao J, Berenson J, Hwlfant RH, Forrester JS.** Tumor necrosis factor gene expression in human vascular intimal smooth muscle cells detected by in situ hybridization. *Am J Pathol*, **1990**;137:503-509.
174. **Tipping PG, Hancock WW.** Production of tumor necrosis factor and interleukin-1 by macrophages from human atheromatous plaques. *Am J Pathol*, **1993**;142:1721-1728.
175. **Morawietz H, Rueckschloss U, Niemann B, Duerrschmidt N, Galle J, Hakim K, Zerkowski HR, Sawamura T, Holtz J.** Angiotensin II induces LOX-1, the human endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Circulation*, **1999**;100:899-902.
176. **Li D, Saldeen T, Romeo F, Mehta JL.** Oxidized LDL upregulates angiotensin II type 1 receptor expression in cultured human coronary artery endothelial cells: the potential role of transcription factor NF- κ B. *Circulation*, **2000**;102:1970-1976.
177. **Li D, Singh RM, Liu L, Chen H, Singh BM, Kazzaz N, Mehta JL.** Oxidized-LDL through LOX-1 increases the expression of angiotensin converting enzyme in human coronary artery endothelial cells. *Cardiovasc Res*, **2003b**;57:238-243.
178. **Conti CR, Mehta JL.** Acute myocardial ischemia: role of atherosclerosis, thrombosis, platelet activation, coronary vasospasm, and altered arachidonic acid metabolism. *Circulation*, **1987**;75:84-95.
179. **Chen LY, Mehta P, Mehta JL.** Oxidized LDL decreases L-arginine uptake and nitric oxide synthase protein expression in human platelets: relevance of the effect of oxidized LDL on platelet function. *Circulation*, **1996**;93:1740–6.
180. **Ehara S, Ueda M, Naruko T, Haze K, Itoh A, Otsuka M.** Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation*, **2001**;103: 1955-60.
181. **Harrison GJ, Jordan LR, Selley ML, Willis RJ.** Low-density lipoproteins inhibit histamine and NaNO₂ relaxations of the coronary vasculature and reduce contractile function in isolated rat hearts. *Heart Vessels*, **1995**;10:249 57.
182. **Kakutani M, Masaki T, Sawamura T.** A platelet-endothelium interaction mediated by lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2000**; 97:360-364.
183. **Honjo M, Nakamura K, Yamashiro K, Kiryu J, Tanihara H, McEvoy LM, Honda Y, Butcher EC, Masaki T, Sawamura T.** Lectin-like oxidized LDL receptor-1 is a cell-adhesion molecule involved in endotoxin-induced inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2003**;100:1274-1279.
184. **Hayashida K, Kume N, Minami M, Kita T.** Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) supports adhesion of mononuclear leukocytes and a monocyte-like cell line THP-1 cells under static and flow conditions. *FEBS Lett*, **2002**;511:133-138.

