

764223

**KORONER ARTER HASTALIĞI RİSKİ İLE PARAOXONASE
(PON1) GENİNDE LEU-MET (55) VE GLN-ARG (192)
POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Pınar TAŞKIRAN

CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak HazırlanmıŐtır

DanıŐman : Yrd. Doç. Dr. F. Sırrı ÇAM

Ocak 2005

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU DÖKÜMANTASYON MERKEZİ

TEZ VERİ RAPORU

Tez No:

Konu Kodu:

Üniv. Kodu:

Tez Yazarının

Soyadı: **TAŞKIRAN**Adı: **Pınar**

Tezin Türkçe adı:

Koroner Arter Hastalığı Riski ile Paraoksonase (PON1) Geninde Leu-Met (55) ve Gln-Arg (192) Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Tezin Yabancı adı: Relationship of Leu-Met (55) and Gln-Arg (192) Polymorphisms of the Paraoksonase 1(PON1) Gene and Coronary Artery Disease Risk

Tezin Yapıldığı

Üniversite: **Celal Bayar**Enstitüsü: **Sağlık Bilimleri**Yılı: **2005**

Tezin Türü: **1-Yüksek Lisans***
2-Doktora
3-Tıpta Uzm.

Dili: **Türkçe**
Sayfa Sayısı:
Referans Sayısı:

Tez Danışmanınının

Ünvanı: **Yrd. Doç.**Adı: **F. Sırrı**Soyadı: **ÇAM**

Türkçe anahtar kelimeler

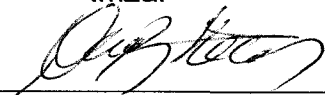
1. Ateroskleroz
2. Paraoksonaz
3. Gen
4. Polimorfizm

Yabancı anahtar kelimeler

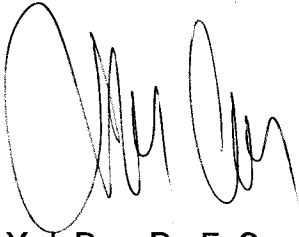
1. Atherosclerosis
2. Paraoksonase
3. Gene
4. Polymorphism

Tarih: **10.01.2005**

İmza:



Biyolog Pınar TAŞKIRAN'ın Yüksek Lisans tezi olarak hazırladığı "Koroner Arter Hastalığı Riski ile Paraoxonase (PON1) Geninde Leu-Met(55) ve Gln-Arg(192) Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Araştırılması " başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

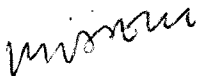


Yrd. Doç. Dr. F. Sırrı ÇAM
(Tez Danışmanı)

10/01/2005



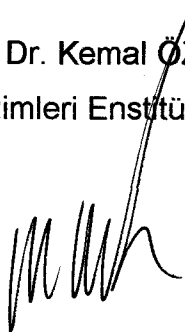
Yrd. Doç. Dr. Nuray Altıntaş



Yrd. Doç. Dr. Mustafa Özbek

Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun
05.02.2005.... gün ve ...5..... Sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Kemal ÖZBİLGİN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



ÖZET

KORONER ARTER HASTALIĞI RİSKİ İLE PARAOXONASE (PON1) GENİNDE LEU-MET (55) VE GLN-ARG (192) POLİMORFİZMLERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

Bio. Pınar TAŞKIRAN

Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD. Manisa,
TÜRKİYE.

Amaçlar: Paraoksonaz (PON1), lipit peroksidleri hidroliz eden yüksek dansiteli lipoproteine bağlı bir esterazdır. PON1, LDL'nin oksidatif modifikasyonuna karşı koruyucu bir faktör olarak dikkat çekmekte olup aterosklerotik süreçleri önlemede önemli bir rol oynamaktadır. Bununla ilgili olarak iki polimorfizm yaygın bir şekilde çalışılmıştır. 55. kodonda lösin (L aleli) yerine metiyonin (M aleli) geçmesi ve 192. kodonda glutamin (Q aleli) yerine arjinin (R aleli) geçmesidir.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmada 120 hasta ve 102 kontrolde bu iki amino asit değişikliğini incelendi. Genotipler polimeraz zincir reaksiyonu ve Alw I ile Nla III enzimleri kullanılarak restriksiyon haritalaması ile belirlendi.

Sonuçlar: Hastaların 67 (% 55.8), 48 (% 40.0) ve 5 (% 4.2) tanesi sırasıyla Q/Q, Q/R ve R/R genotiplerine; kontrollerin ise 8 (% 6.8), 56 (% 46.6) and 56 (% 46.6) tanesi sırasıyla M/M, M/L ve L/L genotiplerine sahipti. Sigara, hipertansiyon, diabetes mellitus, aile öyküsü, şişmanlık, plazma LDL ve total kolesterol düzeyleri, koroner arter hastalığı (KAH) için önemli birer risk faktörüydü.

Bu çalışmada, PON1 M/L 55 polimorfizmi ile KAH arasında bir ilişki olduğu ve Q/R192 polimorfizminin toplumumuzda KAH'a yatkınlık sağlamada bir risk faktörü olmadığını bulduk.

Anahtar Kelimeler: Ateroskleroz, Paraoksonaz, Gen, polimorfizm

ABSTRACT

RELATIONSHIP OF LEU-MET (55) AND GLN-ARG (192) POLYMORPHISMS OF THE PARAOXONASE 1(PON1) GENE AND CORONARY ARTERY DISEASE RISK

Bio. Pınar TAŞKIRAN

Dept. of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, Celal Bayar University, Manisa, TÜRKİY.

Objectives: Paraoxonase (PON1) is a High-Density Lipoprotein (HDL)-associated esterase that hydrolyses lipo-peroxides. PON1 has attracted attention as a protective factor against oxidative modification of LDL and may therefore play an important role in the prevention of the atherosclerotic process. Two polymorphisms have been extensively studied: a Leucine (L allele) to Methionine (M allele) substitution at codon 55, and a Glutamine (A allele) to Arginine (B allele) substitution at codon 192.

Methods: We have examined these two amino acidic changes in 120 patients and 102 controls. Genotypes were determined by polymerase chain reaction (PCR) and restriction mapping with Alw I and Nla III enzymes.

Results: A total of 67 (% 55.8), 48 (% 40.0) and 5 (% 4.2) patient subjects had Q/Q, Q/R and R/R genotypes, and 8 (% 6.8), 56 (% 46.6) and 56 (% 46.6) control subjects had M/M, M/L and L/L genotypes respectively. Smoking, hypertension, diabetes mellitus, family history, body mass index, plasma levels of LDL and total cholesterol were significantly important risk factors for coronary artery disease (CAD).

In this study, we found that the M/L55 polymorphism of PON1 are associated with CAD, and the Q/R192 polymorphism is not a major risk factor in susceptibility to CAD in the our population.

Key Words: Atherosclerosis, Paraoxonase, Gene, Polymorphism.

TEŞEKKÜR

Yapmış olduğum tez çalışmalarım sırasında her türlü destek ve imkanı sağlayan değerli hocam, tez danışmanım Sn. Yrd. Doç. Dr. F.Sırrı ÇAM'a; değerli katkılarından dolayı Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD Başkanımız Sn.Yrd. Doç. Dr. Nuray Altıntaş'a; birlikte çalıştığımız Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı Hastalıkları ABD Moleküler Tıp Araştırma laboratuvarı personeline ve Prof.Dr. Afig Berdeli'ye; bilgilerinden faydalandığım Mikrobiyoloji hocalarımızdan Sn. Doç.Dr. Süheyla Sürücüoğlu'na, Sn. Doç.Dr. Tamer Şanlıdağ, Sn. Yrd. Doç. Dr. Nuri Özkütük ve Sn.Yrd. Doç. Dr. Sinem Akçalı'ya; Tıbbi Biyoloji, Genetik ve Mikrobiyoloji, Klinik Mikrobiyoloji AD.'larında çalışan bütün asistan arkadaşlarım ve laboratuvar personeline ve son olarak da tüm yaşamımda bana destek olan, her zaman yanımda bulunan değerli aileme teşekkür ederim.

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Ateroskleroz ve klinik sonuçları	8
2.2: Endotel hücrelerinin fonksiyonları	9
2.3: Endotelyal disfonksiyonu oluşturabilen faktörler	9
2.4: Tansiyonun normal ve anormal olduğu değerler	21
2.5: İnsan Apolipoproteinlerin Özellikleri	31
2.6: Lipoprotein Sınıflandırması	40
2.7: Enzimatik aktiviteye sahip insan HDL'sindeki proteinler	50
3.1: Kullanılan Primerler	64
3.2: 25 µl hacim içerisinde gerçekleştirilen PCR reaksiyonunda kullanılan maddeler ve son konsantrasyonları.	64
3.3: Kullanılan PCR Sıcaklık Profili	65
4.1: Hasta ve kontrollerin demografik özellikleri ve risk faktörlerinin dağılımı	68
4.2: Polimorfizmler ve RE Kesimi	69
4.3: Kardiyovasküler risk faktörleri ve KAH	72
4.4: PON1 genotip dağılımı	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>		<u>Sayfa</u>
2.1:	Koroner arter damarında daralma	6
2.2:	Koroner arter damarında daralma ve kan akışının azalması	7
2.3:	Normal arter duvarı	13
2.4:	Normal arter duvarı ve ateroskleroza uğramış arter duvarı	13
2.5.a:	Normal arter duvarı	14
2.5.b:	Endotel hücrelerinin zedelenmesi ve monositlerin yapışması	14
2.5.c:	Yağ birikintisi	15
2.6:	Proliferatif Lezyon Evresi	15
2.7.a:	Aterom Lezyon Evresi	16
2.7.b:	Deforme olmuş arter duvarı	16
2.8.a:	Lipoprotein yapısı	24
2.8.b:	Lipoprotein elemanları	25
2.9:	Kolesterol	26
2.10:	Kolesterolün üç boyutlu yapısı	26
2.11:	Trigliserit	28
2.12:	Fosfolipid	29
2.13:	Şilomikron Metabolizması	33
2.14:	Lipoprotein Lipaz (LPL) üzerindeki aktif bölgeler	34
2.15.a:	LDL partikülü	36
2.15.b:	LDL partikülünün reseptörüne bağlanması	36
2.16:	Lipoproteinlerin yoğunluğuna göre elektron mikroskopunda gösterilmesi	38
2.17:	Çeşitli apolipoproteinleri gösteren plazma lipoproteinlerinin poliakrilamid jel elektroforezi ile görüntülenmesi	39
2.18:	LDL yapısı	43
2.19:	HDL yapısı	44
2.20:	Parationun detoksifikasyonu ve metabolik aktivasyonu	48
2.21:	PON1'in HDL'yi oksidasyondan koruması	51

2.22.A-B:	PON1 geninde meydana gelen polimorfizmler	52
4.1:	170 bp büyüklüğündeki 55 L/M amplifikasyon ürününün Nla III enzimi ile kesimi sonucunda oluşan 170, 127 ve 42 bp'lık sonucu gösteren bantlar	70
4.2:	99 bp büyüklüğündeki 192 Q/R amplifikasyon ürününün Alw I enzimi ile kesimi sonucunda oluşan 99, 66 ve 33 bp'lık bantlar	71



KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
ACAT	Açıl kolesterol açıltransferaz
Apo A	Apolipoprotein A
Apo B	Apolipoprotein B
Apo C	Apolipoprotein C
Apo D	Apolipoprotein D
Apo E	Apolipoprotein E
BKI	Beden Kitle İndeksi
CETP	Kolesterol ester transferaz protein
Cys	Sistein
ddH₂O	Çift distile su
DFP	Diizopropil florofosfat
DKH	Düz kas hücresi
DM	Diabetes mellitus
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELİSA	Enzim bağlı immunosorbent yöntem
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FFA	Serbest yağ asidi
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HL	Hepatik Lipaz
HMG CoA	β -hidroksi - β - metilglutaril- koenzim A
ICAM-1	İntrasellüler molekül-1
IDL	Orta Dansiteli Lipoprotein
IL-1 β	İnterlökin-1 β
KAH	Koroner Arter Hastalığı
KKH	Koroner Kalp Hastalığı
LCAT	Lesitin kolesterol açıl transferaz
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
Lp (a)	Lipoprotein (a)

LPL	Lipoprotein Lipaz
LRP	LDL reseptörü ile ilişkili protein
ml	Mililitre
mm	Milimetre
μl	Mikrolitre
MI	Miyokard infarktüsü
nm	Nanometre
OD	Optik Dansite
oks-LDL	Okside olmuş LDL
OP	Organofosfat
OPs	Organofosfataz
PAF	Trombosit harekete geçiren faktör
PAF-AH	Trombosit harekete geçiren faktör asetil hidrolaz
PC	Fosfotidilkolin
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDGF	Trombositten derive büyüme faktörü
PON1	Paraoksonaz
RFLP	Restriksiyon Fragman Uzunluk Polimorfizmi
rpm	Dakika devir sayısı
RS	Retikülosit Saline
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
SR-BI	Scavenger reseptör, sınıf-B, tip-1
TEKHARF	Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı, Risk Profili ve Kalp Sağlığı
TNF-α	Tümör nekrozis faktör- α
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü-1

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
Tablolar Dizini	vii
Şekiller Dizini	viii
Kısaltmalar Dizini	x
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. Koroner Arter Hastalığı	2
2.1.1. Klinik Özellikler	2
2.1.2. Risk Faktörleri	4
2.2. Ateroskleroz	6
2.2.1. Aterosklerozun Klinik Sonuçları	6
2.2.2. Aterogenezde Rol Alan Hücreler	8
2.2.3. Ateroskleroz Patogenezinde Rol Alan Diğer Faktörler	11
2.2.4. Aterosklerozun Gelişimi	12
2.2.4.1. Normal Arter Duvarı	13
2.2.4.2. Yağ Birikintileri	14
2.2.4.3 Proliferatif lezyon evresi	15
2.2.4.4. Aterom lezyon	15
2.2.5. Ateroskleroza Neden Olan Risk Faktörleri	17
2.2.5.1. Değiştirilemeyen risk faktörleri	17
2.2.5.2. Kontrol edilebilir risk faktörleri	18
2.2.5.3. Risk Faktörlerinin Kontrolünün Önemi	23
2.3. Plazma Lipoprotein Elemanları	24
2.3.1. Yağ asitleri	25
2.3.2. Glikolipitler (Glikosfingolipitler)	26
2.3.3. Kolesterol	26

2.3.4. Triglisericidler	28
2.3.5. Fosfolipidler	29
2.3.5.1. Gliserofosfolipidler	30
2.3.5.2. Sfingofosfolipidler (Sfingomiyelinler)	30
2.3.6. Apoproteinler	30
2.3.6.1. Apo B	30
2.3.6.1.1. Apo B100	32
2.3.6.1.2. Apo B48	32
2.3.6.2. Apo C-I, apo C-II, apo C-III	32
2.3.6.3. Apo D	33
2.3.6.4. Apo E	33
2.4. Plazma Lipit Enzimleri	34
2.4.1. Lipoprotein Lipaz (LPL)	34
2.4.2. Hepatik Lipaz (HL)	35
2.4.3. Lesitin-Kolesterol Aciltransferaz (LCAT)	35
2.4.4. Kolesterol Ester Transfer Proteini (CETP)	35
2.5. Reseptörler	35
2.5.1. LDL Reseptörü	35
2.5.2. Şilomikron Artığı Reseptörü	36
2.5.3. HDL Reseptörü	36
2.5.4. Scavenger (çöpçü) Reseptör	36
2.5.5. Apo B48 Reseptörü	36
2.6. Plazma Lipoproteinleri	38
2.7. Plazma Lipoproteinleri ve Metabolizmaları	41
2.7.1. Şilomikronlar ve metabolizmaları	41
2.7.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)	41
2.7.3. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL, β -lipoprotein)	42
2.7.4. Orta Dansiteli Lipoproteinler (IDL)	43
2.7.5. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL)	44
2.8. Paraoksonaz 1 (PON1) Proteini	46
2.8.1. Sentezi ve yapısı	46
2.8.2. Aktivitesi ve Konsantrasyonu	47

2.8.2.1. Aktivitenin ölçülmesi	47
2.8.2.2. Konsantrasyonun Ölçülmesi	49
2.8.3. Lipidlerin Oksidasyondaki Rolü	49
2.8.4. PON1 geni	52
2.8.4.1. PON gen ailesi ve PON1'in yapısı	52
2.8.4.2. Kodon Bölgesinde R/Q192 ve M/L55 polimorfizmleri	54
2.8.4.2.1. R/Q192 polimorfizmi	54
2.8.4.2.2. M/L55 polimorfizmi	54
2.8.4.2.3. PON1 Haplotipleri	55
2.8.4.3. Promoter Polimorfizmleri	55
2.8.5. PON1, Lipoproteinler ve Ateroskleroz	56
2.8.5.1. PON1 ve Plazma Lipoproteinlerinin Seviyeleri	56
2.8.5.2. LDL Oksidasyonuna Karşı PON1 Allozimlerinin Etkisi	57
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	58
3.1. Örneklerin Seçimi ve Kan Alımı	58
3.2. Araç ve Gereçler	59
3.2.1. Kullanılan Kimyasallar ve Araçlar	59
3.2.1.1. Kimyasallar	59
3.2.1.2. Kullanılan Araçlar	59
3.3. KAH'larında PON1 Geninde 55 L/M ve 192 Q/R Polimorfizmlerinin Moleküler Yöntemlerle Araştırılması	60
3.3.1. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu	60
3.3.1.1. Uygulanan Protokol	60
3.3.1.2. İzole Edilen DNA'nın Konsantrasyonunun ve Kalitesinin Saptanması	61
3.3.2. PCR Amplifikasyonu	62
3.3.2.1. Amplifikasyonda Kullanılacak Primerlerin Seçimi	62
3.3.2.2. Uygulanan PCR Protokolü	62
3.3.2.3. PCR Ürünlerinin Elektroforezde Değerlendirilmesi	64
3.3.2.4. RE Kesimi ile Polimorfizmlerin Saptanması	65
3.3.2.5. İstatistiksel Yöntem	65

4. BULGULAR	66
4.1. Klinik Bulgular	66
4.2. PCR Amplifikasyon Ürünlerinin Elde Edilmesi	67
4.3. RE Kesimi ile Mutasyon Taranması	67
4.4. PON1 Genotip Analizi	69
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	71
6. KAYNAKLAR	75
7. ÖZGEÇMİŞ	88



1. GİRİŞ

Paraoksonaz (PON1) enzimi yüksek dansiteli lipoproteinlerde (HDL) bulunan ve kalsiyuma bağımlı bir ester hidrolazdır. Organofosfatların ve sinir gazlarının toksik metabolitlerinin hidrolizini katalizler. PON1'in enzimatik aktivitesi bireysel farklılıklar gösterdiğinden bu kimyasal ajanlara maruz kalan kişilerde değişik belirtiler ortaya çıkar. PON aktivitesindeki değişimler bu enzimi kodlayan gen bölgesindeki polimorfizmler nedeniyledir. PON1 düşük dansiteli lipoproteinlerde (LDL) lipid oksidasyon ürünlerinin birikimini ve kolesterol transportuna etki ederek periferik dokularda kolesterol birikimini önler. Bu özellikleri nedeniyle PON1 geninin, öncelikle koroner arter hastalığı (KAH) olmak üzere kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde rolü olduğu ileri sürülmektedir.

PON1 proteininin iki polimorfik bölgesinde oluşan amino asid değişiklikleri nedeniyle serum PON1 aktivitesi etkilenmektedir. Bu bölgelerden 55. kodonda Leu → Met, 192. kodonda ise Gln → Arg değişimi meydana gelmektedir.

Ülkemizde bu konuda yapılan bir çalışmada Gln192Arg polimorfizmi ve KAH ile ilişkisi incelenmiş olup negatif bir korelasyon bulunmuştur. Söz konusu çalışmada araştırmacılarında belirttiği gibi daha büyük gruplarla ve Leu55Met polimorfizminde eklendiği yeni araştırmalara gerek vardır. Bu çalışma, ülkemizdeki, KAH'larında PON1 Leu55Met ve Gln192Arg polimorfizminin rolünü incelemek ve bu konudaki ulusal bilgi birikimimize katkıda bulunmak amacıyla planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Koroner Arter Hastalığı

2.1.1. Klinik Özellikler

Koroner arter hastalığı (KAH), endüstrileşmiş toplumların birçoğunda ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün hesaplarına göre KAH 2005 yılında hemen hemen tüm dünya ülkelerinde bir numaralı ölüm nedeni olacaktır. Gelişmiş batı ülkelerinde ölümlerin en az yarısı kalp damar hastalıklarına ve bunların 3/4'ü de aterosklerotik KAH'na bağlıdır. Ateroskleroz belli bir genetik altyapı ve riske sahip kişilerde çevresel risk faktörlerinin etkisiyle ortaya çıkan bir hastalıktır. Aterosklerotik bir hastalıktan sonra ortaya ciddi sorunlar çıkmakta ve kişinin yaşam süresi ve kalitesi ciddi bir şekilde etkilenmektedir. Amerika'da her yıl 600.000 kişi iskemik kalp hastalığından dolayı ölmektedir. KAH'nın görülme sıklığı erkeklerde kadınlardan daha fazladır 4:1. Kırk yaşından önce KAH görülme oranı 8:1; 40-60 yaş arasında 1:1'dir. Erkeklerde en çok 50-60, kadınlarda ise 60-70 yaş grupları arasında KAH'na rastlanmaktadır.

İleri yaşta KAH, gelişmiş batı ülkelerinde ölümün en sık nedenidir. Ülkemizde de durum artık farklı değildir. Türkiye genelinde erişkinlerde kalp hastalığı sıklığı %6.7 olarak bulunmuştur. Karadeniz ve Marmara bölgelerinde en yüksek oranlardadır. Erişkinlerde kalp hastalığı türlerinin ülkemiz için dağılımı şöyledir:

Koroner Kalp Hastalığı %3,8

Hipertansif Kalp Hastalığı %2,2

Romatizmal Kalp Hastalığı %0,5'dir.

Erişkinlerde KAH'nın 40 yaşından önce sıklığı %2 veya altında iken, 40-49 yaş grubundaki erkeklerde %3, 50-59 yaş grubundaki kadın ve erkeklerde ise aynı oranda yani %8 sıklığında görülmektedir. 60 yaş üstünde her iki cins için oran %12 dolaylarındadır. KKH'nın kırsal-kentsel kesim aralığındaki oransal farklılığa bakıldığında istatistikî anlam bulunmamakla beraber, şehirlerde %15 daha sık kaydedilmiştir. Bu veriler Türk Kardiyoloji Derneği'nin öncülüğünde

yapılan geniş kapsamlı TEKHARF (Türk Erişkinlerinde Kalp Sağlığı, Risk Profili ve Kalp Hastalığı) çalışmasının bulgularıdır (1).

Koroner arterlerde meydana gelen daralma ve tıkanıklıklar sonucunda bu damarların beslediği kalp adalesinde kalıcı veya geri döndürülebilir hasar meydana gelir. Günümüzde koroner arterlerde en sık görülen hastalık, atheroskleroz sonrasında gelişen iskemik kalp hastalığıdır.

Atherosklerotik tutulmanın en sık yerleştiği bölge sağ koroner arterin akut margin ile posterior descending dalları arasında kalan bölümdür (Crux). İkinci sıklıkta LAD'nin proximal yarısına yerleşir. Hastalığın üçüncü sıklıkta yerleştiği yer sağ koroner arterin çıkışı ile marginal dalı arasındaki segmenttir. Atherosklerotik lezyonlar karakteristik olarak çok sayıdadır ve çoğunlukla birden fazla arterde yerleşir (2).

Koroner hastalıkları ve bunun sonucunda miyokardial beslenme bozukluklarına sıklıkla sebep olan patolojiler şu şekilde sıralanabilir:

- 1-Atheroskleroz (%99)
- 2-Arteritler (Sistemik lupus eritematozus, Pan arteritis nodoza, Takayaşu vb.)
- 3-Embolizm
- 4- Koroner mural kalınlaşma (Amiloidoz, radyasyon)
- 5- Koroner daralmasının diğer sebepleri (spasm, aort diseksiyonu)
- 6-Konjenital koroner arter hastalıkları (Arteriovenöz fistüller, koroner arter çıkış anomalileri)

Koroner kalp hastalığı, koroner arter hastalığı, koroner yetmezliği veya iskemik kalp hastalığı terimleri aslında aynı hastalığın farklı adlarıdır. Bu hastalıkta, kalbimizi besleyen koroner damarlar adını verdiğimiz damarların kenarlarında içe doğru kalınlaşan ve damarı daraltan yağ birikmesi (ateroskleroz) süreci vardır. Bu damar sertliği veya ateroskleroz adını verdiğimiz yağ birikimi sonucunda damarlarda daralma ve damardan geçen kan akımında azalma olur. KAH, kronik ve ilerleyici bir hastalıktır ve ömür boyu tedavisi gerekmektedir. En önemli nokta düzeltilebilir risk faktörlerinin kontrol altına alınması ve hastanın yaşam tarzını buna göre düzenlemesidir. KAH'nın en önemli ve hayatı tehdit edebilen sonucu miyokard enfarktüsüdür. Yapılan tüm

ilaç tedavileri, cerrahi tedavi (koroner bypass) ve balon ile genişletme tedavisi hastanın miyokard enfarktüsü geçirmesini önlemeye ve hastanın anjina pectoris atakları geçirmeden kaliteli bir yaşam sürmesine yöneliktir. Yapılan çeşitli çalışmalarda KAH'da ailesel yatkınlık tespit edilmiştir. Ailesinde en az bir kişide yüksek lipit düzeyi, hipertansiyon, erken KAH başlangıcı veya KAH olan aile bireyleri koroner arter hastası olma açısından daha yüksek risk taşımaktadır.

2.1.2. Risk Faktörleri

Yapılan birçok gözleme dayanan çalışmanın sonucunda, KAH'nın temelinde yatan ateroskleroz gelişimi için çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır. Klasik (majör) risk faktörleri arasında hastanın yaşı ve cinsiyeti, sigara içimi, hiperkolesterolemi varlığı (total kolesterol ve LDL yüksekliği), HDL düşüklüğü, ailede erken yaşta KAH öyküsü olması, hastanın KAH geçirmiş olması sayılabilir. Minör risk faktörleri ise obezite, fizik aktivite azlığı, hipertrigliseridemi, aterojenik (hayvansal ve doymuş yağ, kolesterol ve kaloriden zengin) beslenme, stresli kişilik yapısı, aşırı alkol tüketimi ve östrojen eksikliğidir.

