

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

**ATEROSKLEROZLU HASTALARIN KORONER  
ARTER PLAKLARINDA VE DOLAŞIMLARINDAKİ  
MİKRORNA-221/222 İFADE DÜZEYLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**ASLIHAN ESRA BİLDİRİCİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TIBBİ BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**  
**DOÇ. DR. SERDAL ARSLAN**

**SİVAS-2016**

**“Aterosklerozlu Hastaların Koroner Arter Plaklarında ve Dolaşımındaki MikroRNA-221/222 İfade Düzeylerinin İncelenmesi”** adlı **Yüksek Lisans** Tezi Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Hamiyet Altuntaş \_\_\_\_\_

Üye Yrd. Doç. Dr. Nilgün Çetin \_\_\_\_\_

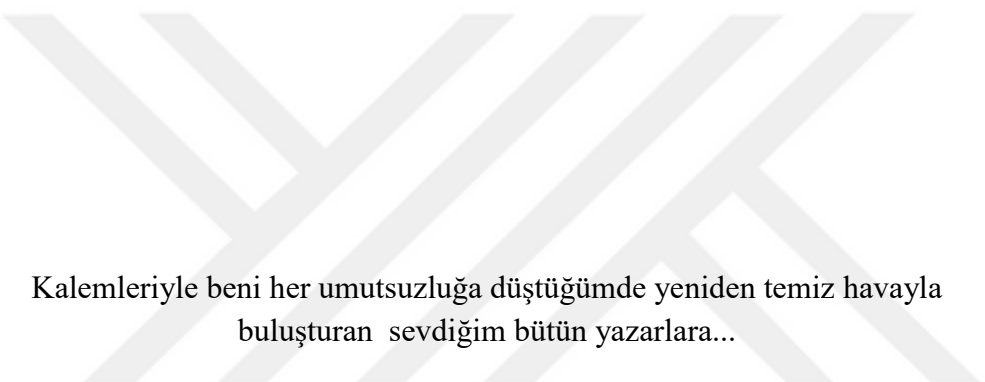
Üye (Danışman) Doç. Dr. Serdal Arslan \_\_\_\_\_

#### ONAY

Bu tez çalışması, ..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zahid Tefvik AĞAOĞLU  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.



Kalemleriyle beni her umutsuzluğa düştüğümde yeniden temiz havayla  
buluşturan sevdiğim bütün yazarlara...

## TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında bana yardımcı olan, gerekli imkânları veren, bu vakte kadar öğrendiğim her türlü bilgide katkısı olan, beni düşünmeye ve akıl yürütmeye teşvik eden bu sırada da yaptığım bütün hatalara ve eksiklere sabırla yaklaşan beni her türlü durumda destekleyen, bana güvenen ve daima yanımda olan, çizeceğim yolu belirlerken örnek aldığım, bundan sonraki öğrenim sürecimde de hayatımda olmasını ve desteğini dilediğim değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Serdal ARSLAN'a;

Bana kattıkları hem eğitim hem de sosyal hayat anlamındaki bütün tecrübelerden ve verdikleri bütün imkânlardan dolayı, daima yanımda olarak her akıl danışmamda en samimi şekilde yardımcı olup yol gösteren ikinci evim dediğim Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nın, başta bölüm başkanı Sayın Prof. Dr. Ergün PINARBAŞI olmak üzere diğer saygıdeğer öğretim üyelerine;

Tez çalışmam sırasında gerekli olan doku ve kan örneklerin temin edilmesinde bize hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen Kalp Damar Cerrahisi Anabilim dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Öcal BERKAN, Kardiyoloji Anabilim dalı öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Osman BETON ve asistanlarına;

Laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen Arş.Gör. Nil ÖZBİLUM ve Dr. İsmail SARI'ya, çalışmalarım ve değerlendirme sürecinde benimle birlikte yorulup akıl yürüten arkadaşlarım başta Arş. Gör. Burcu BAYYURT olmak üzere Arzu ÖZCAN ve Nazım ESERYEL'e;

Yanımda olamasalar bile manevi desteklerini, bilgi ve tecrübe birikimlerini benden hiç esirgemeyen canım arkadaşlarım Buket AYAR, Yağmur KIZILIRMAK ve Asiye Büşra BOZ'a;

Beni her zaman destekleyen, her halimde yanımda olan ve her zaman bana güvenen sevgili annem, babam, kardeşim ve teyzeme sonsuz teşekkür ederim...

Aslıhan Esra BİLDİRİCİ

## ÖZET

### ATEROSKLEROZLU HASTALARIN KORONER ARTER PLAKLARINDA VE DOLAŞIMLARINDAKİ MİKRORNA-221/222 İFADE DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

Aslıhan Esra BİLDİRİCİ

Yüksek Lisans Tezi

Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Serdal ARSLAN

2016, 87 sayfa

Ateroskleroz, atardamarları etkileyen ve yaygın olarak “damar sertleşmesi” olarak isimlendirilen arteriosklerozun bir türüdür. Türkiye İstatistik Kurumu verileri, Türkiye’de kalp ve damar hastalıklarına bağlı ölümlerin oranının 2014 yılında %40,4’e yükseldiğini ortaya koymaktadır. MikroRNA’ lar (miRNA) (19-25 nükleotid), hedef gen ifadesini post-transkripsiyonel seviyede düzenleyen, hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptoz gibi pek çok fizyolojik ve patolojik süreçlerde hayati rol oynayan kodlama yapmayan RNA’ ların bir sınıfıdır. miR-221/222, aterosklerotik süreçte görevli vasküler düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerde yüksek seviyelerde bulunur ve hücrelerin hastalık patolojisindeki değişikliklerinden sorumludur. Bu çalışmada, ateroskleroz sürecinde miR-221/222’nin koroner arter plaklarında ve dolaşımdaki ifadenin seviyelerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Daha önceki çalışmalardan farklı olarak ilk defa, koroner arter by-pass cerrahisi sırasında alınan aterosklerotik koroner arter plakları ile internal mammarian arterden (IMA) alınan doku örnekleri ve anjiyografi sonuçlarına göre hasta ve kontrol grubu olarak sınıflandırılan kan örnekleri kullanılmıştır. Örneklerden total RNA izolasyonu yapılmış ve daha sonra Real Time-PCR (Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu) kullanılarak bu miRNA’ların ifade düzeylerine bakılmıştır.

