



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**OKSİDE LDL RESEPTÖR-1 (OLR-1) GENİ 3' UTR C>T
POLİMORFİZMİNİN KORONER ARTER HASTALIĞI VE
CİDDİYETİ İLE İLİŞKİSİ**

**Dr. EZGİ MERT YAŞA
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. OBEN DÖVEN**

MERSİN 2009



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**OKSİDE LDL RESEPTÖR-1 (OLR-1) GENİ 3' UTR C>T
POLİMORFİZMİNİN KORONER ARTER HASTALIĞI VE
CİDDİYETİ İLE İLİŞKİSİ**

**Dr. EZGİ MERT YAŞA
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. OBEN DÖVEN**

**Bu tez, BAP-TF DTB (EMY) 2009-1 TU kodlu proje olarak Mersin
Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından desteklenmiştir**

MERSİN 2009

TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim s¼recinde bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, mesleki anlamda cesaret ve kararlılıkla hareket etmemi sağlayan, her koşulda desteğini hissettiğim hocalarım Sayın Prof. Dr. V. G¼khan Cin'e, Sayın Prof. Dr. Oben D¼ven'e, Sayın Doç. Dr. Dilek içek'e, Sayın Doç. Dr. Ahmet amsarı'ya, Sayın Yrd. Doç. Dr. Necdet Akkuř'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. T¼rkay ¼zcan'a; tezin laboratuvar çalışmasında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalından Prof. Dr. L¼l¼fer Tamer'e, Arř. G¼r. Lokman Ayaz'a; Biyoistatistik Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Bahar Tařdelen'e, ¼đr. G¼r. Semra Erdođan'a; asistanlığım boyunca çalışmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarıma, hastane personeline; tezimin maddi desteğini sağlayan Mersin ¼niversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine; hayatım boyunca t¼m desteğini yanımda hissettiğim aileme ve sevgili eşim Bilgehan Yaşa'ya minnet dolu duygularımı, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Ezgi Mert Yaşa

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
GİRİŞ VE AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	9
Ateroskleroz	9
Aterosklerozda Rol Alan Hücreler	9
Ateroskleroz Patogenezi	14
Aterosklerozun Histopatolojisi	16
Ateroskleroz ve Enflamasyon	17
Kararlı Aterosklerotik Plak	21
Kararsız Aterosklerotik Plak	22
Koroner Arter Hastalığının Anjiyografik Sınıflaması	23
Lektin Benzeri Okside-LDL Reseptörü (OLR-1)	23
OLR-1 Proteini ve Fonksiyonu	23
OLR-1 Genin Promotör Organizasyonu ve Yapısal Analizi	25
OLR-1' in Ligandları	26
OLR-1 Gen Ekspresyonunun Regülasyonu ve Mekanizmaları	27
OLR-1' in Patofizyolojik Önemi	28
OLR-1 ve Ateroskleroz	28
OLR-1 Polimorfizmi ve Miyokard Enfarktüsü Arasındaki İlişki	31
GEREÇ VE YÖNTEM	32
Hasta Seçimi	32
Yöntem	33
Anjiyografik Değerlendirme	40
İstatistiksel Analiz	40
BULGULAR	41
TARTIŞMA	46
SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	51
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	63

ŒEKİLLER DİZİNİ	65
TABLolar DİZİNİ	66

ÖZET

Geleneksel aterosklerotik risk faktörleri koroner arter hastalığı (KAH) oluşumundaki nedenlerden ancak bir kısmını açıklayabilmektedir. Son yıllardaki çalışmalar yeni risk faktörlerinin saptanması üzerine odaklanmıştır. Okside LDL (ox-LDL) ateroskleroz patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Lektin benzeri okside LDL reseptörü-1 (OLR-1), ox-LDL' nin aterosklerotik etkilerine aracılık etmektedir.

Türkiye' de OLR-1 geni 3' UTR C>T polimorfizminin koroner arter hastalığı ile ilişkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu amaçla çalışmamızda okside LDL Reseptör -1 (OLR-1) Geni 3' UTR C>T polimorfizminin koroner arter hastalığı varlığı ve ciddiyeti ile ilişkisini inceledik.

Çalışmamız stabil anjina pectoris (SAP), akut koroner sendrom, atipik göğüs ağrısı ve diğer tanılar ile koroner anjiyografi yapılan 150 hasta üzerinde yapıldı. En az bir epikardiyal koroner arterinde \geq %70 darlık tespit edilen 75 hasta KAH grubunu, koroner arterlerinde lezyon tespit edilmeyen 75 hasta kontrol grubunu oluşturmaktaydı. Hastalardan açlık kan örnekleri alınarak glukoz, lipid parametreleri ve hastaların antropometrik ölçümleri kaydedildi.

OLR-1 geni 3'UTR C>T polimorfizmleri genotipler bakımından karşılaştırıldığında kontrol grubunda homozigot normal (CC) ve heterozigot mutant (CT) genotip çoğunlukta iken KAH grubunda homozigot mutant (TT) genotipe daha fazla rastlandı ($p < 0.0001$). KAH grubunda yapılan subgrup analizinde hasta damar sayıları bakımından incelediğinde TT genotipde çok damar hastalığı, tek damar hastalığına göre daha fazla gözlenmiştir ($p=0.043$). TT genotipdeki hastaların yarısından fazlası ise akut koroner sendrom ile başvurmuştur ($p=0.005$).

Logistik regresyon analizinde TT genotip, CC genotipe göre koroner arter hastalığı için 11.01 kat daha fazla risk altındadır. Heterozigot mutant (CT) genotip ise 2.8 kat artmış risk bulunmuştur.

Koroner arter hastalığının OLR-1 geni ile ilişkisinin ortaya konması koroner arter hastalığının genetik alt yapısının aydınlatılmasına, tanı ve tedavisinde çok yeni yaklaşımlar oluşmasına neden olabilir.

Anahtar Kelimeler: Koroner arter hastalığı, Okside LDL Reseptör-1 (OLR-1) Geni 3' -UTR C>T Polimorfizmi

ABSTRACT

Association Between Oxidized LDL Receptor 1 (OLR-1) Gene 3' UTR C>T Polymorphism and Coronary Artery Disease and Its Severity

Traditional atherosclerotic risk factors can define only a part of causes that have roles in development coronary artery disease (CAD). Studies are focused on establishment of new risk factors in recent years. Oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) plays an important role in atherosclerosis pathogenesis. Lectin like oxidized LDL -1 (OLR-1) mediates atherosclerotic effects of ox-LDL.

In Turkey there is no study showing association between OLR-1 gene 3' UTR C>T polymorphism and CAD. For this aim in our study we assessed the association between OLR-1 gene 3' UTR C>T polymorphism and CAD existence and its severity.

Our study was conducted over the patients who were performed coronary angiography for stable angina pectoris, acute coronary syndrome and atypical chest pain. CAD group consisted of 75 patients with at least one coronary artery stenosis over %70 and control group consisted of 75 patients with no coronary artery lesion.

As OLR-1 gene 3'UTR C<T polymorphism genotypes were compared, in control group homozygote normal (CC) and heterozygote mutant (CT) genotype were the majority and in CAD group homozygote mutant (TT) genotype was the majority ($p<0.0001$). In subgroup analysis of CAD patients in TT genotype there was significant association with multivessel disease ($p= 0.043$). More than half of the patients in TT genotype were admitted to our hospital with acute coronary syndrome.

In logistic regression analysis TT genotype is 11,01 times more under risk against CAD than CC genotype. Heterozygote mutant genotype (CT) was found to be associated with an increase in risk as 2.8 times.

The revelation of the correlation of CAD with OLR-1 may bring light for the illumination of CAD genetic infrastructure lead to the constitution of brand new approaches in the diagnosis and treatment of CAD.

Key Words: Coronary artery disease, 3' UTR C>T polymorphism, oxidized LDL Receptor -1 (OLR-1) gene

GİRİŞ VE AMAÇ

Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada farklı etnik gruplardaki erkek ve kadınlarda en önde gelen ölüm nedenidir. En sık nedeni koroner arterlerin daralmasına neden olan aterosklerozdur^{1,2,3}. Geleneksel aterosklerotik risk faktörleri bu hastalığın oluşumunda etkili nedenlerden ancak bir kısmını açıklayabilmektedir. Kardiyovasküler risk saptamasının geliştirilmesine önemli ihtiyaç olduğundan son yıllarda çok sayıda araştırma, yeni aterosklerotik risk faktörlerinin saptanması ve değerlendirilmesine odaklanmıştır^{4,5}.

Ateroskleroz orta ve büyük çaplı arterlerin intimasında plazmadan kaynaklanan aterojenik lipoprotein birikimine karşı karmaşık enflamatuvar-fibroproliferatif bir süreçtir^{6,7}. Plak oluşumunda ilk olay aterojenik lipoproteinlerin endotelde birikip modifiye oldukları subendotelyal boşluklara geçmeleridir^{8,9}. Geçmiş çalışmaların ışığında artan deliller ox-LDL' nin aterogenezin erken safhalarında görülen endotel disfonksiyonu ve aktivasyonunda, aynı zamanda köpük hücre gelişiminde kritik rol oynadığını, ateroskleroz gelişimi ve komplikasyonlarıyla ilişkili olduğunu düşündürmektedir¹⁰. Ox-LDL, endotelyal hücrelerde kemokinlerin, monosit kemotaktik protein-1, E-selektin, P-selektin, vasküler adezyon molekülü-1 ve intraselüler adezyon molekülü-1 gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu uyarır^{11,12,13}. Bu moleküller endotele monosit yapışmasını kolaylaştırarak aterosklerozun başlamasını sağlar. Aynı zamanda ox-LDL, CD40/CD40L sinyal yolağını etkileyerek endotel hücrelerde enflamatuvar reaksiyona neden olmakta ve ateroskleroz ilişkili özellikleri aktive etmektedir¹⁴. Ayrıca ox-LDL metalloproteinaz doku inhibitörlerinden etkilenmeksizin matriks metalloproteinazlarının (MMP) salınımına neden olmaktadır¹⁵. Bu durumun akut koroner sendromlardaki yumuşak plak rüptürünün temeli olabileceği düşünülmektedir. Ox-LDL sıgır endotel hücrelerinde süper oksit anyon üretimini indükler. Endotelyal NO sentetaz aktivitesini azaltarak NO salınımını azaltır. Bu etkileri endotel disfonksiyonunun major uyarıcısı olan intraselüler oksidatif stres artışı ile sonuçlanmaktadır. OLR-1 (lektin benzeri okside LDL reseptörü) ox-LDL' nin bu proaterojenik etkilerinde önemli rol oynar^{16,17}.

Kişilerin yaşam kalitesinin artırılması açısından koroner arter hastalığına yatkınlığının olup olmadığını erken öğrenebilmek ve önlem alabilmek için koroner arter hastalıklarının genetik alt yapısının belirlenmesi önemlidir. Son

yıllarda ateroskleroz patogenezinde rol oynayan genetik ve çevresel faktörler üzerindeki çalışmalar, araştırmacıların odak noktası haline gelmiştir.

Ülkemizdeki ölümlerin % 42' sinden kardiyovasküler hastalıklar sorumludur ve her yıl 200 bin kişi bu nedenle hayatını kaybetmektedir¹⁸. Literatürde OLR-1 geni 3' UTR C>T polimorfizmi ile koroner arter hastalığı varlığı arasındaki ilişkiyi inceleyen az sayıda çalışma mevcuttur. Türkiye' de OLR-1 geni 3' -UTR C>T polimorfizminin koroner arter hastalığı ile ilişkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu projede hasta grubumuzda 3' UTR C>T polimorfizminin koroner arter hastalığı varlığı ve ciddiyeti ile ilişkisini inceledik. Çalışmamız koroner arter hastalığı risk faktörleri üzerine ülkemizde yapılan diğer çalışmalardan farklı olması ve bu konuda ilk defa çalışılan bir mutasyon olması bakımından önemli bir yere sahiptir.

GENEL BİLGİLER

Ateroskleroz

Ateroskleroz, dünyada en önde gelen ölüm nedenidir ve ciddi morbiditeye neden olur¹. Ateroskleroz, büyük ve orta boy arterlerin iç tabakasının fokal bir hastalığıdır. Lipidler, fibroblastlar, makrofajlar, düz kas hücreleri ve hücre dışı maddeleri değişik oranlarda içeren intimal plaklara bağlı olarak meydana gelen arterlerde ilerleyici darlık ve tıkanmalara, esneklik ve antitrombotik özelliklerin bozulmasına yol açan hastalığa denir.

Ateroskleroz patogenezini anlayabilmek için normal arter yapısına bakmak gerekir. Arter duvarı üç kısımdan oluşur.

1- İntima, tek sıra halinde dizilmiş endotel hücreleri, bunları destekleyen subendotelial matriks ve bazal membrandan oluşur. Bu bölge aterosklerozun gelişmeye başladığı bölgedir. Mediya tabakasından internal elastik membran ile ayrılır.

2- Mediya, arter duvarının en geniş bölgesidir. Konsantrik olarak dizilen düz kas hücreleri ve kollajen, elastik lifler ve glikozaminoglikan içeren bir ekstraselüler matriksden oluşur.

3- Adventisya, gevşek dizilimli kollajen lifleri, vazo vazorumlar ve sinir uçlarından oluşur.

Aterosklerozda Rol Alan Hücreler

Aterogenezde Endotel Hücreleri

Tüm vasküler sistemi kapladığından organizmadaki en yaygın ve büyük dokuyu oluştururlar. Arterial sistemde devamlı, düzgün ve kesintisiz bir yüzey yaratarak kan ve arter duvarı arasında bariyer oluştururlar. Endotel selektif permeabilite bariyeridir, endotel yüzeyinden salınan heparan sülfat sayesinde nontrombojenik bir yüzey sağlar ve pek çok vazoaktif madde ile bağ dokusu yapılarının üretiminden sorumlu metabolik olarak etkin bir dokudur. Endotel hücresi lökositlerin, adezyon moleküllerinin ve sitokinlerin trafiğini ve fonksiyonlarını, reseptör ekspresyonu ile düzenler. Enflamatuvar cevapta ve immünitelerde endotel hücresi ile immün sistem hücreleri arasında güçlü ilişkiler olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur.

Endotelial tek katmanı tip IV kollajen, laminin, fibronektin ve başka ekstraselüler matriks molekülleri gibi fibriller içermeyen kollajen tipleri içeren bazal membran üzerine oturmaktadır. Yaşlanmayla birlikte insan arterleri arter

düz kas hücreleri ve interstisyel kollajen tipleri (tip I ve III) içeren daha kompleks bir intima geliştirir. Tip I kollajen lipoproteinlere bağlanır, bunun intimada birikimi lipoprotein birikimini de artırır.

Endotel hücreleri arasındaki bağlar, normalde albuminden daha büyük moleküllerin geçişine izin vermeyecek kadar sıkıdır. Lipoproteinler albuminden çok daha büyük olduğundan endotel engelini ancak plazma vezikülleri aracılığı ile geçebilirler. Bu mekanizma lipoprotein reseptörlerinden bağımsızdır ve kandaki lipoprotein düzeyiyle ilişkilidir. Endotel zedelendiğinde bu engel özelliğinin bozulduğu ve lipoproteinlerin subendotelyuma geçişinin hızlandığı öne sürülmüştür. Ancak aterosklerozun gelişimini hızlandıran esas basamağın serbest lipoprotein girişi değil, bundan sonra gelişen olaylar (oksidasyon vs.) olduğu çalışmalarla gösterilmiştir¹⁸. İntimaya yerleşen lipoprotein moleküllerinin ilk oksidasyonu endotel hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Ox-LDL' nin oluşması aterogenezde bir dizi zincirleme olayı tetikleyen ilk basamaktır. Endotel ox-LDL oluşturduğunda hem endotelin kendisi hem de arter duvarındaki diğer hücreler hasara uğrar. Ox-LDL endotel hücreleri aracılığıyla taşınır, makrofajlarda bulunan çöpçü resptörlere bağlanır, makrofajlarca alınarak köpük hücrelere dönüşür.

Hasar görmemiş olan endotel yüzeyi, heparan sülfatla kaplı olmasına ve salgıladığı prostasiklin ve nitrik okside bağlı olarak trombüs oluşumuna dirençli bir yüzey oluşturur. Prostatiklin kuvvetli bir vazodilatatör ve trombosit agregasyon inhibitörüdür.

Nitrik oksit, endotelin koruyucu işlevinde çok önemli bir rol üstlenmektedir. Güçlü antiagregan etkisi nedeni ile trombositlerin endotel yüzeyinde kümeleşmesini engeller. Antiinflamatuvar özelliği ise ateroskleroza, her evrede engelleyici bir etki göstermesini sağlar. Nitrik oksit, bu etkisi ile adezyon moleküllerinin endotel yüzeyinde belirmesini, lipidlerin endoteli geçişini ve düz kas hücrelerinin proliferasyonunu önler^{19,20,21}. Nitekim ateroskleroza kolaylaştırdığı bilinen hipertansiyon (HT), diabetes mellitus (DM), sigara ya da superoksit düzeyinin artışı gibi durumlarda, endotelden nitrik oksit yapımının azaldığı ya da yıkımının arttığı gösterilmiştir²². Endotel hasarı aterosklerozun ilk basamağı olup, endotelyal geçirgenlikte artış, trombosit agregasyonu, lökosit adezyonu ve sitokin üretimini içerir. Nitrik oksit üretiminin veya aktivitesinin azalması endotelin vazodilatatör kapasitesinin bozulmasına neden olur. Bu da

endotel hasarının en erken bulgularından birisidir. Nitrik oksit üretiminin veya aktivitesinin azalması LDL' nin oksidasyonunu artırır, bilindiği gibi bu aterosklerozun en önemli basamağıdır²³.