KAH gelişimi için klasikleşmiş risk faktörlerinin yanı sıra son zamanlarda bazı yeni risk faktörlerinin de saptandığı görülmektedir:

a. Hiperhomosisteinemi: Aterosklerotik damar hastalığı için plazma homosistein değerinin $15\mu\text{mol/L}$ üzerinde olmasının bağımsız risk faktörü olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Homosisteinin KAH riskini, endotel ve antikoagülan aktivite üzerine olumsuz etkileri yoluyla yaptığı düşünülmektedir. Açlık plazma homosistein düzeyi $100\mu\text{mol/L}$ üzerinde olan ağır tipinin en sık nedeni sistation-b-sentaz enziminin homozigot eksikliğidir ve mental retardasyon, ektopik lens, iskelet anormallikleri, prematür vasküler hastalıklar ve tromboembolizm ile karakterize klasik homosistinüri klinik tablosu gelişir. Yetersiz B12, B6 ve fosfat alımı genel toplumda tesbit edilen homosistein yüksekliğinin %67'sinden sorumludur. Diyete B12 ve fosfat eklenmesiyle homosistein düzeyini düşürmenin mümkün olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiş olmasına rağmen böyle bir girişimin KAH mortalite ve morbiditesini ne ölçüde

etkileyeceği konusu ancak sürmekte olan çalışmalar sonuçlanınca ortaya çıkacaktır (4,5).

b. Kronik Chlamydia pneumonia İnfeksiyonu: Çeşitli araştırmalarda Chlamydia pneumonia başta olmak üzere CMV v.s. gibi bazı infeksiyon ajanlarının oluşturduğu kronik infeksiyonların erken ateroskleroz için risk oluşturduğuna dair bazı bulgular elde edilmiştir. C. pneumonia'ye karşı oluşan antikorların kana karışması ve koroner arter duvarında depolanması sonucunda lokal inflamasyonun ortaya çıktığı ve arter duvarında da prokoagölan etkinin artmasıyla aterosklerozun başladığı ileri sürölmüştür. KAH da C. pneumonia varlığının sağlıklı kişilere göre anlamlı oranda yüksek bulunduğu çeşitli çalışmalar ile tespit edilmiştir. Ancak bu hastalara rutin olarak antitlamidyal tedavi başlayabilmek için elimizde henüz somut bir kanıt bulunmamaktadır (6).

c. Trombojenik Faktörler: Fizyolojik ve deneysel araştırmalardan elde edilen bilgiler akut koroner olaylara neden olan zincirde trombüs oluşumunun çok önemli olduğunu göstermiştir (7,8).

d. Lipoprotein (a): Artmış Lp(a) düzeyi ile birlikte, artmış LDL düzeyleri de bulunuyorsa, KAH için risk oluşturmaktadır. Lipoprotein(a), LDL'ye benzer. Apo(a) denilen apoproteinle bağlanır. Apo(a) plazminojene benzer yapıdadır. Fibrin pıhtısının erimesinde önemli bir plazma proteindir. Lp(a)'nın 30 mg/dl üzerinde olması durumunda, plazminojenin trombolitik aktivitesini inhibe etmekte ve KAH için risk oluşturmaktadır (9).

2.2. Ateroskleroz

Ateroskleroz; çeşitli organlara, kan akışının bozulmasına yol açan bir hastalık sürecidir. Lipit birikimi ve hücrenin buna reaksiyonu arter lümeninin daralmasına, hücrelere daha az oksijen gitmesine yol açar (10).

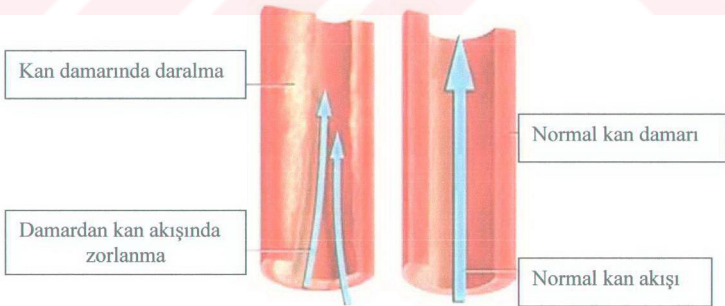
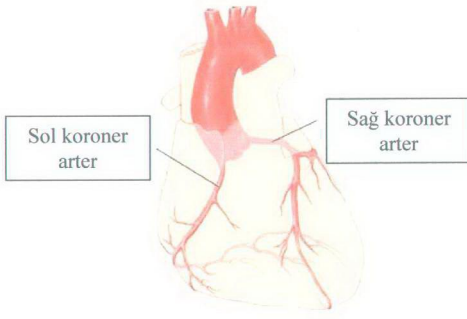
2.2.1. Aterosklerozun Klinik Sonuçları

Kalbi besleyen koroner damarlarda damarın iç çapında %50'den fazla daralma olursa, damarın beslediği alan yeterli kan ve dolayısıyla oksijen alamaz (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Koroner arter damarında daralma

Sonuçta doktorların angina adını verdiği göğüs ağrıları başlar. Angina kalbin yeterli kan ve oksijen alamadığını gösteren bir uyarı alarmıdır. Göğüste basınç, ağırlık hissi, yanma, sızlama ya da kola, boyuna ve çeneye vuran, bazen karnın üst kısmına yayılan bir rahatsızlık hissi şeklindedir. Bazen bunlar ile birlikte nefes darlığı da olabilir. Bazen de plak adını verdiğimiz yağ birikintilerinin üzerinde pıhtılaşma olabilir. Bu durumda da damarlarda aniden tıkanma ve infarktüs dediğimiz, belirtileri esas olarak anginaya benzese bile ondan çok daha şiddetli olan kalp krizi (miyokart infarktüsü) yani, tıkanan koroner damarın beslediği kalp kası hücrelerinde ölüm olayı ortaya çıkar (11) (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Koroner arter damarlarında daralma ve kan akışının azalması

İnme, beyin dokusunu besleyen atar damarlarda meydana gelen bir tıkanma sonucunda, dolaşımın durması ile o bölgede beyin dokusunun beslenememesi sonucunda meydana gelir. Batı ülkelerinde ölüm sebepleri arasında üçüncü sırayı almakta olan inme, kalp ve damar sistemi hastalıklarına bağlı ölüm sebeplerinde, kalp infarktüsünden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Beyine giden kan akışının bozulması geçici iskemik ataklara veya felce neden olabilir. Öte yandan, ilio-femoral arterlerdeki aterosklerotik lezyonlar bacaklara giden kan miktarını azaltır, kesintili yürümeye yol açar (10) Ateroskleroz ve klinik sonuçları tablo 2.1.'de belirtilmiştir.

Tablo 2.1. Ateroskleroz ve klinik sonuçları (11)

Ateroskleroz = Çeşitli dokulara kan akışının engellenmesi
Koroner Ateroskleroz
<ul style="list-style-type: none"> • Anjina • Miyokard infarktüsü
Serebrovasküler Ateroskleroz
<ul style="list-style-type: none"> • Geçici iskemi atakları • Kalp krizi
Periferel Vasküler Ateroskleroz
<ul style="list-style-type: none"> • Enterman klidikasyon

2.2.2. Aterogenezde Rol Alan Hücreler

Aterogenezin nasıl geliştiğini anlamak için, arter duvarının ögeleri ile arter dışından gelen uyarıların (stimulusların) birbirini nasıl etkiledikleri incelenmelidir.

a. Endotel Hücresi: Endotel hücreleri bütün arterlerin iç yüzeylerini kapsar (10) Bu hücrelerin önemli fonksiyonları tablo 2.2'de verilmiştir (12).

Tablo 2.2 Endotel Hücrelerinin Fonksiyonları

- ❖ Prostasiklin üretimi (PGI₂)
- ❖ Mitojen üretimi
- ❖ Plazminojen sekresyonu
- ❖ Endotelin oluşumu
- ❖ ACE sekresyonu
- ❖ EDRF (nitrik oksidin kükürtlü formu) oluşumu
- ❖ Vasküler adhezyon molekül oluşumu

Endotel hücreleri arasındaki bağlar, normalde albuminden daha büyük moleküllerin geçişine izin vermeyecek kadar sıkıdır. Endotel zedelendiği zaman bariyer özelliğinin kaybolduğu ve lipoproteinlerin subendotelyuma geçişinin hızlandığı öne sürülmüştür (Tablo 2.3.). Aterosklerozun gelişimini hızlandıran esas basamağın serbest lipoprotein girişi değil, bundan sonra gelişen olaylar olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (13).

Tablo 2.3. Endotelial disfonksiyonu oluşturabilen faktörler

- ❖ Hiperkolesterolemi
- ❖ Aktif ve pasif sigara içimi
- ❖ Hipertansiyon
- ❖ Yağdan zengin diyet
- ❖ Fiziki inaktivite
- ❖ Obezite
- ❖ İlerlemiş yaş
- ❖ Erkek cinsiyet
- ❖ Aile öyküsü ve prematür KAH öyküsü

Endotel, kan hücrelerinin (lipoproteinler dahil) arter duvarına girişini kontrol eder ve trombozu önler (yüzeyi antitrombotiktir). Ayrıca, arter duvarındaki diğer hücreleri etkileyen çeşitli büyüme faktörlerini ve sitokinleri üretir (10). Zedelenmiş endotel, aşırı miktarda kemotaktik faktörleri (PDGF gibi) salgılar. Bu faktörlerde monosit ve düz kas hücreleri gibi aterogeneizde yer alan hücreler için atraktif görev yaparlar.

b. Düz Kas Hücreleri (DKH): Normal kan damarlarında DKH'leri media tabakasında bulunan tek hücre tipidir (14). Arter duvarının asıl kitlesini oluştururlar. Bunlar, hücreleri çevreleyen matriksi üretirler (10). Aterogeneizde, yer alan temel mekanizma, intima içinde düz kas hücrelerinin proliferasyonudur (12). Aterosklerotik plağın gelişimi sırasında medyadan intimaya geçen bu hücreler lezyonun fibroproliferatif sürecinde yer alırlar. Bu bakımdan DKH'nin intimada birikmesi, lezyon göstergesi olarak kabul edilir. DKH'leri makrofajlar gibi lipoproteinleri fagosite edip kolesterol esterleri şeklinde depolayarak **“köpük hücrelerini”** (ateroskleroza özgü lipit yüklü hücreler) oluşturur (14). DKH'leri ayrıca çeşitli büyüme faktörlerini ve sitokinleri üretir.

c. Makrofajlar: Dolaşımdaki monositlerden türeyen fagositik hücrelerdir. Aterosklerotik plakta bol miktarda bulunurlar. Monositi kandan intimaya çeken güç, okside LDL partiküllerinin uyarıcılığıyla oluşan bazı kemotaktik maddelerdir. Bu hücreler okside olmuş LDL (oks LDL) olmak üzere lipoproteinleri içine alarak temizleyici gibi davranır (14). Endotel hücreleri tarafından başlatılan LDL partiküllerinin oksidasyonunu makrofajlar tamamlar. Bu oksidasyon sonucunda lipoprotein partikülünün üzerindeki apo-B proteini, **“scavenger”** (çöpçü) reseptörler tarafından tanınacak hale dönüşür. Makrofajlar scavenger reseptörleri aracılığı ile okside LDL'yi fagosite edip parçalarlar. Oluşan kolesterol bileşikleri, kolesterol esterleri şeklinde depolanır. Ancak hücrenin kolesterol yüklemesiyle, scavenger reseptörlerde bir down regülasyon olmadığından, depolanma işi hücrenin ölümüne dek sürer. Lipit damlacıklarıyla dolan makrofajlar **“köpük hücrelerine”** dönüşür (10).

d. Trombositler: Aterogenezin hemen her aşamasında lezyon üzerinde trombosit kümeleri görülebilir. Trombositlerin asıl etkisi, aterosklerozun erken evrelerinde değil, ilerlemiş lezyonun tehlikeli bir komplikasyonu olan trombüs oluşumundadır (14).

e. Lenfositler: Arter duvarına girip, düz kas gelişimini ve makrofaj aktivitesini düzenleyen bir dizi faktör üretirler (10).

2.2.3. Ateroskleroz Patogenezinde Rol Alan Diğer Faktörler

a. Adezyon Molekülleri: Disfonksiyon, endotel hücrelerinin yüzeyinde daha çok adezyon moleküllerinin belirmesine neden olur (up-regülasyon). "Vascular cell adhesion molecule-1" (VCAM-1) ve "intercelluler adhesion molecule-1" (ICAM-1) gibi moleküller lökositlerin endotel hücresine kolayca tutulmasına neden olur.

İnsanda henüz kanıtlanamasa bile inflamasyon hücrelerinin (özellikle monosit ve T-lenfositlerin) endotele tutulup daha sonra da endotel bariyerini aşması aterosklerozu başlatan olaylardan biri olarak kabul edilir (15).

İntegrinler, glikoprotein yapısındadır. Hücrelerin birbirlerine yada çevrelerindeki yapılara tutulmasını sağlar. Plak komplikasyonu sonucunda aktive olan trombositlerin endotel hücrelerine ve endotel altı yapılara tutunmasında rol oynayan GP IIb/IIIa reseptörleri integrin yapısındadır (16).

Selektinler, diğer adezyon moleküllerinin aksine, proteinler yerine, karbonhidrat ve glikopeptidlere bağlanırlar. Endotel hücresinde bulunan E-selektin, lökositlerin bu hücrelere tutunmasını ve oradan da subendotelyuma geçişini sağlar (16).

Sitokinler, Aterom plağın komplike olmasında sitokinlerin rolü olduğu bilinmektedir. İnterlökin-1 β (IL-1 β) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) gibi sitokinler endotel hücresinde VCAM-1 geninin transkripsiyonuna neden olarak aterosklerotik plağın oluşumuna yol açarlar (15).

b. Büyüme faktörleri:

“Platelet-derived growth factor” (PDGF): Trombositlerin α granülleri içerisinde depolanan çok güçlü bir mitojendir. Düz kas hücre reseptörlerine bağlanan PDGF, hücre siklusunu uyararak DNA yapımına neden olur. Bunun sonucuda hücrelerin bölünüp çoğalmasındır. PDGF, düz kas hücrelerinin pinositoz yapmasını, protein ve RNA sentezini uyarır. Yani bu mitojenle karşılaşan düz kas hücreleri, hem proliferer olur hem de bağ dokusu sentezini artırır.

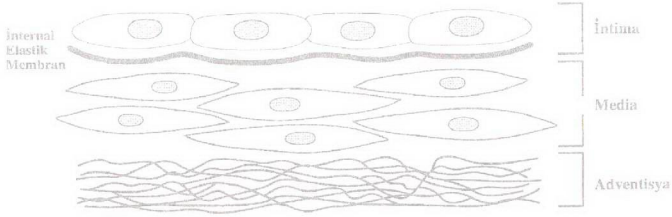
“Fibroblast growth factor” (FGF): Endotel hücreleri, düz kas hücreleri, makrofajlar yaralandıkları zaman içerdikleri FGF'yi salgırlar. Açığa çıkan FGF, gerek düz kas hücrelerinin gerekse endotel hücrelerinin proliferer olmasını uyarır.

“Transforming growth factor β ” (TGF- β): Endotel hücreleri ve makrofajlardan salgılanır. Düşük dozlarda düz kas hücrelerinin sekresyon ve proliferasyonunu uyarır. Yüksek dozlarda ise güçlü bir hücre proliferasyon inhibitörüdür (3).

2.2.4. Aterosklerozun Gelişimi

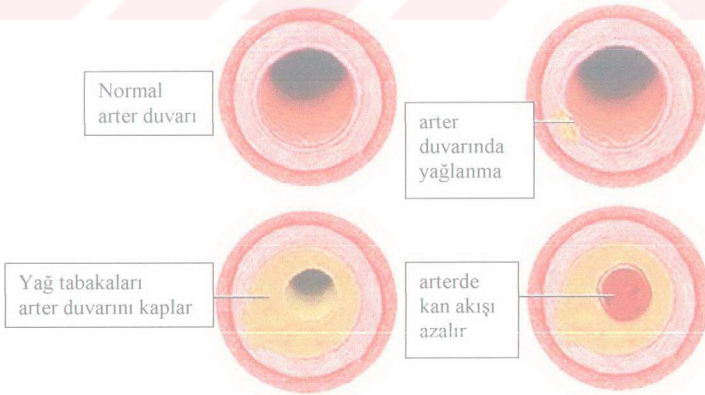
2.2.4.1. Normal Arter Duvarı: 3 tabakadan meydana gelir. Lümeni çevreleyen tabaka **intima**'dır. Tek sıra biçiminde dizilmiş endotel hücreleri, bunları destekleyen subendotelyal matriks ve bazal membran intimayı oluşturur. Diğer memelilerden farklı olarak insan intimasında az sayıda düz kas hücresi bulunmaktadır. Orta tabakaya **medya**'dır. Damarın en kalın tabakasıdır. Kollajen, elastik lifler ve glikozamingolikanlardan meydana gelir. Esas fonksiyonu, damar duvarında kontraksiyon-dilatasyon meydana getirerek, kan akımının düzenlenmesini sağlamaktır (10) En dış tabaka **adventisya**'dır. Gevşek bağ dokusundadır. Boyuna dizilmiş kollajen liflerden ve sinir uçlarından meydana gelir (12,17) (Şekil 2.3.).

Normal Arter



Şekil 2.3. Normal Arter Duvarı (10)

Halk arasında damar sertliği olarak bilinen "ateroskleroz", atar damarların esnekliğini kaybedip kalınlaşması ile oluşan bir damar hastalığıdır. Atardamarlar, vücudun canlılığını devam ettirmesi için şart olan kanı organlara taşırlar. Damarda bazı faktörlerin etkisiyle en içteki tabaka tahrip olur ve bu tahrip olan bölgeye kandaki kolesterol, pıhtılaşma faktörleri...vb maddeler birikmeye başlar. Kolesterolün damar duvarında birikmesi ile damar kalınlaşır, damar iç hacmi daralır ve kan geçişi azalır (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Normal arter duvarı ve ateroskleroza uğramış arter duvarı

2.2.4.2. Yağ Birikintileri

Birçok insanın ana arterlerinde yağ birikintileri yaygın olarak bulunur. Yağ birikintileri arterlerin iç yüzünde görülen düz, sarımsı oluşumlardır. Yağ birikimlerinin gelişiminde ilk aşamalardan biri, kan monositlerinin endotel hücrelerine yapışması ve monositlerin hücrelerin arasından intima tabakasına geç etmeleridir. Monositler arter duvarı içinde makrofajlara dönüşürler. İntima içindeki makrofajlar lipid biriktirerek köpük hücreleri halini alırlar (10) (Şekil 2.5. a-b-c).

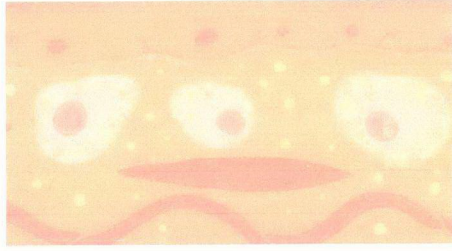
Monositlerin yapışması → arter duvarına girmeleri → makrofaj haline dönüşmeleri → kolesterol biriktirmeleri



Şekil 2.5.a. Normal Arter Duvarı



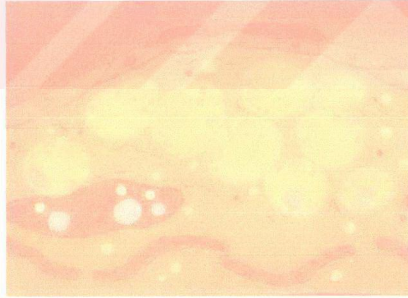
Şekil 2.5.b. Endotel hücrelerinin zedelenmesi, monositlerin yapışması



Şekil 2.5.c. Yağ birikintisi (Lipoproteinlerden kolesterol alınımı, makrofaj → köpük hücreleri)

2.2.4.3 Proliferatif lezyon evresi:

Daha çok sayıda lipit dolu makrofaj birikir. DKH'leri mediadan intimaya geç eder. DKH'leri matriks maddesi salgılar ve hücre içine lipit biriktirebilirler. Endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve makrofajlardan ayarlayıcı etkenlerin serbest bırakılmasıyla çeşitli hücreler arasında dinamik bir etkileşim olduğu varsayılmaktadır (10) (Şekil2.6).

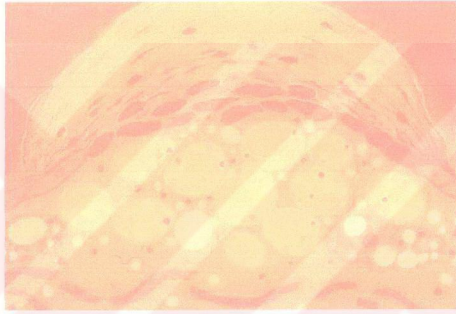


Şekil 2.6. Proliferatif Lezyon (Kolesterol birikiminde artma, düz kas hücre proliferasyonu, kollajen ve elastin artışı)

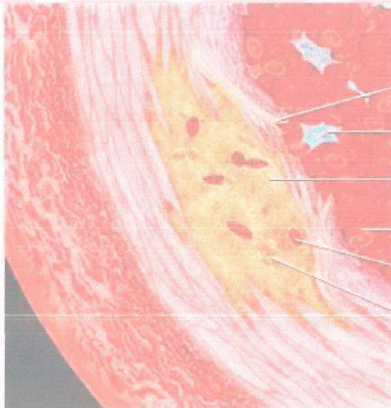
2.2.4.4. Aterom lezyon:

Kolesterol makrofajlarda, DKH'leri ve ekstraselüler matrikste birikmeye devam eder. İntraselüler lipitler hücrede toksin etki gösterir, hücre ölümüne yol

açar. Bunun sonucunda hücre parçalanır ve lipitler açığa çıkar. Bu hücre artıklarını ortadan kaldırmak için lezyona daha fazla makrofaj girer ve bunun sonucunda daha çok sayıda lipit yüklü köpük hücresi oluşur. Burada kalsiyum birikebilir. Endotel hücrelerinin kaybı ve hücre yıkıntılarının kan dolaşımına açık duruma gelmesiyle bu tehlikeli kompleks lezyon ülserleşebilir. Bu da bölgeye trombositlerin yapışmasına, fibrin birikimine ve trombus oluşumuna yol açar. Trombus arteri ciddi şekilde tıkayabilir ya da oluşan pıhtının bir parçası yerinden koparak lezyondan uzaktaki bir damarı tıkayabilir (10) (Şekil 2.7.a-b).



Şekil 2.7.a. Aterom lezyon (kalsifikasyon, nekroz, ülserasyon→ tromboz)



Arter duvarında yırtılma

Makrofai hücreleri

Kolesterol tortuları

Eritrositler

Makrofai köpük hücreleri

Yağ tortuları

Şekil 2.7.b. Deforme olmuş arter duvarı

2.2.5. Ateroskleroza Neden Olan Risk Faktörleri

Kesin ve belirli bir etiyojisi olmamakla birlikte çeşitli faktörlerin ateroskleroz etiyojisinde rolü olduğu bilinmektedir. Bunların başında; enfeksiyon ajanları (Chlamydia pneumoniae gibi), genetik özellikler (homosistinemi, ACE genotipi gibi), hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi, tütün kullanımı, şişmanlık, ve kişilik yapısı gibi etmenler gelmektedir.

Aterosklerozun gelişmesine öncülük eden risk faktörlerini iki ana alt başlıkta toplamak mümkündür:

1. Değişirilemeyen Risk Faktörleri

- a. Yaş ve Cinsiyet
- b. Aile Öyküsü

2. Kontrol Edilebilir Risk Faktörleri

- a. Sigara
- b. Alkol
- c. Hiperkolesterolemi
- d. Hipertansiyon
- e. Obesite
- f. Stres
- g. Diyabet

2.2.5.1. Değişirilemeyen risk faktörleri

a. Yaş ve Cinsiyet: Yaş arttıkça KKH görülme riski sıklığı da artmaktadır. Kadınlarda 55 yaş ve üstü ya da erken menoz, erkeklerde ise 45 yaş ve üstünde KKH daha sıktır.

b. Aile Öyküsü: Birinci derecede erkek akrabalarda 55 yaşından, birinci derecede kadın akrabalarda 65 yaşından önce infarktüs veya ani ölüm bulunması KAH riskini arttırır (18).

2.2.5.2. Kontrol edilebilir risk faktörleri

a. Sigara: Sigara içimi doz ve süreye bağlı olarak ateroskleroza neden olarak koroner damarların tıkanmasına yol açar ve KAH riskini önemli ölçüde artırır ancak aterosklerozun oluşmasında değiştirilebilen en büyük risk faktörlerinden birisidir (3).

Özellikle 4 grup insanda sigara, ateroskleroz riskini artırır: 35 yaşın üstünde doğum kontrol hapi alan kadınlar, uzun süre yapay böbreğe bağlı kalmak zorunda olanlar, diyabetler, hipertansiyonlular (17). ABD'de yapılan bir çalışmada KAH'na bağlı ölümlerin %30'u sigara içmeye bağlanmıştır. Sigara kullanımı ve KKH arasındaki ilişki ilk olarak 1940 yılında Mayo klinik araştırmacıları tarafından yayınlandı (20). Bu tarihten beri sigaranın kardiyovasküler hastalık riskini, inmeyi, ani ölümü, kalp krizini, periferik damar hastalıklarını ve aort anevrizmasını arttırdığı çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (21). Ancak sigara tek başına bu olayları oluşturmaz. Bunun için mutlaka kan kolesterol düzeylerinin normal seviyenin üstünde olması gerekmektedir. Sigara içmenin vasküler endotele zarar verdiği ve endotelial hasarında aterosklerozun gelişmesinde birinci sebep olduğu gösterilmiştir (22,23). Sigara koroner spazmin da majör risk faktörüdür (24). Pek çok çalışma sigaranın günde içilen sayısı ile ilişkili olarak total kolesterol seviyesini arttırmakta, yüksek dansiteli lipoprotein konsantrasyonunu azaltmakta olduğunu bildirmiştir (25). Sigara içenlerde KKH gelişme riski sigara içmeyenlere göre 3-4 kat daha fazladır (26). Sigara içimi doz ve süreye bağlı olarak ateroskleroza neden olarak koroner damarların tıkanmasına yol açar (19).

b. Alkol Kullanımı: Toplumların pek çoğunda alkol ve kahve (sigara ile beraber) en çok tüketilen maddeler arasındadır. Alkolün, dünya tıp literatüründeki bilgilere göre kardiyovasküler yönden özellikleri şunlardır:

Günde 60 ml alkol kullanımı, kardiyovasküler risk ile negatif yönden ilişkili bulunmuştur; bu miktarda alkol alan şahıslarda (diğer risk faktörleri eşit olduğu takdirde) almayanlara kıyasla daha az kardiyovasküler risk vardır. İlimli alkol kullanmak kalp damar hastalığı ve ani ölümlerin %10-40 oranında engelleyici olduğu bulunmuştur. Bu miktarda kullanılan alkol, HDL-kolesterol düzeyini

yükseltip, anti-aterojen etki sağlamaktadır. Alkol alımı ile trigliserid düzeyinde az bir artış, LDL-kolesterol düzeyinde azalma görülmektedir; VLDL-kolesterol düzeyleri ile alkol kullanımı arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Yüksek miktarda alkol, özellikle kardiomyopati yönünden kalp hastalığı ile ilişkilidir (27).

c. Hiperkolesterolemi: Kan lipitlerini, total kolesterol ve trigliseridler oluşturur. Bunlar ateroskleroz bakımından major risk faktörü oluşturmaktadır (28). Total kolesterolü kanda taşıyan düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL) ve trigliseridleri taşıyan VLDL'den küçük ve yoğun olanları, damar sertliğini meydana getirmede kritik rollere sahiptir. Türk halkı genelde total kolesterol düzeyleri düşük, trigliseridleri oldukça yüksek bir toplumdur (29). Kanda kolesterol yaşlanmayla yükselir.

Total kolesterol kadınlarda 55-64 yaşlarında, erkeklerde ise 50 yaş civarında zirveye ulaşır. LDL düzeyi her iki cinsiyette yaşla birlikte artış gösterir (12). Kan yağlarının özellikle 50 yaş altındaki bir insanda yükselmesi KKH için bir risk faktördür. 50 yaşın altında miyokard enfarktüsü geçiren erkeklerin yarısında, kadınlarinsa üçte ikisinde kan yağları artmış bulunur. Buna karşın 70 yaşın üzerinde enfarktüs çok sıkısa da buna kan yağlarının artışı eşlik etmez; yani her iki cinste de yaş ilerledikçe enfarktüs ile hiperlipidemi arasındaki paralellik azalmaktadır.

HDL-kolesterolün, fizik egzersiz ve az miktar alkol alımı ile arttığı; obezite, kontrolsüz diyabet, sigara ve doğum kontrol hapı kullanımı ile azaldığı saptanmıştır. Kadınlarda menopozdan önce KKH'nın erkeklerde daha az görülüşü, östrojenin HDL'yi arttırmasına bağlıdır (17).

Bugüne kadar yapılmış bütün büyük epidemiyolojik çalışmalar, hemen bütün kültürlerde serum kolesterol düzeyi ile KAH'na bağlı ölümler arasında doğrusal bir ilişki olduğunu göstermektedir (30).