Yapılan son ifade analizleri ve istatistiksel değerlendirmeler sonucunda miR-221’in ifadesinin koroner arter plaklarında IMA dokusuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sahip olduğu görülmüştür ( $p=0,015$ ). Artış oranı ise 8,94 kat olarak bulunmuştur. miR-222’nin ifadesinin ise koroner arter plaklarında IMA dokularına oranla 14,91 kat arttığı gözlenmiş, fakat istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık tespit edilememiştir ( $p=0,117$ ). Bunun aksine kan örneklerinde yapılan analizlerde her iki miRNA da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamakla birlikte (miR-221 için  $p=0,139$ , miR-222 için  $p=0,080$ ) miR-221 hasta grubunda kontrol grubuna göre 6,22 kat, miR-222 ise 5,19 kat daha az ifadenmektedir. Koroner arter plak oluşumunda, dokunun yeniden modellenmesindeki patolojik süreçlerde miR-221 ve miR-222’nin hücre spesifik etkiye sahip önemli belirteçler olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Ateroskleroz, Koroner Arter, miR-221, miR-222

## ABSTRACT

### EVALUATION OF MICRORNA-221/222 EXPRESSION LEVELS IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY IN ATHEROSCLEROTIC PLAQUE AND CIRCULATION

Aslıhan Esra BİLDİRİCİ

MSc Thesis

Department of Medical Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Serdal ARSLAN

2016, 87 pages

Atherosclerosis is a kind of arteriosclerosis that affecting arteries and commonly referred to as “hardening of vein”. Data from Turkey Statistical Agency suggested that the rate of deaths dependent to cardiovascular disease in Turkey increased to %40,4 in 2014. MicroRNAs (miRNAs) (19-25 nt) are a class of non-coding RNAs that regulates target gene sequence in posttranscriptional level and have a critical role in pathological and physiological processes such as cell proliferation, differentiation and apoptosis. miR-221/222 are found in high levels in vascular smooth muscle cells and endothelial cells and are responsible for roles of cells in pathology of the disease. In this study, we aimed to investigate of the levels of miR-221/222 in coronary artery plaques and circulating during the atherosclerosis. Different from the previous studies, in this study use of coronary artery plaques that obtained by coronary artery by-pass surgery for the first time and internal mammarian artery (IMA) tissue samples and the blood samples that are classified as the patient and control groups according to the result of angiography. Total RNA was isolated from samples and then expression levels of these miRNAs was measured using Real Time-PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction).

According to the final results of expression analysis and statistical evaluation, expression of miR-221 has a statistically significant increase in coronary artery plaques compared IMA tissue ( $p=0,015$ ). The fold change was found 8,94. It was observed that the expression of miR-222 increased 14,91 times in coronary artery plaques compared with IMA tissues, but no statistical significant could be determined ( $p=0,117$ ). In contrast this, in analysis of blood samples both of the miRNAs were not found statistical significant (miR-221  $p=0,139$  and miR-222  $p=0,080$ ) but miR-221 is 6,22 times less expressed in patients group compared with control group and miR-222 is 5,19 times. According to these results, thought that miR-221 and miR-222 will be important markers that have the cell specific effects in coronary artery plaque formation and the pathological processes of the tissue remodelling.

**Key Words:** Atherosclerosis, Coronary Artery, miR-221, miR-222

## İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	I
ONAY.....	II
YÖNERGE .....	III
TEŞEKKÜR .....	V
ÖZET .....	VI
ABSTRACT.....	VII
İÇİNDEKİLER .....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
KISALTMALAR DİZİNİ .....	XII
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi .....	1
1.2. Araştırmanın Amacı .....	2
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>3</b>
2.1. Ateroskleroz .....	3
2.2. Arterin Normal Yapısı.....	5
2.3. Ateroskleroz Gelişiminde Rol Alan Hücreler: .....	6
2.3.1. Vasküler Düz Kas Hücreleri .....	6
2.3.2. Endotel Hücreleri.....	7
2.3.3. Makrofajlar .....	8
2.4. Ateroskleroz Patogenezi.....	8
2.5. Aterojenez .....	10
2.5.1. Endotelyal Hücre Aktivasyonu ve İnflamasyon .....	11
2.5.2. İntimal Lipoprotein Modifikasyonu ve Köpük Hücre Oluşumu .....	12
2.5.3. Karmaşık Plakların Gelişmesi .....	15
2.5.4. Akut Olayların Başlaması .....	17
2.6. Ateroskleroza Neden Olan Risk Faktörleri .....	18
2.6.1. Değiştirilmesi Mümkün Olmayan Risk Faktörleri .....	19
2.6.2. Değiştirilmesi Mümkün Olan Risk Faktörleri .....	20
2.7. İnternal Mammarian Arter Dokusu ve By-pass Uygulamasındaki Tercih Sebepleri.....	25