185. **Li D, Chen H, Sawamura T, Saldeen T, Mehta JL.** Statins modulate oxidized low-density lipoprotein-mediated adhesion molecule expression in human coronary artery endothelial cells: role of LOX-1. *J Pharmacol Exp Ther*, **2002**;302:601-5.
186. **Kakinuma T, Yasuda T, Nakagawa T, Hiramitsu T, Akiyoshi M, Akagi M, Sawamura T, Nakamura T.** Lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor 1 mediates matrix metalloproteinase 3 synthesis enhanced by oxidized low-density lipoprotein in rheumatoid arthritis cartilage. *Arthritis Rheum*, **2004**;50:3495-3503.
187. **Kluck RM, Bossy-Wetzel E, Green DR, Newmeyer DD.** The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science*, **1997**;275: 1132–1136.
188. **Xiang H, Hochman DW, Saya H.** Evidence for p53-mediated modulation of neuronal viability. *J. Neurosci*, **1996**;16: 6753-6765.
189. **Isner, JM, Kearney M, Bortman S, Passeri J.** Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation*, **1995**;91: 2703-2711.
190. **Zeiber AM, Schachinger V.** Coronary endothelial vasodilator dysfunction: Clinical relevance and therapeutic implications. *Z Kardiol*, **1994**;83(3):7-14.
191. **Kaisner S.** Coronary artery spasm: Multiple causes and multiple roles in heart disease. *Biochem Pharmacol*, **1995**;49:859-871.
192. **David AC, Marlene LC.** Effects of oxidized low-density lipoprotein on vascular contraction and relaxation: Clinical and pharmacological implications in atherosclerosis. *Pharmacol Rev*, **1996**;48:3-19.
193. **Xu X, Gao X, Potter BJ, Cao JM, Zhang C.** Anti-LOX-1 rescues endothelial function in coronary arterioles in atherosclerotic ApoE knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2007**;27(4):871-7.
194. **Li DY, Chen HJ, Mehta JL.** Statins inhibit oxidized-LDL-mediated LOX-1 expression, uptake of ox-LDL and reduction in PKB phosphorylation. *Cardiovasc Res*, **2001**;52:217-225.
195. **Mehta JL, Li DY, Chen HJ, Joseph J, Romeo F.** Inhibition of LOX-1 by statins may relate to upregulation of eNOS. *Biochem Biophys Res Commun*, **2001**; 289: 857-861.
196. **Puccetti L, Sawamura T, Pasqui AL, Pastorelli M, Auteri A, Bruni F.** Atorvastatin reduces platelet-oxidized- LDL receptor expression in hyper cholesterolaemic patients. *Eur J Clin Invest*, **2005**;35:47-51.
197. **Hofnagel O, Luechtenborg B, Eschert H, Weissen-Plenz G, Severs NJ, Robenek H.** Pravastatin inhibits expression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits: A new pleiotropic effect of statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2006**;26:604-610.

198. **Friedewald 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.
199. **Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kamawato T, Matsumoto S, Ouchi N, et al.** Coronary artery disease Association of hypo adiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **2003**;23: 85–89.
200. **Brinkley TE, Kume N, Mitsuoka H, Brown MD, Phares DA, Ferrell RE, Kita T, Hagberg JM.** Variation in the human lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) gene is associated with plasma soluble LOX-1 levels. *Exp Physiol*, **2008**;93(9):1085-90.
201. **Li B, Zhang LH, Yang XG, Liu XT, Ren YG.** Serum sLOX-1 levels are associated with the presence and severity of angiographic coronary artery disease in patients with metabolic syndrome. *Clin Invest Med*, **2010**;33(6):E398-404.
202. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF heart protection study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, **2002**;360(9326):7–22
203. **Matsumoto T, Fujita M, Sawamura T, Kakino A, Sato Y, Fujita Y, Matsuda H, Nakanishi M, Uchida K, Nakae I, Kanda H, Yoshida A, Miwa K, Hayashi H, Mitsunami K, Horie M.** Lipids. Pitavastatin reduces lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 ligands in hypercholesterolemic humans. *Lipids*, **2010**;45(4):329-35.
204. **Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F, Collen D.** Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation*, **1998**;98:1487-1494.
205. **Matsumoto T, Takashima H, Ohira N, Tarutani Y, Yasuda Y, Yamane T, Matsuo S, Horie M.** Plasma level of oxidized low-density lipoprotein is an independent determinant of coronary macrovasomotor and microvasomotor responses induced by bradykinin. *J Am Coll Cardiol*, **2004**;44(2):451-457.
206. **Koubaa N, Nakbi A, Hammami S, Mehri S, Attia N, Ben Farhat M, Hammami M.** Association of the C677T MTHFR polymorphism with homocysteine, ox-LDL levels, and thiolactonase activities in the severity of coronary syndrome. *Clin Appl Thromb Hemost*, **2010**;16(5):515-21.
207. **Stary HC.** Evaluation of atherosclerotic plaques in coronary arteries of young adults. *Arteriosclerosis*, **1989**; 9(1):19-32.
208. **Kume N, Mitsuoka H, Hayashida K, Tanaka M, Kominami G, Kita T.** Soluble lectin-like oxidized LDL receptor-1 (sLOX-1) as a sensitive and specific biomarker for acute coronary syndrome comparison with other biomarkers. *J Cardiol*, **2010**;56(2):159-65.