Aterojen Lipoproteinler; Şilomikron ve VLDL kalıntıları (β -VLDL), LDL ile Lp(a) olmak üzere başlıca üç aterojen lipoprotein bulunmaktadır.

Şilomikron ve VLDL kalıntıları: Lipoprotein metabolizmasının genetik bir bozukluğu olan tiplIII hiperlipoproteinemi, VLDL ve şilomikronların kolesterol yönünden zengin kalıntılarının (β -VLDL) plazmada birikmesine neden olmaktadır. Trigliserit ve kolesterol düzeyleri birbirine eşit (300-400mg/dL) olan bu tiplerde koroner ve periferik arterleri ilgilendiren ateroskleroz meydana gelmektedir. Kalıntıların aterojen etkisi kolesterol yönünden zengin bu lipoproteinlerin makrofajlar tarafından alınması ile başlamaktadır.

Makrofajlar, LDL reseptörleri aracılığıyla şilomikron ve VLDL kalıntılarını alarak, aşırı kolesterol birikimine ve dolayısıyla köpük hücre oluşumuna neden olur. Kolesterolün neden olduğu fazla lipoprotein üretimi, lipoprotein reseptörlerinin bu partikülleri plazmadan temizlemede yetersiz kalması nedeni ile birikmektedir. Temizlemedeki bu yetersizlik ve sitotoksik etkisi olan bu kalıntıların birikimi, aterogenezin gelişimine ve hızlanmasına neden olur.

LDL ve okside LDL: KAH'nın gelişmesinde en önemli faktörlerden birinin LDL kolesterol yüksekliği olduğu bilinmektedir. Arter duvarı endotel hücreleri, DKH ve makrofajlarda LDL oksidasyonu meydana gelmektedir. LDL yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin lipit peroksidasyonu bu olayı başlatmaktadır. Yapılarında bulunan fosfolipid, trigliserit ve kolesteroldeki yağ asitleri ile kolesterol oksitlenebilmektedir.

Serum kolesterol ve yağ düzeyinin artması aterosklerozun gelişmesini ve KKH riskini artırır. Total kolesterolün 200 mg/dl veya yüksek olması, LDL kolesterolün 130 mg/dl veya yüksek olması, HDL kolesterolün ise <35mg/dl olması KKH için risktir (31). Serum kolesterol düzeyinin düşük olması KKH riskini azaltır. Serum kolesterolünde %1'lik azalmanın KKH riskini %2 azaltabileceği tahmin edilmektedir (32).

d. Hipertansiyon: Hipertansiyon KKH, serebrovasküler olay, konjestif kalp yetersizliği, böbrek yetersizliği ve periferik vasküler olaylar için önemli bir risk faktörüdür. Normal kan basıncı sistolik 130, diyastolik 85 mmHg altı kabul edilmektedir (Tablo 2.4.).

Tablo 2.4. Tansiyonun normal ve anormal olduğu değerler

	Sistolik (mmHg)		Diyastolik(mmHg)
Normal	130-139	ve	85-89
Hafif HT	140-159	ve/veya	90-99
Orta HT	160-179	ve/veya	100-109
Ağır HT	180-209	ve/veya	110-119
Çok Ağır HT	> 210	ve/veya	120 üzeri

Sadece sistolik kan basıncının yüksek olup, diyastolik basıncının normal veya düşük olduğu **“izole sistolik hipertansiyon”** da ateroskleroz riski bakımından önemlidir (33). KAH olan hastalarda kan basıncını kontrol altına almak gerekmektedir. Hedef, kan basıncını 140/90mmHg altına düşürmek olmalıdır. Kan basıncını düşürmenin inme riskini %38, KAH riskini ise %16 azalttığı çalışmalar sonucu kanıtlanmıştır (34). Kan basıncı yüksek olanlarda KKH riskinin kan basıncı normal olanlara oranla 4 kat kadar yüksek olduğu bildirilmektedir (35). Kan basıncının 140-90mm/Hg ve üstünde olması veya antihipertansif tedavi alıyor olmak KKH için risktir. Küçük tansiyonun 105mmHg üzerinde oluşu KKH riskini 4 kat daha arttırmaktadır.

TEKHARF 1990 taramasında aynı tanımla hipertansiyon erişkinlerin %33,7'sinde, yani 10 milyon kişide bulunmuştu; şiddetli hipertansiyon ise (sistolik \geq 160 ve/veya diyastolik 95mmHg), erişkin erkeklerin %11'inde, kadınların %16,5'unda olmak üzere 4 milyon kişide varlığı için kanıt sağlanmıştır. Hipertansiyon prevalansı her iki cinsiyette yaş ilerledikçe hızla artar (36). Hipertansiyonlu vatandaş sayısının 8 yıl içinde yaklaşık %10 oranında arttığı görülmüştür.

Normalden yüksek basınç ile akan kan akımı; özellikle damarların ayırım yerleri, dönüş yerleri ve daralan yerlerinde öncelikle iç çeper hücrelerinde (endotel) hasar meydana getirir. Hasarlaştıran endotel hücreleri içerisine LDL kolesterolü sızarak ateroskleroz başlangıcını yapar. Ayrıca sol karıncığı

kalınlaştırarak ve sertleştirerek kalp yetersizliğinin en önemli nedenini oluşturur. Şunu da belirtmek gerekir ki, ateroskleroz için hipertansiyon ve lipoprotein risk faktörünün beraber olma şartı mevcuttur.

e. Obesite: Şişmanlık kan basıncı, serum kolesterol ve kan şekerini arttırdığı için KAH için risktir. Şişmanlığın oluşturduğu bu riskleri kontrol altına almak için beden kitle indeksinin $20-25\text{kg/m}^2$ arasında tutulması gerekmektedir. $\text{BKI} > 25\text{kg/m}^2$ olanlarda KKH riski artmaktadır. Kilo kaybı kan basıncını, kolesterol ve trigliserid düzeylerinin düşmesini ve HDL-kolesterol düzeyinin yükselmesini sağlar (37).

f. Stres: Aceleci, yarışmacı, aşırı heyecanlı ve öfkeli gibi A tipi davranış özelliği gösteren bireylerde KKH riski yüksektir. Sakin, sessiz, sabırlı olma gibi B tipi davranış özellikleri gösterenlerde ise bu risk azalmaktadır. Stres ile baş edebilenlerde kan basıncı ve kolesterol düzeyinin düştüğü, kalp hızının azaldığı belirlenmiştir (38).

h. Diyabet: Açlık kan şekeri düzeyi 120 mg/dl veya üzerinde olması KKH için risktir. Yapılan çalışmalarda diyabetli hastalarda KKH'dan dolayı ölüm oranında hem kadınlarda hem de erkeklerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak kadınlarda daha büyük risk teşkil eder (12). Diyabetik hastalarda KKH riskinin azaltılmasında şişmanlık ve kan şekerinin etkin kontrolü önemlidir (39). Diyabetli şahıslarda daha erken yaşlarda ve daha sık olarak, patolojik olarak ateroskleroza rastlanmaktadır. KAH, diyabetlilerde diyabetli olmayanlara oranla daha sık rastlanmaktadır (yaklaşık 2-3 kat fazla).

Diyabetli hastalarda lokal lipit sentezi artar, köpük hücre gelişimi hızlanır ve muhtemelen de ateroskleroz gelişiminin bir çok basamağı meydana gelir (30). Diyabet ve hiperlipemi, büyük oranda birlikte seyreder. Aynı zamanda diyabet ve hipertansiyon beraber aterosklerozun oluşumunda ciddi risk ifade eder (27). Diyabetik hastalarda KAH Riskinin azaltılmasında diyabetin etkin kontrolü önemli olmakla birlikte, bu hastalarda KAH riskinin azaltılması daha çok şişmanlık, hipertansiyon, sigara, fizik aktivite azlığı, kan lipit anomalileri gibi

birlikte bulunan diğerk risk faktörlerinin kontrolüne bağılıdır. Örneğın; tek başına sigaranın bırakılması bile diyabetik hastalarda KKH gelişme riskini yarı yarıya azaltabilmektedir.

Şişmanlık ve kan şekerinin kontrol altına alınamaması trigliseridleri artırır ve HDL-kolesterolü düşürür. İnsüline bağımlı olmayan diyabet genellikle yüksek kolesterol, yüksek trigliserid, düşük HDL düzeyleri ile KKH gelişmesi riskinin çok yüksek olması, bunlarda kan lipit düzeylerinin kontrolünde KAH'larınkine benzer şekilde agresif bir tedavi planı oluşturulmasını gerektirir (33). Total kalori değeri, yağ miktarı, kolesterol miktarı yüksek, ağır karbonhidratlı ve tuzlu bir diyetle beslenmenin ateroskleroz insidansında artma yaptığı gösterilmiştir (40). Kalp damar hastalığına sürükleyen belli başlı etkenlerden biri şeker hastalığının Türk halkındaki yaygınlığına TEKHARF çalışması bir yaklaşım getirdi. Yöntem olarak Dünya Sağlık Örgütünün (DSÖ) kriterleri kullanıldı; buna göre halkımızda erişkin diyabeti sıklığının 1990 yılında 1 milyondan, 8 yıl sonra 1.66 milyona yükseldiği anlaşılmaktadır (36).

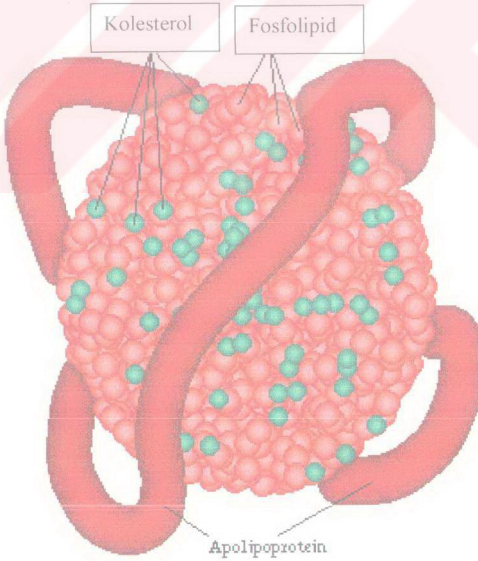
2.2.5.3. Risk Faktörlerinin Kontrolünün Önemi

Yaşam tarzına bağılı olarak gelişen ve kontrol edilebilen bu risk faktörlerinin KKH riskini arttırdığı bilinmesine rağmen gerek ülkemizde gerekse diğerk gelişmiş ülkelerde yapılan çalışmalarda bu risk faktörlerinin toplumda oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde Onat ve ark.(1996) tarafından yapılan TEKHARF çalışmasına göre toplumumuz da erişkin nüfusun total kolesterol düzeyinin nispeten düşük, özellikle erkeklerde olmak üzere genç kadınlarda da sigara içme oranı yüksek, 40 yaş ve üstü kadınlarının şişman ve diyabete eğilimi, hipertansiyon sıklığının yüksek, fizik aktivite alışkanlığının ise eksik olduğu belirlenmiştir. Oysa yapılan çalışmalarda yaşam tarzıyla ilişkili olan risk faktörlerinin azaltılması veya yüksek riskli kişilerin belirlenerek risk faktörlerinin kontrol edilmesiyle KKH riski ve ölüm oranının azaldığı gösterilmiştir (33).

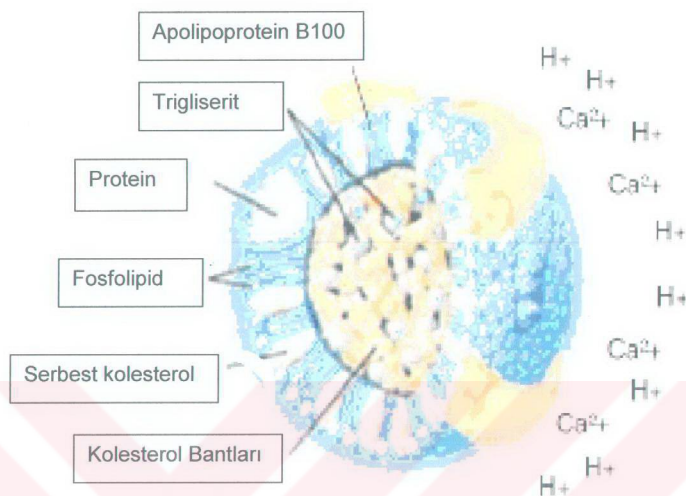
2.3. Plazma Lipoprotein Elemanları

Plazma lipoproteinleri, apoproteinler olarak adlandırılan bir grup özgün proteinler ve lipidlerin moleküler kompleksleridir. Lipoproteinler, suda çözünmeyen lipidlerin çözünür lipid ve protein kompleksleri şeklinde kandaki taşıma şekilleridir. En önemli işlevleri lipidlerin bir organ veya dokudan bir başkasına taşınmasıdır (41).

Lipoproteinlerin, hidrofob lipidlerin (trigliserid ve kolesterol esterleri) bir çoğunu kapsayan bir çekirdek ile protein, serbest kolesterol ve fosfolipitlerden (genelde suda çözünebilir maddelerdir) oluşan bir yüzey tabakasından meydana gelen küresel bir partikül şeklindedir. Lipoproteinlerin yapısında on değişik apoprotein bulunur. Bu apoproteinler lipoproteinlere özgü proteinler olarak bilinir (13). Lipoproteinin yapısında bulunan elemanlar Şekil 2.8.a-b'de görülmektedir.



Şekil 2.8. a. Lipoprotein yapısı



Şekil 2.8.b Lipoprotein elemanları

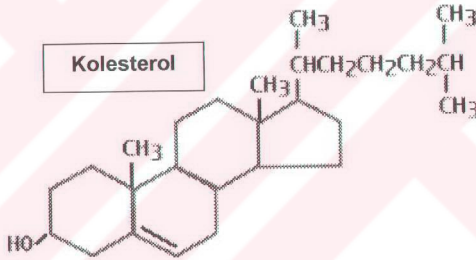
2.3.1. Yağ asitleri: Yağ asitleri kompleks lipitlerin önemli bir parçasıdır. Kendisinden de kolayca enerji sağlanabilen bir kaynaktır. Uzunluğu, içerdiği çift bağıın sayısı ve pozisyonu açısından farklılıklar gösteren çok sayıda yağ asidi tipi bulunur.

Başlıca iki yağ asidi tipi vardır. Çift bağı olmayan (bütün karbon atomları hidrojen ile tamamlanmış) doymuş yağ asitleri ve (birden fazla çift bağı olan) doymamış yağ asitleridir. Doymamış yağ asitleri de tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri olarak ikiye ayrılır (42).

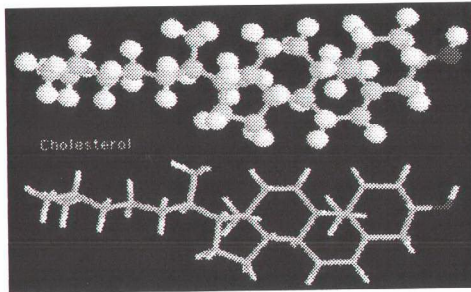
Dokulardaki yağ asitleri kompleks lipidler (trigliseridler) oluşturmak üzere diğer organik moleküllerle esterleştirilirler. Bunlar kanda esterleştirilmeyebilirler (serbest yağ asitleri) ve albumine bağlı olarak yada kompleks lipidler halinde lipoproteinler üzerinde taşınırlar. Yağ asitleri kolayca enerji sağlanabilen bir kaynak olduğundan kompleks lipidlerin biyosentezinde de kullanılmaktadır.

2.3.2. Glikolipitler (Glikosfingolipitler): Sfingozin, yağ asidi, karbonhidrat türevlerini içeren glikolipitlerin yapısında fosfor bulunmamaktadır. Beyin ve sinir dokusu başta olmak üzere, vücudun her dokusunda yaygın olarak bulunan glikolipitler, plazma membranlarının dış yüzeyinde yer almaktadır (42).

2.3.3. Kolesterol: İlk defa 1784 yılında safra taşlarından izole edildiği için safranın sterolü (kole=safra) anlamına gelen kolesterol adı verilmiştir. 386 Da molekül ağırlığındaki kolesterolün (3-hidroksi-5,6 kolesten) 3. karbonunda –OH, 5. ve 6. karbonlar arası çift bağ ve 17. karbonunda 8 karbonlu bir yan zincir bulunmaktadır (Şekil 2.9.). Üçüncü karbonundaki hidroksil grubu genelde 16 veya daha fazla karbonlu yağ asitleri ile esterleşmektedir. Bu yapı kolesterolün suda çözünmesini (yaklaşık 5µmol/L) azaltmaktadır. (Şekil 2.10.)



Şekil 2.9. Kolesterol



Şekil 2.10. Kolesterolün üç boyutlu yapısı

Kolesterolün çeşitli yaşamsal işlevlerini başlıca iki grupta ele alınır:

1. Kolesterol yaşamsal bazı öğelerin yapıtaşıdır;

*Kolesterol hücre membranlarının temel yapıtaşlarındandır (özellikle santral sinir sisteminde).

*Hücre membranının stabilitesi ve transmembran transportunda rol oynar.

*Lipoproteinlerin temel yapısına girmekle trigliseridlerin taşınmasında rol oynar.

2. Kolesterol bazı önemli maddelerin hammaddesidir:

*Yağ absorpsiyonunda ve kolesterolün vücuttan atılmasında önem taşıyan safra asitlerinin hammaddesidir.

*Hidrokortizon ve aldosteron gibi adrenal steroidlerin hammaddesidir.

*Seks hormonlarının hammaddesidir.

Bedenimizdeki tüm kolesterol, asetat molekülünden kaynaklanarak oluşur. Karaciğerde asetattan sentezlenen kolesterol dışında, serum lipoproteinlerinin tutulmasıyla gelen ve barsaklardan absorbe edilerek şilomikronlar tarafından taşınan kolesterol de vardır. 3 ayrı kaynaktan sağlanan kolesterolü 3 değişik son bekler;

1. Kolesterol seruma geçer.
2. Safra asitlerine dönüşür
3. Değişikliğe uğramadan safraya ve dolayısıyla ince barsağa atılır.

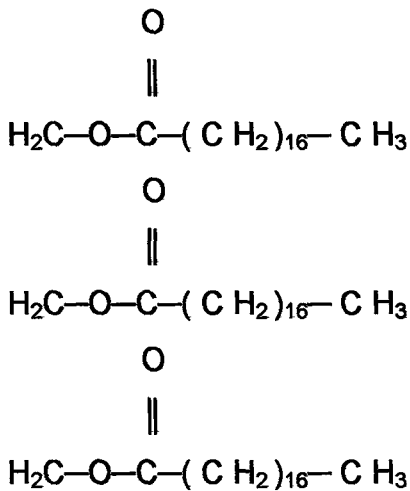
Kolesterol plazmada 2 ayrı biçimde bulunur;

1. Serbest Kolesterol: Hücre membranlarında ve birçok dokuda bulunur.
2. Kolesterol esterleri: Tüm kolesterolün 2/3'ünü meydana getirir. Çoğunluğu ester biçimindedir. Plazmada, böbreküstü bezinin korteksinde, aterom plaklarında, karaciğer ve ince barsağın distal bölümünde bol miktarda bulunur. Kolesterol esterleşmesi plazmada LCAT, karaciğer ve ince barsakta ise ACAT enzimleri aracılığı ile gerçekleşir (44).

Kolesterol hayvansal kaynaklı besinlerden alınır. Et, süt, tereyağı, yumurta sarısı gibi hayvansal besinler kolesterol açısından zengindir. Günlük kolesterol alınımı 250-500 mg arasında değişir. Bunun %50'si emilir. Vücuttaki kolesterol sentezi günde 500-1000 mg arasındadır. Yani, total vücut kolesterolünün %25'i diyetle alınırken, %75'i vücuttaki hücrelerce sentezlenir (45).

İnsan beyininde ise, yaklaşık 35-40 g kolesterol bulunmaktadır ve görevi sinirlerin etrafını bir kablo gibi sarmaktır. Hücre yapımında kolesterole ihtiyaç fazladır. Çocuklar çok hızlı büyüdükleri için kolesterole daha fazla ihtiyaçları vardır (44). Karaciğerde sentezlenen kolesterol, LDL vasıtası ve kan yoluyla dokulara taşınır. Taşıdığı kolesterol miktarı fazla ise, damarların hasarlı ve pürüzlü olan iç yüzeylerinde kalsiyum ve fibrinlerle birleşerek plâklar birikmeye başlar. Bu yüzden LDL'ye kötü huylu kolesterol denir. Damarlarda tıkanıklığa sebep olan bu plâkları ise; HDL yani yapısında kolesterolden fazla protein taşıyan bu madde tarafından koparılarak karaciğere taşınır. Bundan dolayı bu maddeye de iyi huylu kolesterol denir (43).

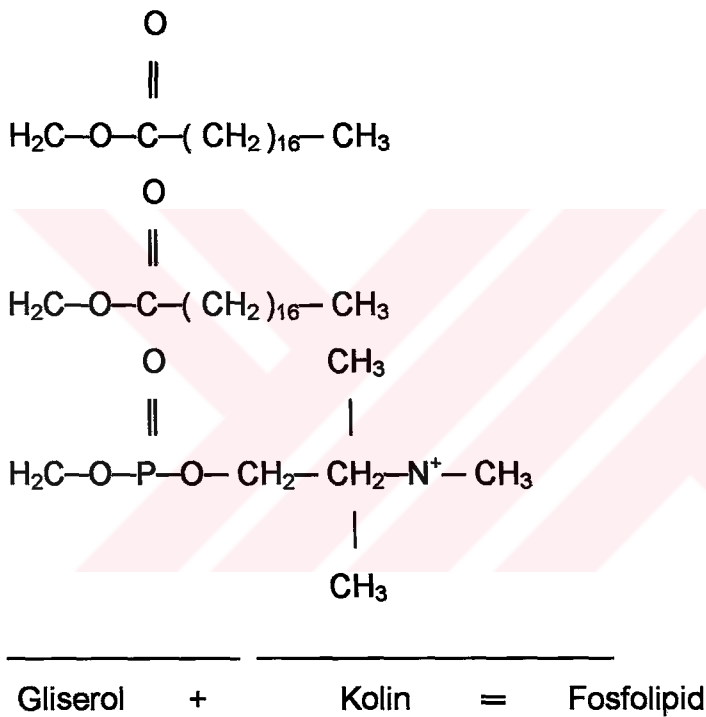
2.3.4. Trigliseridler: Trigliseridler gliserolün 3 yağ asidi ile esterleşmesi sonucu oluşur (Şekil 2.11.). Karaciğer ve yağ dokusunda gliserol fosfat yolu ile ince barsakta ise monogliseridlerden sentezlenir (46). Trigliseridler vücudun major enerji deposudur. Trigliseridlerin hidrolizi ile serbestleşen yağ asitleri; karaciğer ve diğer dokular, özellikle de kas dokusu için önemli enerji kaynağıdır (42).



Gliserol + Yağ asidi = Trigliserid

2.3.5. Fosfolipidler: Trigliceridlerden farklı olarak gliserolün terminal hidroksil grubu yağ asidi ile değil de, fosfat içeren moleküller ile esterleşmiş halidir.

Gliserolün üç hidroksil grubundan ikisinde esterleştirilmiş yağ asitleri bulunmaktadır (Şekil 2.12). Plazmadaki major fosfolipid fosfatidilkolindir (lesitin). Fosfolipidler hem hidrofobik hem de hidrofobik zincirleri taşır. Bu özellikleri ile lipoproteinlerin yüzeyinde ve hücre zarında bir taraftan lipit ortamı ile diğer taraftan da sulu ortam ile ilişki kurabilirler.



Şekil 2.12. Fosfolipid

Hücresel membranların en önemli bileşiklerinden biri olan fosfolipitler salgı bezlerinde, kan plazmasında, yumurta sarısında, baklagillerin tohumlarında yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. Eritrosit membran lipitlerinin yapısında yaklaşık %40 oranını, mitokondri iç membranının %95 kadarından fazlasını oluşturmaktadır (47).

Fosfolipidler iki grupta toplanır: (42)

2.3.5.1. Gliserofosfolipidler: Temel yapısını fosfatidik asit oluşturur. Gliserolün iki alkol grubunun bir fosforik asit ile esterleşmesi sonucu oluşan bir fosfogliseriddir. fosfatidik asitin fosforu, çeşitli alkol grupları ile esterleşerek değişik türlerde gliserofosfolipidleri oluşturmaktadır. En polar lipitler olan fosfogliseridler, hidrofilik ve hidrofobik grupları birlikte taşıdıkları için amfipatiktirler. Negatif ve pozitif yüklü grupları birlikte taşıdıkları için ise amfoteriktirler.

2.3.5.2. Sfingofosfolipidler (Sfingomiyelinler): Gliserol yerine doymamış bir alkol olan 18 karbonlu sfingozin, yağ asiti olarak da 24 karbonlu doymuş lignoserik asit ile doymamış nervonik asiti içermektedirler. Özellikle beyin ve sinir dokusunda bulunmaktadır.

2.3.6. Apoproteinler: Apoproteinler lipitlerin suda çözünürlüklerini etkilerler. Apoproteinler kısmen suda kısmen de yağda eriyebilirler.

Lipoprotein yapısında bulunan apoproteinler, daha önceleri karboksi terminal aminoasitlerine göre isimlendirilirken, günümüzde sınıflandırılmalarında alfabetik terminoloji kullanılmaktadır (A,B,C gibi...). Bu sınıflandırmaya göre 10değişik apoprotein tanımlanmıştır. (Tablo 2.5.)

Apoproteinler lipoprotein metabolizmasında genel olarak üç önemli fonksiyona sahiptir (13,48).

1. Fosfolipidler ile reaksiyona girerek kolesterol esterlerinin ve trigliseritlerin eriyebilir halde tutulmasına yardım ederler,
2. Kolesterol ve trigliseritlerin lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT), lipoprotein lipaz (LPL) ve hepatik lipaz (HL) gibi enzimler ile olan reaksiyonlarını düzenlerler,
3. Reseptörler için bir çeşit tanınma bölgeleri sağlarlar.

2.3.6.1. Apo B: B₄₈ ve B₁₀₀ olmak üzere 2 alt sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar şilomikronların, VLDL ve LDL katabolizmasında görevlidirler (10).

Tablo 2.5. İnsan Apolipoproteinlerinin Özellikleri

Apoprotein	Kromozom	Gen Bazları	Sentez yeri	Fonksiyonları
AI	11	1870	Karaciğer İnce barsak	Yapısal protein/ HDL LCAT için Yardımcı faktör
AII	1	1337	Karaciğer	Reseptör apo-E bağlayıcısını engeller
AIV	11	2600	İnce barsak	Hücrelerde kolesterol çıkışını kolaylaştırır, trigliserit metabolizmasında rol oynar.
B	2	43,000	Karaciğer(B100) İnce barsak(B48)	Yapısal protein/ HDL LCAT (B100) LDL reseptör bağlayıcı Yapısal protein/ Şilomikron (B48)
CI	19	4653	Karaciğer	Reseptöre kalıntı bağlayıcı modüle eder, LCAT aktive eder
CII	11	3320	Karaciğer	LPL için yardımcı faktör
CIII	11	3133	Karaciğer	Reseptöre kalıntı bağlayıcı modüle eder
E	19	3597	Karaciğer, beyin, deri, testis, dalak	LDL ve kalıntı reseptör bağlayıcı
Apo (a)	6	Değişebilir	Karaciğer	Tromboz ve fibrinolisis modüle eder
D	3	12,000	Karaciğer İnce barsak	LCAT aktivatörü

2.3.6.1.1. Apo B100: Molekül ağırlığı 540 kD olan dev bir proteindir. 4563 aminoasitten oluşur. Karaciğerde sentez edilen VLDL'nin yapısal proteindir. VLDL'deki proteinlerin %30'u, IDL'dekilerin %60'ı ve LDL'dekilerin %95'i apo B100'dür. Apo B100'ün 3100 ile 3600'üncü aminoasitleri arasındaki bölge LDL reseptörüne bağlanma için uygundur. Böylece LDL'nin, kısmen de diğer lipoproteinlerin hücreler tarafından alınmasında rol oynar. Karaciğerde VLDL sentezi ve sekresyonu için apo B100 bulunması şarttır. Şilomikronlar, VLDL ve LDL'nin katabolizmasında da görevlidir (10).