2.8.	Kodlama Yapmayan RNA'lar.....	27
2.8.1.	MikroRNA'lar .....	28
2.8.2.	MikroRNA'ların Biyogenezi .....	30
2.8.3.	MikroRNA'lar ve Ateroskleroz .....	32
2.8.4.	Dolaşımdaki MikroRNA'lar .....	35
2.8.5.	MikroRNA-221 ve MikroRNA-222 .....	36
<b>3.</b>	<b>MATERYAL-METOD .....</b>	<b>42</b>
3.1.	Örneklerin Toplanması ve Saklanması .....	42
3.2.	RNA İzolasyonu.....	42
3.2.1.	Doku Örneklerinden RNA İzolasyonu .....	42
3.2.2.	Kan Örneklerinden RNA İzolasyonu.....	43
3.3.	RNA Miktar ve Saflığının Belirlenmesi .....	44
3.4.	cDNA Sentezi ve RT-PCR.....	44
3.4.1.	Tek-Zincir cDNA Sentezi.....	45
3.4.2.	Real Time PCR Amplifikasyonu .....	45
<b>4.</b>	<b>BULGULAR .....</b>	<b>47</b>
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA-SONUÇ .....</b>	<b>53</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>60</b>
<b>EKLER .....</b>		<b>80</b>
EK 1.	Bilgilendirilmiş Olur Formu .....	80
<b>İZİNLER.....</b>		<b>84</b>
EK 2.	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu .....	84
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>		<b>87</b>

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1:</b> Sağlıklı ve hasarlı endotel farkları.....	11
<b>Tablo 2:</b> Ateroskleroz risk faktörleri.....	18
<b>Tablo 3:</b> Qubit 3.0 Fluorometer ölçümü için deney tüplerinin hazırlanması.....	44
<b>Tablo 4:</b> Reverse transkripsiyon reaksiyon bileşenleri .....	45
<b>Tablo 5:</b> Light Cycler 96 platformunda gerçekleştirilen QRT-PCR reaksiyon koşulları .....	46
<b>Tablo 6:</b> Kan örneklerine ait demografik bilgiler .....	47



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1:Olgun ateroskleroz plağının şematik görünümü. ....	4
Şekil 2:Arter duvarının yapısı. ....	5
Şekil 3:İnflamatuvar hücrelerin endotele adezyonu ve göçü. ....	13
Şekil 4:Köpük hücrelerinin oluşumu, düz kas hücrelerinin göçü ve aşırı çoğalması.15	
Şekil 5:Plak büyümesi, nekrotik çekirdeğin genişlemesi, fibröz, tromboz ve yeniden modellenmeyle karmaşık plakların gelişmesi.....	16
Şekil 6:Miyokardial enfarktüstten ölen bir hastanın arteri. ....	17
Şekil 7:MikroRNA'nın hedef mRNA'ya bağlanması. ....	29
Şekil 8:MiRNA biyogenezi. ....	31
Şekil 9:İnsan miR221/222'sinin biyogenezi. ....	37
Şekil 10:Aterosklerotik vasküler yeniden modellenmede, miR-221/222'nin vasküler endotelyum ve vasküler düz kas hücreleri üzerine etkileri. ....	40
Şekil 11:miR-221/222 ve kontrol geni SNORD'a ait doku örneklerinde RT-PCR floresan eğrileri.....	48
Şekil 12:miR-221/222 ve kontrol geni SNORD'a ait kan örneklerinde RT-PCR floresan eğrileri.....	48
Şekil 13:miR-221/222 ve SNORD'a ait erime eğrisi analiz sonuçları.....	49
Şekil 14:Kontrol grubu olarak kullanılan İMA doku örneklerine göre hasta grubu koroner arter doku örneklerindeki miR-221/222 genlerinin kat değişimleri.....	50
Şekil 15:Doku örneklerinde miR-221 ve miR-222 genlerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre ifade düzeylerinde gözlemlenen artış oranları.....	50
Şekil 16:Genlerin, koroner arter dokularında İMA dokularına göre ortalama Delta Cq değişimi.....	51
Şekil 17:Kan örneklerinde miR-221 ve miR-222 genlerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre ifade düzeylerinde gözlemlenen azalış oranları.....	52
Şekil 18:Genlerin, hasta bireylerin kan önkelerinde sağlıklı bireylerin kan örneklerine göre ortalama Delta Cq değişimi.....	52

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ADP</b>	Adenozin difosfat
<b>Ago</b>	Argonat proteini
<b>BKİ</b>	Beden Kitle İndeksi
<b>CABG</b>	Coronary Artery By-pass Grafting (Koroner Arter By-pass Greftleme)
<b>DGSR8</b>	DiGeorge Syndrome Chromosomal (Critical) Region 8 (DiGeorge Sendrom Kritik Alan 8)
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>eNOS</b>	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
<b>EPC</b>	Endothelial Progenitor Cell (Endotelial Öncül Hücre)
<b>GHO</b>	Global Health Observatory (Küresel Sağlık Gözlemevi)
<b>HDL</b>	High Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein)
<b>HUVEC</b>	Human Umbilical Vein Endothelial Cell (İnsan Göbek Vasküler Endotel Hücresi)
<b>ICAM-1</b>	Intercellular Adhesion Molecule-1 (İntersellüler Adezyon Molekülü-1)
<b>IL</b>	Interleukin (İnterlökin)
<b>İMA</b>	İnternal Mammarian Arter
<b>KAH</b>	Koroner Arter Hastalığı
<b>KVH</b>	Kardiyovasküler Hastalık
<b>LDL</b>	Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
<b>LNA</b>	Locked Nucleic Acid
<b>lncRNA</b>	Long Non-Coding RNA (Uzun Kodlama Yapmayan RNA)
<b>MCP-1</b>	Macrophages/Monocyte Chemoattractant Protein-1 (Makrofaj/Monosit Kemoatraktan Protein-1)
<b>MCSF</b>	Macrophage Colony Stimulating Factor (Makrofaj Koloni Sitümüle Edici Faktör)
<b>miR/miRNA</b>	mikroRNA
<b>mRNA</b>	Mesajcı RNA
<b>ncRNA</b>	Non-coding RNA (Kodlama yapmayan RNA)