Endotel hasarı ile ateroskleroz ve aterojenik risk faktörleri arasında güçlü bir ilişki vardır. Endotel hücreleri ayrıca plazminojen de dahil olmak üzere fibrin yıkıcı ürünler de salgırlar. Bununla beraber prokoagülan etkileri de olan ve von Willebrand faktörü gibi pıhtılaşma faktörleri de salgılayan endotelin bu özelliğinin sadece yaralanma durumunda açığa çıktığı düşünülmektedir.

Endotel aynı zamanda endotelin ve anjiyotensin II gibi vazokonstriktör maddeler üretir. Anjiyotensin II' nin vazokonstriktör etkisi dışında prooksidan ve endotelin salınımını uyarıcı etkisi vardır²⁴. Endotelin ve anjiyotensin II düz kas hücresi proliferasyonunu uyarır, böylece plak oluşumuna katkıda bulunur²⁵.

Endotel hücrelerinin bir başka önemli özelliği de tek katlı olmaları ve iyileşirken bu özelliklerini korumak zorunda olmalarıdır. Sadece bölgeyi çevreleyen hücreler rejenerasyondan sorumludur, bu yüzden iyileşme bu hücrelerin üreme kapasitesi ile sınırlıdır.

Monosit-makrofaj

Aterosklerotik intimada en çok bulunan enflamatuar hücre tipi makrofajlardır. Makrofajların kaynağı dolaşımdaki monositlerdir. Aterosklerozun her aşamasında görev alır. Monositi kandan intimaya çeken güç ox-LDL partikülleri ve IL-1, TNF- α , IFN γ gibi sitokinlerin uyarıcılığı ile oluşan bazı kemotaktik maddelerdir. Bunlar arasında en iyi bilinen makrofaj kemotaktik protein-1'dir²⁶. Makrofaj kemotaktik protein-1, endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve makrofaj tarafından salgılanır.

Dokuya geçen monosit, monosit koloni uyarıcı faktör etkisiyle makrofaja dönüşür. Monosit koloni uyarıcı faktör ox-LDL' nin uyarıcılığı altında endotelden de salınır. Köpük hücreyi oluşturan asıl hücreler makrofajlardır. Daha önce endotel tarafından başlatılan LDL partiküllerinin oksidasyonunu makrofajlar tamamlar. Bu oksidasyon sonucunda lipoprotein partikülü üzerindeki apolipoprotein B proteini, çöpçü reseptör tarafından tanınacak şekle dönüşür.

Makrofajlar çöpçü reseptörler aracılığı ile bakteriyel endotoksinleri, apoptotik hücre parçacıklarını, ox-LDL gibi çok çeşitli patojen ve partiküllere bağlanıp parçalayacak kapasitededir. Makrofajlara çöpçü reseptörler aracılığı ile alınan ox-LDL fagosite edip parçalanır. Oluşan kolesterol bileşikleri kolesterol

esterleri şeklinde depolanır. Ancak hücrenin kolesterol yüklenmesi ile çöpçü reseptörlerde bir downregülasyon oluşmadığından depolanma işi hücrenin ölümüne kadar sürer. Aterosklerotik plaktaki makrofajın ömrü kesin olarak bilinmemektedir. Makrofaj koloni uyarıcı faktör maruziyeti olduğu sürece, lezyon içinde yaşar ve sayıca artar. Ancak etkinleşmiş makrofajda apoptozis (programlanmış hücre ölümü) sık görülür. Ölen hücrenin içeriği plağın çekirdeğine katılır ve böylelikle plağın büyümesine katkıda bulunur²⁷.

Bunun dışında ox-LDL ile uyarılan makrofaj IL-1 salarak ICAM-1, VCAM-1 ve E-selektinin endotel üzerindeki ekspresyonunu upregüle eder, böylece plağa gelen mononükleer hücre sayısı artmaktadır. Yine makrofajlardan sentezlenen PDGF düz kas hücreleri için güçlü kemoatraktandır ve proliferasyonunu uyarır.

Düz kas hücresi

Normal arter duvarının mediya tabakasında yer alan bu hücrelerin asıl görevi damar tonusunu sağlamaktır. Aterosklerotik plağın oluşumu sırasında medyadan intimaya geçen bu hücrelerin proliferasyonu aterosklerotik lezyonların temel özelliğidir²².

Arter duvarında düz kas hücrelerinin kontraktıl ve sentetik olmak üzere iki farklı fenotipi vardır. Çoğu kontraktıl fenotipten oluşur, yoğun miyofibriller içerir, mediya tabakasında yer alır. Vazoaktif maddelere duyarlıyken PDGF gibi mitojenlere cevap vermezler. Kontraktıl fenotip aktifleşmiş makrofajlardan ve endotelden salgılanan sitokinlerle uyarıldığında sentetik fenotipe dönüşür. Bu fenotip aterosklerotik lezyonlarda bulunan gruptur ve kontraktıl fenotipin aksine vazoaktif maddelere yanıtsız kalırken PDGF gibi güçlü mitojenler tarafından uyarılarak lezyonun proliferatif aşamasında aktif rol alırlar. Bazı proteinlerin salgılanmasından ve bağ dokusu elemanlarının sentezinden sorumludur²⁸.

T lenfosit

Aterosklerotik lezyonların tüm dönemlerinde T lenfositlerine rastlanır. T lenfositlerin varlığı aterosklerozda immün veya muhtemel otoimmün cevapların varlığını destekler. İnsanlardaki aterosklerotik plaklarda CD4 T hücrelerinin MHC-sınıf 2 aracılığı ile ox-LDL, ısı şok proteini 60 ve klamidya proteinleri ile aktive olduğu gösterilmiştir^{29,30,31}. CD8 T hücreleri MHC sınıf I bağımlı olup, viral antijenleri tanırlar. Doğal öldürücü olan küçük bir T hücre alt grubu erken dönemde lezyonda bulunur ve lipid antijenlerini tanırlar.

Aterosklerotik lezyondaki sitokinler, Th1 yanıtını artırır^{32,33}. Bu yüzden aktive olan T hücreleri efektör Th1' e dönüşür ve makrofaj aktive eden sitokin olan interferon gama (IFN - γ) ' yı salgırlar. İnterferon gama, antijen sunumunu ve enflamatuvar sitokin olan tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve interlökin-1 sunumunu arttırır³⁴. Sinerjistik etki gösteren bu aktivasyon makrofaj ve vasküler hücrelerden çok sayıda enflamatuvar ve sitotoksik moleküllerin üretimini başlatır³⁵.

Sonuç olarak periferik dolaşımda IL-6 ve CRP düzeyleri artmıştır. Bu yolla sınırlı sayıda immün hücrenin aktivasyonu hem sistemik dolaşımda hem de lezyon bölgesinde güçlü bir enflamatuvar yanıt başlamıştır. Th2 yolu ile açığa çıkan sitokinler antiaterosklerotik etki gösterirler. Bu sitokinler aynı zamanda elastolitik etkili olup, anevrizma oluşumuna yol açarlar³⁶.

B lenfosit

Ateroskerozu olan insan ve hayvanlarda çalışmalarda ox-LDL' ye karşı dolaşımda otoantikörlerin tespit edilmesi ve aterosklerotik lezyonlarda immünglobulinlerin bulunması B lenfositlerin de ateroskleroz patogeneğinde rol aldığını düşündürmektedir³². Ateroskleroz patogeneğinde T ve B lenfositlerine ait veriler karışık da olsa, çalışmaların çoğunda hücre sel immüitenin ateroskleroza karşı koruyucu bir rol oynadığı ifade edilmiştir.

Granülosit

Granülositler insanda erken ve ilerlemiş ateroskleroz sürecinde nadiren tespit edilirler. Sistemik enflamasyon ve akut koroner sendrom arasında güçlü ilişki olmasına karşın, aterosklerotik lezyonda nötrofiller fazla dikkat çekmemiştir. Naruko ve arkadaşları insanda akut koroner sendroma yol açan plaklarda nötrofil infiltrasyonunu kanıtlamıştır. İlginç olarak akut miyokard enfarktüsünden ölen hastalarda plakta oldukça değişken sayıda nötrofil tespit edilirken, kardiyovasküler olay dışında ölen hastaların plaklarında nadiren nötrofile rastlanmıştır³⁷.

Trombosit

Aterosklerozun hemen her aşamasında lezyon üzerinde trombosit kümeleri veya mural trombüsler görülebilir. Endotel hasarında bölgeye ilk ulaşan hücrelerdir. Çekirdeksiz hücreler olduklarından protein üretememelerine karşın, trombositler içerdikleri granüllerde çok sayıda değişik mitojen, sitokin ve vazoaktif maddeler taşırlar.

Endotel hasarında olduğu gibi herhangi bir biçimde tetiklenen trombosit aktivasyon ve agregasyonu, sonuçta degranülasyona ve bu maddelerin salgılanmasına neden olur. Hasar bölgesinde kollajenle temas sonucu, ltrombin, fibrin oluşumu veya ADP salınımı olur, trombosit agregasyonu ve trombüs gelişir.

Aterosklerozun Patogenezi

Aterosklerozun hastalık süreci primer olarak arter duvarının intima tabakasına sınırlıdır. Bu tabaka lipidler ve enflamatuvar hücreler tarafından infiltre olur ve değişik derecelerde fibrozis gelişir³⁸. Arteryel travma, medial düz kas hücrelerinin, intima içine göç eden fibroblasta benzer tamir hücrelerine fenotipik modülasyonunu içeren bir iyileşme reaksiyonu başlatır. Bu hücreler intima içinde proliferer olur ve ekstraselüler matriksi oluştururlar. Zarar damarın içinden de gelse, dışından da gelse bu reaksiyon aynıdır.

Travmaya vasküler yanıt ve ateroskleroz arasındaki benzerlikten dolayı ateroskleroz patogenezi için “hasara yanıt” hipotezi öne sürülmüştür³⁹. Lipoprotein kaynaklı lipidlerin ve özellikle ox-LDL’ nin birikmesi arteri hasara uğratar ve bunun da düz kas hücrelerine bağımlı onarım sürecini başlattığına inanılmaktadır. Bu süreç skar dokusuna benzeyen intimal plakların oluşmasına yol açar. İyileşme reaksiyonları, sürekli travma ile engellendiği zaman skar dokusu çoğunlukla hipertrofiye uğrar. Bu durum aterosklerotik plakların gerilemek yerine neden büyümeye devam ettiklerini açıklayabilir. Vasküler iyileşme yanıtının normal koşullarda gelişmesine izin verildiğinde plaklar geriler.

Aterosklerotik süreç belirgin olarak intimada lokalize olmasına rağmen arter duvarının diğer tabakaları da hastalıktan etkilenir. Plakların arkasındaki mediya tabakasında, çoğunlukla düz kas hücreleri kaybı ile birlikte atrofi görülür. Mediyal atrofisinin sonucu olarak arter dilate olur. Ancak son dönemden önce bile, plak büyümesi esnasında kompensatuar lümen dışı vasküler genişleme ‘remodelling’ oluşur ve böylece lümenin boyutları korunmuş olur.

Sonuç olarak arter ciddi ateroskleroz gelişmesine rağmen, anjiyografik değerlendirmede oldukça normal görünebilir. Yeniden biçimlenmenin (remodelling) neden bazı lezyonlarda olup bazılarında olmadığı açıklanabilmiş değildir⁴⁰.

Bu konudaki varsayımlardan birisi akut koroner sendromların oluşumunda rol alan metalloproteinazların mediya tabakasının da direncini azaltarak

damarın dışarıya doğru genişlemesini sağladığıdır⁴⁰. Bir diğeri de yeniden biçimlenmenin damar etrafındaki dokuların sağladığı destekle ilişkili olduğudur. Koroner arterlerde intravasküler ultrasonografi ile yapılan çalışmalarda, damarın perikard tarafına bakan kesiminde bulunan plakların, miyokard kesimine bakanlara göre daha çok yeniden biçimlenmeye neden olduğu gösterilmiştir⁴¹.

Ateroskleroz, arterleri düzenli şekilde tutmaz. Fokal bir hastalıktır. Hastalığın fokal olma özelliği, ateroskleroz gelişmesi açısından, hiperlipidemi, hipertansiyon, sigara ve diyabet gibi çoğu risk faktörlerinin sistemik olması ve arteryel sistemin tüm bölümlerini benzer şekilde etkileyebilmesi olasılığı ile ters düşmektedir. Bu durum sistemik risk faktörlerinin lokal faktörlerle uyum içinde etki etmesi gerektiğini açık bir şekilde göstermektedir.

Bu lokal faktörlerden biri, kan akımı tarafından oluşturulan "shear stres" dir. Aterosklerotik plaklar arteryel sistemde tesadüfi olarak gelişmezler. Daha çok lümen yüzeyi ile LDL gibi kandaki partiküller arasında etkileşim süresinin artmış olduğu, düşük "shear stresi" bulunan dallanma bölgelerine yakın yerlerde yerleşirler. Bu durum, lipoproteinlerin transendotelial diffüzyonunda artışla ve hiperlipidemi varlığında, subendotelial matrikste lipid birikiminde artışla ilişkilidir⁴².

Vasküler geçirgenlik üzerinde etkisi olabilecek diğer risk faktörü, homosisteinemidir. Çünkü homosisteineminin yüksek konsantrasyonları, endotel tabakasındaki hücrelerde hasara neden olabilir. Homosisteinemi ve ateroskleroz arasındaki ilişki ilk olarak otuz yıl önce tanımlanmıştır. Mekanizması tam olarak anlaşılmasa da homosisteinemi birkaç basamakta endotel disfonksiyonuna neden olur. Homosisteinemi faktör XII ve faktör V aktivitesini arttırarak endotelin normalde antitrombotik olan özelliğini değiştirir. Bunun dışında homosistein trombomodülin ekspresyonunu inhibe eder, doku faktörü ekspresyonunu arttırır ve endotelden heparan sülfat ekspresyonunu baskılar^{43,44}. Bunun dışında endotel hücrelerinden monosit kemotaktik protein-1 ve interlökin-8 ekspresyonunu arttırır. Homosistein aynı zamanda vasküler düz kas hücreleri için potent mitojendir.

McCully' nin artmış serum homosistein düzeyinin ateroskleroz nedeni olabileceği hipotezinden⁴⁵. Bu konuda yirmiden fazla vaka kontrollü kesitsel çalışmada 2000' den fazla hasta incelenmiş. Vitamin B12, B6 ve folik asidin serum homosistein düzeyini düşürdükleri gösterilmiştir. Ama serum homosistein

düzeyindeki bu düşüşün kardiyovasküler hastalık riskini azaltıp azaltmadığı henüz bilinmemektedir.

Aterosklerozun Histopatolojisi

Uzun yıllar boyunca, patologlar tarafından yapılmış olan morfolojik incelemelerin ışığında, üç tip aterosklerotik plak tarif edilmiştir: Yağlı çizgilenmeler, fibröz plaklar ve komplike lezyonlar.

Yağlı çizgilenmelerin sadece belli bir kısmının, daha ileri lezyonlara dönüşme riski vardır. Amerikan Kalp Birliği Damar Lezyonları Komitesi, tarafından aterosklerotik lezyonlar tanımlanmıştır⁴⁶. Bu tanıma göre;

Tip I: Lezyon içi yağ damlacıkları ile dolu makrofaj kökenli köpük hücrelerinden oluşur.

Tip II: Makrofaj sayısı artmıştır, makrofajlar dışında düz kas hücreleri içinde ve bunların yanında hücre dışında da lipid damlacıkları vardır. Tip IIa alt tipi lezyon gelişimine eğilimli olan adaptif intimal kalınlaşma olan segmentlerde, Tip IIb ise daha ince intima tabakası olan segmentlerde bulunur ve hiperlipidemi ve diğer risk faktörleri varlığında dahi nadiren daha ileri plaklara dönüşür.

Tip III: Aterom diye nitelenen ilk lezyon olup, tip II ile tip IV arasında geçiş lezyonu olarak tanımlanabilir. Tip II' den en önemli fark olarak ekstraselüler yağ birikintileri içermesidir. Bu birikintilerin içinde yağ damlacıkları dışında ölmüş olan köpük hücreleri kalıntıları vardır. Bu lezyonda intimanının yapısı bozulmaya başlar.

Tip IV: Bu lezyonda fibröz doku ile karışmış çok miktarda hücre dışı lipid birikintileri vardır. Genellikle yarım ay şeklindedir ve damar duvarının kalınlığını artırır. Bu evrede orijinal lümen hacmini korumak için yeniden yapılanma olur. Anjiyografik görüntülenmesi zordur.

Tip V: Tip IV' e göre daha fazla fibröz doku içerir ancak rüptürlerin çoğu bu lezyon tipinde gelişir.

Va: Hücre dışı yağdan oluşan lipid çekirdek ve bunun üzerinde ince bir fibröz başlık vardır.