Apolipoprotein B100'ün Lipoprotein Metabolizmasındaki Rolü

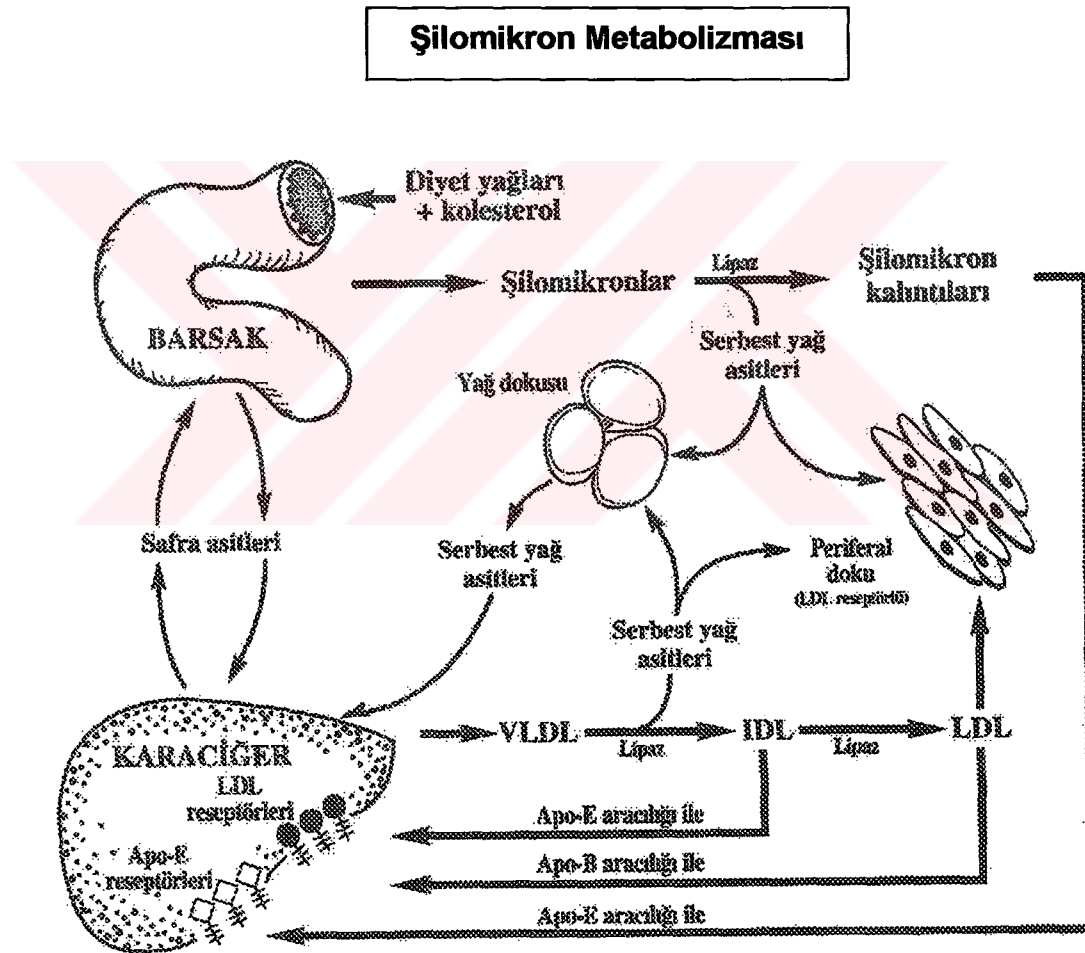
Apo-B100, VLDL ve IDL'nin yapıtaşı olmakla birlikte bu lipoproteinlerin LDL reseptörlerine bağlanmasına aracılık etmede önemli rol oynamamaktadır. Apo-E bu lipoproteinlerin reseptör tarafından aracılık edilen temizlenmesinin büyük bir bölümünden sorumlu olan apolipoproteindir. Ancak, apo-B100 LDL'nin protein bölümüdür. LDL reseptörü yoluyla bu lipoproteinlerin temizlenmesinin yönetiminden sorumludur (10,13).

2.3.6.1.2. Apo B48: Apo B100'ün amino terminal kısmındaki 1'den 2512'ye kadar olan aminoasitlerden (apo-B100'ün %48'i) oluşur. Bu nedenle LDL reseptörüne bağlanamaz. Şilomikronlarda ve şilomikron artıklarında bulunur. Apo B48 taşıyan büyük lipoprotein partikülleri; monosit, makrofaj ve endotel hücresi yüzeyinde yeni tanımlanmış olan apo B48 reseptörüne bağlanarak bu hücrelerin köpük hücre şeklinde değişmesine sebep olur (10,13,49).

2.3.6.2. Apo C-I, apo C-II, apo C-III: ApoC, VLDL'nin başlıca yapıtaşıdır. Hepsi karaciğerde sentezlenir. Apo C-I şilomikronların ve VLDL'nin, LDL reseptörüne ve "LDL reseptörü ile ilişkili protein" (LRP)'e bağlanmasında engelleyici rol oynar. Apo C-II şilomikronlar, VLDL, IDL, HDL'de bulunur. Lipoprotein lipazın aktivasyonu için gereklidir. Eksikliğinde ciddi hipertrigliseridemi gelişir. Apo C-III VLDL'nin major protein komponentidir. Şilomikronlar, IDL, HDL'de bulunur. Apo C-III lipoprotein lipazın aktivitesini baskılar, şilomikron ve VLDL artıklarının karaciğer tarafından alınmasını engeller. (50,51).

2.3.6.3. Apo D: Transfer lipoprotein olarak görev yapar. Lipoproteinler arasında (özellikle VLDL'den HDL'ye veya tersi) kolesterol ester ve trigliseritlerin taşınmasını sağladığı tahmin edilmektedir (10).

2.3.6.4. Apo E: Karaciğerde ve vücudun çeşitli bölgelerinde sentez edilir. LDL hariç tüm lipoproteinlerde bulunur. Şilomikronlar ve VLDL'nin protein yapıtaşıdır. Apo E bu lipoproteinlere HDL'den sağlanır (10). Görevi; LDL reseptörü ve varsayılan şilomikron artığı reseptörü bağlayıcısı olmasıdır. Apo E'nin kusurlu olması kalıntıların karaciğer tarafından atılmasını bozar (Şekil 2.13.).

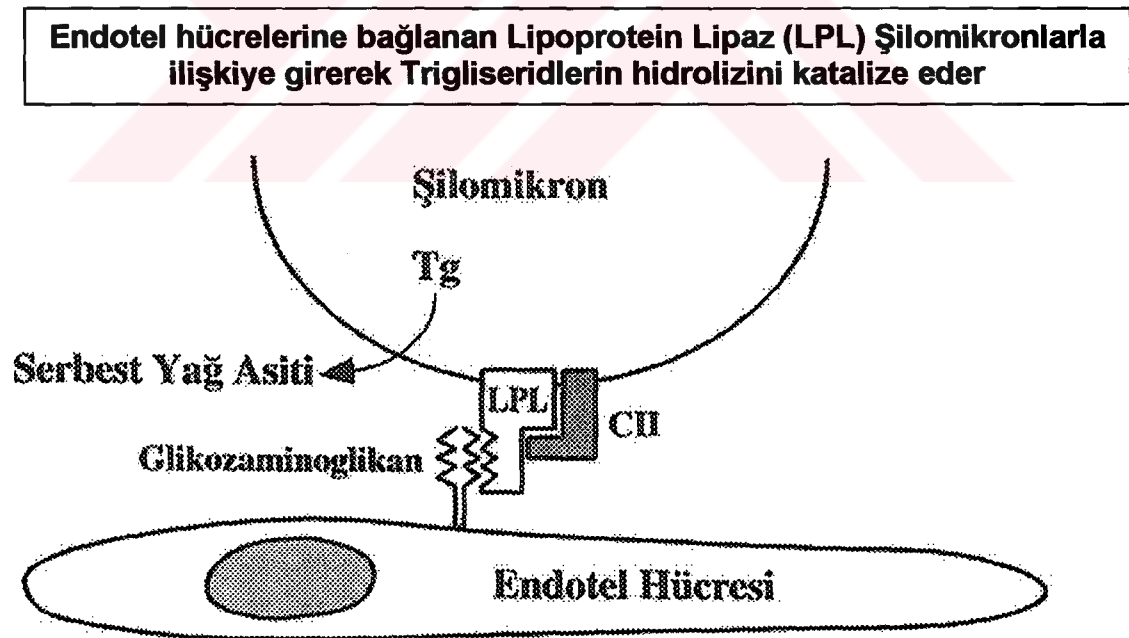


Şekil 2.13. Barsakta sentez edilen şilomikronlar ile karaciğerde sentez edilen VLDL'nin metabolizmasına katılan başlıca yolları özetleyen genel şema (Mahley'den değiştirilerek alınmıştır. Principles and Practices of Endocrinology and Metabolism). FFA (serbest yağ asidi)

2.4. Plazma Lipit Enzimleri

1.4.1. Lipoprotein Lipaz (LPL): Adipoz dokusundaki adipositler ve iskelet kasları ile kalp kasındaki miyositler tarafından sentez edilen bir proteindir. Çok iyi bilinmeyen mekanizmalarla kapiller endotel hücreleri yüzeyine gelir ve heparan sülfat proteoglikanları ile bağlı olarak trigliseridlerden zengin lipoproteinlerle etkileşime girer. Lipoproteinlerdeki trigliseritleri hidrolize ederek yağ asitlerinin serbestleşmesini sağlar. Bu reaksiyonda apo C-II bir kofaktör olarak, Apo C-III ise inhibitör etkisi ile dengeleyici olarak rol alır (52).

Lipoprotein lipaz adipositlerden ve miyositlerden salgılanır ve bu, dokuların kapiller endotel hücrelerinin yüzeyine taşınır. Burada endotel hücrelerine bağlı LPL, dolaşımda bulunan şilomikronlara etki ederek bu partiküllerden trigliserit açığa çıkarılmasına aracılık eder. Şekil 2.14'de şematik olarak gösterildiği gibi, LPL üzerinde dört aktif bölge bulunmaktadır (10):



Şekil 2.14. Endotel hücreleri üzerindeki glikozaminoglikanlar ile reaksiyona girmek suretiyle tutulan lipoprotein lipaz (LPL), şilomikronların trigliseritlerinin hidrolizini katalize etmek için şilomikronlarla reaksiyona girer. Lipoprotein üzerindeki apolipoprotein C-II, LPL'nin kofaktörü olarak görev alır.

1. LPL'nin endotel hücreleri üzerinde proteoglikanlar (heparan sülfat) ile etkileşmesine aracılık eden heparin bağlayıcı bölge,
2. Enzimin şilomikronların yüzeyi ile reaksiyona girmesine izin veren lipit bağlayıcı bölge;
3. Apo C-II'nin enzim etkisini hızlandırmak üzere bir kofaktör olarak görev yapmasını sağlayan apo C-II bağlayıcı bölge;
4. Trigliseridlerin hidrolizine aracılık eden katalizör bölge.

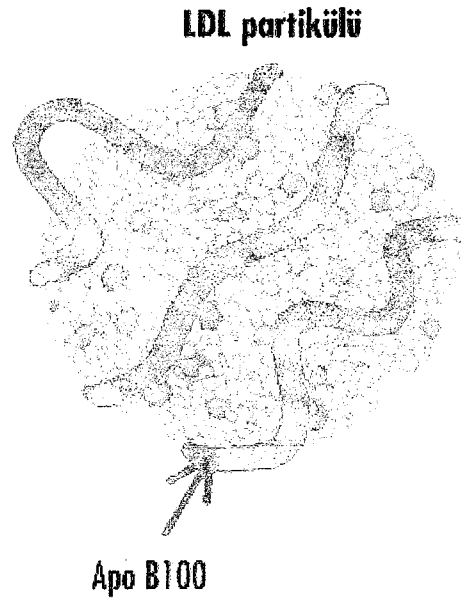
2.4.2. Hepatik Lipaz (HL): Karaciğerde sentezlenir. Lipoprotein lipazın etkisiyle kısmen hidrolize olmuş şilomikron artıkları VLDL artıkları karaciğerde hepatik lipazın etkisiyle ikinci bir lipoliz işlemine daha tutulurlar. Şilomikronlardan ve VLDL artıklarından trigliserit ve fosfolipidler serbestleşir, IDL'nin LDL'ye çevrilmesi sağlanır. Hepatik lipaz daha büyük olan HDL₂'nin daha küçük HDL₃ altgruplarına dönüşümünde majör rolü olan enzimdir (52).

2.4.2. Lesitin-Kolesterol Aciltransferaz (LCAT): Karaciğerde sentezlenir. Aktivasyonu için apo A-I'e gereksinim duyar. Esas görevi, HDL kolesterolünü lesitinden aldığı bir yağ asidi ile kolesterol esteri haline dönüştürmektir (52).

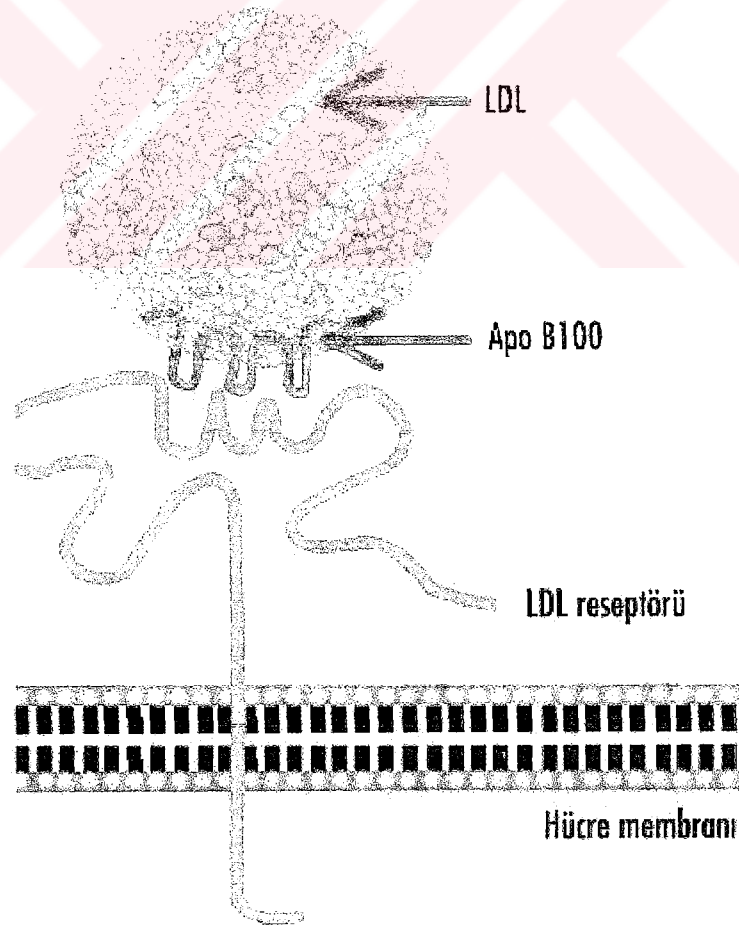
2.4.3. Kolesterol Ester Transfer Proteini (CETP): Karaciğerde sentezlenir. VLDL, şilomikronlar ve artıklardaki trigliseridlerin, HDL ve LDL'deki kolesterol esterleri ile karşılıklı değişimini sağlar. HDL düzeyinin düşük olması ve LDL'nin küçük yoğun partiküller şeklinde olmasında etkili olan enzim CETP'dir (52).

2.5. Reseptörler

2.5.1. LDL Reseptörü: Molekül ağırlığı 160.000 kD'dir. Glikoprotein yapısındadır. Karaciğer hücreleri başta olmak üzere, pek çok hücrede LDL reseptörü vardır. LDL reseptörü apo B100 ve/veya apo E içeren lipoproteinleri bağlar. Böylece LDL, şilomikron artıkları, VLDL, VLDL artıkları, IDL ve apo E içeren HDL'nin hücreye alınmasını sağlar (53) (Şekil 2.15.a-b.).



Şekil 2.15.a. LDL partikülü



Şekil 2.15.b. LDL partikülünün reseptörüne bağlanması

Reseptör-lipoprotein kompleksi hücre yüzeyinde örtülü çukur denilen özel bir bölgeye taşınarak lipoproteinlerin endositozu sağlanır. Hücre içinde lizozomal enzimlerin etkisi ile esterleşmemiş kolesterol serbestleşir. Hücre içinde kolesterol birikmesi geribildirim ile hem HMG-CoA redüktaz aktivitesini baskılayarak kolesterol sentezini yavaşlatır, LDL reseptöründe downregulation yaparak hücreye kolesterol girişini sınırlar.

Hücre içindeki ACAT (Acil-Kolesterol Acil transferaz) da aktivitesini artırarak fazla kolesterolün esterleşip depo edilmesini sağlar. Plazmadaki LDL partiküllerinin %70'i LDL reseptörü aracılığıyla hücrelere alınır. LDL reseptörünün hücrelere apo B ve apo E içeren lipoproteinleri temin etmesi ve dolayısıyla plazmadan bu partikülleri temizlemesindeki önemi bu reseptörü olmayan veya kusurlu olanlarda gelişen hiperkolesterolemi tablosu ile ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır (54).

2.5.2. Şilomikron Artığı Reseptörü (apo E reseptörü): Şilomikron artıklarının temizlenmesini sağlar. Büyük oranda karaciğerde bulunur (10).

2.5.3. HDL Reseptörü: HDL'nin hücre yüzeyine bağlanarak, kendisi hücre içine geçmeden, taşıdığı kolesterolü hücreye verebilir. Karaciğer parankim hücrelerinde, over, adrenal gland ve testisin steroid hormon yapan hücrelerinde bulunan "scavenger reseptör, sınıf-B, tip-I" (SR-BI) isimli reseptör, selektif kolesterol alınımında rol oynar. SR-BI reseptörünün yetersizliği sonucu kanda HDL düzeyinin yüksek olması klasik olguların tersine aterijenik bir yapıya işaretir (54).

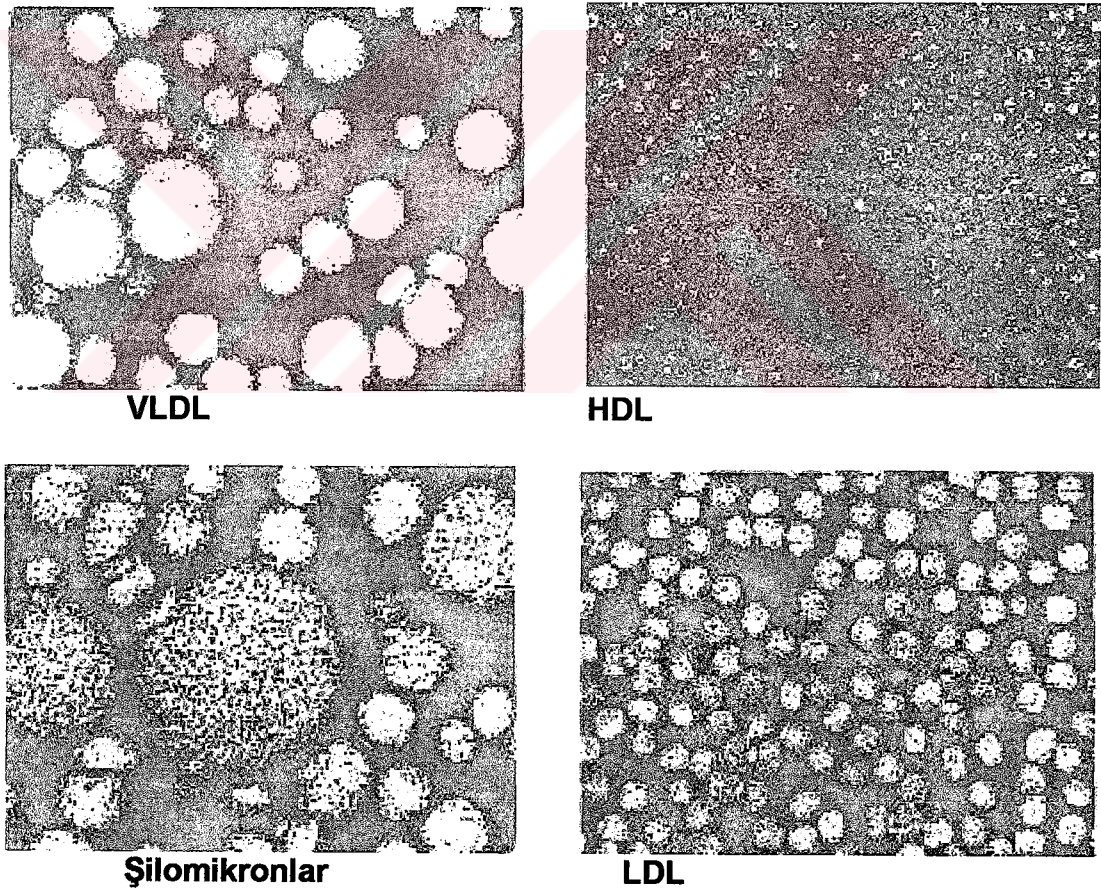
2.5.4. Scavenger (çöpçü) Reseptör: SR Sınıf A,B,C,D ve E reseptörleri vardır. Bunlar negatif yüklü ligandları ve okside LDL gibi modifiye proteinleri alıp degrade etmektedir (55).

2.5.5. Apo B48 Reseptörü: Makrofaj, monosit ve endotel hücrelerinde trigliseritten zengin lipoproteinleri bağlar (10).

2.6. Plazma Lipoproteinleri

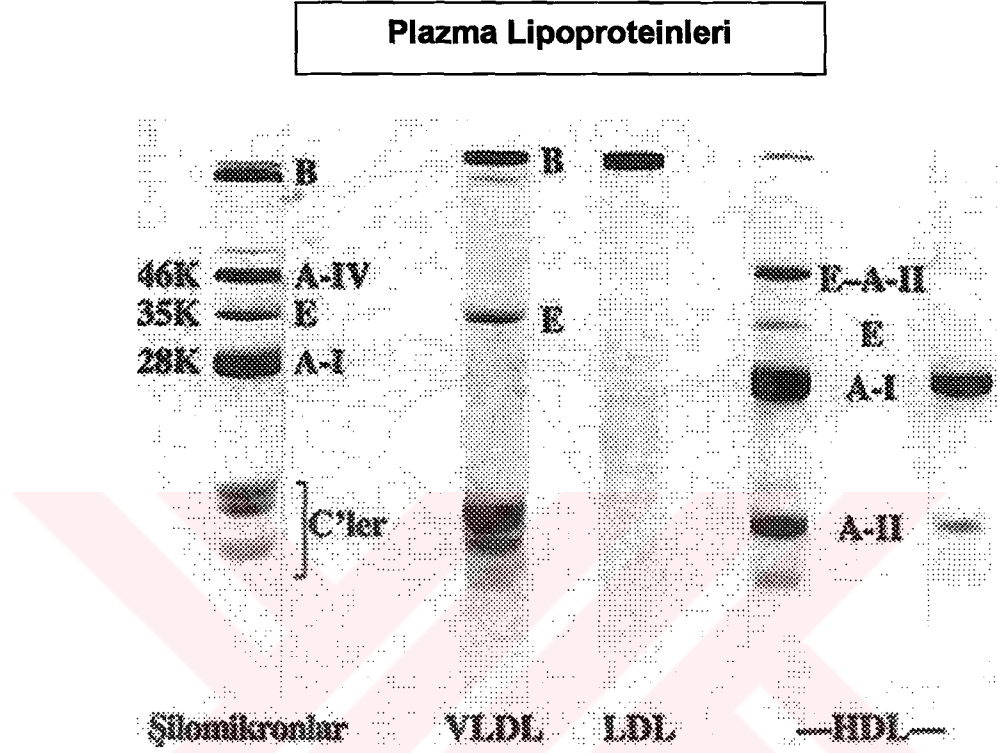
Klinik açıdan önemli olan ve plazmada saptanabilen beş ana lipoprotein grubu vardır. Bunlar; şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL), orta dansiteli lipoproteinler (IDL), düşük dansiteli lipoproteinler (LDL), ve yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL), şeklinde sınıflandırılır (Tablo 2.6). Bu sınıflandırma lipoproteinlerinin yoğunluklarına göre yapılır.

Yoğunluklarına dayalı sınıflandırmaya ek olarak lipoproteinler elektroforetik alandaki göçlerine göre α -lipoproteinler (HDL), β -lipoproteinler (IDL ve LDL) ve pre- β -lipoproteinler (VLDL) olarak da adlandırılırlar.



Şekil 2.16. Lipoproteinlerin yoğunluklarına göre elektron mikroskopunda gösterilmesi

Çeşitli lipoproteinlerin, apolipoprotein yapıları molekül büyüklüklerine göre ayrılabilir, sodyum diesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi ile görüntülenebilir (10) (Şekil 2.17.).



Şekil 2.17. Çeşitli apolipoproteinleri gösteren plazma lipoproteinlerinin poliakrilamid jel elektroforezi ile görüntülenmesi

Tablo 2.6. Lipoprotein Sınıflandırması (10)

	Yoğunluk	Elektroforetik mobilite	Kaynağı	Başlıca Lipitler	Başlıca Apolipoproteinler
Şilomikron	d<0.95	Uygulanma bölgesi	İnce barsak	%85 Trigliserit	B48,A-I,A-IV
Şilomikron Kalıntıları	d<1.006	Uygulanma bölgesi	İnce barsak		
VLDL	d<1.006	Pre-β	Karaciğer	%55 Trigliserit %20 Kolesterol	B100,E,C
IDL	1.006-1.019	β	VLDL' den Türemiş	%35 Kolesterol %25 Trigliserit	B100,E
LDL	1.019-1.063	β	IDL' den türemiş	%60 Kolesterol %5 Trigliserit	B100
HDL	1.063-1.21	α	Karaciğer İnce barsak Plazma	%50 Protein %25 Fosfolipid %20 Kolesterol %5 Trigliserit	A-I,A-II,Cs,E

2.7. Plazma Lipoproteinleri ve Metabolizmaları

2.7.1. Şilomikronlar ve metabolizmaları: Plazma lipoproteinleri arasında yoğunluk olarak en küçük ($< 0.95\text{g/ml}$) ve boyut olarak en büyük ($> 1000 \text{ \AA}$) lipoproteinlerdir. Yapılarındaki trigliserit şilomikronların yaklaşık %86'sını oluşturur. Daha az oranda da fosfolipid, serbest kolesterol, kolesterol esterleri ve proteinler bulunur (13,44). Yüzeyinde bulunan apolipoproteinler; apo B48, apo A-I, apo A-II, apo A-IV'tür.

Lenfatiklerden plazmaya geçtikten sonra şilomikronlar HDL'den apo C-I, apo C-II, apo C-III ve apo E'yi alır. HDL'den kolesterol, kolesterol esterleri ve fosfolipidlerin şilomikronlara geçişi de aynı zamanda gerçekleşir. Lipoprotein lipazın aktivatörü olan apo C-II'yi kazandıktan sonra şilomikronların çekirdeğindeki trigliseritlerin hidrolizi başlar. Bu aşamada, apo C-III de devrededir. Lipoproteinlerin endotel hücreleri ve Lipoprotein lipaz ile olan etkileşimlerini inhibe ederek dengeleyici rol oynar. Trigliseritler lipoliz esnasında serbest yağ asitlerine hidrolize olur, apo A ve apo C dolaşıma serbestleşir ve geçici olarak HDL içinde depolanır. Şilomikronlardaki trigliseridlerin ayrılması ile oluşan şilomikron artıkları kolesterolden zenginleşmiştir. Şilomikron artıkları karaciğer tarafından spesifik reseptörlerce alınır. Böylece yeni emilmiş kolesterol şilomikron artıkları şeklinde karaciğere gelir. Şilomikronlardan periferik dolaşıma serbestleşmiş olan yağ asitleri albumine bağlanır. Kaslar tarafından enerji olarak kullanılır (50,51).