<b>NF-B</b>	Nükleer Faktör-B
<b>NO</b>	Nitrik Oksit
<b>NOS</b>	Nitrik Oksit Sentaz
<b>Nt</b>	Nükleotid
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
<b>PDGF</b>	Platelet Dericed Growth Factor (Platelet Kökenli Büyüme Faktörü)
<b>PGI2</b>	Prostasiklin
<b>PTEN</b>	Phosphatase and Tensin Homolog (Fosfotaz ve Tensin Homoloğu)
<b>QRT-PCR</b>	Quantitative Real Time-PCR (Kantitatif Eş Zamanlı PCR)
<b>RISC</b>	RNA Induced Silencing Complex (RNA İndüklü Susturucu Kompleks)
<b>RNA</b>	Ribo Nükleik Asit
<b>ROS</b>	Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
<b>SCH</b>	Subclinical Hypothyroidism (Subklinik Hipotriodizm)
<b>STAT5A</b>	Signal Transducer and Activator of Transcription 5A (Transkripsiyon Sinyal Dönüştürücü ve Aktivatörü 5A)
<b>tHyc</b>	Total Homosistein
<b>TKD</b>	Türk Kardiyoloji Derneği
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$
<b>TRBP</b>	Transactivating Response RNA Bindig Protein (Transaktivasyondan Sorumlu RNA Bağlayıcı Protein)
<b>UTR</b>	Untranslated Region (Çevrilmeyen Bölge)
<b>VCAM-1</b>	Vascular Cell Adhesion Protein-1 (Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1)
<b>VSMC</b>	Vascular Smooth Muscle Cell (Vasküler Düz Kas Hücresi)
<b>WHO</b>	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

# 1. GİRİŞ

## 1.1.Problemin Tanımı ve Önemi

Kardiyovasküler hastalıkların (KVH) dünyada hızla artan yaygınlığı nedeniyle önümüzdeki 15 yıl içerisinde dünyada ölümlerin başlıca nedenlerinden biri olması beklenmektedir. KVH, Türkiye’de tüm ölümlerin % 40 nedeni, 65 yaş altında Avrupa erkeklerde ölümlerin en sık, kadınlarda ikinci en sık görülen nedenidir. Her yıl, 310 bin yeni koroner olay meydana gelmekte ve bunların yaklaşık 90 bini yaşamını yitirirken 220 bini kronik koroner arter hastalarına eklenmektedir (Onat ve ark, 2007). Koroner arter hastalığının (KAH) en yaygın nedeni koroner arterlerdeki aterosklerozdur. Ateroskleroz, primer olarak orta ve büyük boyuttaki elastik arterlerin intima tabakasını etkileyen, karakteristik lezyonu plak olan ve asemptomatik yağlı çizgilenmelerden damar lümenini daraltan stabil veya komplike lezyonlara kadar değişik formları olan kesintisiz bir süreçtir (Zengin, 2011). Birbirleri ile sinerjik etki gösteren 200’ün üzerinde faktörün ateroskleroz oluşum ve gelişiminden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Wilson ve ark, 1998; Assmann ve ark, 2002; Magnus ve Beaglehole, 2001) ve son yıllarda kodlama yapmayan (non-coding) RNA (ncRNA) aracılı epigenetik olaylar bu konuda önemli oyuncular olarak ortaya çıkmaktadır.

Kısa kodlama yapmayan RNA’ların bir sınıfı olan mikro-RNA’lar (miRNA ya da miR) gen ekspresyonunu transkripsiyon sonrası düzenleyerek, insan hastalıklarının gelişiminde ve çeşitli biyolojik süreçlerde anahtar rol oynar. miRNA’lar, endotelial damar düz kas hücreleri ve kardiyovasküler homeostaz bağlamında ateroskleroz patogenezinde önemli bir rol üstlenebilir (Çeviker ve ark, 2016). Plak gelişiminin farklı aşamalarında miRNA’ların farklı setleri bulunmuştur ve miRNA’ların fonksiyon bozukluğu aterosklerotik plakların kararsız hale gelmesinde ve yırtılmasında oldukça önemli roller oynamaktadır. Anjiyogenez ve endotelial hücre bütünlüğünde rol oynayan pek çok miRNA da *in vitro* çalışmalarla tespit edilmiştir (Urbich ve ark, 2008).

Dolaşım halindeki miRNA’ların, hücre dışı haberciler olarak hücre-hücre iletişimde ve kardiyovasküler hastalıklar için potansiyel biyobelirteç olarak kullanımında önemli oldukları son birkaç yıl içinde kabul edilmiştir (Reid ve ark, 2011; Simons ve Raposo, 2009).

Vasküler biyolojide miR-221 ve miR-222 VSMC (vasküler düz kas hücresi) ve endotelial hücrelerde gösterdikleri etkiyle önemli oyuncular olarak karşımıza çıkmaktadır (Chistiakov ve ark, 2014). İnsan miR-221 ve paraloğu olan miR-222, VSMC'lerdeki fenotipik değişikliklerle ve endotelial hücrelerin anjiogenik özelliklerinin etkilenmesiyle damar ağında önemli aktiviteler göstermektedir (Poliseno ve ark, 2006; Davis ve ark, 2009).

miRNA'ların ateroskleroz patogenezindeki rolünün açıklanması tedaviye yönelik hedeflerin belirlenmesi açısından önemlidir.

### **1.2.Araştırmanın Amacı**

Bu çalışmada bir bireyin koroner arter by-pass cerrahisi sırasında ilk defa alınan aterosklerotik darlık gelişmiş olan koroner arter plakları ile aterosklerotik olmayan (anjiyografik normal) İMA (İnternal Mammarian Arter) dokusu ve yine aterosklerozlu hasta ve herhangi bir kalp damar hastalığına ek olarak başka bir hastalığı da bulunmayan sağlıklı bireylerden alınan kan örnekleri kullanılmıştır. Örnekler arasındaki miR-221/222 ifadenme farklarına bakılarak koroner arter plak oluşumunda miR-221/222'nin öneminin incelenmesi amaçlanmıştır. Dolaşımdaki seviyeleri incelenerek miR-221/222'nin ateroskleroz için biyobelirteç olup olmadığının değerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.Ateroskleroz

Kalp veya kan damarlarının (arterler ve venler) hastalıklarını içeren gruba genel olarak kardiyovasküler hastalıklar (KVH) denir (Maton, 1993). KVH türleri arasında; koroner arter hastalığı (KAH), kardiyomiyopati, hipertansif kalp hastalığı, kalp yetmezliği, kor pulmonela, kardiyak aritmiler, inflamatuvar kalp hastalığı, kalp kapak hastalıkları, inme ve periferik kalp hastalıkları sayılabilir.