Tip Vb ve Tip Vc: Damar lümeninde kritik düzeyde daralma oluşturarak anjina pectorise neden olurlar. Ancak iskemik dönemde etkili bir kollateral dolaşım oluştu ise klinik bulgu vermeden sessiz kalabilirler.

Tip VI: Tıkayıcı trombotik depositler veya kanama içeren plaklardır. Akut koroner sendromlara neden olan lezyonları içerir. Yırtılmış bir plağın üzerinde

oluşan trombüsün çoğu fibrinolitik sistem tarafından uzaklaştırılabilir. Ancak materyalin bir kısmı plağın içine girebilir. Bu süreç, anjiyografi ile görülen hızlı plak ilerleyişi vakalarının çoğundan sorumludur. Trombotik materyal yavaş yavaş düz kas hücreleri tarafından kolonize olur ve bu hücreler trombotik materyali fibröz dokuya dönüştürür. Lezyon tip V lezyon tipine geri döner.

Tip VII; Kalsiyumun başı çektiği mineraller plak kesit alanının yarısı ya da daha fazlasını kaplıyorsa bu lezyonlar tip VII olarak adlandırılmaktadır.

Tip VIII; Lipid çekirdeğin bulunmadığı ancak intimanın, zaman zaman hiyalinize olan düzensiz yapıdaki onarıcı nitelikli fibröz bağ dokusu ile kalınlaştığı durumdur.

Bu lezyonların hastalığın son safhasını yansıttığına inanılmaktadır. Kalsifikasyon yaşla ilişkili bir kavramdır ve 70 yaşın üzerindeki kişilerde, koroner arterlerde yaygın olarak bulunur. Plak kalsifikasyonunun klinik önemi belirgin değildir, ama lezyonları daha az elastik ve gerilim kuvvetlerine karşı daha duyarlı hale getirir.

Ateroskleroz ve Enflamasyon

Aterosklerotik damar hastalığı tipik bir çevre gen etkileşimidir. Genetik eğilimi olan kişilerde çevresel risk faktörleri tetiği çekerek proenflamatuvar bir yanıt başlatır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, sigara, kolesterol, hipertansiyon, diabetes mellitus gibi risk faktörlerinin ateroskleroz gelişimindeki rolünü kanıtlamıştır. Deneysel çalışmalar ise bu risk faktörlerinin genel enflamatuvar bir yanıt başlatarak vücutta yaygın bir reaksiyon oluşturduğunu göstermiştir. Risk faktörlerine yanıt olarak hem sistemik akut faz reaktanları aktive olur, hem de endotelden bir sinyal trafiği başlar.

Risk faktörlerinden ilk etkilenen damar yapısı endoteldir^{47,48}. Normalde parlak kaygan ve trombüs oluşumunu engelleyici özellikte olan endotel risk faktörlerinin etkisi ile kayganlık özelliğini kaybeder, yapışkan ve protrombotik hale gelir. Erken yaşlardan itibaren risk faktörlerine maruz kalan endotel hücrelerinden adhezyon molekülleri (VCAM-1, ICAM), büyüme faktörleri (PDGF, β FGF, TGF- β , IL-1, TNF α) ve sitokinler (M-CSF, GM-CSF) salınmaya başlar⁴⁹.

Tek bir öğün aşırı yağlı yiyecekler yemenin bile endotel fonksiyonunu bozduğu, CRP düzeylerini yükselttiği ve adhezyon moleküllerini arttırdığı gözlenmiştir⁵⁰. Yapılan hayvan deneylerinde kolesterolden yüksek diyetle beslenen hayvanda birkaç hafta içinde endotel bozulup yapışkan bir hale gelir

ve adhezyon moleküllerini eksprese etmeye başlar^{51,52,53}. VCAM-1 hem monositleri hem de T lenfositleri bağlar. Endotele bağlanan bu hücreler subendotelyal bölgeye 'diapedez' diye adlandırılan bir mekanizma ile geçer ve burada birikir. Monositlerin subendotelyal bölgeye geçmesi için monosit kemoatraktan protein (MCP-1) isimli kemokinin bulunması gereklidir. Transgenik olarak MCP-1 eksprese edemeyen deney hayvanları oluşturulduğunda bu hayvanlarda subendotelyal lipit birikiminin hemen hemen hiç olmadığı görülmüştür⁵⁴. T hücreleri ise farklı kemokinlerin etkisi ile subendotelyal bölgede birikir. Son zamanlarda mast hücrelerinin de benzer mekanizmalarla biriktiği gösterilmiştir. Damarda oluşan yangı nedeni ile eksprese olan bu proteinler erken aterosklerotik lezyonun en önemli sorumlularıdır.

Bir yandan endotelde enflamatuar yanıt sürerken öte yandan sistemik bir subklinik enflamasyon da süregelmektedir. Ox-LDL gibi proenflamatuar risk faktörleri primer proenflamatuar sitokin adı verilen İL-1 ve TNF- α ' yı aktive ederler^{55,56}. Bu primer proenflamatuar sitokinler İL-6' yı aktive ederek karaciğerden CRP, SAA gibi akut faz reaktanlarının salınmasına yol açarlar. Sistemik subklinik enflamasyonun varlığını, kanda bazı akut faz reaktanlarını ölçerek veya endotelden salınan periferik belirleyicileri ölçerek anlamak mümkündür. Aterosklerotik sürece bağlı arttığı bilinen ve enflamasyonun bir göstergesi kabul edilen akut faz reaktanları şunlardır: CRP, fibrinojen, faktör 7, PAI-1, tPA, lipoprotein (a)^{47,48,52,57}.

Bunlardan klinikte en fazla kullanılanı hs-CRP olarak adlandırılan yüksek duyarlıklı CRP' dir^{56,58}. CRP iyi bir enflamasyon göstergesidir çünkü değerleri zaman içinde stabildir^{57,59}. Enflamasyon dışındaki bir nedenle yükselmez. Oldukça hassas ve ucuz bir testle değerleri ölçmek mümkündür. Yapılan çalışmalarda CRP düzeylerinin diğer risk belirleyicilerine ilave etkisinin olduğu gösterilmiştir. Örneğin Physicians Health Study' de total kolesterol/HDL oranı güçlü bir risk göstergesidir⁶⁰. Ancak, CRP değerlerini de buna ilave edince risk belirlemede ilave bir hassasiyet kazanılır. En yüksek risk altındaki grup hem total kolesterol/HDL oranı yüksek hem de CRP düzeyleri yüksek olan gruptur.

PROVE-IT çalışmasında, kişideki risk faktörü sayısı arttıkça buna paralel CRP değerlerinin de arttığı gösterilmiştir⁶¹. Metabolik sendromlu hastalarda risk faktör yükü fazla olduğundan CRP değerleri yüksektir. Obez hastalarda kilo

artıkça CRP değerleri artar. Hem enflamasyon yanıtını gösteren hem de trombotik yanıtı gösteren diğer bir belirleyici plazma fibrinojen değerleridir. Yapılan prospektif epidemiyolojik, kesitsel ve vaka kontrol çalışmalarında artmış fibrinojen değerlerinin koroner riski anlamlı olarak arttırdığı gösterilmiştir. Diğer akut faz reaktanları ölçümü ile ilgili sorunlar ve nonspesifik olmaları nedeniyle enflamasyon göstergesi olarak klinikte kullanılmamaktadır.

Ateroskleroz İlerlemesinde Enflamasyonun Rolü

Risk faktörlerinin devam etmesi halinde plaktaki enflamasyon devam eder ve subendotelyal birikim giderek artar. İntimada biriken LDL kolesterol enflamatuvar yanıtı bizzat artırır. Okside LDL'nin fosfolipit salınımı yolu ile endoteli aktive ettiği düşünülmektedir. Hemodinamik stres de adhezyon molekül birikimini artırıp olaya katkıda bulunur. Subendotelyal bölgede biriken monositler makrofaj hücrelerine dönüşerek çöpçül (scavenger) reseptörleri eksprese etmeye başlar. Böylece lipoproteinleri yutarlar. Kolesterol esterlerinin makrofajda birikimi ile köpük hücreleri oluşur. Makrofajlar bir yandan lipid biriktirirken öte yandan enflamatuvar mediatörleri salmaya devam ederler. Aktive endotel hücrelerinden salınan makrofaj koloni stimüle eden faktör (M-CSF) bölgedeki makrofaj yığılmasını artırır. M-CSF aynı zamanda immün sistemi uyarır.

CD40 ligand isimli proenflamatuvar sitokin de progresyona katkıda bulunan enflamatuvar mediatörlerdendir. T lenfositleri de intimada birikip proenflamatuvar sitokinleri salmaya devam ederler. T hücrelerinin bir ilginç görevi de makrofajları aktive ederek kolajen, MMP ve sitokin salınımını teşvik etmesidir. Böylece aterom plağı giderek büyür. Ox-LDL ve "heat shock" protein, "toll-like" reseptörleri uyararak enflamasyonu artırırlar.

Ateroskleroz Gelişiminde İmmün Teori: Doğal ve Adaptif Bağışıklık Yanıtı

Aterosklerozun gelişiminde hem doğal hem de adaptif bağışıklık sisteminin önemli rolü olduğu son yıllarda anlaşılmıştır^{62,63,64}. Doğal bağışıklık sistemi, mikroorganizma veya patojenle karşılaşıldığında ortaya çıkan ilk enflamatuvar yanıttır. İmmün hücreler -T hücreleri, monositler, makrofajlar ve mast hücreleri- çeşitli dokuları (aterosklerotik arter de dahil) dolaşarak antijen ararlar. T hücresi bir antijenle karşılaşp bağlandığında bir dizi sitokin salınarak enflamatuvar bir yanıt oluşur. Çöpçü ve "toll-like" reseptörler (TLR)

aterotrombozda doğal bağışıklıktan sorumlu en önemli reseptörlerdir⁶⁵. Doğal bağışıklık yanıtının ilk basamağında, çöpçü reseptörler ox-LDL' yi hücre içine alarak makrofajın köpük hücrelerine dönüşmesine yol açar⁶⁶. Ayrıca, bu yolak NF-kappa-B nükleer transkripsiyonel faktörü aktive ederek, monosit migrasyonu ve makrofaj köpük hücre oluşumuna yol açan çeşitli kemoatraktanları tetiklemektedir. Makrofaj, köpük hücreleri de sitokinler vasıtasıyla düz kas hücrelerinin aktivasyonuna ve buna bağlı olarak da ekstrasellüler matriks ve fibrozise neden olmaktadır⁶⁷. "Toll-like" reseptörler koroner aterotrombotik plaklarda, intima ve adventisya tabakalarında fibroblastlarda ve makrofajlarda bulunmaktadır.

Adaptif bağışıklık sistemi doğal bağışıklık sistemine göre daha spesifiktir. Bu sistem, T ve B hücre reseptörlerinin ve yabancı antijenleri tanıyan immüoglobülinlerin oluşumuna yol açan organize bağışıklık yanıtını içermektedir. Modifiye lipoproteinler, ısı şok proteinleri, β_2 glikoprotein 1b ve enfeksiyöz ajanlar bu tip bağışıklık sistemini uyarabilir.

Aktive T hücreleri aterogenez patogenezinde rol alan çeşitli sitokinlerin salınımına neden olmaktadır. CD4 (+) T hücreleri interferon gama, lenfotoksin, CD40 ligand ve tümör nekrozis alfa gibi proenflamatuar sitokinlerin salınımına yol açarak, plak destabilizasyonuna yol açmakta ve trombojeniteyi arttırmaktadır. Sitolitik T hücreleri (CD8) sitolizise ve hedef hücrelerin (düz kas hücreleri, endotel hücreleri ve makrofajlar) apoptozisine yol açmaktadır. Bu hücrelerin ölümü plak progresyonuna ve komplikasyonlarına katkıda bulunmaktadır.

İmmün sistemin bazı yolları ise antiinflamatuvar etkiye sahiptir. IL-10, TGF- β , B hücreleri gibi antiaterosklerotik ve antiinflamatuvar yapılar da vardır^{64,68}. Antiinflamatuvar mekanizmaların baskın gelmesi halinde ise antiaterosklerotik etki elde etmek mümkündür. Ateroskleroz gelişiminde immün sisteminin öneminin anlaşılması ile ateroskleroza karşı aşı geliştirme girişimleri başlamıştır.

Aterosklerozda Enflamasyon ve Metabolizma Arasındaki İlişki

Enflamatuar ve antiinflamatuvar aktivite arasındaki denge aterosklerozun ilerlemesini kontrol eder. Metabolik faktörler bu süreci birkaç yoldan etkiler. Belli ki, metabolizma arter duvarında lipid toplanmasına katkıda bulunur. Obezitesi olan veya metabolik sendromu olan hastalardaki adipoz doku adipokinleri

(adipoz dokudan salgılanan sitokinler olup, leptin, adinopektin ve resistini kapsar) ve enflamatuar sitokinlerden özellikle IL-6 ve $TNF\alpha$ ' yı salgılar. Tüm bunlar aterosklerozdaki enflamatuar yanıtı etkiler^{69,70}.

Aterosklerozda Enflamasyonun Sistemik Belirteçleri

Aterosklerotik arterdeki enflamatuar süreç, enflamatuar sitokinler ve diğer akut faz reaktanlarının artışına yol açar. Kararsız anjina pectoris ve AMI olan hastalarda, artmış CRP ve İL-6 düzeyleri kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. Aynı zamanda bu hastalarda diğer antienflamatuar belirteçlerden İL-7, İL-8, çözünür CD 40 ligand ve CRP ile ilişkili protein pentraksin 3 düzeyleri de artmıştır^{71,72,73,74}. Kararsız anjina pectorisdeki yükselmiş CRP düzeyi muhtemelen aterosklerotik plaktaki koroner trombozise bağlı olup, vazospazma bağlı varyant anjinada CRP düzeyinde yükselme görülmez⁷⁵. Akut koroner sendromu olan hastaların kanında aktifleşmiş enflamatuar T hücrelerinin sayısı artmıştır^{76,77}.

Tüm bu bulgular koroner arterdeki enflamatuar immün aktivasyonun akut koroner sendromu başlattığını göstermekle beraber enflamatuar belirteçlerin dolaşımdaki seviyeleri de bu hastalığın klinik sürecini yansıtmaktadır.

İL-6 koroner aterosklerotik plaklarda enflamasyon durumunda, dolaşımda saptanan bir sitokindir. İL-6 hem endokrin hem de parakrin etkileri olan pek çok fonksiyonu olan bir sitokindir. Bakteriyel toksinler ve bakteri kökenli metalloproteinazlar IL-6' nın aktive olmuş nötrofil ve monositlerin membranlarından serbestlenmesini uyabilirler⁷⁸. IL-6 konakçı savunmasında pek çok fonksiyona aracılık eder, IL-6 aktive olmuş makrofajların ve lenfositlerin etkilerini düzenleyerek aterogenez, lipid bozukluğu, HT ve insülin direnci gelişimini hızlandırır⁷⁹.

İL-6 akut faz cevabı için merkezi bir uyarandır, aynı zamanda CRP' nin karaciğerde üretiminde primer belirleyicidir. Serum IL-6 düzeyi akut miyokard enfarktüs, kararsız anjina pectoris, perkütan koroner girişimlerde ve geç stenozda artar. İL-6 trombosit agregasyonu ile beraber doku faktörü, makrofaj LDL reseptörü, CRP ve fibrinojenin ekspresyonunu uyarır. İL-6 aynı zamanda İL-1 ve $TNF\alpha$ gibi enflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu düzenler⁸⁰.

Kararlı Aterosklerotik Plak

Bir aterom plağının kararlı diye nitelendirilmesi, komplike olma riskinin düşük olduğunu anlatır. Bir plağı kararlı kılan yapısal özellikler şunlardır:

1- Kalın fibröz başlık. Fibröz başlığın kalınlığı plağın her bölgesinde eşit düzeydedir. Bu yapısal özellik plağa mekanik travmalara direnme yeteneği kazandırır. Plaktaki çevresel gerilme stresini azaltır.

2- Fibröz başlık, düz kas hücresi ve kollajen bakımından zengindir⁸¹.

3 - Lipid çekirdeği plağın toplam hacminin %40 'ından daha azdır.

4- Lezyondaki enflamasyon (makrofaj ve T lenfosit) hücrelerinin sayısı azdır⁸².

Bu özellikleri taşıyan bir aterom plağı lümeninde kritik düzeyde daralma yapacak kadar büyür ise oluşturacağı klinik tablo kararlı anjina pektoristir. Plağa kararlı olma özelliğini veren kalın fibröz başlığın temel elemanı düz kas hücreleridir.

Kararsız Aterosklerotik Plak

Kararlı plağın aksine kolay hasar görebilecek başka bir deyişle komplikasyon riski yüksek plaklardır. Bu plakların ortak özellikleri sırasıyla şöyledir:

1- Plağın toplam hacminin %40' ından daha büyük olan lipid çekirdek

2- Çok sayıdaki enflamasyon hücreleri (makrofaj ve T lenfosit)

3- Düz kas hücresi ve kollajen içeriği azalmış ince bir fibröz başlık

4- Fibröz başlık üzerindeki çevresel duvar stresinde artma

Lezyon tipleri ile yukarda sıralanan özellikler birlikte değerlendirildiğinde kararsız plakların tip IV ve V olduğu görülür. İstirahat iskemisi mevcut olup bu olay dinamik darlığa bağlıdır. Obstrüksiyon devamlı olmayıp akım bazen engellenir. Bu durumdan iki ana mekanizma sorumludur. Bunlar plağın olduğu yerdeki mural trombüs ve değişen vazomotor tonustur.