Diyet trigliseritleri, absorbe edildikleri ince barsaktan sistemik dolaşıma şilomikronlar ile taşınırlar. Proteinler, şilomikronların minör yapıtaşlarıdır. Serumun uygulandığı bölgede şilomikronların ortaya çıkması tokluk kanı veya şilomikron katabolizmasında bir bozukluk bulunduğunu göstermektedir.

2.7.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL): Çapı 300-700 Å arasındadır. Plazmada ($d < 1.006\text{g/ml}$) ultrasantrifügasyon ile ayrılan partiküllerdir. Yapısında %85-90 lipit (%55 trigliserit, %20 kolesterol, %15 fosfolipid) ve %10-15 protein bulunmaktadır.

Yapısı karaciğerde sentezlenen trigliseritten ibarettir. Bu trigliseritler VLDL'nin yaklaşık %55'ini meydana getirir. VLDL, yapı ve kompozisyon olarak şilomikronlara benzerse de trigliserit içeriğinin daha az, kolesterol, fosfolipid ve protein içeriğinin daha fazla olması ile şilomikronlardan ayrılır. VLDL, şilomikronlardan daha küçüktür (25-100 nm) ve protein bölümünde apoC, E, apoB100 bulunur. VLDL ve şilomikronlar arasındaki başlıca farklar, sentez yerleri ve taşıdıkları trigliseridin türüdür. VLDL en çok karaciğerde sentezlenir ve başlıca görevi endojen trigliseridi taşımaktır. Bazı VLDL'ler ince barsakta da sentezlenir (13,44,48,49).

Aşırı karbonhidrat alınımına bağlı olarak; endojen yağ asitlerinin, hepatik sentez hızının ve karaciğere serbest yağ asidi akışının fazla olduğu durumlarda VLDL sentezinde artış görülür. Dolaşıma dâhil olan VLDL'ler tıpkı şilomikronlar gibi periferik dokularda LPL'nin etkisine maruz kalır. Büyük oranda da trigliseritlerden arınır. Bu arada VLDL'den HDL'ye trigliserit, HDL'den VLDL'ye kolesterol transferi olur. Böylece VLDL trigliserit bakımından iyice fakirleşir, kolesterol içeriği de artar. Çapı küçülen ve yoğunluğu artan VLDL, dolaşımdaki LDL'in bir öncüsüdür (13,44,49).

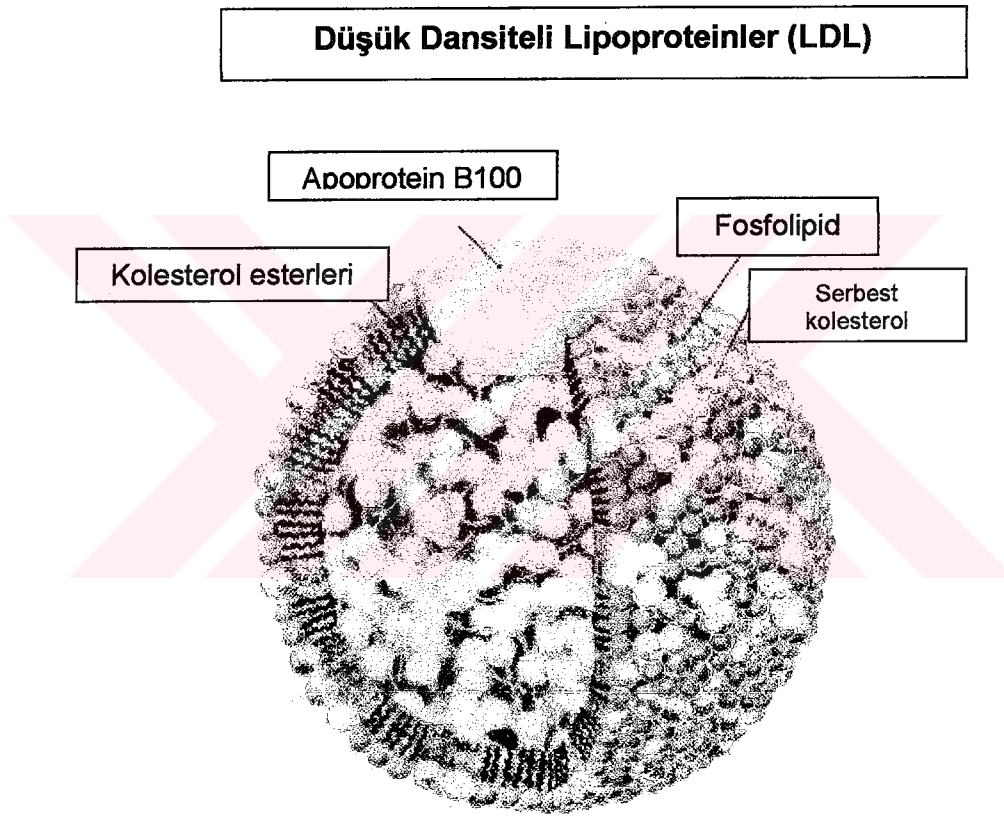
VLDL partiküllerinin büyüklükleri değişiktir. Lipoliz sonucu VLDL partikülleri daha da küçülür ve VLDL kalıntıları veya IDL adını alır. Yapılan çalışmalarda, küçük VLDL partiküllerinin IDL yolu ile LDL'ye dönüştüğü, büyük VLDL partiküllerinin ise, LDL'ye dönüşmeden, IDL formunda plazmadan temizlendiği gösterilmiştir.

2.7.3. Düşük Dansiteli Lipoproteinler (LDL, β -lipoprotein): LDL (d=1.019-1.063 g/ml) plazmadaki majör kolesterol taşıyıcı partiküldür. Çapı yaklaşık 200Å'dir. Boyut olarak VLDL ve IDL'ye nazaran daha küçüktür. Apo E dışında bu partiküllerde bulunan tek protein apo B100'dür.

LDL'nin primer görevi kolesterolü karaciğerden periferik dokulara taşımaktır. Plazma LDL'inin LDL reseptörü aracılığı ile özellikle de karaciğer tarafından uzaklaştırılmasında yapıdaki apo B100 ve hücre yüzeyindeki reseptör sayısı etkilidir. LDL'nin yaklaşık %75'i karaciğer parankim hücreleri tarafından alınır. Plazma kolesterolün %60-70'i LDL tarafından taşındığı için

epidemiyolik çalışmalarda yaygın olarak LDL-kolesterol yerine total kolestrol ölçümü yapılır (13, 44, 48). LDL, % 75 lipit (%35 kolesterol ester, %10 serbest kolesterol, %10 trigliserit ve %20 fosfolipid) ve %25 proteinden oluşmaktadır (10) (Şekil 1.18.).

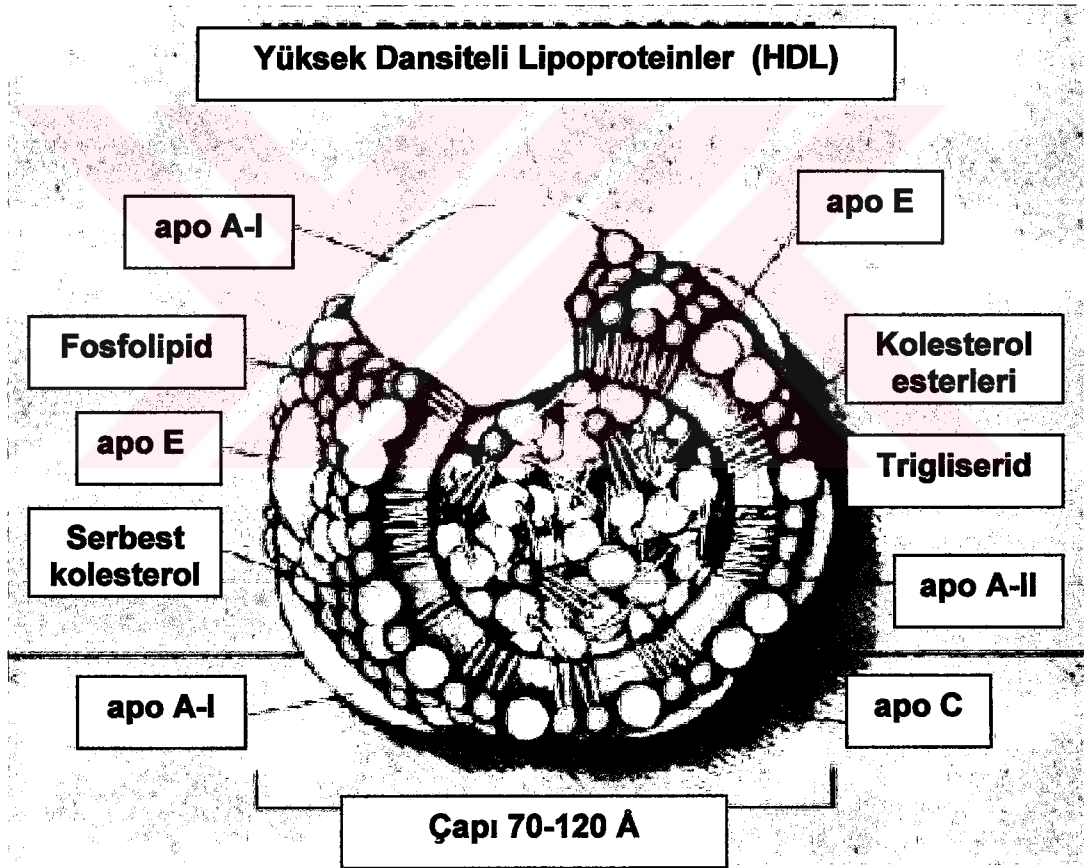
Klinik çalışmalarda kolesterolü düşürmenin, hem birincil, hem de ikincil korunmada; yeni koroner olayları ve koroner mortaliteyi azalttığını göstermiştir. Plazma total kolesterolünde ortalama %10'luk bir düşmenin koroner olay riskinde ortalama %20'lik bir azalmaya yol açtığı saptanmıştır.



Şekil 2.18. LDL yapısı

2.7.4. Orta Dansiteli Lipoproteinler (IDL): ($d=1.006-1.019$ g/ml) Normal koşullarda plazmada çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Büyüklük bakımından VLDL ile LDL arasında yer alır. LDL öncüsüdür (LDL'nin yapıtaşıdır). Lipazın etkisiyle plazmada oluşturulan VLDL katabolizması ürünlerini temsil eder. IDL genellikle VLDL artığı olarak görülür ve aterojenik olduğu kabul edilir (10, 13).

2.7.5. Yüksek Dansiteli Lipoproteinler (HDL): HDL'ler lipoproteinler içerisinde yoğunluk olarak en fazla ($d=1.063-1.21$ g/ml), çap olarak en küçük olan (70-120 Å) partiküllerdir. Apo A-I ve Apo A-II HDL'deki ana apoproteinlerdir. Bunlar HDL partikülünün %50'sini oluşturur. HDL'nin başlıca görevi, kolesterolü periferel hücrelerden karaciğere taşımaktır. HDL dansiteleri dikkate alınarak HDL₁ (1.050-1.063 g/ml), HDL₂ (1.063-1.12 g/ml) ve HDL₃ (1.12-1.21 g/ml) olmak üzere üç sınıfa ayrılır (49). HDL grupları içerisinde Apo E'yi yapısında bulunduran tek fraksiyon HDL₁ olup yaklaşık total plazma Apo E'sinin %50'sine sahiptir (13). HDL, %50 lipid (%35 fosfolipid, %10 kolesterol ester, %5 serbest kolesterol, %5 trigliserit) ve %50 protein içermektedir (10) (Şekil 2.19.).



Şekil 2.19. HDL yapısı

HDL oluşumunda bazı basamaklar vardır. Basamaklar HDL olgunlaşması olarak adlandırılır. Karaciğerdan veya barsaktan alınan veya şilomikron veya VLDL gibi dev moleküllerin kabuklarından türetilen olgunlaşmamış HDL esas olarak apo A-I ve fosfolipidleri taşıyan, disk şeklinde

bir partiküldür. Olgunlaşmamış HDL plazmada dolaşırken hücre membranlarından serbest kolesterolü alarak büyüüp olgunlaşır. Böylece ters kolesterol taşınması işlevine de başlamış olur. Serbest kolesterol, lesitin kolesterol acil transferaz (LCAT) enzimi katalizörlüğünde lesitinden bir yağ asidi alınarak esterleştirilir. Alınan kolesterolün esterleştirilmesi ile HDL'ye daha fazla serbest kolesterol girişi olur. Kolesterol esterleri lipoproteinin çekirdeğine girerek HDL₃ denilen partikülü oluşturur. Bu lipoprotein hem apo A-I hem de apo A-II içerir. HDL₃'de iyi bir kolesterol alıcısıdır. Kolesterol esteri içeriğini giderek arttırarak boyutu daha büyük olan HDL₂'ye dönüşür. HDL₂ içindeki apo A-I miktarı apo A-II miktarına göre daha fazladır. Bir HDL molekülünde apo E bulunması diğer HDL moleküllerinden farklı olarak onun LDL reseptörü ile etkileşime girmesini mümkün kılar. Apo E içeren HDL (HDL₁) düşük konsantrasyonuna rağmen metabolik açıdan aktif bir subgrubu oluşturur. Hepatik lipaz HDL₂'nin trigliseritlerini ve bazı fosfolipidlerini hidrolize ederek HDL₃ haline dönüştürür. HDL₂'deki kolesterol esterlerinin bir kısmı VLDL₂'deki trigliseridlerle takas edilir. (takas işlemine CETP) aracılık eder. Böylece HDL'deki kolesterol karaciğere taşınmış olur (10).

2.8. Paraoksonaz 1 (PON1) Proteini

2.8.1. Sentezi ve yapısı:

Paraoksonaz (PON1), karaciğerde sentezlenen, organik fosforlu bir insektisit olan parationun aktif metaboliti paraoksonu hidroliz etme yeteneğine sahip serum esterazdır (56, 57). Paraoksonaz'lar, memelilerde yüksek derecede bulunur ancak balık, kuş ve eklem bacaklılar gibi omurgasızlarda bulunmaz (58-60). İnsanlarda paraoksonaz aktivitesinin yeni doğan ve premature bebeklerdeki seviyesi, yetişkinlerdeki seviyesinin yarısı kadardır. Fakat doğumdan bir yıl sonra bebeklerde hızlı bir şekilde yetişkin seviyesine gelir (61). İnsanlarda PON1 karaciğerde eksprese edilir, böbrekler, beyin, kalp, ince barsak ve akciğerde de bulunur (62).

İnsan serum PON1'i saflaştırılmıştır (63). PON1 43kDA molekül ağırlığında 354 aminoasitlik bir protein olup, fiziksel olarak HDL ile bağlantılıdır (62, 64). Memeli PON1'inin üç boyutlu yapısı kesin olarak bulunamamış ve aktif bölgelerin oluşumu aydınlatılamamıştır. İnsan PON1'i üç sistein (Cys) bölgesi içerir. Bu sisteinlerin ikisinin arasında intramoleküler disülfid bağlarının bulunup bulunmayışına göre değişen iki oksidasyon bölgesi oluşur. Sadece pozisyon 284'deki serbest sistein, aktif nükleofil bölgesini oluşturur (65, 66). Paraoksonaz enzimi, paration dışında diizopropil florofosfat (DFP) gibi organik fosforlu insektisitlerle, yine aynı kimyasal gruptan olan sarin, tabun gibi sinir gazlarının; çeşitli karbamatların; fenilasetat, 4-nitrofenil asetat, 2-nafril asetat gibi bir çok aromatik karboksilik asit esterlerinin hidrolizini katalize etmektedir (62).

PON'un başlıca iki fonksiyonu bulunmaktadır: bir pestisid olan paraokson gibi organofosfat bileşiklerin detoksifikasyonuna katılmak ve lipit peroksidlerini hidrolize ederek LDL'yi oksidasyondan korumak (67). PON1'in lipit peroksidlerin yanı sıra hidrojen peroksid üzerine de etkili olup, peroksidaz benzeri aktiviteye de sahip olduğu düşünülmektedir. Ayrıca lipo-polisakkarid inaktivasyonu yolu ile bakteriyel endotoksinlere karşı koruma sağlamaktadır.

2.8.2. Aktivitesi ve Konsantrasyonu

Esterazlar, enzimlerin geniş ve heterogenez bir grubunu meydana getirirler. Aromatik ve alifatik ester bağlarını, aynı zamanda peptidleri, amidleri ve halidleri hidrolizler (68).

Augustinsson, esterazları üç ana tipe ayırmıştır. Bu esterazlar basit substratların hidrolizlerinde görev alırlar (68).

1. Arilesterazlar (PON1'i içerir)
2. Aliesterazlar
3. Kolinesterazlar

Aldridge, esterazlar ve organofosfatazlar (OPs) arasındaki ilişkiye dayanarak başka bir sınıflandırma yapmıştır;

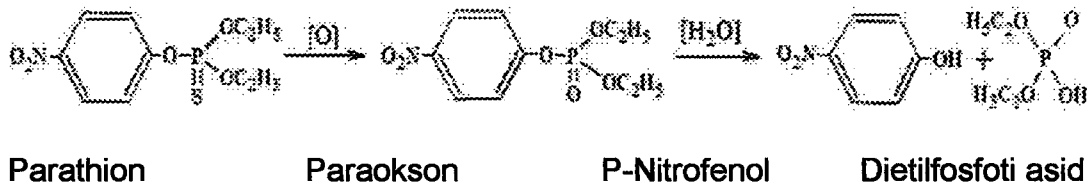
1. A-esterazlar: paraoksonaz ve OPs'leri hidrolizlerler.
2. B-esterazlar: paraoksonaz ve OPs'leri inhibe ederler.
3. C-esterazlar (sonradan sınıflandırmaya eklenmiştir): paraoksonaz ve OPs ile etkileşime girmezler (68).

İnsektisitleri (OPs, carbamate ve pyrethroid grupları) içeren birçok sentetik kimyasal, A-esterlere girer. Bu kimyasallar, ilkel vertebraların serumlarında A-esterazlar (arilesterazlar) bulunmadığında pestisid olarak kullanılır (Pestisidler, genel olarak tarımda toksin olmayan sülfür türevleri olarak kullanılır). OPs'ın serumdaki hidrolizi ve hepatik A-esterazlar az miktarda toksin etki gösterir. Bu toksinlik onların detoksifikasyonu için en önemli yoldur (69).

2.8.2.1. Aktivitenin ölçülmesi:

PON1 iki farklı aktivite özelliğine sahiptir, bunlar; paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleridir. Çünkü; PON1, OPs ve aromatik esterlerle birlikte hidrolize olur (70). Paraoksonaz aktivite ölçümlerine ait metotlar Eckerson ve Smolen tarafından geliştirilmiştir. Paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi ölçümlerinde kullanılan yöntemler temelde aynı olmakla birlikte farklı pH'larda çözeltiler kullanılmakta, ayrıca farklı sıcaklıkta reaksiyon oluşturulmaktadır (71-73). Paraoksonaz enzim aktivitesi ölçümünde, substrat olarak paraokson gibi organofosfatların enzimatik hidrolizi sonucu

oluşan 4-nitrofenolün spektrofotometrik ölçümü esas alınmaktadır. Parathion denilen insektisidlerin aktif metabolitleri, toksik olmayan ürünlere yani p-nitrofenol ve dietilfosfatazlara dönüşür (şekil 2.20) (74, 75).



Şekil 2.20. Parationun detoksifikasyonu ve metabolik aktivasyonu (61)

Paraoksonaz aktivitesi, ilk olarak NaCl eklenmeden ölçülmüştür, sonra 1M NaCl eklenerek tekrar yapılmıştır. 1M NaCl ile paraoksonaz'ın uyarılma yüzdesi; hiç tuzsuz uyarılma A tipi, tuzlu uyarılma AB ve B tipleri olarak özel şekilde sınıflandırılmıştır. Paraoksonaz aktivitesi pH 7,5'da ölçülmelidir, daha yüksek pH aralıklarında ki aktivite ölçümü albümin ilişkili esteraz aktivitesi ve paraoksonaz aktivitesi işlemlerini etkiler (75-77).

Paraoksonaz ayrıca aktivite polimorfizmi göstermeyen, arilesteraz aktivitesine de sahiptir. Arilesteraz aktivitesinin, PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız olarak asıl protein konsantrasyonunun bir göstergesi olduğu bildirilmektedir (78). Arilesteraz ölçümünde substrat olarak paraokson yerine fenil asetat kullanılmakta ve oluşan fenol ölçülmektedir (79, 80).

PON1'in paraokson ve fenilasetat hidrolizi yeteneğine ek olarak, diğer benzer OP birleşenlerini de (aromatik karboksilik asit esterleri ve karbonatlar gibi) hidrolizle ettiği araştırmalarda görülmüştür (81). Son zamanlarda, PON1'in 30 lakton, tiolakton ve siklik karbonat estereazları üzerindeki hidrolitik aktivitesi, karakterize edilmiştir (82-84). İsimlendirme; eğer substrat paraokson ise '**paraoksonaz aktivitesi**', eğer substrat fenilasetat ise '**arilesteraz aktivitesi**' denilmesi şeklindedir.

2.8.2.2. Konsantrasyonun Ölçülmesi:

Serum PON1 konsantrasyonu, bir monoklonal antikor kullanılarak yapılan enzim bağlantılı immünosorbent yöntemlerle (ELISA) ya da iki monoklonal antikor kullanılarak yapılan sandwich ELISA yöntemiyle ölçülür (85).

2.8.3. Lipidlerin Oksidasyondaki Rolü

KAH, gelişmiş ülkelerdeki ölüm oranının önemli bir nedenidir. KAH açısından risk faktörü olan biyolojik parametrelerin kişiye göre farklılık göstermesinin tespit edilmesinde çok sayıda gen rol oynar. Geçtiğimiz 20 senedir, çalışmalar lipid metabolizmasında rol oynayan genlerdeki ortak polimorfizmlerin, plazma lipoprotein lipid seviyeleriyle ilişkisini belirlemeye odaklanmıştır. Son zamanlarda lipid metabolizmasına katılmayan ancak aterosklerotik lezyonların gelişmesinde rol oynayan paraoksonaz (PON) gibi ek genler tanımlanmaktadır. PON'un aterosklerozla olan ilişkisinin, HDL'nin antiaterojenik özelliklerindeki rolünden dolayı olduğu görülmektedir. LDL oksidasyonunun HDL ile ilişkili olarak korunmasında, LDL oksidasyonunun ürettiği toksin metabolitlerin aktivitesini ortadan kaldıran PON gibi HDL ile ilişkili enzimlerin katalitik hareketi aracılık yapar.

İn vitro çalışmalar PON'un, biyolojik olarak aktif olan LDL'yi hidrolize ederek, lipid peroksit oluşumunu önemli ölçüde azalttığını ve yağ birikiminin oluşmasının önlenmesinde koruyucu bir rol oynadığını belirtmektedir. HDL'yi ısıyla işleyerek PON'un inaktifleştirilmesinde, HDL'nin LDL oksidasyonunu önleme yeteneğini azalttığı araştırmalarda gösterilmektedir. PON1 aktivitesi; hiperkolesterolemi, insüline bağlı olmayan diyabetler, vasküler hastalıkları olan hastalar ve miyokardial enfeksiyondan kurtulanlar gibi ateroskleroz riski yüksek olanlarda azalmıştır (86-89). İmmünolojik teknikler, PON1'in ateroskleroz gelişimi esnasında insanlarda arteriyal duvarda biriktiğini ortaya koymuştur. İn vitro olarak insan HDL'sinde veya tamamen seruma saflaştırılmış PON1 eklenmesi konsantrasyona bağlı bir şekilde Cu^{+2} ile indüklenen lipoprotein oksidasyonunu önemli derecede

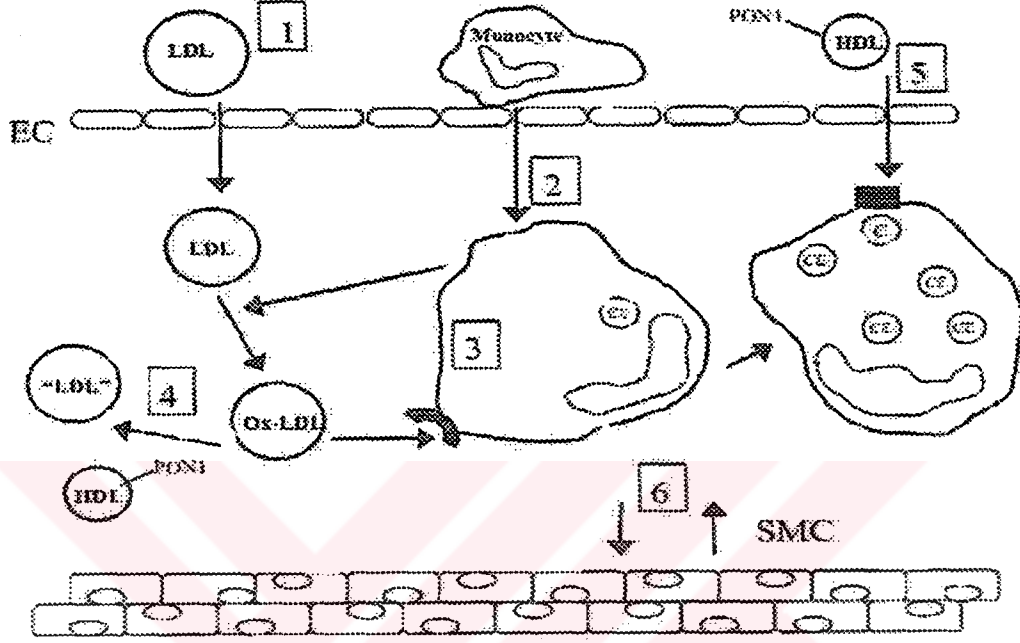
engeller. Lipoproteinlerden fosfoliplerin oksidasyonu; hidroperoksidazlar, izoprostenazlar ve core aldehytlarini de içeren enzimatik hidrolize neden olan, fosfotidilkolin (PC) türevlerinin spektrumuna neden olur (90, 91). PON1 metabolitleri LDL fosfolipidlerinin Sn-2 pozisyonunda bulunan arachidonic asit türevlerini okside eder (92). Enzimatik aktiviteye sahip (genelde hidrolitik) ve HDL üzerinde bulunan proteinlerden (Tablo 2.7.) insandaki PON1'in, lipit peroksidlerin LDL üzerinde birikmeden önce çökmesinden özellikle sorumlu olduğu sonucu araştırmalarda ortaya çıkmıştır (93-95). PON1'in LDL'nin oksidasyona karşı korunmasında LCAT'dan veya apo-A1'den daha etkin olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Tablo 2.7. Enzimatik Aktiviteye Sahip İnsan HDL'sindeki Proteinler

1. PON1
2. LCAT
3. PAF-AH
4. Proteinaz
5. Fosfolipaz D
6. Albümin
7. Apo A-I

Trombosit harekete geçiren faktör (PAF) asetil hidrolazın (PAF-AH), PON1 gibi hareketi vardır. PON1 ve PAF-AH tandem (birbiri ardına) şekilde işlerler. Her iki enzim ya da sadece PON1, HDL'nin antioksidant etkilerini sürdürmesi için gereklidir. Son yıllardaki çalışmalar, apo A1 ve PON1 ikili sistemlerinin fosfotidilkolin yağ asit hidroperoksidazı, liso-fosfotidilkolin'e çevirdiğini göstermiştir. PON1, fosfotidilkolin izoprostanların ve aldehytların hidrolizi ile fosfotidilkolin oksidasyon ürünlerinin liso-fosfotidilkolin'ye birikmesini sağlar. PON1; lipidperoksidaz ve H₂O₂ vb peroksidaz aktivitesine benzer şekilde elimine edebilme yeteneğindedir. Bu hareketiyle, bakır iyonu gibi oksidantlarla LDL oksidasyonunun başlamasını engeller (96). Ayrıca PON1, monositlerin LDL'nin sebep olduğu vasküler ko-kültür sisteminden göçünü inhibe eder (97). Antioksidanların antiaterojenik özelliklere sahip

olduğu kabul edilmektedir. Paraoksonaz aterojenik yol boyunca çeşitli kademeler de anti-aterojenik ajan olarak hareket edebilir ve dolayısıyla bunların aterojenik özelliklerini azaltabilir (98-100).