Koroner arter hastalığı (KAH), koroner arterlerin duvarında gözlenen plaklardan dolayı ortaya çıkan bir hastalıktır. KAH'ın en sık nedeni aterosklerozdur (Çağatay ve Soydan, 1997).

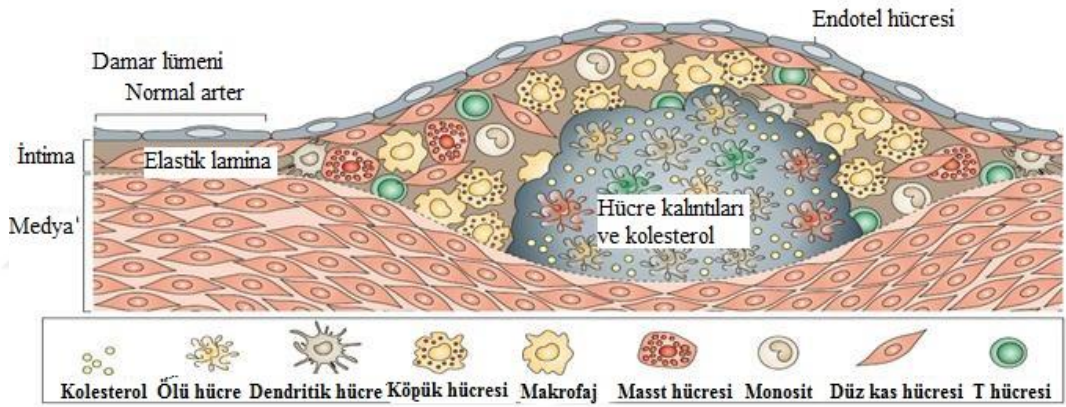
Gelişmiş ülkelerde ateroskleroz, ölümlerin en başta gelen sebebidir. Bu nedenle; aterosklerozun sebebi, epidemiyolojisi, patogenezi ve mümkün olduğunca erken teşhis ve tedavisi üzerinde yıllardır yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (Kurban ve Mehmetoğlu, 2005). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2015 Ocak ayında yayınladığı uluslararası KVH istatistiklerine göre 2012 yılında tüm küresel ölümlerin %31'ini temsil etmek üzere tahminen 17,5 milyon insan KVH nedeniyle hayatını kaybetmiştir (WHO, 2015). Yine 2012 Küresel Sağlık Gözlemevi (GHO) verilerine göre, Türkiye'de yaş bağımlı kardiyovasküler ölüm oranları 100.000 nüfus başına kadınlarda 256.0, erkeklerde 384.2 ve her iki cinsiyet de baz alındığında 310.3'tür (GHO, 2012).

Ateroskleroz, kronik, progressif ve multifokal bir intimal hastalıktır (Çağatay ve Soydan, 1997). Aterosklerozun yaygın özelliği, neointimal formasyondur; yani tromboz oluşumuna ve damar tıkanıklığına neden olabilecek şekilde arteriyal duvarın *tunika medya* tabakasında çok-tabakalı bir bölme üretecek ve böylece damar lümeninin yavaş yavaş daralmasını indükleyecek olan endotelial hücre fizyolojisinin değişmesi ve vasküler düz kas hücrelerinin hiperplazisidir (Quintavalle ve ark, 2011). Ateroskleroz, arterlerde inflamasyon, lipid birikimi, hücre ölümü ve fibrozis ile karakterize lezyonların oluşumuna yol açmaktadır (Hansson ve Libby, 2006).

Ateroskleroz, başlangıçta sadece akım sınırlayıcı daralmalara yol açabileceği gibi; ilerleyen dönemlerde ise aterosklerotik plağın parçalanması ile trombüslere yol açarak miyokard infarktüsü, iskemik felç ve abdominal aorta anevrizmaları gibi insan hayatını tehlikeye düşürecek çok ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir.



Ateroskleroz gelişiminin ilk aşamasında kronik endotel hasarı ve hasarlı endotelden geçen immün sistem hücreleri ve lipidlerin birikimi gözlemlenir, bu erken aşamadaki lezyon yağlı çizgilenme olarak adlandırılır. Bu aşamada lezyonda en fazla sayıda bulunan hücreler makrofajların fagosite ettikleri lipidlerle şişmeleri ile oluşan köpük hücreleridir, ancak bu aşamada lezyonlarda T hücreleri de yer almaktadır (Şekil 1) (Hansson ve Libby, 2006). Bu sürecin sonucunda zamanla lezyon ilerleyip olgunlaşarak aterom plağı denilen olgun aterosklerotik plakları oluşturur. Bu plağın merkezinde köpük hücreleri ve hücrelerarası yağ damlacıklarından oluşmuş bir çekirdek bulunur ve bu çekirdeğin etrafı düz kas hücreleri ve kollajenden zengin bir fibröz kapakla çevrilir. Bu olgun arterosklerotik plaklarda dendritik hücreler, mast hücreleri ve B hücrelerinin de bulunduğu bilinmektedir (Weaver ve ark, 2006).