Kararsız plaklar bütün aterosklerotik plakların %10-20 kadarını oluştururken, akut koroner sendromların %80-90' ından sorumludur. Bir plak komplike olduğu zaman akut koroner sendromlara neden olabileceği gibi tamamen sessiz de kalabilir. İleri düzeyde koroner daralma yapan lezyonların %70' inin komplike olup onarılmış lezyonlar olduğu saptanmıştır.

Kararsız plakların yaralanmaya en açık bölgeleri omuz bölgeleri diye nitelendirilen fibröz başlığın damar duvarı ile birleştiği bölgelerdir. Enflamasyon hücreleri en yoğun olarak buralarda birikmiştir. Plağı kararsız kılan da enflamasyon hücrelerinin etkinliği ile düz kas hücrelerinin onarım hızı arasındaki dengedir. Enflamasyon hücreleri çeşitli yollar ile fibröz başlıkta yaralanmaya neden olur. Aktive makrofajlar, T lenfositler ve mast hücreleri enflamatuar sitokinler, proteazlar, koagülasyon faktörleri, radikaller ve vazaokatif moleküller

üretmek plağı kararsız hale getirir, kollajeni parçalar ve trombüs formasyonu oluşturarak iskemiye yol açar.

Makrofajlar doğrudan doğruya dokundukları düz kas hücrelerinde apoptozisi uyarırlar. Bunun yanında makrofajlar proteolitik enzimler de salgırlar. Metalloproteinaz (kollajenaz, jelatinaz, stromelizin) denen bu enzimler, fibröz başlığın kolajen matriksini parçalarlar. Aktive olmuş T-lenfositlerden de bir sitokin olan IFN - γ salgılanır. Bu hücre sitokini hem düz kas hücrelerin proliferasyonunu hem de hücrelerin kollajen üretimin baskılar. Bunun yanında aktive olmuş makrofajlardan salgılanan IL-1 β ve TNF- α ile T lenfositlerden salgılanan IFN- γ sinerjistik etki göstererek düz kas hücrelerinin ölümüne neden olur⁸³⁻⁸⁸. Plağın kararsız hale gelmesinde anahtar rol oynayan matriks metalloproteinaz ve sistein proteaz olmak üzere iki tip proteaz vardır⁸⁹⁻⁹¹. Matriks metalloproteinaz aktivitesi birkaç basamakta kontrol edilir. Enflamatuar sitokinler matriks metalloproteinaz geninin ekspresyonunu artırır, plazmin matriks metalloproteinaz enziminin proformunu aktive eder ve matriks metalloproteinaz inhibe eden doku proteinlerini baskılar. Benzer şekilde sistein proteazın düzeyi enflamatuar sitokinler tarafından artırılır ve sistatin adı verilen inhibitörler tarafından baskılanır.⁹¹

Koroner Arter Hastalığının Anjiyografik Sınıflaması ⁹²:

1. Kritik darlığa neden olmayan (Çap olarak %50, alan olarak %70'den daha az darlığa neden olan),
2. Kritik darlığa neden olan (Çap olarak %50, alan olarak %70 ve üzerinde darlığa neden olan).

Kritik KAH da kendi içinde;

- a. Tek damar hastalığı ve
- b. Çok damar hastalığı (iki veya üç damar KAH) olarak sınıflandırılabilir.

Lektin Benzeri Okside LDL Reseptörü-1 (OLR-1)

OLR-1 Proteini ve Fonksiyonu

OLR-1 ilk kez 1997' de Sawamura ve arkadaşları tarafından sığır aortik endotel hücrelerinden elde ettikleri komplementer DNA ekspresyonu kullanarak bulundu⁹³. OLR-1 C-tip lektin ailesine ait bir tip-II membran proteindir. OLR-1 sitoplazmik N-terminal, transmembran, boyun bölgesi ve bir de C-terminalde ox-LDL' yi bağlayan lektin-benzeri bölge olmak üzere dört bölgeden oluşmaktadır.

Aynı zamanda iki tane potansiyel N-glikozilasyon bölgesi, üç disülfid bağlanma bölgesi ve iki tane de "soluble" OLR-1 salınımı için membrana bağlı LOX-1' in ayrılma bölgelerini içermektedir⁹⁴. Lektin benzeri bölge türler arasında korunmuştur. Bu bölge aynı zamanda ligand bağlama bölgesi olup, hücre içine alım ve fagositoz süreçlerinin başlatıcısıdır⁹⁵.

Mutageniz çalışmalarını karbonhidrat tanıma bölgesindeki düzen ve rezidülerin proteinin hücre yüzeyine yerleşimi ve ligand bağlanması için zorunlu olduğunu göstermiştir. OLR-1' in düzgün katlanması, işlenmesi ve transportu için zincir içi disülfid bağlarındaki altı sistein ve C-terminal dizisinin gerekli olduğu belirlenmiştir. C-terminaldeki on amino asidin (261-270) delesyonu veya lizin-262/263 alaninle değişmesinin bağlanma aktivitesini bozduğu ya da azalttığı gözlenmiştir^{96,97}.

İnsan OLR-1 ekstraselüler C tip lektin benzeri bölge kalp şeklinde altı bazik amino asit tepeli homodimer yapıdadır. Bu yapıda köşegensel olarak iki taraf arasında OLR-1 apolar baş sağlayarak moleküllerin geçişini sağlayan hidrofobik bir tünel oluşmaktadır. Tünelin her bir açılışında, on iki yüklü rezidünün elektrostatik olarak nötral kalıntıları hemen tünel yakınında bulunmaktadır⁹⁸.

OLR-1, N-bağlı yüksek mannoz karbonhidrat zincirli 40 kDa prekürsör protein olarak sentezlenmektedir. Daha sonra glikozillenerek 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 OLR-1'in hücre yüzeyine taşınmasını ve ox-LDL' nin bağlanma affinitesini etkilemektedir⁹⁹.

Olgun OLR-1 iki farklı bölgeden bölünerek 35 kDa ağırlığında çözünür protein forma dönüşmektedir. Çözünür OLR-1 üretimi bir serin proteaz inhibitörü olan fenilmetilsülfonilflorit tarafından inhibe edilmektedir¹⁰⁰. Koroner kalp hastalarında özellikle akut koroner sendromda serum "soluble" OLR-1 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı bulunmuştur. "Soluble" OLR-1' in akut koroner sendromu diğer gruplardan yüksek sensitivite ve spesifitede ayırdığı gözlenmiştir. Bundan dolayı "soluble" OLR-1' in akut koroner sendromun erken tanısı için kullanışlı bir marker olabileceği önerilmektedir¹⁰¹.

Diğer çöpçü reseptörler gibi OLR-1 de birden fazla ligand bağlama aktivitesine sahiptir. İlk yapılan çalışmalarda ox-LDL'yi bağlamada OLR-1' in sınıf A çöpçü reseptörlerinden daha fazla afiniteye sahip olduğu gözlenmiştir. Proteinlerin şekerle etkileşimi sonucu oluşan ileri glikasyon son ürünleri (AGEs), CD36 ve SR-B reseptörlerine bağlanarak endositik olarak alınmakta ve lizozomal yıkılmaktadır¹⁰².

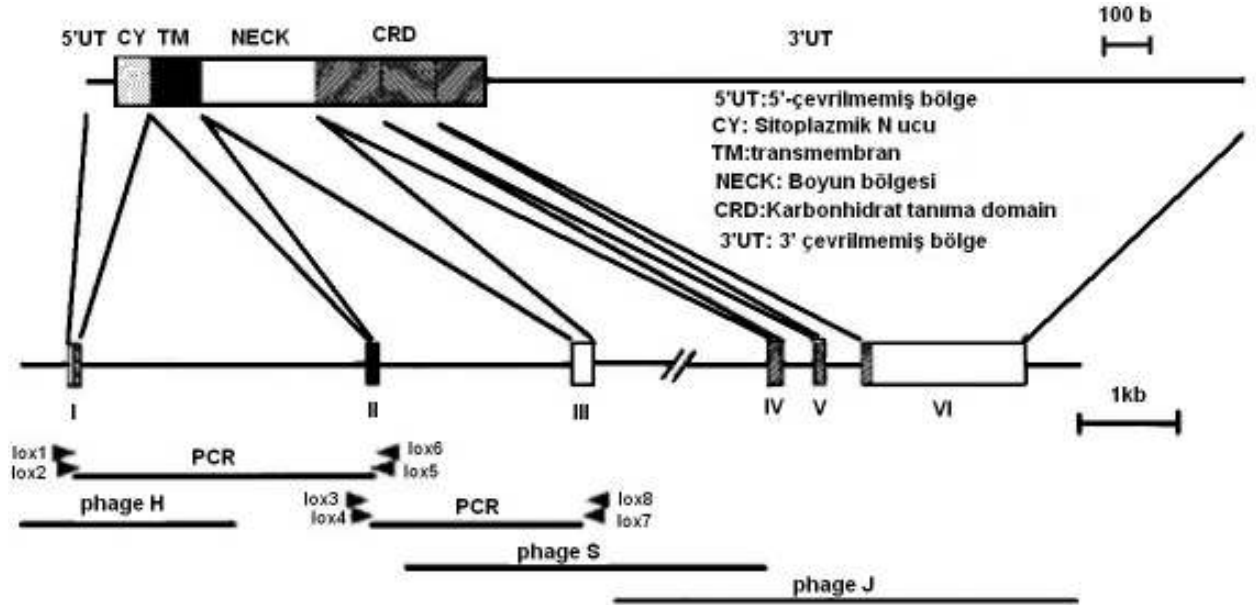
Ayrıca OLR-1' in gram pozitif ve gram negatif bakteriler için hücre yüzey reseptörü olarak davrandığı gözlemlenmiştir.¹⁰³ Yamanaka ve arkadaşları yaşlı alyuvar ve apoptotik hücrelerin fagositozuna OLR-1 aracılık ettiğini ve bu bağlanmanın ox-LDL ile inhibe olduğunu göstermiştir¹⁰⁴.

OLR-1 Genin Promotör Organizasyonu ve Yapısal Analizi

OLR-1 sekuens ve yapısal analizi sonucunda bu reseptörün herhangi bir çöpçü reseptöre benzemediği gözlenmiştir. Aksine CD94 ve NKR-P1 gibi natural killer hücre reseptörlerine önemli derecede benzerlik göstermektedir^{105,106}. Yamanaka ve arkadaşları, OLR-1 geninin doğal öldürücü hücrelerle ilişkili reseptörleri kodlayan doğal öldürücü gen kompleksi (NKC) içinde yerleşik olduğunu belirlediler¹⁰⁷.

Aoyama ve arkadaşları, insan OLR-1 gen analizi sonucunda tek kopya gen olduğunu ve kromozom 12' nin kısa kolu üzerindeki p12.2-p13.2 bölgesinde olduğunu buldular. İnsan OLR-1 geninde ekzon-1; 5' translasyon olmayan bölge (UTR) ve sitoplazmik bölgeyi, ekzon-2, sitoplazmik bölge kalıntısını ve transmembran bölgesini, ekzon-3 boyun bölgesini, ekzon-4,5 ve 6 ise lektin-benzeri bölgeyi ve 3'-UTR bölgesini kodlamaktadır.

OLR-1 gen yapısı şekil 1'de görülmektedir ¹⁰⁵. OLR-1 5 intronla bölünmüş 6 ekzondan oluşur.



Şekil 1: OLR-1 gen yapısı

OLR-1' in Ligandları

Diğer çöpçü reseptörler gibi OLR-1 de birden fazla ligand bağlama aktivitesine sahiptir. İlk yapılan çalışmalarda ox-LDL'yi bağlama aktivitesi OLR-1' in sınıf A çöpçü reseptörlerinden daha fazla afinitiyeye sahip olduğu gözlenmiştir. Proteinlerin şekerle etkileşimi sonucu oluşan ileri glikasyon son ürünleri (AGEs), CD36 ve SR-B reseptörlerine bağlanarak endositik olarak alınmakta ve lizozomal yıkılmaktadır. Ox-LDL ' nin yanı sıra OLR-1 multiple ligand bağlanma aktivitesine sahiptir. Şu ana kadar dört substrat grubu belirlenmiştir. Bunlar, modifiye proteinler (ox-LDL, asetil-LDL, hipoklorit ile modifiye olmuş HDL)^{103,108}, polianyonik kimyasallar (poliinosinik asit)¹⁰⁹, anyonik fosfolipidler (fosfotidil inositol ve serin)^{103,110}, hücresel ligandlar (apoptotik/yaşlı hücreler, aktive plateletler, gram negatif ve pozitif bakteriler) ' dir^{110,111,112}.

Yamanaka ve arkadaşları yaşlı alyuvar ve apoptotik hücrelerin fagositozuna OLR-1 aracılık ettiğini ve bu bağlanmanın ox-LDL ile inhibe olduğunu göstermiştir¹⁰⁷.

OLR-1 Gen Ekspresyonunun Regülasyonu ve Mekanizmaları

İn vivo olarak yapılan deneylerde, endotelial hücrelerde OLR-1 bazal ekspresyonun çok düşük olduğunu, ancak pek çok uyarıcı tarafından hızlı bir şekilde indüklendiği veya inhibe edildiği gözlenmiştir. (Tablo 1)

Bu patolojik koşulların bir çoğu direk ya da indirek olarak aterogenezis ile ilişkilidir¹¹², bunların varlığı OLR-1 gen ekspresyonu regülasyonu için katkı aditif ya da sinerjik etkiye sahiptir.

Renin-anjiyotensin sistemi aterogenezde önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Renin-anjiyotensinin anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri tarafından inhibisyonu anti-aterojeniktir. Anjiyotensin-II' nin (ang II) çoğu etkilerine anjiyotensin II tip 1 (AT1) reseptör aktivasyonu ile aracılık ettiği düşünülmektedir. Kültüre karotid arteriyal ve insan umbilikal ven endotel hücrelerinde Ang II belirgin şekilde OLR-1 mRNA protein ekspresyonunu artırdığı belirlenmiştir. Bu etkinin de AT1 antagonisti tarafından engellendiği bildirilmiştir¹¹³⁻¹¹⁴. Aynı zamanda Ang II insan düz kas hücrelerinde lipooksijenaz bağımlı yolak yolu ile OLR-1 ekspresyonunu artırdığı bulunmuştur. Ang II, ox-LDL alımını artırarak endotel hücre hasarına neden olmaktadır. Ox-LDL' nin anjiyotensin dönüştürücü enzim ekspresyonunu OLR-1 aracılığıyla artırdığı gözlemlenmiştir¹¹⁵⁻¹¹⁶.

Tablo-1: OLR-1 ekspresyonunun düzenlenmesi

İndükleyen faktörler Enflamatuar sitokinler: TNF- α ; İL-1 α ; İL-1 β ; LPS; AngII; İNF γ ; TGF- β ; Endotelin-1; Forbol 12 miristat 13 asetat; Heparin binding EGF Oksidatif stres: Süperoksit anyonları; Homosistein; Lisofosfotidilkolin; 8-iso- PGF2 α ; Ox-LDL Kimyasal: Asimetrik dimetil arginin; Glukoz; L-arginin; Norepinefrin; Forskolin; Dibütiril c AMP; Histamin; Doksorubisin; Linoleik asit Patolojik durumlar: Ateroskleroz; Hiperlipidemi; Hipertansiyon; Diabetes Mellitus; Nitrik oksit bozuklukları; İskemi-reperfüzyon Biyolojik faktörler: Herpes simplex virus I; Klamidya pnömonia Fiziksel koşullar: "Shear stres"
İnhibitör faktörler Anjiyotensin konverting enzim inhibitörleri; Betaksolol; Aspirin; Süperoksit dismutaz; PPAR γ aktivatörü; Statinler; Amlodipin; Pioglitazone

OLR-1' in Patofizyolojik Önemi

OLR-1 ve Ateroskleroz

OLR-1 ve ateroskleroz arasındaki yakın ilişki, birçok çalışma tarafından desteklenmektedir. Ox-LDL ateroskleroz patogenezinde önemli rol oynamaktadır¹¹⁷. OLR-1, ox-LDL için majör reseptör olduğundan; OLR-1, ox-LDL'nin toksik etkilerinin çoğuna aracılık etmektedir.

OLR-1 *in vivo* olarak, aterosklerozun tercih ettiği bölgeler olan aortik, karotid, torasik, koroner arterler ve venlerde yüksek düzeyde eksprese olmaktadır. OLR-1, makrofaj, düz kas hücreleri ve vasküler endotel hücrelerinde eksprese olmakta ve bunlar ateroskleroz gelişimine katılan en önemli 3 hücredir^{93,96}.

İnsan aterosklerotik lezyonlarında ve deneysel hayvan modellerinde OLR-1 ekspresyonunun upregülasyonu bulunmuştur. Ateroskleroz olmayan aortlarda OLR-1 ekspresyonu yoktur, aksine erken ateroskleroz lezyonlarındaki karotis arter endotel hücrelerinde OLR-1 ekspresyonu daha fazladır. Ayrıca ilerlemiş ateroskleroz plaklarının intimadaki düz kas hücrelerinde ve makrofajlarında OLR-1 pozitif olduğundan OLR-1' in aterosklerozun erken safhasında rol oynayabileceği düşünülmektedir¹¹⁸.