209. **Ndrepepa G, Braun S, von Beckerath N, Mehilli J, Gorchakova O, Vogt W, Schömig A, Kastrati A.** Oxidized low density lipoproteins, statin therapy and severity of coronary artery disease. *Clin Chim Acta*, **2005**;360(1-2):178-86.
210. **Fuster V, Stein B, Ambrose JA, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH.** Atherosclerotic plaque rupture and thrombosis: evolving concepts. *Circulation*, **1990**;82(suppl II):47-59.
211. **Kume N, Kita T.** Apoptosis of vascular cells by oxidized LDL: involvement of caspases and LOX-1, and its implication in atherosclerotic plaque rupture. *Circ Res*, **2004**;94:269–270.
212. **Kamezaki F, Yamashita K, Tasaki H, Kume N, Mitsuoka H, Kita T, Adachi T, Otsuji Y.** Serum soluble lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 correlates with oxidative stress markers in stable coronary artery disease. *Int J Cardiol*, **2009**;15:134(2):285-7.
213. **Lubrano V, Del Turco S, Nicolini G, Di Cecco P, Basta G.** Circulating levels of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 are associated with inflammatory markers. *Lipids*, **2008**;43(10):945-50.
214. **Wang Y, Rao L, Zhou B, Chen Y, Peng Y, Song Y, Zhang L.** The G501C polymorphism of the oxidized low-density lipoprotein-receptor 1 gene is associated with acute coronary syndrome in the Han Chinese population. *DNA Cell Biol*, **2010**;29(4):201-5.
215. **Trabetti E, Biscuola M, Cavallari U, Malerba G, Girelli D, Olivieri O, Martinelli N, Corrocher R, Pignatti PF.** On the association of the oxidised LDL receptor 1 (OLR1) gene in patients with acute myocardial infarction or coronary artery disease. *Eur J Hum Genet*, **2006**;14(1):127-30.
216. **Knowles JW, Assimes TL, Boerwinkle E, Fortmann SP, Go A, Grove ML, Hlatky M, Iribarren C, Li J, Myers R, Risch N, Sidney S, Southwick A, Volcik KA, Quertermous T.** Failure to replicate an association of SNPs in the oxidized LDL receptor gene (OLR1) with CAD. *BMC Med Genet*, **2008** ;9:23.
217. **Predazzi IM, Martínez-Labarga C, Vecchione L, Mango R, Ciccacci C, Amati F, Ottoni C, Crawford MH, Rickards O, Romeo F, Novelli G.** Population differences in allele frequencies at the OLR1 locus may suggest geographic disparities in cardiovascular risk events. *Ann Hum Biol*, **2010**;37(2):136-48.
218. **Kurnaz O, Aydogan HY, Isbir CS, Tekeli A, Isbir T.** Is LOX-1 K167N polymorphism protective for coronary artery disease?. *In Vivo*, **2009**;23(6):969-73.
219. **Bianchi M, Emanuele E, Davin A, Gagliardi S, Cova E, Meli V, Trotti R, Cereda C.** Comparison of three methods for genotyping of prothrombotic polymorphisms. *Clin Exp Med*, **2010**;10(4):269-72.
220. **Biocca S, Falconi M, Filesi I, Baldini F, Vecchione L, Mango R, Romeo F, Federici G, Desideri A, Novelli G.** Functional analysis and molecular dynamics simulation of LOX-1 K167N polymorphism reveal alteration of receptor activity. *PLoS One*, **2009**;4(2):e4648.

221. **Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET.** Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, **2000**;102: 2165-2168.
222. **Li L, Roumeliotis N, Sawamura T, Renier G.** C-reactive protein enhances LOX-1 expression in human aortic endothelial cells: relevance of LOX-1 to C-reactive protein-induced endothelial dysfunction. *Circ Res*, **2004**;95 (9):877–88.

ÖZGEÇMİŞ

Lokman AYZ, 22 Nisan 1980 tarihinde Mardin Savur ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimi bitirdikten sonra 2001 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya bölümünden mezun olarak Kimyager ünvanını aldı. 2002 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. 2004 yılında araştırma görevlisi kadrosuna atandı. 2005 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında "Kardiyopulmoner Bypass'ta Oluşan Akut İnflamatuar Yanıtta Neopterinin Yeri" adlı yüksek lisans tezini tamamlayarak biyokimya bilim uzmanı ünvanını aldı. Halen Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.