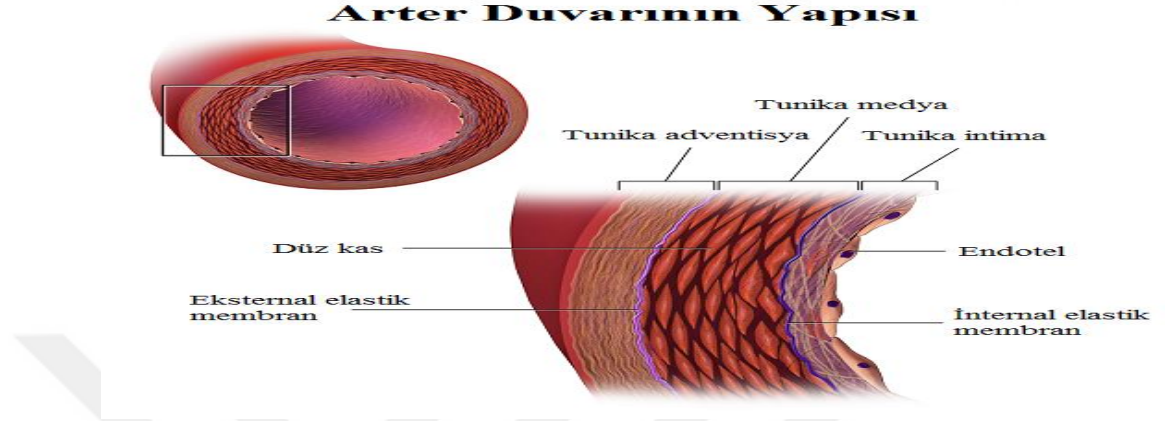


**Şekil 1:** Olgun ateroskleroz plağının şematik görünümü (Hansson ve Libby, 2006).

Plağın merkezinde ölü hücreler ve kolesterolden oluşmuş olan çekirdek bölgesini, düz kas hücreleri ve kollajen liflerinden oluşmuş fibröz kapak çevrelemektedir. Plak içerisinde yoğun bağışıklık hücresi aktivitesi dikkat çekmektedir (Hansson ve Libby, 2006).

## 2.2.Arterin Normal Yapısı

Normal arterin duvarını (Şekil 2); intima, medya ve adventisya olarak isimlendirilen üç tabaka oluşturmaktadır (Zengin, 2011).



**Şekil 2:**Arter duvarının yapısı (<http://www.catatandokter.com/2015/02/endotel-vaskular.html>, Erişim tarihi: Ocak 2016).

Tek sıra bir halde lümene bakan yüzde sıralanmış endotel hücreleri, bu hücreleri destekleyen subendotelyal matriks ve bazal membran intima tabakasını oluşturur. Tek katlı endotel, bir bazal lamina üzerine oturur ve bu lamina tip-4 kollajen gibi fibriler olmayan kollajen tiplerini, laminin, fibronektin ve diğer ekstra selüler matriks moleküllerini içeren bir yapıdır (Zengin, 2011). İnternal elastik membran intima tabakasını, medya tabakasından ayırır.

Düz kas hücrelerinin çoğalmasına paralel olarak, arteriyel ağacın dallanma bölgelerinde endotel geçirgenliği ve intima kalınlığı artar; bunu takiben medya tabakasındaki hücrelerinin düzeni bozulur ve yastıkçıklar gelişir (Zengin, 2011). Arter yatağının her tarafında intima tabakasını oluşturan temel yapılar aynı olmasına rağmen intima kalınlığında lokal farklılıklar gözlenir. Arter çatallanma bölgeleri ve yan dalların ağız bölgeleri intima kalınlığının en fazla olduğu bölgelerdir.

İntima tabakası, iki alt tabakadan oluşur. Lümenin altında bulunan iç tabaka proteoglikan tabaka olarak adlandırılır ve ince bir ağ yapısında fibröz olmayan bir proteoglikan zemin maddesinden oluşur. Bu tabakada elastik lifler nadir olarak bulunurken düz kas hücreleri granüllü endoplazmik retikulumdan zengin sentetik fenotipte ya da miyofilamentten zengin kontraktıl fenotipte bulunabilir. Proteoglikan

tabakanın hemen altında bulunan ve medya ile komşu olan tabakaya muskuloelastik tabaka adı verilir ve düz kas hücreleri ile elastik fibrilleri yoğun olarak içerir. Bu bölge proteoglikan tabakaya göre daha fazla kollojen içerir. Düz kas hücreleri miyofilamentten zengin yan yana yerleşmiş hücrelerdir.

Arter duvarının ortasında yer alan ve en kalın olan tabaka medya tabakasıdır. Medya tabakası, konsantrik bir şekilde glikozaminoglikanlardan oluşan matriks içine dizilmiş düz kas hücreleri ve kollajen elastik liflerden oluşur. Bu tabaka, damar duvarında bulunan ve fibroblast benzeri hücrelere dönüşebilme yeteneğine sahip olan damar düz kas hücrelerinin neredeyse tamamını içerir (Zengin, 2011). Eksternal elastik membran medya tabakası ile adventisya tabakasını birbirinden ayırır.

En dışta bulunan tabaka adventisya tabakasıdır. Vasovazomlardan, sinir uçlarından ve kollajen liflerden oluşan bu tabaka gevşek bağ dokusu yapısındadır (Vallace, 1996). Çoğunlukla fibroblastları, tip I kollajen liflerini, ve uzunluğuna yönlendirilmiş elastik lifleri içeren gevşek bir bağ dokusundan oluşmuştur. İntima ve medya tabakalarıyla kıyaslandığında daha seyrek bir hücre dağılımına sahip olduğu görülmektedir.

### **2.3. Ateroskleroz Gelişiminde Rol Alan Hücreler:**

Ateroskleroz, gelişiminde düz kas hücreleri, endotel hücreleri ve lökositlerin önemli rollere sahip olduğu karmaşık yapıya sahip bir hastalıktır (Enar, 2006).

#### **2.3.1. Vasküler Düz Kas Hücreleri**

Düz kas hücreleri normal şartlar altında bölünmeyen pasif hücrelerdir. Ancak damarda bir hasar oluştuğunda, hasara karşı proliferatif bir cevap oluşturmak amacıyla medyal düz kas hücreleri bölünür, intima tabakasına göç eder ve intimal kalınlaşma oluşturmak için teker teker bölünür (Stanley, 2000).