Şekil 2.21. Oksidatif stres altında LDL ve kan monositleri arter duvarına saldırır. LDL arter duvar makrofajlarıyla okside edilir (ox-LDL). LDL oksidasyonu; LDL lipitleri ile E vitamini, β karoten likopen, bazı flavonoidler olmak üzere antioksidanlar arasındaki denge ile tespit edilir. Makrofaj oksidatif durumu aynı zamanda LDL oksidasyonunun kapsamını belirler ve NADPH (NADPH-ox) gibi hüresel oksijenazlar ile glutasyon (GSH) sistemi gibi antioksidanlar arasındaki denge ile tespit edilir. Okside edilmiş LDL, LDL reseptörlerinin aksine, scavenger reseptörleriyle alınır. Okside LDL'nin makrofaj tarafından alınması köpük hücre oluşmasına yol açar.

- HDL ile ilgili PON, ox-LDL'de bazı lipit peroksitlerini hidrolize edebilir ve aterojenik lipoproteinleri, aterojenik olmayan bir lipoproteine dönüştürür. Ox-LDL, paraoksonazı inaktifleştirir, ox-LDL lipit peroksit içeriğini azaltan antioksidanlar paraoksonaz aktivitesini koruyabilirler.
- Paraoksonaz lipit peroksitlerini hidrolize edebilir ve dolayısıyla makrofaj aterojenikliğini azaltır. Ox-LDL'nin makrofaj alımı, köpük hücre oluşumuna neden olabilir.
- Paraoksonaz HDL'yi oksidasyondan korur ve HDL aracılığıyla makrofaj köpüklü hücrelerden kolesterol akıntısını yükseltir.

Oksidatif stres altında, hem lipoproteinler hemde hücrelipitler lipit peroksidasyonuna karşı dayanıksızdır. PON1, lipit peroksidasyonunu aterojenik etkilerini hem lipoproteinlerde hem de hücre membranlarında nötr hale getirebilir. PON1'in HDL'yi oksidasyondan koruması, makrofajlardaki kolesterol birikimini azaltır, köpük hücre oluşumunu ve aterogenezi geciktirir (Şekil 2.21).

PON1 proteininde iki aktif bölge bulunur:

1. Arilesteraz/paraoksonaz aktivitesi için,
2. LDL oksidasyonundan korumak için gereklidir (101).

Oksidize lipitlerin hidrolizi için aktif merkez muhtemelen pozisyon 283'deki sistein artığıdır. Histidin ve triptofan artığı içeren OP bileşenlerinin hidrolizinde amino asitler bağlanır (102). Kalsiyum, muhtemelen PON1'in arilesteraz/paraoksonaz aktivitesi için gereklidir fakat PON1'i LDL oksidasyonuna karşı korumaz (101).

2.8.4. PON1 geni

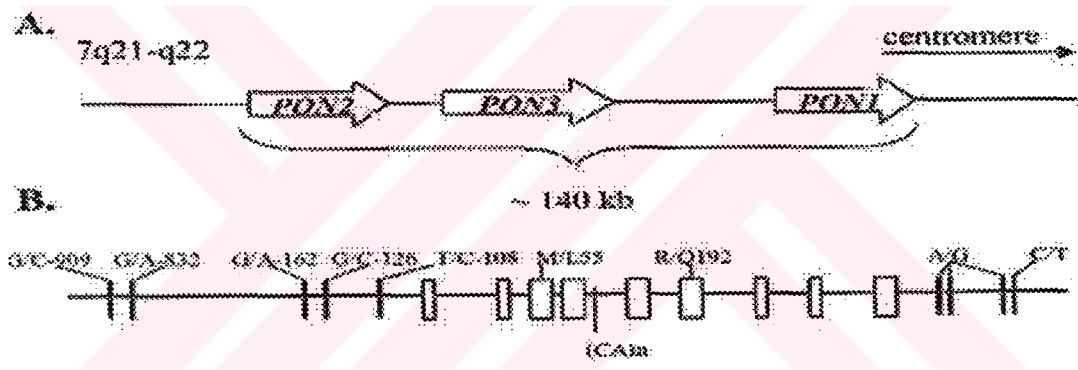
2.8.4.1. PON gen ailesi ve PON1'in yapısı:

İnsan genomunda üç çeşit PON geni bulunmaktadır. Bunlar PON1, PON2 ve PON3 olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.22.A.). Bu genler 7q21.3-q22.1 bölgesinde lokalize olmuştur (7, 103). Bu üç gen, benzer gen dublikasyonu ile ortaya çıkarlar (104).

Bugün, insan PON1'inin kodlama sekansının dokuz ekzondan düzenlendiği biliniyor ve bir introndaki *Alu* sekansına ve dört intron içindeki polimorfik CA dinükleotit tekrarına sahiptir (7, 105) (Şekil 2.22.B.). PON1 aktivitesinin, kısmende olsa genetik olarak tespit edilebileceği bilimektedir (101, 103). PON1 birkaç polimorfik bölge içerir. Populasyondaki anlamlı frekanslarda iki yada daha fazla varyantı bulunur. Polimorfizmin spesifik bir formu, tek nükleotid polimorfizmi (SNP), DNA'da sınırlanmış lokasyondaki bir bazlık spesifik fark olarak adlandırılır. PON1 aktivitesini anlamlı olarak etkileyen ve protein içindeki aminoasit değişikliklerinin meydana getirdiği 2 polimorfik yapı vardır (103, 106). İlk polimorfizm 55. kodondaki Leusin (L)

Metionine (M) değişmesidir (M/L55). Bunun PON1 aktivasyonundaki varyasyonların %16'sından sorumlu olduğu bulunmuştur (107). İkinci polimorfizm, 192. kodonda meydana gelen Glutamin (Q) yerine Arginin (R) geldiği değişimdir (Q/R192) (103, 106, 108) (Şekil 2.22.B.).

PON1'de 55 (L/M) ve 192 (Q/R) kodonlarındaki iki ortak polimorfizmin yüksek derecede KAH riskine neden olduğu araştırmalarda gösterilmiştir (109). Bu polimorfizmlerin hepsi restriksiyon endonükleaz ile kolaylıkla tespit edilebilir (103). Bu nedenle bunlara **“restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmleri (RFLP)”** denir. PON1'in farklı allelik formları bazen izozimler ve allozimler olarak adlandırılır ve bunlar enzimlerin farklı fonksiyonel tipleridir.



Şekil 2.22.A-B. PON1 geninde meydana gelen polimorfizmler

2.8.4.2. Kodon Bölgesinde R/Q192 ve M/L55 polimorfizmleri

2.8.4.2.1. Q/R192 polimorfizmi:

Üç PON1 genotipinin bulunuşu, 1973'lerden sonra olmuştur (110). Protein 192. pozisyonundaki arginin aminoasiti (R) yüksek aktiviteli paraoksonazı belirtirken, bu pozisyonda glutamin bulunması (Q) düşük aktiviteli enzimi belirtmektedir (127, 106). Başka bir deyimle; glutamini şifreleyen A alleli düşük PON1 aktivitesiyle, arginini şifreleyen B alleli yüksek PON1 aktivitesiyle ilişkilidir. PON aktivitesi aynı zamanda substrata özgündür ve değişik substratlarda çok sayıda farklılıklar gösterir. PON

aktivitesi apolipoprotein ve lipoprotein-lipitlerin plazma konsantrasyonlarıyla da korelasyon içindedir (111). Farklı PON1 genotiplerinin aterosklerozu önlemedeki rolleri hala tartışmalı olmakla birlikte, QQ allozimi düşük aktivite genotipli (Homozigot AA) bireylerin ateroskleroz riskinin oldukça yüksek olduğu giderek kabul edilmektedir. Avrupa popülasyonunda düşük aktiviteli QQ allozimi homozigot olarak %50, yüksek aktiviteli RR allozimi homozigot olarak %10 ve QR heterozigotu %40 olarak gösterilmiştir (103). Bazı Beyaz kökenli olmayan popülasyonlarda düşük aktiviteli Q192 allellerinin frekans şiddeti az bulundu (110). Son yıllarda PON1 polimorfizmi ile KAH arasındaki ilişkiyle ilgili olarak bir çok çalışma yapılmıştır (112-116). Bu çalışmalar üzerinde yapılan incelemeler, aynı etnik nüfusta yürütülen çalışmalarda bile farklılıklar olduğunu gözler önüne serer (114, 115, 117). Bu farklılık genin çevreyle ve/veya genin genle etkileşiminin PON1 polimorfizm ve KAH arasındaki ilişkiyi ayarladığını ileri sürmektedir.

2.8.4.2.2. L/M55 polimorfizmi:

PON1 polimorfizmi 55 pozisyonunda da meydana gelir (L/M55) (103). Kafkaslı insüline bağlı olmayan diyabet hastasında yapılan inceleme de, 55. pozisyondaki Leu alleli için PON1'in homozigotluğunun, KAH için bağımsız bir risk faktörü olduğu bulunmuştur (118). Ancak bu durum, Asyalı Hintli ve Çin nüfuslarında tespit edilememiştir (119). Bunun sebepleri; diyetle ilgili ve/veya diğer çevresel faktörlere bağlanabilir. Sağlıklı Finlilerde, Kafkaslarda olduğu gibi %41 LL homozigotu, %49 LM heterozigotu ve %10 MM homozigotu bulunur (120). L/M55 polimorfizmi PON1 aktivitesini R/Q192 polimorfizminden bağımsız olarak etkiler. L55'i taşıyan allozim paraoxona karşı yüksek aktiviteye sahiptir ama M55'i taşıyan allozim düşük aktiviteye sahiptir (118). L/M55 polimorfizmi, karaciğerde M55 ve L55 allellerinin akışının farklılıklarını düzenleyen enzimin serum konsantrasyonunu düzenler (121). L55 alleli daha etkili bir şekilde bulunur, bu yüzden L55 allelinin taşıyıcıları plazmalarında M55 allelinin taşıyıcılarına göre daha yüksek PON1 konsantrasyonuna sahiptir (122). PON1 konsantrasyonundaki farklılıklar; bireyler arasında görülen en az kırk kat

farklı PON1 aktivitesini ve belirli genotip sınıfları içerisindeki farkı kısmen açıklar (124). Sadece paraokson gibi ayırt edici substratlarda değil, fenilasetat gibi ayırt edici olmayan substratlarda da farklılıklar oluşur.

2.8.4.2.3. PON1 Haplotipleri:

Q/R192 ve L/M55 polimorfizmleri, pozisyon 55'deki L ve pozisyon 192'deki R ile eşit şekilde ($p < 0.001$) bağlantılıdır. Bu allellerin eş zamanlı bulunuşları '**yüksek paraoxanase aktivitesi**' ile ilişkilidir (118). Bu bağlantıya göre L/M55 ve Q/R192 allelleri Beyaz Irk topluluğu içindeki dört formdan üçünü oluşturur. Bunlar; L55/Q192, L55/R192 ve M55/Q192'dir. Ve bu haplotipler altı farklı şekilde dizilebilirler (123).

2.8.4.3. Promoter Polimorfizmleri:

İnsan PON1'inin promotor bölgesinde beş polimorfizm bulunmuştur (124, 125) (Şekil 2.22.B). Bu polimorfizmlere popülasyonlarda çok sık rastlanır. Bunlardan üç tanesi (pozisyon -108, -162, -909'dakiler) promoter aktivitesinde farklı vurgulara neden olan gen ekspresyonunda 2 kat fazla değişime neden olur. Pozisyon -108'deki timidinin sitozine değişimi (T/C-108) PON1'in ekspresyonundaki dominant etki olarak görülür, enzimin konsantrasyonunu da etkiler. Bu pozisyon, muhtemelen transkripsiyon aktivasyonu faktörü bağlayıcı bölgedir. İlginç olarak, pozisyon -108, -162, -909'daki promoter bölge polimorfizmi arasında çok kuvvetli bir bağlantı olmasına karşın; L/M55 polimorfizmi ve PON1 konsantrasyonu arasında kesin bir bağlantı yoktur (122).

2.8.5. PON1, Lipoproteinler ve Ateroskleroz

2.8.5.1. PON1 ve Plazma Lipoproteinlerinin Seviyeleri:

PON1 seviyesi belirlenmesinde HDL konsantrasyonu, PON1 M/L55 polimorfizmi ve promoter polimorfizmi ile birlikte, plazmadaki PON1

proteini seviyesini belirleyen diğer faktörler pek iyi bilinmemektedir. HDL konsantrasyonunun çok düşük olduğu durumlarda, serum PON1 seviyesi düşük gözlenir. Düşük serum PON1 aktivitesinin, ateroskleroz hariç başka hastalıkların da patolojisinde önemli bir rolü vardır. Örneğin; PON1 ve Parkinson hastalığı arasındaki ilişkiye dair çeşitli raporlar bulunmaktadır. Bunun yanında balıkgözü hastalığı ve Tangier hastalığında da düşük PON1 aktivitesi gözlenir (126, 127). PON1 seviyesi; miyokardiyal enfarktüs sonrasında geçen iki saatte ve kalp hastalarında da kontrollerle kıyaslandığında belirgin bir şekilde düşmektedir (128). Fibrik asit türevleri ve serum HDL-kolesterolü konsantrasyonu, serum PON1 aktivitesini değiştirmeden %10 kadar yükseltmektedir (129).

Serumdaki yağ oranı tespitinde PON1, PON1'in tek başına serum yağ oranını, ApoA1 ve HDL-kolesterolünü etkileyebileceğine dair açıklamalar vardır (130-132). PON1'in genetik varyasyonları üzerindeki çalışmalarda Q/R192 genotipinin; bazı Avrupalı olmayan kökenlerde, çoğu plazma lipoprotein seviyesiyle bağlantılı bulunmuştur (133-135). KAH riskinin tespit edilmesi açısından, PON polimorfizminin ırk dağılımını ve Asyalı Hintliler ve Singapur'lu Çinlilerden oluşan iki büyük örnekte plazma lipitleri ve KAH ile olan ilişkisi değerlendirildi. Hintlilerde yaşa göre standartlaştırılmış risk Çinlilerin 3 katıdır. Asyalı Hintlilerde KAH'nın daha yaygın olması, sigara içme, kan basıncı ve serum kolesterolü gibi geleneksel risk faktörleri ile açıklanamaz. Çünkü bu risk faktörleri Asyalı Hintlilerde Çinlilerinkine benzerdir. Asyalı Hintlilerin HDL-kolesterolü sürekli olarak daha düşük, trigliserid ve diyabet yaygınlığı daha yüksektir. Çalışmalarda, QQ homozigotunun genellikle daha düşük seviyede apo B bağlantılı plazma lipoproteinleri ile (R192 alleli taşıyıcılarına kıyasla) daha yararlı bir plazma lipoprotein profili gösterdiği gözlenmiştir. Avrupa tip 2 diyabet hastalarındaki örneklerde; RR ve QR genotipi taşıyıcıları, QQ genotipi taşıyıcılarına göre daha yüksek HDL ve apo A1 konsantrasyonuna sahip çıkmıştır. Ama KAH riski daha yüksek çıkmıştır. L/M55 polimorfizmi göz önüne alındığında, M55 alleli, LDL-kolesterolü ve Apo B ile bağlantılıdır (136). Bu çalışmalar PON1 polimorfizminin, genetik olarak izole

toplumlardaki kolesterol ve lipoprotein özelliklerindeki değişmelerin %1'inde etkili olduğunu göstermektedir.

2.8.5.2. LDL Oksidasyonuna Karşı PON1 Allozimlerinin Etkisi:

Yüksek PON1 aktivitesi olanların, LDL oksidasyonu ve hatta aterosklerozise karşı korunduğu düşünölmüştür. Bu çıkarım PON1 Q/R192 polimorfizminin etkisinin diazoxon, suman ve sarin hidrolizinde R192 ve Q192 izoformlarının bazı substratları hidroliz etmesi yüzünden yapılmıştır. PON1 allozimlerinin LDL'yi oksidasyondan koruma etkisinin paraokson hidrolizinin tamamen tersi olduğu bulunmuştur.

Mackness ve çalışma arkadaşları QQ genotipinin PON1 ürünlerini kullanan HDL'nin, LDL'yi bakır azaltımlı oksidatif modifikasyondan, QR veya RR genotipinin enzim ürünlerine dâhil olanlardan bariz şekilde koruduğunu göstermiştir. Bu buluş bakır iyon azaltılı LDL oksidasyonunun Q192 ile PON1 tarafından %60 ama R192 ile PON1 tarafından sadece %40 düşüröldüğünü gösteren başka bir çalışma ile doğrulanmıştır (101). Bu durum in vitro çalışmalarda peroksit ve aldehidlerin 4 saat kuluçka sonrası üretimi ile ölçölmüştür. Q192 alleli taşıyan PON1'in LDL oksidasyonunun başlangıcında eklendiğinde, oksidasyonu bloke etmede daha başarılı olduğu araştırmalarda görölmüştür. LDL oksidasyonu süresince R192 PON1 aktivitesi %30 düşerken, Q192 PON1 aktivitesi ise minimum etkilenmiştir. MM homozigotlarından izole edilmiş HDL, 6 saatlik kuluçka sonrası LDL'yi koruma özelliğine ML heterozigotlarından veya LL homozigotlarından elde edilen HDL'ye göre iki kat daha fazla sahip olmuştur. PON1 haplotipleri göz önüne alındığında, LDL'yi oksidasyondan korumada Q192 ve M55 allellerinin ikisi içinde homozigot olan elemanlardan elde edilen HDL en başarılıdır. Ayrıca bu çalışmalar PON1'in koroner arter örneklerinden çıkartılmış aterosklerotik lezyonlardaki okside olmuş yağlar üzerinde de etkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu bağlamda Q192 ile PON1, R192 ile PON1'den daha etkilidir (96).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER:

3.1. Örneklerin Seçimi ve Kan Alımı:

Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı'na başvuran prematür KAH tanısı alan 120 hasta ile, KAH öyküsü olmayan 102 sağlıklı birey (kontrol grubu) çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya katılan bütün bireylerin yazılı onayları alındı.

Hastalığın tanısında kullanılan kriterler;

- 1) Tanı sırasındaki yaş, erkeklerde ≤ 55 , kadınlarda ise ≤ 65 ,
- 2) Anjiyografide majör bir koroner arterde ya da dallarından birinde en az % 50 darlık.

Koroner anjiyografi Judkin Metodu kullanılarak gerçekleştirildi. Miyokard infarktüsü tanısı, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine uygun olarak; semptomlar, kardiyak enzimlerin yüksekliği ve elektrokardiyografik değişikliklere göre kondu.

Bütün hastalar, diabetes mellitus (DM), hipertansiyon, hiperkolesterolemi ve sigara gibi koroner risk faktörleri açısından değerlendirildi. Trigliserid, total kolesterol, HDL ve LDL kolesterol değerleri klasik biyokimyasal metodlarla elde edildi. Arteriyel hipertansiyon kriteri olarak, birden çok ölçümde sistolik basınç ≥ 140 mmHg ve/veya diastolik basınç ≥ 90 mmHg bulunması alındı. Diyabet öyküsü olanlar ya da bazal glukoz değeri ≥ 120 mg/dl olanlar diabetes mellitus olarak değerlendirildi. Sigara içimi ≥ 5 /gün olanlar, sigara içen grubuna eklendi. Beden kitle indeksi ≥ 25 kg/m² olanlar, kilolu olarak alındı. Hasta ve kontrollerle yapılan görüşmeler sonucu KAH aile öyküleri saptandı.

Onayları alınan hastaların periferik venöz kanları K₂EDTA'lı tüplere toplandı ve DNA izolasyonunda kullanılıncaya kadar -20 °C de saklandı. Tüm moleküler analizler Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD Moleküler Tıp Araştırma laboratuvarında yapılmıştır.

3.2. ARAÇ VE GEREÇLER:

3.2.1. Kullanılan Kimyasallar ve Araçlar:

3.2.1.1. Kimyasallar:

Çalışmanın her aşamasında moleküler grade kalitesinde kimyasallar ve tip-1 kalitesinde ddH₂O (çift distile su) (18 megaohm/cm) kullanıldı.

- Agaroz (Sigma, A 9539)
- Borik Asit (Sigma, B 6768)
- Bromfenol mavisi (Sigma, 5525)
- dNTP karışımı (Boehringer Mannheim, 1277049)
- Alw I Restriksiyon enzim (New England BioLabs-NEB,)
- EDTA (etilendiamintetraasetikasit, disodyum) (Sigma E 5134)
- Etanol (Reidel de Haen, 24103)
- Etidium Bromid (Sigma,E 7637)
- KCl (Sigma, P 9327)
- N-Lauroil Sarkozin (Sigma, L 9150)
- Moleküler Ağırlık Marker'ı (Hae III,Fermentas)
- Nla III Restriksiyon Enzim (NEB)
- Nucleospin DNA izolasyon kiti (Macherey-Nagel, No:740 951.250)
- PCR tampon seti (Boehringer Mannheim, 1699121)
- Sukroz (Sigma, S 0389)
- Taq DNA Polimeraz (Boehringer Mannheim, 1146165)

3.2.1.2. Kullanılan Araçlar:

- PTC 100 Programmable Thermal Controller MJ. Research Inc.
- Sorvall RMC 14 Mikrosantrifüj.
- Elektroforez sistemi EC105 (EC Apparatus Corporation, <500mA), OWL, Heidelberg, Germany

- Pharmacia Biotech Ultraspec 2000. UV / Visible Spektrofotometre.
- UVP BioDoc-It™ Transilluminatör
- Red Rocker Hoefler Scientific Ins. Otomatik Karıştırıcı.
- Grant LTD 6 G (-20 to 100 °C) Su banyosu.
- Gallen Komp. SANYO OMT OVEN
- Astell Scientific Otoklav.

3.3. KAH'larında PON1 Geninde 55 L/M ve 192 Q/R Polimorfizmlerinin Moleküler Yöntemlerle Araştırılması:

3.3.1. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu:

Hastalardan EDTA'lı tüpe alınan 1 ml periferik kandan 200 µl alınarak genomik DNA elde edilmiştir. Bu amaçla tuzsuz DNA ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem için Nucleospin DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemleri kit prospektüsüne göre yapılmıştır.

3.3.1.1. Uygulanan Protokol:

DNA Ekstraksiyonu (NucleoSpin)

1. 1,5ml mikrosantrifüj tüplerine **200µl kan** ve **25µl proteinase K** eklendi.
2. **200µl lysis buffer B3** her bir karışımın üzerine eklendikten sonra 10-20 saniye kadar vortekslendi.
3. 70°C' de 10 dakika beklendi.
4. Her bir örneğin üzerine **%96-98'lik etanolden 210µl** konulup, vortekslendi.
5. Örneklerin her biri **NucleoSpin Blood column**'lara aktardı.
6. 12.000 rpm'de 1dak. santrifüj edildi.
7. **NucleoSpin Blood column**'lar 2ml'lik yeni tüplere aktarılır ve her birine **500µl BW** eklendi.
8. 12.000 rpm'de 1dak. santrifüj edildi.

9. NucleoSpin Blood column'lar yeni tüplere aktarılır ve her birine **600µl B5** eklendi.

10. 12.000 rpm'de 1 dak. santrifüj edildi.

11. NucleoSpin Blood column'lar yeni tüplere aktarıldı ve üzerine solüsyon koymadan boş, 14.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi.

12. NucleoSpin Blood column'lar 1,5 ml'lik mikro santrifüj tüplerinin içine konuldu. Üzerine önceden **70°C'de bekletilmiş olan elution buffer (BE)' dan 100 µl** eklendi. Oda ısısında yaklaşık 3 dakika beklendi.

13. 12.000 rpm'de 1 dak. santrifüj edildi.

14. NucleoSpin Blood column'lar atıldı. Mikro santrifüj tüplerinin dibinde biriken miktarla PCR çalışıldı.

Tüplerin ağızları kapatıldı ve parafinlenerek -20°C'ye kaldırıldı.

3.3.1.2. İzole Edilen DNA'nın Konsantrasyonunun ve Kalitesinin Saptanması:

Örneklerin DNA konsantrasyonu tayini için; önce izole edilen DNA örneğinden 25 µl alındı ve 425 µl TE ile seyreltildi. İyice karıştırılarak homojenize edilen DNA örneğinin optik dansitesi, spektrofotometrede ve buna bağlı bilgisayardaki Swift Multiple Wavelength V1.02 yazılımı kullanılarak 260 ve 280 nm'de TE'ye karşı okundu.

50 µg / ml çift iplikli DNA içeren çözeltinin spektrofotometrede 260 nm'de 1.0 optik dansite (OD) değerinde bir okuma verdiği kabul edilmektedir. Spektrofotometrede okunan OD değeri aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

Örnekteki DNA miktarı (µg/ml) : (OD₂₆₀) x 50µg/ml (1.0 OD'ye karşılık gelen çift iplikli standart DNA miktarı) x 17 (seyreltme faktörü).

DNA miktarının yanında OD 260 / 280 oranları değerlendirildi. Değerlendirilen hasta örneklerinin hepsinde bu oranın 1.75-2.0 arasında değiştiği gözlemlendi. Bu oran, DNA kalitesinin moleküler çalışmalar için uygun olduğu anlamına gelmektedir.

DNA'nın bütünlüğü agaroz jel elektroforezi sisteminde örneklerin yürütülmesi ile test edildi.

Elde edilen 2 µl (100ng) DNA molekülü %1'lik Agaroz jelde elektroforeze tabii tutuldu. Moleküler Biyolojide kullanılan Agarozdan 1gr. tartılarak 100 µl 10XTBE tamponunda magnetic karıştırıcıda boncuklar kullanılarak karıştırılmıştır. Bu karışım mikrodalga fırınında eritildi. Magnetic karıştırıcı üzerinde karıştırılarak 60 °C kadar soğutuldu. Üzerine 10 µg/ml konsantrasyonlu Etidyum Bromür solüsyonundan 10 µl ilave edilip karıştırıldı. Bu agaroz solüsyonu önceden hazırlanmış elektroforez tankının taraklar yerleştirilmiş, kamerasına dökülmüş ve sertleşinceye kadar bekletilmiştir. Üzerine 1XTBE tamponu eklendikten sonra taraklar çıkarılmıştır. 2µl DNA ve 2 µl Orange G karıştırılarak jele yüklenmiştir. Elektroforez 100mV, 80 mA koşullarında kullanılarak 30-40 dakika arasında uygulandı. Jeldeki DNA ultraviyolede, baz çift sayısı bilinen standart olarak kullanılan DNA markerı (Hae III, Fermentas) ile karşılıklı olarak görüntülenmiştir. Kontrol edilen bu DNA'dan tüm genotipleme reaksiyonları yapılmıştır.

3.3.2. PCR Amplifikasyonu :

3.3.2.1. Amplifikasyonda Kullanılacak Primerlerin Seçimi:

Kullanılacak primerler, yapılan literatür taraması sonucuna göre belirlendi (Tablo 3.1). Belirlenen primerler HPLC ile saflaştırılmış olarak Oncor Appligene'e sentezlettiler. Liyofilize halde gelen primerler 10 pmol / µl konsantrasyonda olacak şekilde ddH₂O ile çözüldü.