Upregüle olan OLR-1 aterosklerozda bir seri patofizyolojik olaya aracılık etmektedir. OLR-1 bir hücre yüzey molekülü olarak trombosit endotel etkileşimine aracılık etmekte ve aterosklerozu başlatan ve ilerleten endotoksin indüklü enflamasyona katılmaktadır¹¹².

In vivo olarak, aterosklerotik plakların rüptüre bölgelerindeki OLR-1 ekspresyonunun Bax ekspresyonu ile ko-lokalize olduğu belirlenmiştir. OLR-1, ox-LDL indüklü apoptoziste önemli rol oynamaktadır. Bunu Bax/Bcl-2 düzenlemesi ya da anti-apoptotik proteinler olan Bcl-2 ve apoptozis protein inhibitör-1 (İAP-1) ekspresyonlarını azaltması ile yapmaktadır¹¹⁹.

Statinler gibi bazı anti-aterosklerotik ilaçlar, ateroskleroz ilişkili faktörler tarafından indüklenen OLR-1' in upregülasyonunu inhibe edebilmektedirler.

Statinler ayrıca ox-LDL aracılı OLR-1 ekspresyonunu, ox-LDL alımını, adezyon moleküllerin ekspresyonunu ve endotelial nitrik oksit sentetaz downregülasyonunu inhibe etmektedirler. OLR-1 ekspresyon inhibisyonu vasküler hastalıklarda statinlerin yararlı etkilerinden biri olabilir¹²⁰. Pravastatin, kültüre insan makrofaj ve aortik düz kas hücrelerinde OLR-1 ekspresyonunu downregüle ettiği belirlenmiştir¹²¹.

Ox-LDL aterogenezin erken safhalarında görülen endotel disfonksiyonu ve aktivasyonuna neden olmaktadır. Ox-LDL endotelial hücrelerde, kemokinlerin ve monosit kemotaktik protein-1, E, P selektin, vasküler adezyon molekül-1 ve intraselüler adezyon molekül-1 gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu sitümüle etmektedir^{11,12,13}. Bu moleküller endotele monosit yapışmasını kolaylaştırarak aterosklerozun başlamasını sağlamaktadırlar.

Aynı zamanda ox-LDL, CD40/CD40L sinyal yolağını tetikleyerek endotel hücrelerde enflamatuar reaksiyona ve ateroskleroz ilişkili özellikleri aktive etmektedir¹⁴. Ayrıca ox-LDL metalloproteinaz doku inhibitörlerinden etkilenmeksizin matriks metalloproteinazlarının (MMP) salınımına neden

olmaktadır¹⁵. Bu akut koroner sendromlardaki yumuşak plak rüptürünün temeli olabilir.

Ox-LDL'nin sıgır endotel hücrelerinde süper oksit anyon üretimini indüklediği ve endotelial nitrik oksit sentetaz aktivitesini azaltarak nitrik oksit salınımını azalttığı gösterilmiştir^{16,17}. Bu etkileri, endotel disfonksiyonun majör uyarıcısı olan intraselüler oksidatif stres artışı ile sonuçlanmaktadır.

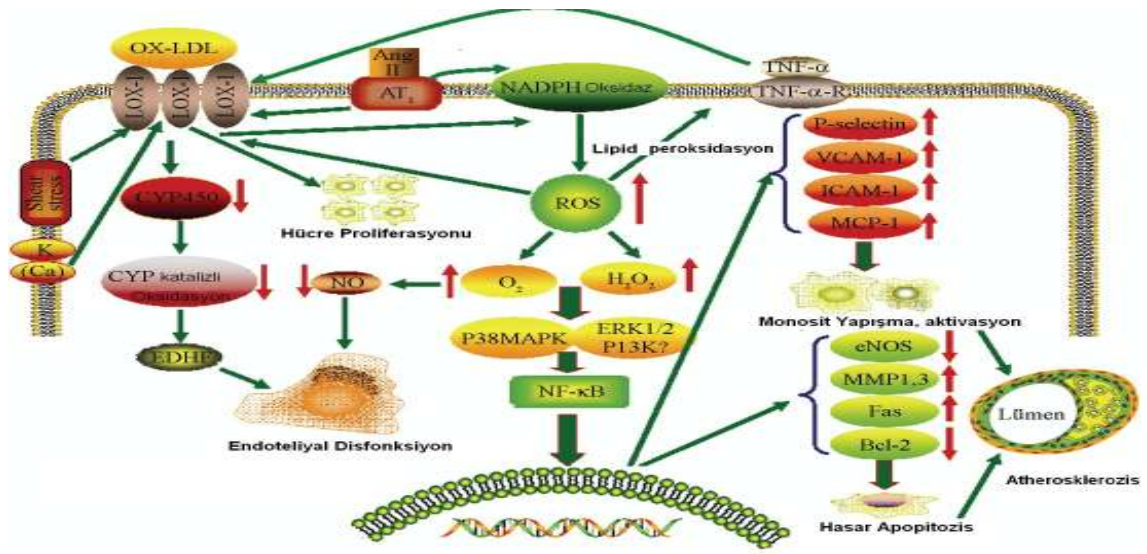
OLR-1, ox-LDL'nin bu pro-aterojenik etkilerinde önemli rol oynamaktadır. OLR-1 düz kas/fibroblast büyüme faktörleri olan trombosit kökenli büyüme faktörünün A ve B zincirleri ve heparin bağılı endotelial büyüme faktörü benzeri proteinin ekspresyonunda kiritik rol oynamaktadır. Bu faktörlerin sekresyonu ve ekspresyonu, düz kas hücrelerin ve fibroblastların proliferasyonu ve migrasyonu ile ilişkilidir. Bu da aterosklerozun ilerlemesine neden olmaktadır¹²².

İn vitro çalışmalar, ox-LDL' nin insan koroner endotel hücrelerinde apoptozis ve nekroza neden olduğu gösterilmiştir¹²³. Son çalışmalarda ox-LDL' nin Bcl-2 ve kaspaz-9 bağımlı yola endotelial apoptozise neden olduğu gözlenmiştir¹²⁴. Ox-LDL'nin bu pro-apoptotik etkileri OLR-1 antikor tarafından bloke olduğu belirlenmiştir¹²⁵. Bcl-2 ve endotelial nitrik oksit sentetaz ekspresyonu azalırken, matriks metalloproteinaz-1,3 ve Fas ekspresyonu artmakta bu da endotelial hücre apoptozu ve doku hasarı ile sonuçlanmaktadır.

Endotelial hücreleri yanı sıra OLR-1 aynı zamanda monosit, makrofaj ve düz kas hücrelerinde de eksprese olmaktadır¹²⁶. Ekspresyon düzeyleri düşük olmasına rağmen, OLR-1 ox-LDL' yi bağlamakta ve internalize ederek, düz kas hücreleri, monosit ve makrofajların köpük hücrelere dönüşümü ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca OLR-1 trombositlerde belirlenmiş ve trombosit aktivasyonu ile trombüs oluşumunda önemli rol oynamaktadır¹²⁷.

OLR-1' in aterosklerozdaki rolü, hayvan ve insan çalışmaları ile desteklenmiş ve hiperlipidemik hayvan ve insanların aterosklerotik aortlarında OLR-1 ekspresyonu arttığı gösterilmiştir^{118,128}.

Aktive olmuş OLR-1 aynı zamanda sitokrom P450 aktivitesini azaltması sitokrom katalizli oksidasyonun azalması ile sonuçlanmakta, bunun sonucunda da endotel kökenli hiperpolarize edici faktör azalmasına neden olmaktadır. Hücre içi nitrik oksit ve endotel bağımlı hiperpolarize edici faktör azalması endotelial hücre disfonksiyonuna yol açmaktadır.



Şekil 2: Endotel hücrelerinde OLR-1' in potansiyel rolü

OLR-1 Polimorfizmi ve Miyokard Enfarktüsü Arasındaki İlişki

Hassas plaklarda fazla miktarda ox-LDL, monosit ve makrofaj olduğu ve lektin benzeri OLR-1' in artmış ekspresyonu gösterilmiştir. Geçmiş çalışmalar aynı zamanda akut miyokard iskemisinde miyokarda da OLR-1 ekspresyonunun artmış olduğunu göstermiştir. Akut koroner sendromda aterosklerotik plak rüptüründe ve enflamatuar süreçte önemli rol oynadığı düşünülmektedir¹²⁹. Bu gözlemler OLR-1' in lokal ekspresyonunu, enflamatuar hasarda önemli rol oynadığını ve akut koroner sendromda aterosklerotik plağın rüptürüyle sonuçlandığını düşündürür¹³⁰.

Mango ve arkadaşları İtalyan popülasyonunda akut miyokard enfarktüsü ile zayıf ilişki gözlenmiş. Tatsuguchi ve arkadaşları Japon hastalarda miyokard enfarktüsü ile pozitif ilişki saptamışlardır¹³¹. WISE (Women's ischemia syndrome evaluation) çalışmasında OLR-1 geninin 3' UTR genetik varyantının koroner darlık ciddiyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir¹³². Mango ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında OLR-1 geninin 3' UTR varyantının 188 C>T polimorfizminin miyokard enfarktüslü hastalarda belirgin ilişkisi olduğu gösterilmiştir⁷.

Ratların OLR-1 antikoruna ile tedavi edilmesi iskemi-reperfüzyonla uyarılmış OLR-1 upregülasyonu, apoptozu, lipid peroksidasyonundan korur ve iskemi-reperfüzyonla ortaya çıkan miyokardial enfarkt alanının boyutunu azaltır.

Geçmiş çalışmalarda tek nükleotid polimorfizmi değerlendirilmiş ve sağlıklı insanlara göre miyokard enfarktüsü geçirmiş olan hastalarda OLR-1 geni 3'UTR C/T ve T/T mutasyon sıklığının belirgin artmış olması, OLR-1 geni 3'UTR C>T polimorfizmi varlığı durumunda miyokard enfarktüsü için önemli bir yatkınlık olduğunu düşündürüyor.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hasta Seçimi

Çalışmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kardiyoloji Anabilim Dalı polikliniğine ve acil servise başvuran stabil anjina pektoris, akut koroner sendrom, atipik göğüs ağrısı ön tanıları ve diğer nedenlerle (kalp yetmezliği, ventriküler taşikardi, gibi) koroner anjiyografi yapılmış olan hastalar dahil edildi. Yapılan koroner anjiyografi sonrasında en az bir major epikardiyal koroner arterinde anlamlı darlık tespit edilen 75 hasta koroner arter hastası grubuna, damarında herhangi bir darlık saptanmayan 75 hasta kontrol grubuna alınmıştır. Hastalar başvuru anındaki şikayetlerine göre stabil anjina pektoris (SAP), akut koroner sendrom ve atipik göğüs ağrısı ve diğer (ventriküler taşikardi, kalp yetmezliği, vs) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Göğüs ağrısının klinik sınıflandırılmasında aşağıdaki özellikler kullanıldı.

- 1- Karakteristik kalite ve sürede (< 20 dk veya >20 dk) substernal
- 2- Eforla, istirahatte veya duygusal stresle ortaya çıkan
- 3- Dinlenmekle veya nitrogliserin ile geçen
- 4- EKG değişikliği
- 5- Kardiyak enzim (CK, CK-MB ve Troponin)

Çalışmaya katılan hastaların yaşları, cinsiyetleri, sigara, alkol ve ilaç kullanımı ile ilgili bilgileri kaydedildi. Hastalar ateroskleroz risk faktörleri açısından sorgulandı. Diyabet öyküsü olan, insülin veya oral antidiyabetik 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 plazma kan glukozu ≥ 126 mg/dl olan hastalar DM hastası olarak değerlendirildi. Özgeçmişlerinde hipertansiyon öyküsü olan, antihipertansif ilaç alan hastalar veya özgeçmişinde hipertansiyon öyküsü olmayıp, ardışık yapılan üç ölçüm sonrasında tansiyon değeri 140/90 mmHg'nin üzerinde olan hastalar, HT hastası olarak değerlendirildi. Hiperkolesterolemi açısından hastalar LDL kolesterol değerleri ≥ 100 mg/dl olanlar veya kolesterol düşürücü ilaçlar kullanan hastalar şeklinde gruplandırıldılar.

Bu çalışma Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı.

Çalışma Grubunda Örnek Alımı

Çalışma grubunu oluşturan 150 hastanın etiledamin tetraasetik asit (EDTA) içerikli tüplere tam kanları, serumları ayrılmak üzere düz biyokimya tüplerine periferik venöz kanları alınmıştır.

Hastaların tam kanlarında, kan alımını takiben öncelikle sedimentasyonları çalışılmış ve sonra DNA izolasyonu için çalışma gününe kadar +4°C'de saklanmıştır. Lipid profili, açlık kan glukoz düzeyleri için periferik venöz kanları içeriksiz biyokimya tüplerine alınmış ve takiben 10 dakika sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılmış ve integra 800 otoanalizöründe çalışılmıştır.

DNA İzolasyonunda Kullanılan Ayırıcıların Hazırlanması

DNA izolasyonu için High Pure PCR Template Kit Kullanılmıştır. Kit içeriği tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: DNA izolasyonunda kullanılan kitin içeriği

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

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

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

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

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

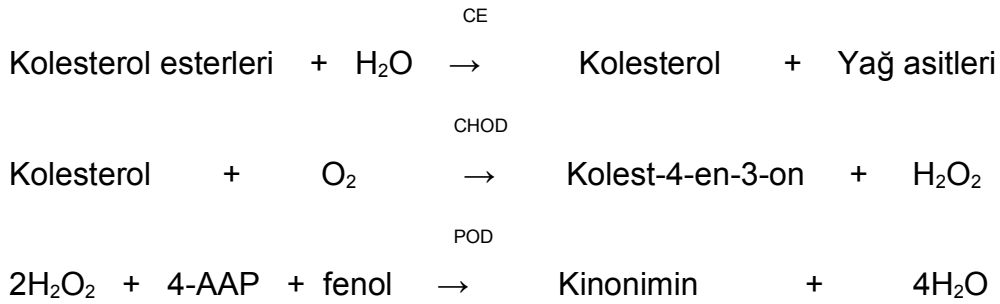
Ayrıca DNA izolasyon kitinin içerisinde bulunmayan fakat uygulama da gerekli olan 2-propandiol herhangi bir hazırlığa gerek duyulmadan stok çözültiden doğrudan kullanılmıştır.

Lipid Profili Ölçümleri:

Total kolesterol Ölçümü:

Total kolesterol 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 peroksit (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 1).

Eşitlik 1. Total kolesterolün ölçümünde yer alan tepkime denklemleri

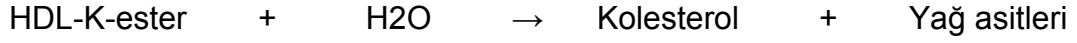


HDL Kolesterol Ölçümü

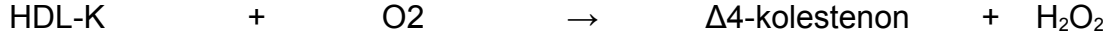
HDL-Kolesterol (HDL-K) ölçümünde homojen enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılmıştır. Yöntemin prensibinde magnezyum sülfat ve dekstran sülfat varlığında, polietilen glikol (PEG) ile modifiye edilmiş enzimlere dirençli, suda çözünen LDL, VLDL ve şilomikron kompleksleri oluşturulur. HDL-Kolesterolün 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 2). Oksijen varlığında kolesterol, kolesterol oksidaz tarafından Δ^4 -kolestenon ve H_2O_2 'ye okside olur. Hidrojen peroksit, POD tarafından 4-AAP ve HSDA varlığında mavi-mor pigment oluşturur. Oluşan mavi-mor pigmentin 582 nm dalga boyundaki absorbansı spektrofotometrik olarak belirlenir.

Eşitlik 2: HDL-Kolesterol ölçümünde kullanılan kimyasal tepkimeler.

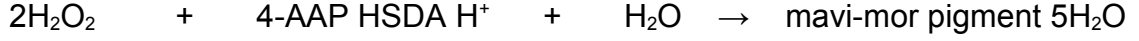
PEG-CE



PEG-Kolesterol oksidaz



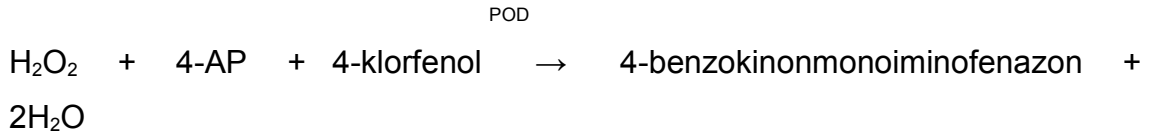
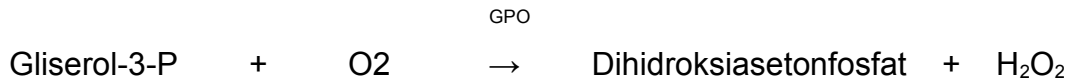
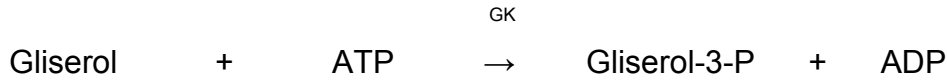
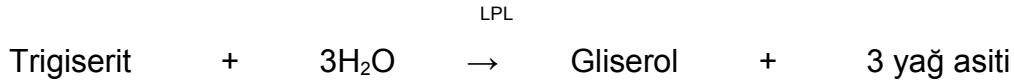
POD



Trigliserit Ölçümü

Trigliserit (TG) düzeyleri enzimatik kolorimetrik (gliserolfosfat oksidaz-peroksidaz) yöntem ile ölçülmüştür. Yöntem, 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 H₂O₂'e oksidasyonunu ve oluşan H₂O₂'in POD katalizi eşliğinde fenol ve 4-aminofenazon ile tepkimesi sonucu 4-benzokinonmonoiminofenazon oluşumuna dayanmaktadır. Oluşan kinon bileşiğinin 520 nm'de verdiği absorbans HDL-kolesterol ile doğru orantılıdır (eşitlik 3).