Damar tonusundan sorumlu olan vasküler düz kas hücreleri damarda herhangi bir hasar gelişmediği zamanlarda damar duvarının medya tabakasında yerleşmiş durumdadır. Medya tabakasında bulunan düz kas hücreleri oldukça fazla kontraktıl protein içeriğine sahiptir. Ateroskleroz oluşumu sırasında, düz kas hücreleri medya tabakasından intima tabakasına göç ederler ve fazla olan kontraktıl protein içeriğinde bir azalma oluşurken sentetik organel sayısında artış gözlenir. İntima tabakasına göç eden kas hücrelerinin fenotipi artık kontraktıl fenotipten bu hücrelerin proliferasyonda işlev görmesini sağlayan sentetik fenotipe değişir.

Medya tabakasında yerleşik düz kas hücreleri ketokolamin, anjiotensin II ve endotelin gibi vazokonsiktörlere ve prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) ve nitrik oksit (NO) gibi vazodilatatörlere cevap verir, intima tabakasında bulunan düz kas hücreleri ise platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF) gibi mitojenlere yanıt oluşturur (Zengin, 2011). Bununla paralel olarak; insanlarda, vasküler düz kas hücreleri (VSMC), ateroskleroz yatkınlığı olan alanlarda, aktif endotel hücreler tarafından oluşturulan PDGF'ye olası bir cevap olarak köpük hücre oluşumundan önce intimal kalınlaşmayı oluşturmak için erkenden birikir (Allahverdiyev ve ark, 2012). PDGF'nin genel olarak, intima içine gerçekleşen göçle birlikte kontraktıl damar VSMC'lerinin kontraktıl fenotipten sentetik fenotipe farklılaşmasının gerçekleşmesinde rol oynadığı düşünülür (Galkina ve Ley, 2009).

Son zamanlarda vasküler düz kas hücrelerinin aterosklerozda yıkıcı bir rol oynamaktan çok yapıcı onarıcı bir rol aldığı düşünülmektedir. Bu hücreler, glikozaminoglikan, elastin ve kollojen gibi matriks proteinlerinin büyük bir miktarını üretirler, çünkü bu proteinler plağın lipid bakımından zengin olan çekirdeğinde fibröz şapka oluşturmak ve damar tamirini gerçekleştirmek için gereklidir. Aterosklerotik lezyona kararlılık kazandırmak için plak kapsülü içeriğini sentezler ve trombositlerle pıhtılaşma kaskadı proteinlerinden trombojenik olan lipid yönünden zengin plak çekirdeğini ayırırlar (Zengin, 2011).

### **2.3.2. Endotel Hücreleri**

Damarın kanla temas eden önemli yüzeyini oluşturan endotel hücreleri, aynı zamanda hemostazda çok iyi düzenlenen ve bir o kadar da önemli olan mekanizmaların sahibidir.

Endotel hücreleri arasındaki bağlar normal şartlar altında oldukça sıkıdır, bu sıkılık albüminin daha büyük olan moleküllerin geçişine izin vermeyecek ölçüdedir (Zengin, 2011). Endotel zedelendiğinde ise bu engel özelliği bozulur ve lipoproteinlerin subendotelyuma geçişi hızlanır (Erol, 2004). Endotel disfonksiyonunu takiben reseptör görevi gören adezyon molekülleri endotel hücresinde göze çarpmaya başlar (Zengin, 2011).

NO molekülü endotelin özelliklerinin birçoğuna aracılık eder. NO, endotel hücreleri üzerinde görev yapan güçlü bir trombosit agregasyonu inhibitörü ve vasküler tonusu azaltmak suretiyle vazodilatasyon oluşturan güçlü bir

vazodilatatördür. Bununla birlikte anti-inflamatuvar özelliği sayesinde ateroskleroza her evrede engelleyici bir etki gösterir (Zengin, 2011).

Aktif haldeki endotel hücreleri, VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü-1), E-selektin ve P-selektin ve gibi adezyon moleküllerini ve kemokin MCP-1'i (makrofaj/monosit kemoatraktan protein-1) hazırlar (Ross ve ark, 2014). NO molekülü ateroskleroz engelleyici etkisini inflamasyon ortaya çıkardıkları bilinen ICAM-1 (intersellüler adezyon molekülü-1), VCAM-1, MCP-1, P-selektin gibi moleküllerin sentezini gerçekleştiren genlerin ifadenmesini engelleyerek gösterir (Zengin, 2011).

### **2.3.3. Makrofajlar**

Makrofaj hücrelerinin kökeni dolaşımdaki monositlerdir. Okside LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) partiküllerinin uyarıcı etkisiyle salınan kemotaktanların gücüyle monosit kandan intimaya çekilir. Bu kemotaktanların başında MCP-1 gelir. MCP-1, düz kas hücreleri, makrofajlar ve endotel hücreleri tarafından salınır (Farugi ve Di Corleto, 1993). Monositlerin makrofajlara dönüşümü ise MCSF (makrofaj koloni sitümüle edici faktör) etkisiyle gerçekleşir (Zengin, 2011).

Monositler ve olası nötrofiller önce endotele gevşekçe bağlanıp sonra sıkıca tutunan ve subendotelyal alana taşınan erken inflamatuvar hücreler arasındadır. Monositler, makrofajlara dönüşürler ve patojen-ilişkili moleküler paternler (PAMP), hasar-ilişkili moleküler paternler (DAMP) ve interlökin (IL)-1, tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve IL-6 gibi çeşitli sitokinlerle karşılaştığında aktif hale geçerler (Ross ve ark, 2014).

Makrofajlar, köpük hücrelerini oluşturan esas hücrelerdir. Makrofajlar, LDL'nin oksidasyonunu tamamlarlar ve okside haldeki LDL, üzerinde bulunan apo-B proteininin makrofajların üzerindeki çöpçü reseptörlerce tanınacak şekle dönüşmesiyle çöpçü reseptörlerin aracılığıyla fagositoza uğrar (Zengin, 2011).