3.3.2.2. Uygulanan PCR Protokolü:

PCR reaksiyonunda yer alan bütün bileşenler (PCR tamponu, dNTP, Primerler, Taq DNA Polimeraz) ve PCR siklus sıcaklık profilleri tek tek kontrol edilerek standardizasyonları yapıldı. Sonuçta PCR reaksiyonunda kullanılan karışım aşağıdaki miktar ve konsantrasyonlarda hazırlandı (Tablo 3.2.).

Tablo.3.1. Kullanılan Primerler.

<p>PON 192 Q/R : (Fragman büyüklüğü : 99 bp)</p> <p>Forward Primer ; 5'-TATTGTTGCTGTGGGACCTGAG-3'</p> <p>Revers Primer ; 5'-CACGCTAAACCCAAATACATCTC-3'</p> <p>PON 55 L/M : (Fragman büyüklüğü : 170 bp)</p> <p>Forward Primer ; 5'-GAAGAGTGAATAGCCCCAG-3'</p> <p>Revers Primer ; 5'-TTTAATCCAGAGCTAATGAAAGCC-3'</p>

Tablo.3.2. 25 µl hacim içerisinde gerçekleştirilen PCR reaksiyonunda kullanılan maddeler ve son konsantrasyonları.

Kullanılan Madde	192 Q/R	55 L/M
ddH ₂ O	Tamamlayacak kadar	Tamamlayacak kadar
10xPCR tamponu	2.5 µl	2.5 µl
dNTP karışımı	10µM	10µM
Primer 5'	10 pmol/µl	10 pmol/µ
Primer 3'	10 pmol/µl	10 pmol/µ
Taq DNA Pol.	1ünite	1 ünite
Kalıp	1.0 µl	1.0 µl

Thermal Cycler'da tabloda gösterilen PCR sıcaklık profili (Tablo 3.3.) kullanılarak amplifikasyon gerçekleştirildi.

Tablo 3.3. Kullanılan PCR Sıcaklık Profili

95°C	5 dakika	35 Çevrim
95°C	40 saniye	
61°C	1 dakika	
72°C	1 dakika	
72°C	10 dakika	

3.3.2.3 PCR Ürünlerinin Elektroforezde Değerlendirilmesi:

Elektroforezde Kullanılan Solüsyonlar:

- Etidyum Bromid Stok Solüsyonu : (Moleküler analiz için 20 mg / ml konsantrasyonda)
200 mg etidyum bromid çeker ocak içerisinde tartılarak 10 ml ddH₂O'da çözüldü. .
- 10 x TBE (Agaroz Jel Elektroforezi için) :
108 gr Trizma baz (0.04 M)
55 gr Borik Asit
40 ml 0.5 M EDTA (pH:8.0)
ddH₂O ile 1 litreye tamamlandı.
- 0.5 M EDTA
186.1gr disodyum EDTA (2 sulu)
ddH₂O ile 1 litreye tamamlandı. PH'ı 10 M NaOH ile 8.0 ayarlandı.
(Not:EDTA pH :8.0'da çözülür.)

Elde edilen 2 µl (100ng) DNA molekülü %1'lik Agaroz jelde elektroforeze tabii tutuldu. Moleküler Biyolojide kullanılan Agarozdan 1gr. tartılarak 100 µl 10XTBE tamponunda magnetic karıştırıcıda boncuklar kullanılarak karıştırıldı. Bu karışım mikrodalga fırınında eritildi. Magnetic karıştırıcı üzerinde karıştırılarak 60 °C kadar soğutuldu. Üzerine 10 µg/ml konsantrasyonlu Etidyum Bromür solüsyonundan 10 µl ilave edilip karıştırıldı. Önceden hazırlanmış elektroforez tankına taraklar yerleştirildi ve bu agaroz solüsyonu kamerasına döküldü, sertleşinceye kadar bekletildi. Üzerine 1XTBE tamponu eklendikten sonra taraklar çıkarıldı. 2µl DNA ve 2 µl Orange G karıştırılarak jele yüklendi. Elektroforez 100mV, 80 mA koşullarında kullanılarak 30-40 dakika arasında uygulandı.

Jeldeki DNA ultraviyolede, baz çift sayısı bilinen standart olarak kullanılan DNA markerı (Hae III,Fermentas) ile karşılıklı olarak görüntülendi. Kontrol edilen bu DNA'dan tüm genotipleme reaksiyonları yapıldı.

3.3.2.4 RE Kesimi ile Polimorfizmlerin Saptanması:

PCR ürünü saptanmış örneklerde RE kesimi yapıldı. 192 Q/R polimorfizmi için Alw I kısıtlayıcı enzimi (RE) kullanıldı. Bu kesim 10 µl. PCR örneğine uygulandı. 1 µl. enzim kullanıldı. 37°C'de 5 saat TM programında kesim yapıldı. %3'lük nusieve jelde ;

QQ → 99 bp.

QR → 99 bp.+ 66 bp. + 33 bp.

RR → 66 bp. + 33 bp.

olarak okuma yapıldı.

55 L/M polimorfizmi için Nla III RE kullanıldı. Bu kesim 17 µl. PCR örneğine uygulandı. 1 µl.enzim kullanıldı. 37°C'de 3 saat TM programında kesim yapıldı. %3'lük nusieve jelde ;

MM → 127 bp. + 42 bp.

ML → 170 bp. + 127 bp. + 42 bp.

LL → 170 bp.

olarak okuma yapıldı.

RE kesim yöntemi uygulanan PCR ürünleri, 2.5 µl. Orange G ve 5 µl.enzim kesimi alınarak jele yükleme yapıldı. UV'de belirlenen baz çiftleri değerlendirildi.

3.3.2.5. İstatistiksel Yöntem

İstatistiksel incelemeler SPSS 10.0 sürümü kullanılarak gerçekleştirildi. Değişkenler, ortalama ± SD olarak ifade edildi. P değeri ≤ 0.05 olanlar anlamlı olarak değerlendirildi. Univaryans analizler, χ^2 testi, odds ratio (OR) ve Mann Whitney U testi ullanılarak hesaplandı. Genotip dağılımı için Hardy-Weinberg eşitliği ki-kare testi ile belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular:

Çalışma grubu 120 prematür KAH ve 102 kontrol grubundan oluşmaktadır. Hastaların ve kontrollerin klinik özellikleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Hasta (%76.6) ve kontrol grubunun (%78.4) büyük çoğunluğu erkeklerden oluşmaktadır. Hastalarda, DM (%37.5), KAH aile öyküsü (%41.6), hipertansiyon (%37.5) ve sigara içme alışkanlığı (%65.0) kontrollerden daha fazlaydı.

Tablo 4.1 Hasta ve kontrollerin demografik özellikleri ve risk faktörlerinin dağılımı.

	Hasta (n=120)	Kontrol (n=102)
Yaş (yıl)	48.2±4.3	46.8±5.2
Erkek/kadın	92/28(%76.6/%23.4)	80/22(%78.4/%21.6)
VKİ (kg/m ²)	27.1±1.8	23.9±2.2
Diabetes mellitus	45 (%37.5)	3 (%2.9)
KAH aile öyküsü	50 (%41.6)	12 (%11.7)
Hipertansiyon	45 (%37.5)	15 (%14.7)
Sigara içme alışkanlığı (≥5/gün)	78 (%65.0)	37 (%36.3)
Total kolesterol (mg/dl)	205.6±31.3	178.3±22.6
HDL kolesterol (mg/dl)	40.7±3.1	43.4±3.8
LDL kolesterol (mg/dl)	131.5±24.2	121.6±25.2
Trigliserid (mg/dl)	179.8±71.2	156.2±49.4
Tek damar hastalığı	44 (%36.6)	-
Çok damar hastalığı	65 (%54.2)	-

4.2. PCR Amplifikasyon Ürünlerinin Elde Edilmesi:

PCR reaksiyonları sonrasında PON1 genindeki 55 L/M polimorfizmi için 170 bp'lık 192 Q/R polimorfizmi için 99 bp'lık amplifikasyon ürünleri elde edildi.

4.3. RE KESİMİ İLE MUTASYON TARANMASI:

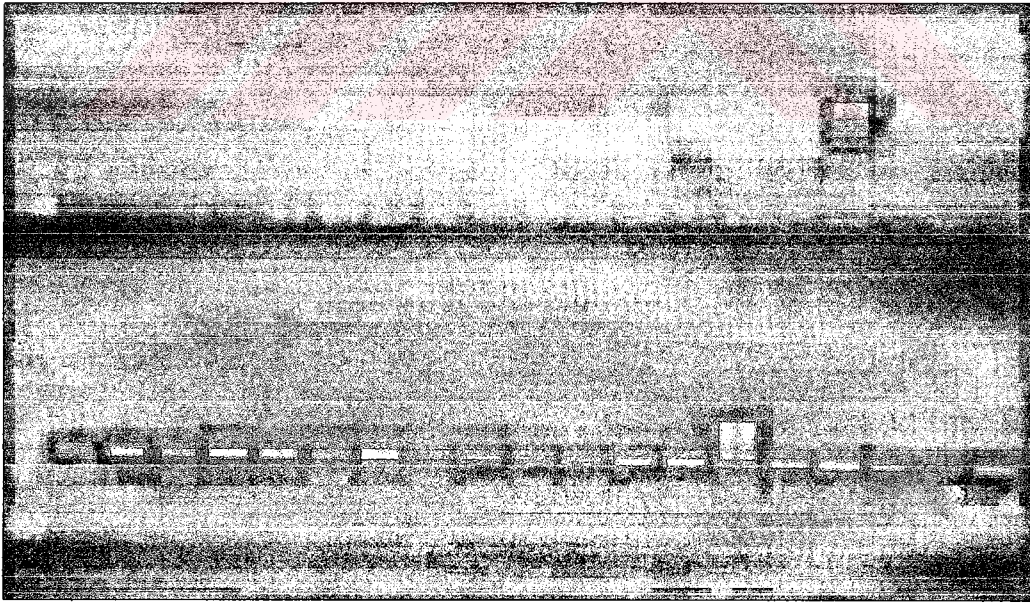
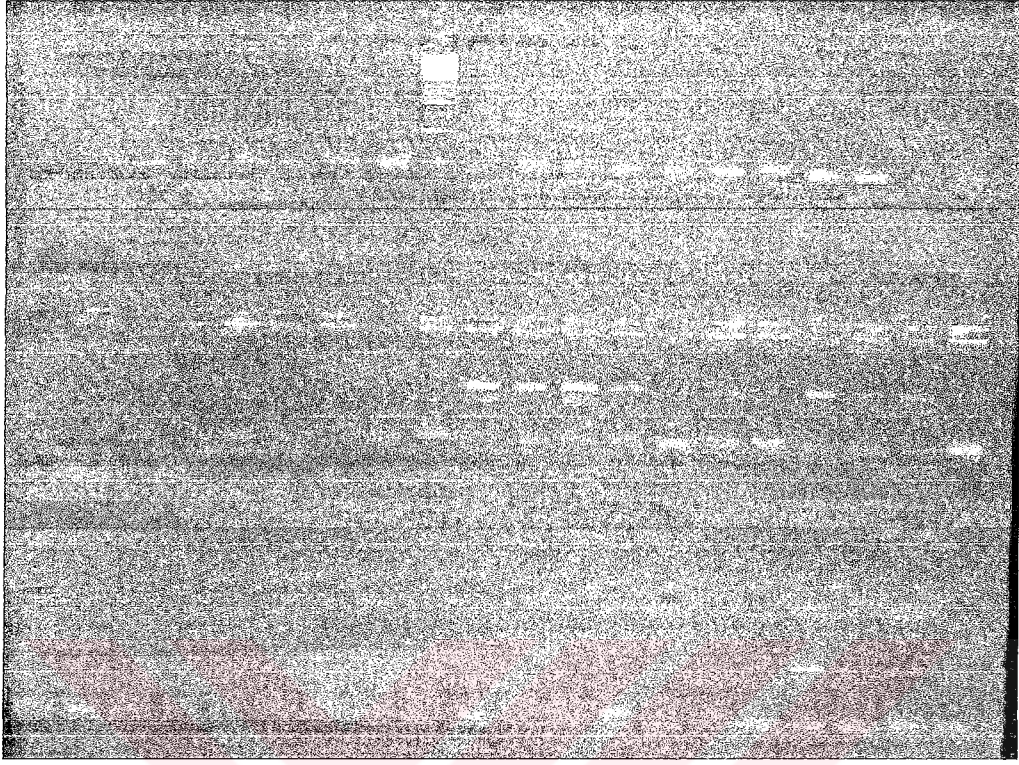
Tablo.4.2: Polimorfizmler ve RE Kesimi.

	pozisyon	a.a. değişikliği	RE Bölgesi Değişikliği	Bp değişikliği	Parça Büyüklüğü	Tanı Parçası (bp)	RE Kesim Yeri
1	55	Leu→ Met	Nla III Bölgesi Oluşur.	T ¹ →A	170bp	127, 42	CATG
2	192	Glu→ Arg	Alw I Bölgesi Oluşur.	A ² →G	99bp	66, 33	GGATC

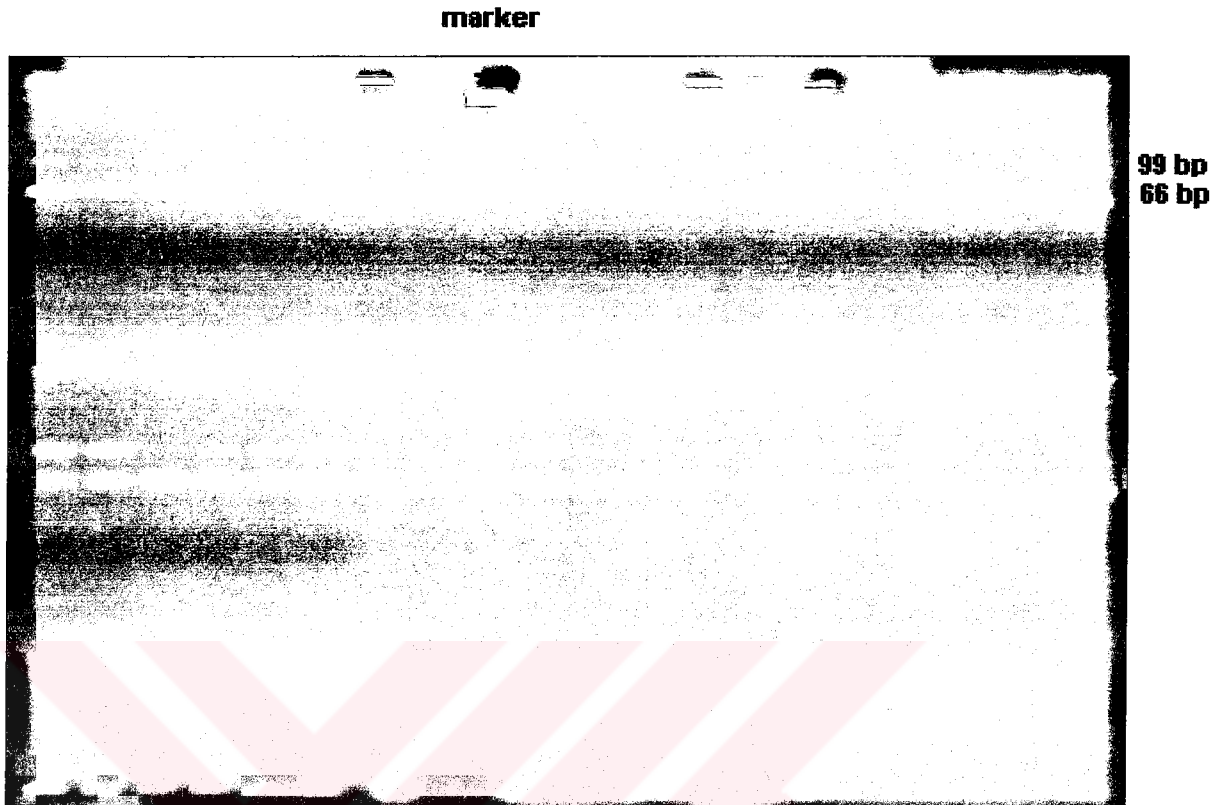
PON 55 L/M polimorfizmi için incelenen 170 bp'lık amplifikasyon ürünlerini Nla III RE ile muameleye tabi tuttuğumuzda, M aleli açısından homozigot olan bireylerde 127 ve 42 bp büyüklüğünde iki bant; L aleli açısından homozigot olan bireylerde 170 bp'lık tek bir bant; LM heterozigot bireylerde ise 170, 127 ve 42 bp büyüklüğünde üç bant elde edildi (Şekil 4.1).

PON 192 Q/R polimorfizmi için incelenen 99 bp'lık amplifikasyon ürünlerini Alw I RE ile muameleye tabi tuttuğumuzda, Q aleli açısından homozigot olan bireylerde 99 bp büyüklüğünde tek bir bant; R aleli açısından homozigot olan bireylerde 66 ve 33 bp'lık iki bant; QR heterozigot bireylerde ise 99, 66 ve 33 bp büyüklüğünde üç bant elde edildi (Şekil 4.2).

marker



Şekil 4.1. 170 bp büyüklüğündeki 55 L/M amplifikasyon ürününün Nla III enzimi ile kesimi sonucunda oluşan 170, 127 ve 42 bp'lık sonucu gösteren bantlar



Şekil 4.2. 99 bp büyüklüğündeki 192 Q/R amplifikasyon ürününün Alw I enzimi ile kesimi sonucunda oluşan 99, 66 ve 33 bp'lik bantlar.

4.4. PON1 Genotip Analizi:

Elde edilen sonuçlara göre aile öyküsü, hipertansiyon, diabetes mellitus, sigara, aşırı kilo, total kolesterol ve LDL kolesterol KAH riskini arttıran faktörlerdir ($p < 0.05$) (Tablo 4.3).

Hasta ve kontrollere ait PON 55 M/L ve 192 R/Q genotipleri ve frekansları tablo 4.4'de gösterilmektedir. Buna göre, hastalarda PON 55 bölgesinde M homozigotların oranı % 6.8, L homozigotların oranı % 46.6, ML heterozigotların ise % 46.6 iken; PON 192 bölgesinde R homozigotların oranı % 4.2, Q homozigotların oranı % 55.8 ve RQ heterozigotlar % 40 saptandı.

PON 55 M alel frekansı hastalarda (0,30), kontrollere (0,196) göre daha fazla bulunması, PON 55 M/L polimorfizmi ile KAH arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olduğunu göstermektedir ($X^2 = 8.131$, $p = 0.017$). Hastalarda 192 R alel frekansı bir miktar artmış olarak bulunsa da (0,241), PON 192 R/Q polimorfizmi ile KAH arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı saptandı.

Tablo 4.3. Kardiyovasküler risk faktörleri ve KAH

	χ^2 test	p
Aile öyküsü	24,492	0.001
Hipertansiyon	14,525	0.001
Diabetes Mellitus	16,014	0.001
Sigara	18,222	0.001
BMI (kg/m ²)	6.042	0.033
Total kolesterol	17.059	0.003
LDL kolesterol	4.376	0.012
HDL kolesterol	14.094	0.086

Tablo 4.4. PON1 genotip dağılımı.

	Hasta (n=120)	Kontrol (n=102)	χ^2 test
<i>PON1 55 L/M genotipleri</i>			
LL	56 (% 46.6)	67 (% 65.7)	$X^2= 8.131$
LM	56 (% 46.6)	30 (% 29.4)	p= 0.017
MM	8 (% 6.8)	5 (% 4.9)	
<i>PON1 55 L/M frekansı</i>	0,70/0,30	0,804/0,196	
<i>PON1 192 Q/R genotipleri</i>			
QQ	67 (% 55.8)	64 (% 62.7)	$X^2= 1.620$
QR	48 (% 40.0)	36 (% 35.3)	p= 0.445
RR	5 (% 4.2)	2 (% 2.0)	
<i>PON1 192 Q/R frekansı</i>	0,758/0,241	0,804/0,196	

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

KAH, gelişmiş ülkelerde mortalite ve morbilitenin en önemli nedenlerinden olan, çevresel ve genetik faktörlerin kombinasyonu sonucu meydana gelen kompleks bir hastalıktır. Epidemiyolojik çalışmalarda KAH için birçok risk faktörü olduğu saptanmıştır. Bu risk faktörlerinden olan düşük HDL düzeyi en önemli faktör olarak ön plana çıkmaktadır (137). HDL'deki her % 1'lik azalma, KAH riskini % 2-3 artırır (138). Bu nedenle KAH çalışmalarında, koruyucu bir etkiye sahip HDL ile ilgili mekanizmalar üzerine yoğun bir şekilde odaklanılmıştır. Kompleks ve heterojen bir yapı gösteren HDL dolaşımdaki birçok molekülle etkileşim halindedir. HDL'nin en iyi bilinen anti-aterojenik özelliği ters kolesterol yolundaki lipid taşıyıcı rolüdür. Diğer anti-aterojenik etkisini LDL'nin oksidatif modifikasyonu inhibe ederek gösterir. LDL'nin oksidatif modifikasyonu, damar duvarlarında kolesterol ve oksisterol birikiminin eşlik ettiği erken ateroskleroz evresinde ve lezyonların gelişiminde çok önemli bir anahtar faktör olup, okside lipidlerin ateroskleroz ile ilişkisi bir çok çalışma ile gösterilmiştir (139, 99, 95140).

LDL-kolesterol ve oksidatif türevlerinin endotelyuma zarar vermekte, HDL ise LDL'nin oksidatif değişimini önlemektedir. HDL ile ilgili antioksidan aktivitesinin, enzimlerinde özellikle paraoksonazda bulunduğu inanılmaktadır. PON1'in lipid peroksitlerinin birikmesini engelleyerek (94, 87, 88) LDL'yi oksidatif değişime karşı koruduğu bilinmektedir(87, 88, 94). Shih ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise, serum PON1'den yoksun farelerin oksidatif stres ve ateroskleroza karşı hassas oldukları incelenmiştir. Ayrıca bazı inhibitörlerin kullanılmasının da PON1'in HDL oksidasyonunu önlemede rolü olduğu gösterilmiştir. LDL oksidasyonunu önleyen mekanizmalar antiaterojenik olduğundan HDL'ye bağlı PON1 lipid peroksitlere karşı bir engel oluşturur. Yapılan bir çok çalışmada HDL'nin LDL oksidasyonunu inhibe ederek KAH riskine karşı koruma sağladığı ileri sürülmüştür (141).

Serum paraoksonaz enzimi HDL'ye bağlı bir enzim olarak HDL'nin antioksidatif özelliğinden sorumludur. PON, HDL'de apolipoprotein (apo) A-I and apoJ'ye bağlı olarak bulunan, 43-kDa büyüklüğünde, kalsiyum-bağımlı 354 amino asitten oluşan bir enzimdir (130, 142). PON1 birçok organofosfat

bileşimini hidroliz edebilmektedir, PON aktivitesi paraoxon'a karşı olan etkisi ile ölçülmektedir. In vitro çalışmalarda, HDL-bağımlı PON1'in LDL oksidasyonunu önlediği ve okside LDL'deki biyolojik olarak aktif olan lipidleri parçaladığı gösterilmiştir (90). PON1 ayrıca, normal arter duvarında da bulunmakta ve aterosklerotik süreçte konsantrasyonları giderek artmaktadır. Aviram ve ark.larının yaptığı bir çalışmada PON1'in, koroner arter ya da karotisten alınan aterosklerotik lezyonlarda okside olmuş lipidleri azaltma kapasitesine sahip oldukları gösterilmiştir (96).

Serum PON1 aktivitesi, farklı popülasyonlar arasında ve aynı popülasyondaki değişik gruplar arasında çok büyük farklılıklar göstermektedir (143, 144). PON1 enzimini kodlayan gen olan PON1, 7. kromozomun uzun kolunda q21.3 ve q22.1 bölgeleri arasında yer almakta ve başlıca 2 önemli polimorfizm içermektedir. Bunlar, 55. pozisyonda leusin (Leu-L) yerine metiyonin'in (Met-M) yer aldığı 55 L/M polimorfizm ile 192. pozisyonda glutamin (Gln-Q) yerine arjinin'in (Arg-R) yer aldığı 192 Q/R polimorfizmidir. 192 Q/R polimorfizminde serum PON1 aktivitesi değişiklik göstermekte olup, Gln aleline sahip kişilerde, Arg alelini taşıyanlara göre daha düşük enzim aktivitesi gözlenmektedir (106,103,145). 55 L/M polimorfizminde ise, MM homozigot bireylerde, LL homozigotlara kıyasla paraoxon'a karşı daha düşük bir PON1 aktivitesi bulunmaktadır. Serum PON1 aktivitesi MI, ailesel hiperkolesterolemi ile balık gözü hastalığı ve Tangier hastalığı gibi hastalıklar ve diyabetik hastalarda da düşük oranlarda saptanmıştır. PON1 aktivitesinin, serum lipid ve apolipoprotein düzeyleri ile de korele olduğu gösterilmiştir (146-148).

PON1'in in vitro ve in vivo LDL oksidasyonunu önlemesi ve PON1'i kodlayan PON1 genindeki polimorfizmlerin serum aktivitelerine olan etkisi nedeniyle KAH'nı oluşturan bir risk faktörü olarak ilişkisi gündeme gelmiş ve bu genetik polimorfizmlerin KAH oluşumunda bağımsız bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (99). PON1 enzimini kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin KAH riski ile ilişkili olup olmadığı konusunda farklı görüşler vardır. Bu konuda yapılan çalışmaların bir kısmında olumlu bir ilişki saptanmışken diğer kısmında herhangi bir ilişki ortaya konmamıştır. Bu çelişkili sonuçlar yapılan çalışmalardaki

incelenen populasyon tipi, diyet alışkanlıkları, çevresel faktörler ve çalışma dizaynındaki farklılıklara bağlanabilir.

PON1 192 R polimorfizminin Q polimorfizmine göre KAH ile daha çok ilişkili olduğunu ileri süren birçok vaka-kontrol çalışması bulunmaktadır (112, 114, 116,). Bu çalışmaların bazılarında PON1 R alelinin; DM (149), sigara (150) ve yaş (151) gibi diğer KAH risk faktörlerine karşı yatkınlığı arttırdığı ileri sürülmektedir. Diğer bir kısım çalışmada ise 192 R polimorfizmi ile KAH arasında herhangi bir ilişki ortaya konamamıştır (152). PON1 55 L alloenzimi de M alloenzimine göre LDL oksidasyonunu önlemede daha fazla bir etkilidir. PON1 55 polimorfizmi ile ilgili yapılmış birkaç vaka-kontrol çalışmasında PON1 55 L alleli ile ateroskleroz arasında bir ilişki olduğu gösterilmişken, bazı çalışmalarda böyle bir ilişki saptanamamıştır (111).

Bu çalışmada PON 55 L/M polimorfizmi ile KAH arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu, 192 Q/R polimorfizmi için ise herhangi bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır. Türk toplumunda yapılan bir çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde KAH ile PON 192 R/Q polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki gözlenememiştir (154). Araştırmacılar adı geçen bu çalışmada Gaziantep’li 96 KAH’sını incelemişler ve R alel frekansını hastalarda % 38,5, kontrollerde ise % 31 olarak bulmuşlardır. Aynacioglu ve ark.ları tarafından 381 sağlıklı Türk üzerinde Güneydoğu Anadolu bölgesinde yapılan çalışmada ise PON 192 ve 55 polimorfizmlerine ait genotip dağılımını QQ: 0.49, QR: 0.40, RR: 0.11, ve LL: 0.52, LM: 0.39, MM: 0.09 olarak saptamışlardır (153). Bu sonuçlar, bizim çalışmamızdan farklıdır. Sebebi ise; birinci olarak vaka-kontrol çalışmalarında bulunabilen örnek seçiminde gözlenen değişiklikler olabilir, ikinci olarak ise serum PON aktivitesinde gözlenen popülasyonlar, gruplar ve hatta bireyler arasındaki farklılıklar bu sonuca yol açmış olabilir. Gen polimorfizmlerinde bulunan etnik farklılıklar nedeniyle, her bir etnik alt gruptaki yüksek veya düşük riskli bütün bireylerde, KAH ile ilgili olabilen polimorfizmlerin araştırılması gerekmektedir.