Eşitlik 3: Trigliserit ölçümünde yer alan tepkime denklemleri



d) LDL ve VLDL Ölçümü

LDL ve VLDL düzeyleri oransal olarak Friedwald eşitliğine göre hesaplanmıştır (Eşitlik 4).

Eşitlik 4: Friedwald Eşitliği

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

LDL=Total kolesterol - (HDL+VLDL)

DNA İzolasyonu

a) Prensiptir; Hücreler, tüm nükleazları hemen inhibe eden bir kaotropik tuz (guanidin HCl) varlığında proteinaz K ile kısa bir inkübasyon sonunda parçalanır. Hücresel nükleik asitler pürifikasyon filtre tüplerinde bulunan özel fiber cam yapıya seçici olarak bağlanır. Bağlı nükleik asitler kontamine edici hücresel elemanlardan hızlı yıkama ve çevirme işlemleri ile arındırılır. Bu işlemin gerçekleşmesinde çizelge 1'de içeriği verilen inhibitör temizleyici tampon ile yıkama tamponu kullanılmaktadır. Son olarak düşük tuz elüsyonu ile nükleik asitlerin fiber cam yapıdan ayrılması sağlanır.

b) Protokol;

- Steril bir tüpe (1,5 ml'lik kapaklı) 200 µl tam kan alınır ve üzerine sırası ile 200 µl bağlayıcı tampon ve 40 µl proteinaz K eklenir. Proteinaz eklenmesini takiben tüplerin kapakları kapatılarak hemen karıştırılır.
- Tüpler 10 dakika 72°C'de inkübe edilir.
- İnkübasyonun ardından 100µl izopropanol eklenir, iyice karıştırılır ve karışım filtre tüpüne aktarılır.
- Bir dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir.
- Toplama tüpü değiştirilir ve tüpe 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklenir. 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir ve toplama tüpü tekrar değiştirilir.
- Ardından tüpe 500µl yıkama tamponu eklenir ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir. Toplama tüpü değiştirilir.
- Bu yıkama işlemi bir kez daha tekrar edilir ve toplama tüpü değiştirilir.
- Tüpe herhangi bir çözelti eklenmeden 10 saniye 8000 rpm'de tekrar santrifüj edilir.
- 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 edilir. 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.

Primer ve Prob Dizaynı

Bütün amplifikasyon primerleri ve tüm flurofor-işaretli proplar Tib-Mol-Biol tarafından sentezlenmiş ve ters-faz HPLC ile saflaştırılmıştır. Amplifikasyonda kodlama dizisinin 5' ucunda yerleşik varyantlar için olmak üzere iki set primer kullanılmıştır.

Polimeraz Zincir Tepkimesi

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 propları, polimeraz zincir tepkimesinin (PCR) yapışma fazı esnasında amplifiye fragmanın iç dizilerine bağlanan iki iki farklı oligonükleotidden oluşur. Proplardan biri 5' ucundan LightCyler-Red ile işaretli, 3' ucundan ise fosforile edilmiştir. Diğerisi ise 3' ucundan floresanlanmıştır. Proplar dizi üzerinde birbirlerinden en fazla iki baz uzak olarak yerleşirler. İki florofor 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 LightCyler-Red'i uyarır. Emilen Floresan LightCyler cihazı tarafından ölçülür.

PCR KOŞULLARI

LOX-1 3'UTR analizi için kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları ve PCR koşulları sırasıyla tablo 3 ve 4'de verilmiştir.

Tablo 3: H/L varyant analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları.

İçerik	Konsantrasyon	Miktar
Forward primer	1 µM	1 uL
Reverse primer	1 µM	1 uL
LC640 prob	1	1 uL
Belirleme probu	1	1 uL
Hibridizasyon tamponu 10X*		2 µl
MgCl ₂	4 mM**	2.4 UI
Örnek DNA	50 ng	5 µL
Distile Su		6.6
Toplam Tepkime Hacmi		20 µL

*10 kat yoğun hibridizasyon tamponu nükleotidler, Taq polimeraz, 10 mMg²⁺ içerir.

** 4 mM MgCl₂ 20 µl toplam hacimdeki final konsantrasyondur.

Tablo 4: 3'UTR C/T varyant analizi için PCR koşulları

PCR aşamaları		Hedef ısı	Bekleme süresi (sn)	Isı geçiş oranı (°C/sn)	Floresan okuma
Denaturasyon		95°C	600	20	Yok
Amplifikasyon 58 Döngü	Denaturasyon	94°C	0	20	Yok
	Yapışma	60°C	08	20	Tek
	Uzama	72°C	12	20	Yok
Melting Curve	Dinlenme 1	95°C	0	20	Yok
	Dinlenme 2	40 °C	30	20	Yok
	Okuma	95°C	0	0,1	Sürekli
Soğuma		40°C	30	20	Yok

Genotip Belirlenmesi (“Melting Curve” Analizi)

Genotip belirlemede hibridizasyon problemleri kullanılır ve problemlerin erime ısıları farkından faydalanılarak yapılır. Problemlerden birisi (çapa prob) mutasyonlu bölgeye bağlanır. Diğer prob ise çapa 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. Problar bağlı buldukları diziden ayrıldıklarında iki prob arasındaki FRET kesilir ve sinyal üretimi olmaz .Varyantların erime ısıları C alleli için T_M :64.8°C ve T alleli için ise 59 °C'dir.

Anjiyografik Değerlendirme

Tüm hastalara diyagnostik koroner anjiyografi radial ve femoral arterden uygulandı ve standart görüntüler alındı. Anjiyografi filmleri hastaların laboratuvar bulgularını bilmeyen 3 bağımsız kardiyolog tarafından değerlendirildi. Hastaların aterosklerotik lezyonlarında kontrol grubuna kritik darlığa neden olmayan kişiler, hasta grubuna ise tıkaçıcı yani kritik darlık yapan kişiler alındı. Kritik KAH da kendi içinde; tek damar hastalığı ve çok damar hastalığı (iki veya üç damar KAH) olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 11.5 paket programına girildikten sonra sürekli ölçümlerin normal dağılıp dağılmadığı Shapiro-Wilk testi ile test edilmiş ve bazı parametreler normal dağılım gösterirken bazı parametrelerin normal dağılmadığı gözlenmiştir. Bu parametreler bakımından gruplar arasında fark olup olmadığı normal dağılan parametreler için Independent samples t testi, normal dağılım göstermeyen parametreler için ise Mann-Whitney U testi test edilmiştir. Kategorik olan parametrelerin gruplar arasındaki farklılıklarını araştırmak için Pearson ki-kare testi ve Likelihood Ratio testleri kullanılmıştır. Ayrıca, logistik regresyon analizi yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışmamıza SAP, akut koroner sendrom, atipik göğüs ağrısı ve diğer nedenlerle (ventriküler taşikardi, kalp yetmezliği, vs) koroner anjiyografi yapılan 150 hasta alındı. Major epikardiyal damarlarda veya dallarında alana göre en az \geq %70 darlık tespit edilen 75 hasta koroner arter hastası grubunu ve koroner arterleri normal olan 75 hasta ise kontrol grubunu oluşturmaktaydı.

Hem hasta grubunda hem de kontrol grubunda homozigot normal (CC)

genotip ve heterozigot mutant ile homozigot mutant (CT+TT) genotipleri olmak üzere 2' şer grup oluşturuldu. Bu gruplar arasında klinik ve demografik özellikler bakımından yaş, açlık kan şekeri, lipid profili açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Tanımlayıcı istatistikleri ve p değerleri Tablo 5 ve Tablo 6' da verilmiştir.

Koroner arter varlığı açısından cinsiyetler incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0.0001$). Çalışmaya alınan erkeklerin % 73' ü hasta grubunda iken, çalışmaya alınan kadınların ancak %30' u hasta grubunda yer almaktadır. Aynı şekilde polikliniğimize ve acil servise başvuran hastaların klinikleri incelendiğinde ise koroner arter hastalığı grubunda akut koroner sendrom şikayeti ile gelen hastaların daha fazla olduğu gözlenmektedir.

Çalışmamızda tek damar hastalığı olan 20 (% 26,7) kişi, 2 damar hastalığı olan 20 (% 26,7), 3 damar hastalığı olan 35 (% 46,7) hasta vardı.

Tablo 5: Kontrol ve KAH gruplarında OLR-1 geni 3'UTR polimorfizmi genotiplerinin klinik ve demografik özelliklere göre dağılımı

Klinik ve demografik özellikler		Kontrol		p	Hasta		p
		CC	CT+TT		CC	CT+TT	
Cinsiyet	Kadın	20 (71,4)	24 (51,1)	0,083	2 (25,0)	18 (26,9)	0,910
	Erkek	8 (28,6)	23 (48,9)		6 (75,0)	49 (73,1)	

MI öyküsü	Yok	28 (100,0)	47 (100,0)	-	6 (58,7)	53 (79,1)	0,667
	Var	0 (0,0)	0 (0,0)		1 (14,3)	14 (20,9)	
Diyabet	Yok	21 (75,0)	36 (76,6)	0,876	5 (62,5)	46 (68,7)	0,724
	Var	7 (25,0)	11 (23,4)		3 (37,5)	21 (87,5)	
HT	Yok	14 (50,0)	23 (48,9)	0,929	3 (37,5)	29 (43,3)	0,753
	Var	14 (50,0)	24 (51,1)		5 (62,5)	38 (56,7)	
Sigara	Yok	25 (89,3)	32 (68,1)	0,038	5 (62,5)	45 (67,2)	0,793
	Var	3 (10,7)	15 (31,9)		3 (37,5)	22 (32,8)	
Aile öyküsü	Yok	21 (75,0)	34 (72,3)	0,801	4 (50,0)	44 (65,7)	0,391
	Var	7 (25,0)	13 (27,7)		4 (50,0)	23 (34,3)	
Hiperlipidemi ve antihiperlipidemik ilaç kullanımı	Yok	24 (85,7)	39 (83,0)	0,753	4 (50,0)	52 (77,6)	0,111
	Var	4 (14,3)	8 (17,0)		4 (50,0)	15 (22,4)	
Başvuru şekli	SAP	14 (51,9)	21 (44,7)	0,712	1 (12,5)	17 (25,4)	0,391
	Akut koroner sendrom				7 (87,5)	50 (74,6)	
	Atipik göğüs ağrısı	11 (40,7)	20 (42,6)				
	Diğer	2 (7,4)	6 (12,8)				

C: Sitozin, T: Timin

Tablo 6: KAH ve kontrol grubunda OLR-1 geni 3'UTR polimorfizmi genotiplerinin yaş, açlık kan şekeri ve lipid düzeylerine göre dağılımı

	Kontrol			Hasta		
	CC	CT+ TT	p	CC	CT+ TT	p
Yaş	54.8 ± 12.5	54.8 ± 13.2	0,986	54.9 ± 9.6	59.8 ± 10.9	0,227
Açlık kan şekeri	100,40 ± 22,74	101,19 ± 33,55	0,810	175,30 ± 167,41	121,30 ± 55,12	0,443
Total	165.50 ±	178.19 ±	0,171	167.58 ±	174,43 ±	0,692

kolesterol	34.92	40.39		43,46	46,32	
HDL	43.01 ± 9.75	39.34 ± 10.46	0,135	39,34 ± 10,18	38,72 ± 12,67	0,895
LDL	94.58 ± 27.23	107.82 ± 32.16	0,073	98,41 ± 12,67	105,37 ± 38,46	0,625
Trigliserid	178,10 ± 207,67	154,11 ± 64,73	0,122	150,17 ± 78,56	152,56 ± 85,92	0,925

Tablo 7: KAH ve kontrol grubunda OLR-1 geni 3'UTR polimorfizminin genotip ve allel frekansları

		Kontrol (N=75)	Hasta (N=75)	p
		Sayı (%)	Sayı (%)	
Gen polimorfizm	CC	28 (37,3)	8 (10,7)	< 0.0001
	CT	35 (46,7)	28 (37,3)	
	TT	12 (16,0)	39 (52,0)	
ALLELLER	C	91 (60.67)	44 (29.33)	< 0.0001
	T	59 (39.33)	106 (70.67)	

3'UTR gen polimorfizmleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmektedir ($p < 0.0001$). Tablo 7 incelendiğinde kontrol grubunda homozigot normal (CC) ve heterozigot mutant (CT) genotipler çoğunlukta iken hasta grubunda homozigot mutant genotipe (TT) daha fazla rastlanmaktadır. Alleller bakımından da genotipler bakımından da hasta ve kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p < 0.0001$). Tanımlayıcı istatistikler (sayı, yüzde) ve p değerleri yukarıda tablo 7'de verilmektedir.

3'UTR gen polimorfizmleri başvuru şekillerine göre incelendiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmektedir ($p = 0.005$). (Tablo 8) Homozigot mutant (TT) genotipdeki hastaların 17'si (% 33.3) SAP, 29'u (% 56.9) akut koroner sendrom ve 4'ü (% 7.8) ise göğüs ağrısı ile hastanemize başvurmuştur.

Tablo 8: Başvuru şekillerine göre 3'UTR polimorfizmi genotip dağılımı

	Homozigot Normal (C/C)		Heterozigot Mutant (C/T)		Homozigot Mutant (T/T)		p
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	

Başvuru şekli	SAP	15	42.9	21	33.3	17	33.3	0.005
	Akut koroner sendrom	7	20.0	21	33.3	29	56.9	
	Atipik göğüs ağrısı	11	31.4	16	25.4	4	7.8	
	Diğer	2	5.7	5	7.9	1	2.0	

Gen polimorfizmleri hasta damar sayıları bakımından incelediğinde homozigot mutant (TT) genotipde çok damar hastalığı, tek damar hastalığına göre istatistiksel olarak daha fazla gözlenmiştir (p=0.043). Bu verilere ait tanımlayıcı istatistikler (sayı, yüzde) ve p değerleri tablo 9’ da yer almaktadır.

Tablo 9: 3’ UTR gen polimorfizminin damar tutulum sayısı ile ilişkisi

		Tek damar	Çok damar	p
		Sayı (%)	Sayı (%)	
Gen polimorfizm	CC	2 (10,0)	6 (10,9)	0,043
	CT	12 (60,0)	16 (29,1)	
	TT	6 (30,0)	33 (60,0)	
Genotip	CC	2 (10,0)	6 (10,6)	0,91
	CT+TT	18 (90,0)	49 (89,1)	

Tablo 10’ da logistik regresyon analizinde genotipler, cinsiyet, yaş ve açlık kan şekeri değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Genotipler açısından; homozigot mutant (TT) genotip, homozigot normal (CC) genotipe göre koroner arter hastalığı için 11.01 kat daha fazla risk altındadır. Cinsiyet bakımından incelendiğinde ise erkekler kadınlara göre koroner arter hastalığı için 6.85 kat daha fazla risk altındadır. Ayrıca yaş ve açlık kan şekeri değerleri bakımından incelendiğinde ise bu değerler arttıkça koroner arter hastalığı riski de artmaktadır.

Tablo 10: KAH’ da bağımsız risk faktörlerinin belirlenmesi için uygulanan çok değişkenli logistik regresyon analizi sonuçları

Parametreler	OR [% 95 Güven aralığı]	p
Genotip		
CC vs CT	2.813 [0.923- 8.574]	0.069
CC vs TT	11.006 [3.221-37.601]	< 0.0001
Cinsiyet		
K vs E	6.859 [2.743- 17.15]	< 0.0001

Yaş	1.047 [1.010-1.086]	0.013
AKŞ	1.013 [1.003-1.023]	0.009
Total kolesterol	1.041 [0.918-1.180]	0.532
HDL	0.963 [0.840-1.105]	0.595
LDL	0.961 [0.847-1.090]	0.536
Trigliserid	0.992 [0.967-1.017]	0.516

TARTIŞMA

Ülkemizdeki ölümlerin % 42' sinden kardiyovasküler hastalıkların sorumlu olduğu bilinmektedir ve her yıl 200 bin kişi bu nedenle hayatını kaybetmektedir¹⁸. Literatürde OLR-1 geni 3' UTR C>T polimorfizmi ile koroner arter hastalığı varlığı arasındaki ilişkiyi inceleyen 4 adet çalışma mevcuttur. Türkiye' de OLR-1 geni 3' -UTR C>T polimorfizminin koroner arter hastalığı ile ilişkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu projede ülkemizde 3' UTR C>T polimorfizminin koroner arter hastalığı varlığı ve ciddiyeti ile ilişkisini inceledik. Çalışmamız koroner arter hastalığı risk faktörleri üzerine ülkemizde yapılan diğer çalışmalardan farklı olması ve bu konuda ilk defa çalışılan bir mutasyon olması bakımından önemli bir yere sahiptir.

Çalışmamızda SAP, akut koroner sendrom, atipik göğüs ağrısı ve diğer nedenlerle koroner anjiyografi yapılan 150 hasta alındı. Koroner arter hastalığı ve kontrol grupları, homozigot normal (CC) genotip ile heterozigot mutant ve homozigot mutant (CT+TT) genotipleri olmak üzere 2' şer gruba ayrıldı. Genotip grupları arasında klinik, demografik özellikler, açlık kan şekeri ve lipid profili bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Kontrol grubunda homozigot normal (CC) ve heterozigot mutant (CT) genotipler çoğunlukta iken hasta grubunda homozigot mutant genotipe (TT)

daha fazla rastlanmaktaydı ($p < 0.0001$). Homozigot mutant (TT) genotipdeki hastaların yarısından fazlası akut koroner sendrom ile kliniğimize başvurmuştur ($p=0.005$). Homozigot mutant (TT) genotipde çok damar hastalığı, tek damar hastalığına göre daha fazla gözlenmiştir ($p=0.043$).

Logistik regresyon analizinde homozigot mutant (TT) genotip, homozigot normal (CC) genotipe göre koroner arter hastalığı için 11.01 kat, heterozigot mutant (CT) genotip ise 2.8 kat daha fazla risk altındadır. Erkekler kadınlara göre koroner arter hastalığı için 6.85 kat daha fazla risk altındadır. Ayrıca yaş ve açlık kan şekerleri değerleri arttıkça koroner arter hastalığı riski de artmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, lipid metabolizmasında rol oynayan genlerdeki ortak polimorfizmlerin, plazma lipoprotein seviyeleriyle ilişkisini belirlemeye odaklanmıştır. Genetik düzenlemedeki farklılıklar neden bazı insanlarda ateroskleroz gelişmediğini, bazılarında da neden daha şiddetli reaksiyon geliştiğini açıklayabilir. Zorunlu pek çok genin uygun ekspresyonu için mRNA' nın 3'UTR bölgesi şarttır. Bu nedenle yapılan çalışmalar bu bölge üzerine yoğunlaşmıştır.

Mango ve arkadaşlarının, İtalyan hastalarla yaptığı bir çalışmada akut koroner sendrom ile OLR-1 geninde şimdiye kadar tanımlanmış polimorfizmler incelenmiş. Bu polimorfizmler içinde en belirgin ilişkinin 3' UTR C>T polimorfizminde gözleendiği gösterilmiş. Bizim çalışmamızda da olduğu gibi T aleli içeren genotiplerin, hasta grupta kontrol grubuna göre daha fazla gözleendiğini yayınlamışlardır.

Sentinelli ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, 3' UTR C>T polimorfizminin İtalyanlarda koroner arter hastalığı varlığı ve ciddiyeti ile ilişkisi olmadığını ileri sürmüştür¹³⁴. Bu çalışmaya alınan hastaların tamamı İtalya' da yaşayan Kafkasyalı hastalardı. Koroner anjiyografide kritik darlığı olan veya klinik olarak MI bulguları olan hastalar koroner arter hastalığı grubuna alınmıştır. Kontrol grubuna alınan 215 hastanın sadece 54 tanesine koroner anjiyografi uygulanmış. Bahsi geçen çalışmalardaki önemli limitasyonlara rağmen farklı etnik kökenlerde genetik farklılık olabilmesi açısından İtalya' da yapılan bu iki çalışma önemlidir.

Qi Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, OLR-1 genindeki genetik varyasyonlar ve KAH için riskleri araştırılmış. Araştırmaya alınan hasta grubu WISE (Women's Ischemia Syndrome Evaluation) çalışmasına alınan hastalardan

oluşmaktaydı¹³². İskemi nedeniyle koroner anjiyografi yapılan beyaz ve siyah kadın hastalar çalışmaya alınmıştır. Sonuçta 3'UTR/T allel taşıyıcılığı beyaz kadınlarda siyah kadınlardan belirgin olarak daha fazlaydı ve T allel taşıyıcılığı frekansı darlık derecesi arttıkça artmaktaydı. Siyah kadınlarda T allel taşıyıcılığı ile KAH arasında belirgin ilişki izlenmedi. Plazma lipid seviyeleri ile OLR-1 polimorfizmleri arasında belirgin bir ilişki saptanmamıştır. Bu sonuç, 3' UTR polimorfizminin KAH riskini etkilemesi için ox-LDL metabolizmasında etkili olması gerektiğini düşündürmektedir.

Hassas plaklarda fazla miktarda ox-LDL, monosit, makrofaj olduğu ve OLR-1' in artmış ekspresyonu gösterilmiştir. Geçmiş çalışmalar aynı zamanda akut miyokard iskemisinde miyokarda da OLR-1 ekspresyonunun artmış olduğunu göstermiştir. OLR-1' in lokal ekspresyonunun artmış olması, enflamatuar hasarda önemli rol oynadığını ve akut koroner sendromda aterosklerotik plağın rüptürüyle sonuçlandığını düşündürür^{129,130}. Şimdiye kadar aterosklerozlu hastaların plazmasında ox-LDL varlığı gösterilememiştir fakat iskemik miyokardiyal hasar esnasında "soluble" OLR-1, kardiyak troponin T gibi kardiyovasküler hasar belirteçlerinden daha önce görülmektedir. Serum "soluble" OLR-1 düzeylerinin akut koroner sendromdan 24 saat sonra azalması, miyokardiyal hasardan ziyade hastalığın destabilizasyonu için belirteç olabileceğini düşündürmektedir¹⁰¹.

Aterosklerotik lezyonlarda OLR-1 ekspresyonu bazı ilaçlardan etkilenmektedir. Kandesartan ve rosuvastatinle yapılan hayvan deneylerinde, ACE ve anjiyotensin reseptör tip I blokerlerinin koroner endotelial hücrelerde OLR-1 ekspresyonunu ve ox-LDL alımını azalttığı gösterilmiştir. Statinler, ateroskleroz ilişkili faktörlerin ox-LDL aracılı OLR-1 ekspresyonunu, ox-LDL alımını, adezyon molekül ekspresyonunu ve endotelial nitrik oksit sentetaz downregülasyonunu inhibe eder. Bu da statinlerin vasküler hastalıklarda yararlı etkilerinden bir tanesi olabilir. Pucetti ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, hiperkolesterolemik 1039 hastada atorvastatinin antitrombotik özelliğinde genetik etki incelenmiş ve sonuçta OLR-1 geni 3'UTR C>T polimorfizmi ile korelasyon saptanmıştır. Bu çalışmada yer alan T allel taşıyıcısı hastaların olduğu grupta hedef LDL seviyelerini sağlayan statin kullanımına rağmen kardiyak olaya daha fazla rastlanmıştır¹³⁵. C allel taşıyıcısı olan hastalarda LDL düşüşüne bağlı olmadan OLR-1 ekspresyonunun hızlıca ayarlandığı

gösterilmiştir. Geçmiş çalışmalar, statinlerin pleotropik etkilerinin tedavinin başlangıcında belirgin olduğunu göstermiştir. Yapılan bu çalışma ile statinlerin antitrombotik etkilerinin hedef LDL düzeyine ulaşmasından bağımsız olduğu ve polimorfizmden etkilendiği gösterilmiştir¹³⁶. Hofnagel ve arkadaşları, pravastatinin kültüre insan makrofaj ve aortik düz kas hücrelerinde OLR-1 ekspresyonunu downregüle ettiğini göstermiştir¹³⁷.

Toba ve arkadaşları, kalsiyum kanal blokeri olan amlodipin ve manidipinin kültüre rat aortik endotel hücrelerinde Ang II bağımlı VCAM-1, ICAM-1 ve MCP-1 ekspresyonunu belirgin miktarda azalttığını aynı zamanda Ang II bağımlı OLR-1 artışından koruduğunu göstermiş ve kalsiyum kanal blokerlerinin aterogenezdaki yararlı etkisinin OLR-1 ekspresyonunun inhibisyonundan kaynaklandığını ileri sürmüştür¹³⁸.

Mehta ve arkadaşları, aspirinin OLR-1 aracılı endotel disfonksiyonu ve MMP aracılı plak destabilizasyonunu önlediğini göstermiştir¹³⁹.

Anjiyotensin II' nin invitro olarak OLR-1 mRNA' sını indüklediği gösterilmiştir. AT I reseptör blokeri losartan ile koroner arter hastalarında yapılan bir çalışmada, uzun süreli AT I reseptör blokeri alan hastalarda kan basıncı değişikliği olmaksızın belirgin OLR-1 mRNA downregülasyonu gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu da, AT-1 reseptör blokerlerinin antiaterosklerotik etkinliğini göstermektedir¹⁴⁰.

Bizim çalışmamızda rapor edilen koroner arter hastalığı ve OLR-1 geni 3' UTR polimorfizmi ilişkisi ile OLR-1 geninin koroner arter hastalığı patogenezine karıştığı hipotezine olan inanç güçlenmiştir. Bu ilişkinin ortaya konması, koroner arter hastalığı genetik alt yapısının aydınlatılmasına ışık tutacaktır. Koroner arter hastalığının, OLR-1 geni ve mutasyonları ile ilişkisinin ortaya konması, koroner arter hastalığının tanı ve tedavisinde çok yeni yaklaşımlar oluşmasına neden olabilir. Koroner arter hastalığı risk faktörlerinin, OLR-1 gen polimorfizmi ile ilişkisini saptamak uygulanan tedavilerin etkinliği için de ön gördürücü olacaktır. OLR-1 gen polimorfizminin ACE inhibitörleri, kalsiyum kanal blokerleri ve asetil salisilik asitin endotel disfonksiyonu üzerindeki olumlu etkilerini etkileyip etkilemediğinin araştırılması önemlidir.

Koroner arter hastalığında geçmişte saptanmış başka genetik faktörler de mevcuttur. Koroner arter hastalığı gen-çevre ve gen-gen etkileşimi gösterebilen multifaktoriyel bir hastalıktır. Çevresel risk faktörleri ve genetik faktörlerle OLR-1

polimorfizminin olası etkileşimini incelemek için çoklu regresyon analizleri yapılmalıdır.

Stent restenozunun anjiyotensin dönüştürücü enzim reseptöründe DD polimorfizmi ve metilentetrahidrofolat redüktaz gen polimorfizmi gibi genetik faktörlerle ilişkileri incelenmiştir¹⁴¹. Bizim çalışmamızda hasta grubunda 8 hastada stent restenozu saptanmış olup, bu hastaların hepsinde de T allel taşıyıcılığı mevcuttu. İlaç kaplı ve çıplak stentlerin restenozunda ox-LDL, OLR-1 ve OLR-1 gen polimorfizminin rolü araştırılabilir.

SONUÇ

Koroner arter hastalığı tüm dünyada mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir. Primer koruma, dünya sağlık politikalarının birinci hedefi olmayı sürdürmektedir. Bu nedenle daha prelinik dönemde koroner arter hastalarının tanınması ve tedavisi önemlidir. Geleneksel risk faktörlerinin bazı durumlarda yetersiz kalması yeni risk faktörlerinin tanınmasını gerekli kılmıştır. Çalışmamızda rapor edilen koroner arter hastalığı ve OLR-1 3'UTR C>T polimorfizmi ilişkisi ile OLR-1 geninin KAH ve akut koroner sendrom patogeneze karıştığı hipotezine olan inanç güçlenmiştir.

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 morbitenin azaltılması açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Murray CJ, Lopez AD. Global mortality disability and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease study. *Lancet* 1997;349:1436-42
2. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. *NEJM* 1986;314:488-512.
3. Tousoulis D, Davies G, Stefanadis C, et al. Inflammatory and Thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis. *Heart* 2003;89:993-97
4. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, et al. Prevalence of conventional risk factor in patients with coronary heart disease. *JAMA* 2003;290:891-99.
5. Ridker PM. Evaluating novel cardiovascular risk factors: Can we better predict heart attacks? *Ann Intern Med* 1999;130:933-38.
6. Tamminen M, Motino G, Qiao JH, et al. Ultrastructure of early lipid accumulation in apo E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:847-853.
7. Williams KJ, Tabas I, et al. The response to retention hypothesis of atherogenesis reinforced. *Curr Opin Lipidel* 1998;9:471-474.

8. Faraci FM, Sigmund CD. Vascular biology in genetically altered mice: Smaller vessels, bigger insight. *Circ Res* 1999;85:1214-1225.
9. Fuster V, Badimon L, Badimon J, et al. The pathogenesis of coronary artery disease and acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992;326:242-50
10. R Mango, F Clementi, P Borgiani et al. Association of single nucleotide polymorphism in the oxidized LDL receptor 1 (OLR1) gene in patients with acute myocardial infarction. *J Med Genet* 2003;40:933-36.
11. Li L, Mehta JL. Antisense to LOX-1 inhibits oxidized LDL-mediated upregulation of monocyte chemoattractant protein-1 and monocyte adhesion to human coronary artery endothelial cells. *Circulation* 2000;101:2889-95.
12. Li D, Chen H, Sawamura T, Saldeen T, Mehta JL. Statins modulate oxidized low-density lipoprotein-mediated adhesion molecule expression in human coronary endothelial cells: role of LOX-1. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302:601-05.
13. Erl W, Weber PC, Weber C. Monocytic cell adhesion to endothelial cells stimulated by oxidized low density lipoprotein is mediated by distinct endothelial ligands. *Atherosclerosis* 1998;136:297-303.
14. 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.
15. 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;107:612-17.
16. 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;275:12633-38.
17. 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;103:2102-07.

- 18.** Onat A. Erişkinlerimizde kalp hastalıkları prevalansı, yeni koroner olaylar ve kalpten ölüm sıklığı. TEKHARF, İstanbul 2009;6.
- 19.** Tsao PS, Buitrago R, Chan JR, et al. Nitric oxide regulates monocytes chemotactic protein-1. *Circulation* 1997;96:934-40.
- 20.** Tsao PS, Buitrago R, Chan JR, et al. Fluid flow inhibits endothelial adhesiveness. Nitric oxide and transcriptional regulation of VCAM-1. *Circulation* 1996;94:1682-89.
- 21.** De Caterina R, Libby P, Peng HB, et al. Nitric oxide decreases cytokine induced endothelial activation: nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995;96:60-68.
- 22.** Li Hi, Forsterman U. Nitric oxide in pathogenesis of vascular disease. *J Pathol* 2000;190:244-54.
- 23.** Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, et al. Beyond cholesterol, modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989;320:915-24.
- 24.** Sowers JR. Hypertension, angiotensin II, and oxidative stress. *N Engl J Med* 2002;346:1999-2001.
- 25.** Drexler H. Factors involved in the maintenance of endothelial function. *Am J Cardiol* 1998;82:35-45.
- 26.** Farugi RM, Di Corleto PE. Mechanisms of monocyte recruitment and accumulation. *BHJ* 1993;69:19-29.
- 27.** Zaman AG, Helft G, Worthley SG, et al. The role of plaque rupture and thrombosis in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000;149:251-266.
- 28.** Libby P, Warner SJ, Saloman RN, et al. Production of platelet-derived growth factor like mitogen by smooth muscle cells from human atheroma. *NEJM* 1988;318:1493-98.
- 29.** Xu Q. Role of heat shock proteins in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1547-59.
- 30.** Stemme S, Faber B, Holm J, et al. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:3893-97.

- 31.** De Boer OJ, Van Der Wal AC, Houtcamp MA, et al. Unstable atherosclerotic plaques contain T-cells that respond to *Chlamydia pneumoniae*. *Cardiovasc Res* 2000;48:402-08.
- 32.** Frostegard J, Ulfgren AK, Nyberg P, et al. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: Dominance of proinflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. *Atherosclerosis* 1999;145:33-43.
- 33.** Uyemura K, Demer LL, Castle SC et al. Cross-regulatory roles of interleukin (IL)-12 and IL-10 in atherosclerosis. *J Clin Invest* 1996;97:2130-38.
- 34.** Szabo SJ, Sullivan BM, Peng SL, Glimcher LH. Molecular mechanisms regulating Th1 immune responses. *Annu Rev Immunol* 2003;21:713-58.
- 35.** Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1876-90.
- 36.** Shimuzi K, Shichiri M, Libby P, et al. Th2 predominant inflammation and blockade of IFN-gamma signaling induce aneurysms in allografted aortas. *J Clin Invest* 2004;114:300-08.
- 37.** Naruko T, Ueda M, Haze K, et al. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation* 2002;106:2894-99.
- 38.** Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
- 39.** Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1976;295:420-25.
- 40.** Kaski J.C. Atheromatous plaque location and arterial remodelling. *Eur Heart J* 2003;24:329-36.
- 41.** Pratty F, Arbustini E, Laberlarte A, et al. Eccentric atherosclerotic plaques with positive remodelling have a pericardial distribution: a permissive role of pericardial fat? A three dimensional intravascular ultrasound study of left anterior descending artery lesions. *Eur Heart J* 2003;24:329-36.
- 42.** Schwenke DC, Carew TE. Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol fed –rabbits. II. Selective retention LDL permeability in susceptible sites of arteries. *Arteriosclerosis* 1989;9:908-18.
- 43.** Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest* 1991;107:1227-34.