Bu çalışmada bazı kısıtlılıklar bulunmaktadır. Bunlardan birincisi enzim aktivitesinin ölçülememiş olmasıdır. İkincisi ise vaka sayısının sınırlı sayıda olmasıdır. Üçüncü kısıtlama da RR ve MM aleli taşıyan birey sayılarının az

olmasıdır. Küçük gruplarda çalışmak çalışmanın istatistik gücünü etkileyebilir. KAH ile bu polimorfizmler arasındaki ilişkiyi teyid etmek için daha büyük örnek sayılarına sahip araştırmaların planlanması uygun olacaktır. Fakat çalışma bu kısıtlamalara sahip olmakla birlikte, popülasyonlar arasında ve içinde çok büyük varyasyonlar gösteren polimorfik yapıların incelendiği her çalışmanın, bir toplumdaki genel bilgi birikimine sağlayacağı katkı ortadadır. Ayrıca, multigenik ve kompleks bir hastalık olan KAH'da etkili olan gen bölgelerinin çeşitliliği göz önüne alındığında yapılan çalışmaların değeri bir kez daha ortaya çıkmaktadır. Böylece biriken bu bilgiler, büyük bir halk sağlığı problemi olan KAH'nın tanı ve tedavisi ile risk altındaki bireylere erken safhada önlem alınabilme ortamı sunabilecektir.

Sonuç olarak bu çalışmada, PON 55 M/L polimorfizmi ile KAH arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu, 192 Q/R polimorfizmi için ise herhangi bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır. Bu sonuç, PON 55 L/M polimorfizminin KAH gelişiminde risk faktörü olarak değerlendirilmesinin uygun olabileceğini düşündürmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Onat A, Keleş İ, Aksu H ve ark: Türk erişkinlerinde toplam ve kardiyak ölümlerin prevalansı: TEKHARF çalışmasının 8 yıllık takip verileri Türk Kardiyoloji Dern. Arş. 1999; 27: 8-14.
2. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis an update. NEJM 1986; 314-488.
3. Davies MJ. Pathology of Coronary atherosclerosis. The Heart. Alexander RW, Schlant RJ, Fuster V.9 ed. Mc Graw Hills 1998; 1161-1174.
4. Clarke R, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. N England J Med 1991; 324: 1149-1155.
5. Bots ML, et al. Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly. Arch Intern Med 1999; 159: 38-44.
6. Ridker PM, et al. Prospective study of Chlamydia pneumonia IgG seropositivity and risks of future MI, Circulation 1999; 99: 1161-1164.
7. Ridker PM, et al. PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of myocardial infarction, stroke and venous thrombosis. Lancet 1997; 349: 385-388.
8. Hamulu AR, Venöztromboembolizmde tanı ve cerrahi ve tedavi. Gümüşiş G, Kokuludağ A. I. Ege Dahili Tıp Günleri Özet Kitabı, İzmir. 197-201.
9. Marcovina SM, Koschinsky ML. Lipoprotein (a) as a risk factor for coronary artery disease. Am J Cardiol 1998; 82: 57-66.
10. MAHLEY, RW: Aterogenezin Hücresel ve Moleküler Biyolojisi, Kolesterol taşınması ve Lipoprotein Metabolizması (Çev. Gökdemir O., Palaoğlu, K.E.) Merck Sharp ve Dohme İlaçları A.Ş. İstanbul, 1993.
11. Türk Kardiyoloji Dergisi Arş. (J Fac Vet Med). 2001; 32: 123-129.
12. Gök H. (Ed) Klinik Kardiyoloji: Selçuk Üniv. Tıp. Fak. Kardiyoloji A.B.D., Nobel Tıp Kitapevi: İstanbul, (2002).
13. Mahley WR, Weisgraber KH, Farase RV; Williams Textbook of Endocrinology, Lipit Metabolizması Bozuklukları, Bölüm 23, (Çev: Teikkurt, C.), 1998.
14. Thompson, GR; Hiperlipidemi El Kitabı (Çev: Tamuğur, E.) Uycan Yayınları A.Ş. İstanbul, 1991; 87-100.

15. Libby P. Atherom: More than mush. *Lancet* 1996; 348: 54-57.
16. Hillis GS, Flapan AD, cell adhesion molecular incardiovascular disease: a clinical prespective. *Heart* 1998; 79: 429-431.
17. Alsan S, Damar Sertliği, *Bilim ve Teknik Dergisi* 1992; 25: 5-9.
18. Baysal A. Şişmanlık Diyet yağları, kan lipitleri ve KKH etkileşimi Türkiye Diyetisyenler Derneği yayını, 1992; 4: 56-58.
19. Becker DM, et al. Cholesterol Interpreting The New Guidelines, *American Journal of Nursing* 1989; 89:12, 1622-1623.
20. English JP, Willius FA, Berkson J. Tobacco and coronary disease. *JAMA* 1940; 115: 1327-1329.
21. Reducing the health consequences of smoking: 35 years of progress: a report of the Surgeon General: executive Summary. Rock ville, Md: Department of Health and Human services, 1989.
22. Krupski WC. The pericheral vascular consequences of smoking. *Ann Vasc Surg* 1991; 5: 291-304.
23. Mc Bride PE. The health consequences of smoking: cardiovascular diseases. *Med Clin North Am* 1992; 76: 333-353.
24. Suqiishi M, Takatsu F. Cigarette smoking is a major risk factor for coronary spasm. 1993; 87: 76-79.
25. Muscat JE, Haris RE, Haley NJ, Wynder EL. Cigarette smoking and plasma chorestorol. *Am Hearty J.* 1991; 121: 141-147.
26. Baysal A, Diyetin KKH'nin ilerlemesinin durdurulması ve iyileştirilmesi üzerine etkisi, *Beslenme ve diyet Dergisi* 1997; 26: 1-4.
27. Sukyasyan A, Geriatrik Kalp Hastalıkları ve Hipertansiyon, İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi yayınları, İstanbul, 1985; 149-161.
28. Sonel A, Kardiyoloji Türk Tarih Kurumu Basımevi, Ankara, 1979.
29. Onat A, Şurdum-Avcı G, Şenocak M, Örnek E, Gözükova Y; Plasma lipids and their interelationship in Turkish a dulsts. *J Epidem Commun Health* 1992; 46: 470-476.
30. Arık N, Karaaslan Y., Korkmaz E., Sungur C., Akpolat T., Klinik Hipertansiyon. *Medikomat Basım Yayın Sanayi ve Tic. Ltd. Şirk.* 1996; 27-37.

31. Bilir N, Koroner Kalp Hastalığı, Hacettepe Üniv. Tıp Fak. Halk Sağlığı Anabilim Dalı Yayını No: 88/42, Ankara, 1988.
32. Foreyt JP, Poston II W.S.C. Reducing Risk For cardiovascular Disease, Psychotherapy 1996; 33:4, 576-586.
33. Onat A, ve ark. Koroner Kalp Hastalıklarından Korunma ve Tedaviye ilişkin Ulusal Kulavuz, Türk Kardiyoloji derneği, 1995.
34. Büyüköztürk K, Ulusal Hipertansiyon Tedavi ve Takip Kılavuzu 2000, Türk Kardiyoloji derneği, 1999.
35. Giampaoli S, et al, Change in Cardiovascular Risk Factors During A10-Year Community Intervention Program, Acta Cardiologica, 1997;5:411-422.
36. Onat A, Türkiye Kalp Raporu 2000, Türk Kardiyoloji Derneği, Yenilik Basımevi San. ve Tic. LTD. Şirk., İstanbul, 2000.
37. Mc Ewan S.R. et al, Measurement and Manegement of Cardiovascular Risk Faktors-Is screening Worthwhile? Scot Med J, 1983; 38: 173-177.
38. Nabel E.G, Coronary Heart Disease In Women-An ounce of prevention, The new England Journal of Medicine, 2000; 343:8, 572-575.
39. Onat A, ve ark. Türk erişkinlerinde Kalp Sağlığının Dünü ve Bugünü: Tekharf Çalışmasının Sağladığı, Üç Boyutlu Harita, İstanbul, 1996.
40. Kansuoğlu B, Kardiyoloji I-2, Karadeniz Üniversitesi Basımevi, Trabzon, 1985;91.
41. Champe PC, Harvey RA; Biyokimya, (Çev: Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E) ikinci Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1994: 213-222.
42. Onat T, Emek K; İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık, Ankara, 2002; 305-350.
43. Monstadt, H. Cholesterin inder Medien beichterstatung. Cholesterin fakten gegen voruuleite, 1998.
44. Ceylan N, Yenice E, Gökçeyrek D, ve Tunçer E, İnsan beslenmesinde daha sağlıklı yumurta üretimi yönünde kanatlı besleme çalışmaları. Yutav, Uluslar arası Tav. Kong. 1999; 99: 300-307.
45. Köksal O, Kalp Damar Hastalıkları ve Beslenme. Çiftlik Derg. 1994; 123: 52-60.

46. Masoro EJ, *Physiological Chemistry of Lipids in Mammals*. Philadelphia; 1968.
47. Jackson RL, Gotto AM: Phospholipids in biology and medicine. *N Engl J Med* 1974; 290: 24-29 and 87-93.
48. Zubay G.; *Biochemistry Third Edition*, Wm. C. Brown Publishers, Oxford, Melbourne, 1993; 641-651.
49. Hollanders B, Mougín A, Hentz E, Aude X, Grand A.: Comparison of the lipoprotein profiles obtained from rat, bovine, horse, dog, rabbit and pig serum by a new two-step ultracentrifugal procedure, *Comp. Biochem. Physiol (B)*. 1986; 84 (1): 83-89.
50. Murray RK, Granner DK, Mayes PA; *Harper'in Biyokimyası, (Çev. Merteş G, Ersöz B.) Barış Kitapevi, İstanbul 1993; 292-303.*
51. Breckenridge WC, Little JA, Steiner G, et al. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *N Engl J Med*. 1978; 298: 1265-1273.
52. Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism *J Lipid Res*. 1984; 25: 1017-1058.
53. Herz J, Willnow TE. Lipoprotein and receptor interactions in vivo. *Curr Opin Lipidol*. 1995; 6: 97-103.
54. Rigotti A, Krieger M, Getting a Handle on 'Good' Cholesterol with the High-Density Lipoprotein Receptor. *N Engl J Med*. 1999.
55. Ladschulz KT, Pathak RK, Rigotti A, et al. Regulation of scavenger receptor class B, type I a, HDL receptor in liver and steroidogenic tissues of the rat. *J Clin Invest*. 1996; 98: 984-995.
56. Juretic D, Tadijanovic M, Rekić B, Simean-Rudolf V, Reiner E, Baricic M, : serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: a short study. *Clin Sci*. 2002; 42: 146-150.
57. Li WF, Furlong CE and Costa LG (1993): Paraoxonase protects against chlorpyrifos toxicity in mice.
58. La Du BN, Adkins S, Kuo CL and Lipsig D: Studies on human serum paraoxonase/arylesterase. *Chem Biol Interact* 1993; 87: 25-34.
59. La Du BN: Structural and functional diversity of paraoxonases. *Nat Med* 1996; 2: 1186-1187

60. Nevin DN, Zambon A, Furlong CE, Richter RC, Humbert R, Hokanson JE and Brunzell JD: Paraoxonase genotypes, lipoprotein lipase activity, and HDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 1243-1249.
61. Mueller RF, Hornung S, Furlong CE, Anderson J, Giblett ER and Motulsky AG: Plasma paraoxonase polymorphism: a new enzyme assay, population, Family, biochemical, and linkage studies. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 393-408.
62. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J and La Du BN: The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics* 1996; 33: 498-507.
63. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW and La Du BN: Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 1991; 19: 100-106.
64. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW and Hegelle RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 69-76.
65. Davies HG, Richter RJ, Keifer M, Broomfield CA, Sowalla J and Furlong CE: The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarin, *Nat Genet* 1996; 14: 334-336.
66. Sorenson RC, Primo SL, Kuo CL, Adkins S, Lockridge O and La Du BN: Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian paraoxonase/arylesterase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:7187-7191.
67. Mackness MI, and Durrington PN: HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995; 115: 243-253.
68. Walker CH and Mackness MI: Esterases: problems of identification and classification. *Biochem Pharmacol* 1983; 32:3265-3269.
69. Williams FM: Serum enzymes of drug metabolism. *Pharmacol Ther* 1987; 34: 99-109.
70. Mackness MI, Thompson HM, Hardy AR and Walker CH: Distinction between 'A'- esterases and arylesterases. Implications for esterase classification. *Biochem J* 1987; 245: 293-296.
71. Eckerson HW, Romson J, Wyte C and La Du BN: The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 214-227.
72. Furlong CE, Richter RJ, Seidel SL, Costa LG and Motulsky AG: Spectrophotometric assays for the enzymatic hydrolysis of the active

metabolites of chlorpyrifos and parathion by plasma paraoxonase/arylesterase. *Anal Biochem* 1989; 180: 242-247.

73. Smolen A, Eckerson HW, Gan KN, Hailat N and La Du BN: Characteristics of the genetically determined allozymic forms of human serum paraoxonase/arylesterase. *Drug Metab Dispos* 1991; 19: 107-112.
74. Aldridge WN: Serum esterases 2. An enzyme hydrolyzing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953; 53:117-124.
75. Erdős EG and Boggs LE: Hydrolysis of paraoxon in mammalian blood. *Nature* 1961; 190: 716-717.
76. Eiberg H and Mohr J: Genetics of paraoxonase. *Ann Hum Genet* 1981; 45: 323-330.
77. Ortigoza-Ferado J, Richter RJ, Hornung SK, Motulsky AG and Furlong CE: Paraoxon hydrolysis in human serum mediated by a genetically variable arylesterase and albumin. *Am J Hum Genet* 1984;36: 295-305.
78. Mackness MI, Arrol S, Mackness B and Durrington PN: Alloenzymes of paraoxonase and effectiveness of high-density lipoproteins in protecting low-density lipoproteins against lipid peroxidation. *Lancet* 1997b; 349:851-852.
79. Mounter LA and Whittaker VP: The hydrolysis of esters of phenol by cholinesterases and other esterases. *Biochem J* 1953; 54: 551-559.
80. Simpson NE: Serum arylesterase levels of activity in twins and their parents. *Am J Hum Genet* 1971; 23: 375-382.
81. La Du BN: Serum paraoxonase/arylesterase. In: *Pharmacogenetics of drug metabolism*, pp. 51-91. Eds. W Kalow, Pergamon Press Inc., New York 1992.
82. Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C and La Du BN: Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 1335-1342.
83. Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS and La Du BN: Rabbit serum Paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem* 2000; 275: 33435-33442.

- 84.** Jakubowski H: Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. *J Biol Chem* 2000; 275: 3957-3962.
- 85.** Blatter Garin MC, Abbott C, Messmer S, Mackness M, : Quantification of human serum paraoxonase by enzyme-linked immunoassay: population in protein concentrations. *Biochem J* 1994; 304: 549-554.
- 86.** Oram JF: Receptor mediated transport of cholesterol between cultured cells and high density lipoproteins *Methods Enzymol* 1986;129:645-659.
- 87.** Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W and Durrington PN: Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Lett* 1998; 423: 57-60.
- 88.** Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisgaier C, Newton R, Rosenblat M, Eroglu J, Hsu C, Dunlop C and La Du B: Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase / paraoxonase activities: selective action of human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998a;18: 1617-1624.
- 89.** Hegele RA: Paraoxonase genes and disease. *Ann Med* 1999;31:217-224.
- 90.** Watson AD, Navab M, Hama SY, Sevanian A, Prescott SM, Stafforini DM, McIntyre TM, La Du BN, Fogelman M and Berliner JA: Effect of platelet activating factor-ecetylhydrolase on the production and activity of mildly oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 1995; 95: 774-782.
- 91.** Ahmed Z, Ravandi A, Maguire GF, Emili A, Draganov D, La Du BN, Kuklis A and Connelly PW: Multiple substrates for paraoxonase-1 during oxidation of phosphatidylcholine by peroxynitrite. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290: 391-396.
- 92.** Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL and La Du BN: Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998b; 101:1581-1590.
- 93.** Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M and Durrington PN: Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent mellitus. *Atherosclerosis* 1991; 86: 193-199.
- 94.** Mackness MI, Arrol S, Abbott C, et al. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis*. 1993;104:129 –135.

95. Navab M et al. The vin and vang of oxidation in the development of the fatty streak: a review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:831-842.
96. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Hoffman A.: human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation* 2000; 101: 2510-2517.
97. Castellani LW, Navab M, Lenten BJV, Hedrick CC, Hama SY, Goto AM, Fogelman AM and Lusis AJ: Overexpression of apolipoprotein AII in transgenic mice converts high density lipoproteins to proinflammatory particles. *J Clin Invest* 1997; 100: 464-474.
98. Aviram M: Interaction of oxidized low density lipoprotein with macrophages in atherosclerosis, and the antiatherogenicity of antioxidants. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996; 34; 599-608.
99. Aviram M: Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? *Mol Med Today* 1999; 5: 381-386.
100. Fuhrman B, Judith O, Keidar S, Ben-Yaish L, Kaplan M and Aviram M: Increased uptake of LDL by oxidized macrophages is the result of an initial enhanced LDL receptor activity and of a further progressive oxidation of LDL. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 34-46.
101. Patel BN, et al. Serum esterase activities and hyperlipidaemia in the streptozotocin-diabetic rat. *Biochim Biophys Acta* 1990;1035:113-116.
102. Doorn JA, et al. Evidence that several conserved histidine residues are required for hydrolytic activity of human paraoxonase/arylesterase. *Chem Biol Interact* 1999; 119-120:235-241.
103. Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ and Furlong CE: the molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet* 1993; 3: 73-76.
104. Hong SH, Song J, Min WK, Kim JO. Genetic variations of paraoxonase gene in patients with coronary artery disease. *Clinical Biochemistry* 2001; 34: 475-481.
105. Clendenning JB, Humbert R, Gren ED, Wood C.: Structural organization of the human PON1 gene, *Genomics* 1996; 35: 586-589.
106. Adkins S, Gan KN, Mody M and La Du BN: Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. *Am J Hum Genet* 1993; 52: 598-608.

107. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN, Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in LDL. *FEBS Lett* 1991;286:152-4.
108. Furlong CE, Costa LG, Hassett C, Richter RJ, Sundstrom JA, Adler DA, Distechi CM,; Human and rabbit paraoxonases: purification, cloning, sequencing, mapping and role of polymorphism in organophosphate detoxification. *Chem Biol Interact* 1993; 87: 35-48.
109. Motti C, et al. A Multiplex PCR based DNA assay for the detection of paraoxonase gene cluster polymorphisms. *Atherosclerosis* 2001;158: 35-40.
110. Playfer JR, Eze LC, Bullen MF and Evans DA: Genetic polymorphism and interethnic variability of plasma paraoxonase activity. *J Med Genet* 1976; 13: 337-342.
111. Sanghera DK, Aston CE, Saha N and Kamboh MI. DNA polymorphism in two paraoxonase genes are associated with the risk of coronary heart disease. *Am J Hum Genet* 1998a; 62: 36-44.
112. Ruiz J, Blanche H, James RW, Garin MC, Vaisse C, Charpentier G, Cohen N, Morabia A,; Gin-Arg192 polymorphism of paraoxonase and coronary heart disease in type 2 diabetes. *Lancet* 1995; 346: 869-872.
113. Suehiro T, et al. Paraoxonase gene polymorphism in Japanese subjects with coronary heart disease. *Int J Cardiol* 1996; 57: 69-73.
114. Zama T, et al. A 192Arg variant of human paraoxonase (HUMPONA) gene polymorphism is associated with an increased risk for coronary artery disease in the Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 3565-3569.
115. Imai Y, et al. Evidence for association between paraoxonase gene polymorphism and atherosclerotic disease. *Atherosclerosis* 2000; 149: 435-442.
116. Serrato M and Marian AJ.: A variant of human paraoxonase/arylesterase (HUMPONA) gene is a risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1995; 96: 3005-3008.
117. Saha N, Roy AC, Teo SH, Tay JS and Ratnam SS: Influence of serum paraoxonase polymorphism on serum lipids and apolipoproteins. *Clin Genet* 1991; 40: 277-282.
118. Garin MC, James RW, Dussoix P, Blanche H, Passa P, Froguel P and Ruiz J: Paraoxonase polymorphism Met-Leu54 is associated with modified serum concentrations of the enzyme. A possible link between

the paraoxonase gene and increased risk of cardiovascular disease in diabetes. *J Clin Invest* 1997; 99: 62-66.

119. Sanghera DK, et al. The codon polymorphism in the paraoxonase 1 gene is not associated with the risk of coronary heart disease in Asian Indians and Chinese. *Atherosclerosis* 1998b; 136: 217-223.
120. Salonen JT, Malin R, Tuomainen TP, Nyysönen K, Laka Ta and Lehtimäki T: Polymorphism in high density lipoprotein paraoxonase gene and risk of acute myocardial infarction in men: prospective nested case-control study. *BMJ* 1999; 21: 487-489.
121. Leviev I, Negro and James RW: Two alleles of the human paraoxonase gene produce different amounts of mRNA. An explanation for differences in serum concentrations of paraoxonase associated with the (Leu-Met54) polymorphism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2935-2939.
122. Leviev I, Deakin S and James RW : Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributory factor to variations in human serum paraoxonase concentrations. *J Lipid Res* 2001; 42: 528-535.
123. Malin R, Laaksonen R, Knuuti J, Janatuinen T, Vesalainen R, Nuutila P and Lehtimäki T: Paraoxonase genotype modifies the effect of pravastatin on high-density lipoprotein cholesterol, *Pharmacogenetics* 2001; 11: 625-633.
124. Leviev I and James RW: Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:516-521.
125. Suehiro T, et al. A polymorphism upstream from the human paraoxonase (PON1) gene and its association with PON1 expression. *Atherosclerosis* 2000; 150: 295-298.
126. Mackness MI, et al. Low A-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease. *Clin Chem* 1987b; 33: 587-588.
127. James RW, Blatter Garin MC, Calabresi L, Miccoli R, von Eckardstein A, Tilly-Kiesi M, Taskinen MR, Assmann G and Franceschini G: Modulated serum activities and concentrations of paraoxonase in high density lipoprotein deficiency states *Atherosclerosis* 1998;139:77-82.
128. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J and Durrington PN: Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:330-335.

129. Durrington PN, Mackness MI, Bhatnagar D, Julier K, Prais H, Arrol S, Morgan J and Wood GN: Effects of two different fibric acid derivatives on lipoproteins, cholesteryl ester transfer, fibrinogen, plasminogen activator inhibitor and paraoxonase activity in type IIb hyperlipoproteinaemia. *Atherosclerosis* 1998; 138: 217-225.
130. Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F and Pometta D: Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem* 1993; 211: 871-879.
131. Boman H: Cholinesterase, arylesterase, and lipoprotein parameters in twins. *Acta Genet Med Gemellol (Roma)* 1980;29:281-287.
132. Abbot CA, Mackness MI, Kumar S, Boulton AJ and Durrington PN: Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1812-1818.
133. Hegele RA, Brunt JH and Connelly PW: Multiple genetic determinants of variation of plasma lipoproteins in Alberta Hutterites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995a; 15: 861-871.
134. Hegele RA, Brunt JH and Connelly PW: A polymorphism of the paraoxonase gene associated with variation in plasma lipoproteins in a genetic isolate. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995b; 15: 89-95.
135. Hegele RA, Connelly PW, Hanley AJ, Sun F, Haris SB and Zinman B: Common genomic variants associated with variation in plasma lipoproteins in young aboriginal Canadians. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1060-1066.
136. Fanella S, Haris SB, Young TK, Hanley AJ, Zinman B, Connelly PW and Hegele RA: Association between PON1 L/M55 polymorphism and plasma lipoproteins in two Canadian aboriginal populations. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38: 413-420.
137. Castelli, W. P. Lipids, risk factors and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis* 1996; 124(Suppl.):S1 – S9.
138. Gordon, D. J.; Probstfield, J. L.; Garrison, R. J.; Neaton, J. D.; Castelli, W. P.; Knoke, J. D.; Jacobs, Jr., D. R.; Bangdiwala, S.; Tyroler, H. A. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease: four prospective American studies. *Circulation* 1989;79:8-15.
139. Badimon JJ, Fuster V, Chesebro JH, et al. Coronary atherosclerosis: a multifactorial disease *Circulation*. 1993;87(suppl 3):II-3–II-16.

140. Yla-Herttuala S, Palinski W, Rosenfeld ME. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest.* 1989;84:1086 –1095.
141. Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis.* 1995;115:243 253.
142. Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, Furlong CE, Jordan-Starck TC, Harmony AK. Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry.* 1994;33:832-839.
143. Diepgen TL, Geldmacher-von Mallinckrodt M. Interethnic differences in the detoxification of organophosphates: the human serum paraoxonase polymorphism. *Arch Toxicol.* 1986;9(suppl):154-158.
144. Roy AC, Saha N, Tay JSH, Ratnam SS. Serum paraoxonase polymorphism in three populations of Southeast Asia. *Hum Hered.* 1991;141:265-269.
145. Hassett C, Richter RJ, Humbert R, Chapline C, Crabb JW, Omiecinski CJ, Furling CE. Characterization of cDNA clones encoding rabbit and human serum paraoxonase: the mature protein retains its signal sequence. *Biochemistry.* 1991;30:10141-10149.
146. McElveen J, Mackness MI, Colley CM, Peard T, Warner S, Walker CH. Distribution of paraoxonase hydrolytic activity in the serum of patients after myocardial infarction. *Clin Chem.* 1986;32:671-673.
147. Nishigaki I, Hagihara M, Tsunekawa H, Maseki M, Yagi K. Lipid peroxide levels of serum lipoprotein fractions of diabetic patients. *Biochem Med.* 1981;25:373-378.
148. Saha N, Roy AC, Teo SH, Tay JSH, Ratnam SS. Influence of serum paraoxonase polymorphism on serum lipids and apolipoproteins. *Clin Genet.* 1991;40:277-282.
149. Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y. Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with noninsulin- dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1998;47:598-602
150. James RW, Leviev K, Righetti A. Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000;101:2252-2157.
151. Senti M, Tomas M, Vila J, Marrugat J, Elosua R, Sala J, Masia R. Relationship of age-related myocardial infarction risk and Gln/Arg 192 variants of the human paraoxonase gene: the Regicor study. *Atherosclerosis* 2001;156:443-449.

- 152.** Herrmann SM, Blanc H, Poirier O, Arveiler D, Luc G, Evans A, et al. The Gln/Arg polymorphism of human paraoxonase (PON 192) is not related to myocardial infarction in the ECTIM Study. *Atherosclerosis* 1996;126:299–303.
- 153.** Aynacioglu AS, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Nacak M, Tapanyigit EE, ve Roots I. Paraoxonase 1 Mutations in a Turkish Population. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1999;157: 174–177
- 154.** Aynacioglu AS, Kepekci Y. The human paraoxonase Gln-Arg192 (Q/R) polymorphism in Turkish patients with coronary artery disease. *International Journal of Cardiology* 2000; 74: 33–37



ÖZGEÇMİŞ**PINAR TAŞKIRAN**

Doğum yeri ve tarihi: Edirne, 14.11.1979

Uyruğu : T.C.

Eğitimi:

- 1985-1990** Ziya Gökalp İlkokulu, Ankara.
1990-1993 Tınastepe Ortaokulu, Ankara.
1993-1996 Kazım Karabekir Lisesi, Artvin.
1996-2000 Celal Bayar Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü.
2002-2005 Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Yüksek Lisans Programı.

Çalıştığı Yerler:

- 2001-2004** Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi, Mikrobiyoloji ABD.
Tüberküloz Laboratuvarı
2004-2005 Celal Bayar Üniversitesi Hastanesi, Mikrobiyoloji ABD.
Moleküler Testler (PCR) Laboratuvarı

Yabancı dili : İngilizce

Sosyal durumu: Bekar