- 44.** Poddar R, Sivasubramanian N, Di Bello PM, et al. Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. *Circulation* 2001;103:2717-23.
- 45.** Mc Cully KS, Wilson RB. Homocysteine theory of arteriosclerosis. *Atherosclerosis* 1975;22:215-73.
- 46.** Stary HC, Chandler A, Dinsmore R, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Atherosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995;92:1355-63.
- 47.** Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis. *Cell Tissue Res* 2009;335:191-203.
- 48.** Virani SS, Polsani VR, Nambi V. Novel markers of inflammation in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2008;10:164-70.
- 49.** Libby P. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev* 2007;65:140-6.
- 50.** O'Keefe JH, Gheewala NM, O'Keefe JO. Dietary strategies for improving post-prandial glucose, lipids, inflammation, and cardiovascular health. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:249-55.
- 51.** Montecucco F, Mach F. Common inflammatory mediators orchestrate pathophysiological processes in rheumatoid arthritis and atherosclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2009;48:11-22.
- 52.** Zhang C. The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction. *Basic Res Cardiol* 2008;103:398-406.
- 53.** Athyros VG, Kakafika AI, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Do we need to consider inflammatory markers when we treat atherosclerotic disease? *Atherosclerosis* 2008;200:1-12.
- 54.** Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, et al. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:8264-8.
- 55.** Abdalla Abbas M, Guenther A, Galantucci S, Fawi G, Comi G, Kwan J, et al. Microbial risk factors of cardiovascular and cerebrovascular diseases: potential therapeutical options. *Open Neurol J* 2008;2:20-4.

- 56.** Alizadeh Dehnavi R, de Roos A, Rabelink TJ, et al. Elevated CRP levels are associated with increased carotid atherosclerosis independent of visceral obesity. *Atherosclerosis* 2008;200:417-23.
- 57.** Rizzo M, Corrado E, Coppola G, Muratori I, Novo G, Novo S. Markers of inflammation are strong predictors of subclinical and clinical atherosclerosis in women with hypertension. *Coron Artery Dis* 2009;20:15-20.
- 58.** Halvorsen B, Otterdal K, Dahl TB, et al. Atherosclerotic plaque stability--what determines the fate of a plaque? *Prog Cardiovasc Dis* 2008;51:183-94.
- 59.** Ridker PM, Silvertown JD. Inflammation, C-reactive protein, and atherothrombosis. *J Periodontol* 2008;79:1544-51.
- 60.** Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-79.
- 61.** Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, et al. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004;350:1495-504.
- 62.** Hansson GK, Libby P, Schönbeck U, Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res* 2002;91:281-91.
- 63.** Bodi V, Sanchis J, Nunez J, Mainar L, Minana G, Benet I, et al. Uncontrolled immune response in acute myocardial infarction: unraveling the thread. *Am Heart J* 2008;156:1065-73.
- 64.** Matsuura E, Kobayashi K, Lopez LR. Atherosclerosis in autoimmune diseases. *Curr Rheumatol Rep* 2009;11:61-9.
- 65.** Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell* 2002;111: 927-30.
- 66.** Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1876-90.
- 67.** Libby P, Bonow RO, Zipes DP, Mann DL. Braunwald's heart disease, textbook of cardiovascular medicine, 8th edition, 1146-1153.
- 68.** Micallef MA, Garg ML. Anti-inflammatory and cardioprotective effects of n-3 polyunsaturated fatty acids and plant sterols in hyperlipidemic individuals. *Atherosclerosis* 2009;204:476-82.
- 69.** Arner P. The adipocyte in insulin resistance: Key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol Metab* 2003;14:137-45.

- 70.** Yudkin JS, Juhan-Vague I, Haw E, et al. Low-grade inflammation may play a role in the etiology of the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease; The HIFMECH Study. *Metabolism* 2004;53:852-57.
- 71.** Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan-Bengtson K, et al. Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1984;311:501-15.
- 72.** Aukrust P, Müller F, Ueland T, et al. Enhanced levels of soluble and membranebound CD40 ligand in patients with unstable angina: possible reflection of T lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndromes. *Circulation* 1999;100:614-20.
- 73.** Peri G, Inrona M, Corradi D, et al. PTX3, a prototypical long pentraxin, is an early indicator of acute myocardial infarction in humans. *Circulation* 2000;102:636-41.
- 74.** Damas JK, Waehre T, Yndestad A, et al. Interleukin-7- mediated inflammation in unstable angina: Possible role of chemokines and platelets. *Circulation* 2003;107:2670-76.
- 75.** Liuzzo G, Biasucci LM, Rebuffi AG, et al. Plasma protein acute-phase response in unstable angina is not induced by ischemic injury. *Circulation* 1996;94:2373-80.
- 76.** Caligiuri G, Paulson G, Nicoletti A, et al. Evidence for antigen-driven T-cell response in unstable angina. *Circulation* 2000;102:1114-19.
- 77.** Liuzzo G, Goronzy JJ, Yang H, et al. Monoclonal T-cell proliferation and plaque instability in acute coronary syndromes. *Circulation* 2000;101:2883-88.
- 78.** Biasucci LM, Liuzzo G, Cervo A, et al. Antibody response to chlamydial heat shock protein 60 is strongly associated with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;107:3015-17.
- 79.** Bennet AM, Prince JA, Fei GZ, et al. Interleukin-6 serum levels and genotypes influence the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2003;171:359-67.
- 80.** Ikeda U, Ito T, Shimada K. Interleukin-6 and acute coronary syndrome. *Clin Cardiol.* 2001;24:701-14.
- 81.** Weisberg P. Mechanisms modifying atherosclerotic disease-from lipids to vascular biology. *Atherosclerosis* 1999;147:3-10.
- 82.** Kinlay S, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in coronary artery disease and implications for therapy. *Am J Cardiol* 1997;80:111-61.

- 83.** Kristensen SD, Ravn HB, Falk E. Insights in to the pathophysiology of unstable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1997;80:5-9.
- 84.** Rabbani R, Topol EJ. Strategies to achieve coronary arterial plaque stabilization. *Cardiovascular Res* 1999;41:402-17.
- 85.** Lendon CL, Davies MJ, Born BVR, et al. Atherosclerotic plaque caps are locally weakened when macrophage density is increased. *Atherosclerosis* 1991;87:87-90.
- 86.** Vaughan CJ, Murphy MB, Buckley BM. Statins do more than just lower cholesterol. *Lancet* 1996;348:1079-82.
- 87.** Davies MJ. Acute coronary thrombosis-the role of plaque disruption and its initiation and prevention. *Eur Heart J* 1995;16:3-7.
- 88.** Davies MJ, Richardson PD, et al. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: Role of extracellular lipid, macrophages, and smooth muscle content. *Br Heart J* 1993;69:377-81.
- 89.** Weissberg PL. Atherosclerosis involves more than just lipids: Plaque dynamics. *Eur Heart J* 1999;1:13-18.
- 90.** Jones CB, Sane DC, Herrington DM. Matrix metalloproteinases: A review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovasc Res* 2003;59:812-23.
- 91.** Liu J, Sukhova GK, Sun JS, et al. Lysosomal cysteine proteases in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1359-66.
- 92.** Libby P, Bonow RO. Braunwald's Heart Disease, Textbook of cardiovascular medicine, 7th edition, 1243-1281.
- 93.** Sawamura T, Kume N, Aoyama T, et al. An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Nature* 1997;386:73-77.
- 94.** 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.
- 95.** 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.
- 96.** 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.

97. 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.

98. 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.

99. Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, et al. 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.

100. 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.

101. Hayashida K, Kume N, Murase T, et al. 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.

102. Xie Q, Matsunaga S, Niimi S, et al. Human lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 functions as a dimer in living cells. *DNA Cell Biol* 2004;23:111-117.

103. Moriwaki H, Kume N, Sawamura T, et al. Ligand specificity of LOX-1, a novel endothelial receptor for oxidized low density lipoprotein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1541-47.

104. 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.

105. Aoyama T, Sawamura T, Furutani Y, et al. Structure and chromosomal assignment of the human lectin-like oxidized low-density-lipoprotein receptor-1 (LOX-1) gene. *Biochem J* 1999;39:177-84.

106. Xie Q, Matsunaga S, Shi X, et al. Refolding and characterization of the functional ligand-binding domain of human lectin-like oxidized LDL receptor. *Protein Expr Purif* 2003;32:68-74.

- 107.** Yamanaka S, Zhang XY, Miura K, et al. 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.
- 108.** Marsche G, Levak-Frank S, Quehenberger O, et al. Identification of the human analog of SR-BI and LOX-1 as receptors for hypochlorite-modified high density lipoprotein on human umbilical venous endothelial cells. *FASEB J* 2001;15:1095-97.
- 109.** 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.
- 110.** Oka K, Sawamura T, Kikuta K, et al. Lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor 1 mediates phagocytosis of aged/apoptotic cells in endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95: 9535-40.
- 111.** Shimaoka T, Kume N, Minami M, et al. LOX-1 supports adhesion of gram-positive and gram-negative bacteria. *Immunology* 2001;166:5108-14.
- 112.** Li L, Sawamura T, Renier G. Glucose enhances endothelial LOX-1 expression: role for LOX-1 in glucose-induced human monocyte adhesion to endothelium. *Diabetes* 2003;52:1843-50
- 113.** 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;84:1043-49
- 114.** Morawietz H, Rueckschloss U, Niemann B, et al. Angiotensin II induces LOX-1, the human endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Circulation* 1999;100:899-902.
- 115.** 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.
- 116.** Li D, Singh RM, Liu L, Chen H, et al. Oxidized-LDL through LOX-1 increases the expression of angiotensin converting enzyme in human coronary artery endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2003;57:238-243.
- 117.** Kita T, Kume N, Minami M, et al. Role of oxidized LDL in atherosclerosis. *NY Acad Sci* 2001;947:199-205.

- 118.** Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, et al. Expression of lectin like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in human atherosclerotic lesions. *Circulation* 1999;99:3110-3117.
- 119.** Kataoka H, Kume N, Miyamoto S, Minami M, Morimoto M, Hayashida K, et al. 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.
- 120.** 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.
- 121.** Hofnagel O, Luechtenborg B, Eschert H, et al. 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
- 122.** Kume N. Lysophosphatidylcholine transcriptionally induces growth factor gene expression in cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1994;93:907-11
- 123.** Moriwaki H, Kume N, Kataoka H, et al. Expression of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 in human and murine macrophages: upregulated expression by TNF- α . *FEBS Lett* 1998;440:29-32.
- 124.** Chen J, Mehta JL, Haider N, Zhang X, Narula J, Li D. Role of caspases in Ox-LDL-induced apoptotic cascade in human coronary artery endothelial cells. *Circ Res* 2004;94:370-76.
- 125.** Li D, Williams V, Liu L, Chen H, Sawamura T, Romeo F, et al. Expression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptors during ischemia-reperfusion and its role in determination of apoptosis and left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1048- 55.
- 126.** Draude G, Lorenz RL. The expression of the lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor (LOX-1) on human vascular smooth muscle cells and monocytes and its down-regulation by lovastatin. *Biochem Pharmacol* 1999;57:383-86
- 127.** Chen M, Kakutani M, Naruko T. Activation-dependent surface expression of LOX-1 in human platelets. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;282:153-58.

- 128.** Hamakawa Y, Omori N, Nagase M, Sato K, Fujita T, Abe K. Severity dependent up-regulations of LOX-1 and MCP-1 in early sclerotic changes of common carotid arteries in spontaneously hypertensive rats. *Neurol Res* 2004;26:767-73.
- 129.** Li D, Williams V, Liu L, et al. LOX-1 inhibition in myocardial ischemia-reperfusion injury: modulation of MMP-1 and inflammation. *Am J Physiol Heartt Circ Physiol* 2002;283:1795-801.
- 130.** Li DY, Chen HJ, Steples ED, et al. Oxidized LDL receptpr LOX -1 and apoptosis in human atherosclerotic lesions. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2002;7:147-53.
- 131.** Tatsuguchi M, Furutani M, Hinagata J, et al. Oxidized LDL receptor gene (OLR1) is associated with the risk of myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;28:247-50.
- 132.** Chen Q, Reis SE, Kammerer C, Craig WY, et al. Genetic variation in lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) gene and the risk of coronary artery disease. *Circulation* 2003;107:3146-51.
- 133.** Chen M, Narumiya S, Masaki T, et al. Conserved C-terminal residues within the lectin-like domain of LOX-1 are essential for oxidized low-density-lipoprotein binding. *Biochem J* 2001;355:289-96.
- 134.** Sentinelli F, Filippi E, Fallarino M, et al. The 3'UTR C>T polymorphism of the oxidized LDL receptor 1(OLR 1) gene does not associated with coronary artery disease in Italian CAD patients or with the severity of coronary disease. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Disease* 2006;16:345-352.
- 135.** Puccetti L, Bruni F, Pasqui AL, Pastorelli M, et al. Genetic influence in antithrombotic actions of atorvastatin in hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest* 2008;38:11-6.
- 136.** Pucetti L, Bruni F, Pasqui AL, et al. Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) polymorphisms influence cardiovascular events rate during statin treatment. *International Journal of Cardiology* 2007;119:41-47.
- 137.** Hofnagel O, Luechtenborg B, Eschert H, et al. Pravastatin inhibits expression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits: A new pleotropic effect of statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:604-610.

- 138.** Toba H, Shimizu T, Miki S, Inoue R, et al. Calcium channel blockers reduce angiotensin II-induced superoxide generation and inhibit lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 expression in endothelial cells. *Hypertens Res* 2006;29:105-116.
- 139.** Mehta JL, Chen J, Yu F, Li DY. Aspirin inhibits OX-LDL mediated LOX-1 expression and metalloproteinase-1 in human coronary endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2004;64:243-249.
- 140.** Morawietz H, Rueckschloss U, Niemann Bernd, et al. Angiotensin II induces LOX-1, the human endothelial receptor for oxidized low density lipoprotein. *Circulation* 1999;100:899-902.
- 141.** Kurt İ, Demirtaş M, Çürük A. Koroner arter anjiyoplasti restenozunun protein-C, protein-S, antitrombin III düzeyleri, faktör V Leiden ve metilentetrahidrofolat redüktaz gen mutasyonu ile ilişkisi. *Türk Girişimsel Kard Der* 2008;12:20-25

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACE-İ	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitörü
AT-1	: Anjiyotensin Reseptör 1
AKS	: Akut Koroner Sendrom
AKŞ	: Açlık Kan Şekeri
AMI	: Akut Miyokard Enfarktüsü
Ang II	: Anjiyotensin II
c AMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CRP	: C-Reaktif Protein
DM	: Diyabetes Mellitus
EGF	: Endotelial Büyüme Faktörü
EDHF	: Endotel Kökenli Hiperpolarize Edici Faktör
FGF-β	: Fibroblast büyüme faktörü
HDL	: High density lipoprotein yüksek dansiteli lipoprotein
HT	: Hipertansiyon
ICAM -1	: İnterselüler Hücre Adezyon Molekülü-1

İL-1α	: İnterlökin1 Alfa
İL-1 β	: İnterlökin 1 Beta
İNFγ	: İnterferon Gamma
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KAG	: Koroner Anjiyografi
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPS	: Lipopolisakkarit
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
MCS	: Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
MMP1,3	: Matriks metalloproteinaz 1,3
NF-Kβ	: Nükleer Faktör Kappa B
OLR-1	: Lektin Benzeri Okside Düşük Yoğunluklu Lipoprotein Reseptörü
Ox-LDL	: Okside Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
PRIME	: Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction
PROVE-IT	: Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy Trial
PDGF	: Trombosit Bağımlı Büyüme Faktörü
PGF2α	: Trombosit Büyüme Faktörü 2 Alfa
PPARγ	: Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör
SAP	: Stabil Anjina Pektoris
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
TGF- β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1(OLR-1 gen analizi)	26
Şekil 2 (Endotel hücrelerinde OLR-1'in potansiyel rolü)	31

TABLolar DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1 (OLR-1 ekspresyonunun düzenlenmesi)	28
Tablo2 (DNA izolasyonunda kullanılan kitin içeriği	34
Tablo 3 (Varyant analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları)	39
Tablo 4 (3'UTR C/T varyant analizi için PCR koşulları	39
Tablo 5 (Kontrol ve KAH gruplarında OLR-1 geni 3'UTR polimorfizmi genotiplerinin klinik ve demografik özelliklere göre dağılımı)	42
Tablo 6 (KAH ve kontrol grubunda OLR-1 3' UTR polimorfizm genotiplerine göre yaş,açlık kan şekeri, lipit düzeylerinin dağılımı)	43
Tablo 7 (KAH ve kontrol grubunda OLR-1 geni 3'UTR polimorfizminin genotip ve allel frekansları)	43

Tablo 8 (Başvuru şekillerine göre 3'UTR polimorfizmi genotip dağılımı)	44
Tablo 9 (3' UTR gen polimorfizminin damar tutulum sayısı ile ilişkisi)	44
Tablo 10 (KAH'da bağımsız risk faktörlerinin belirlenmesi için uygulanan çok değişkenli logistik regresyon analizi sonuçları)	45