### **2.4. Ateroskleroz Patogenezi**

Yeni tedavilerin geliştirilmesinde önemli yatırımlar olmasına rağmen ateroskleroz, sanayileşmiş toplumlarda hasta olma ve ölüm oranlarında başta gelen neden olmaya devam etmektedir. Kronik inflamatuvar bir hastalık olan ateroskleroz, kalpte inflamatuvar kaskadlar, düzensiz lipid metabolizması ve oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıkar (Ross ve ark, 2014). Dışsal (ekzojen) ve içsel (endojen) küçük

moleküller ve bunların üretiminde ya da degrade olmasında görevli enzimler bu süreçlerde önemli rollere sahiptirler (Matthwes ve Ross, 2015).

Arterlerin (atardamarların) “sertleşmesi” veya “tıkanması” anlamına gelen ateroskleroz, arterlerin iç duvarlarında “plak” olarak isimlendirilen kolesterol ve yağ birikintilerinin oluşmasıdır. Bu plaklar, arteri fiziksel olarak tıkamak veya anormal arter tonu ve fonksiyonuna neden olmak suretiyle kalp kasına kan akışını sınırlandırabilir (Sydell and Arnold Miller Family Kapl ve Damar Enstitüsü, 2000-2009).

“Yağ çizgileri” oluşumu, aterosklerozun mikroskop altında görülebilen ilk aşamasıdır. Gelip geçici olabilme özelliğindeki bu yağ çizgileri endotelin altında bulunur ve içi lipid dolu hücre topluluklarıdır. Arter yapısı, özellikle monosit türevi makrofaj gibi lökosit hücrelerinin ve değişime uğramış lipoproteinlerin arter damarlarında birikmesiyle doğru orantılı olarak değişime uğrar. Bu değişimi takip eden yangı (enflamasyon), arterin intima tabakasında aterom plaklarının oluşmasına sebep olur.

Ateroskleroz oluşması ile ilgili yüzyıllardır çeşitli teoriler öne sürülmüştür. 1846 yılında Virchow tarafında ileri sürülen “hasara yanıt hipotezi” yıllar içinde edinilen bilgiler ışığında geliştirilmiştir. Virchow, aterosklerozla alakalı “dejeneratif değişikliklerin oluşturduğu hasara karşılık arteriyel intimanın iyileşme cevabı neticesinde oluştuğu” görüşünü ileri sürmüştür; 1973 yılında Russel Ross ve John Glomset, Virchow’un hipotezini değiştirerek yıllarca kabul edilen “modifiye hasara yanıt hipotezi”ni geliştirmişlerdir. Bu hipotezde, “endotel yaralanması ve hasarına karşılık olarak düz kas hücrelerinin aşırı proliferasyonu sonucu aterom plağının oluştuğu” ileri sürülmüştür. Daha sonra, bu hipotez de günümüz bilgilerinin dayandığı temeli oluşturmak adına revize edilmiştir (Braunwald, 1992; Di Corleto ve Gimbrone, 1996).

Tüm arteriyel yataktaki (hem koroner damar yatağında hem de periferik arterlerde) intima-medya kalınlığında gözlenen artma, aterosklerotik hastalığın erken dönemindeki en önemli değişiktir (Glagov ve ark, 1987). Vücuttaki tüm büyük ve orta genişlikteki mükümler arterlere tesir eden ve sistemik bir hastalık olan aterosklerozun klinik bulguları gözlenebilir hale geldiğinde hastalık genellikle ileri

safhadadır. Bu aşamadan sonra yapılan girişimler daha çok palyatif amaçlı veya ikincil korumaya yönelik olmaktadır (Doğan ve ark, 2015).

### **2.5.Aterojenez**

Aterojenez, aterom plaklarının gelişme sürecidir. Klinik olarak belirginleşen ateroskleroz dört ana adımın sonunda ortaya çıkar: 1) endotelial hücre aktivasyonunun başlaması ve inflamasyon, 2) intimal lipoprotein birikimi, saklanması, modifikasyonu ve köpük hücre oluşumunun gelişmesi, 3) plak büyümesi, nekrotik çekirdeğin genişlemesi, fibröz, tromboz ve yeniden modellenmeyle karmaşık plakların gelişmesi, 4) akut olayların başlaması (Hopkins ve Williams, 1981; Ross ve ark, 2014).

Aterojenezin anahtar patolojik özelliklerinden biri endotel hücre fonksiyon bozukluğudur. Endotelial hücre katmanı bozulmaya başladığında, kanda dolaşım halinde bulunan monositler yaralı endotel hücreler tarafından salınan MCP-1 gibi kemokinler ve sitokinlerce yaralı alana alınır (Hopkins, 2013). Endotelial hücre tabakası boyunca göç ve sonuç olarak da damar duvarı intimal boşluğa alımı takiben monositler farklılaşmayı indükleyen bir dizi inflamatuvar ve toksik maddeye maruz bırakılırlar (Ross ve ark, 2014). İlerleyen süreçlerde, büyüyen aterosklerozun işareti olan köpük hücre oluşumuna neden olacak şekilde korunmuş ve modifiye haldeki lipoproteinler, makrofajlar ve VSMC'ler tarafından alınır (Ross ve ark, 2014).

Sağlıklı haldeki normal endotelde, vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon arasındaki denge korunur (Tablo 1). Sağlıklı endotel, damar tonusunu ayarlar ve kan hücreleri ile damar duvarı arasındaki dengeyi sağlar. Eğer bu denge bozulursa, endotel aktif hale geçer ve proaterojenik ve proinflamatuvar bir rol oynar (Davignon ve Ganz, 2004; Libby, 2002). Endotel zedelendiğinde salgılanan histamin, serotonin, adrenalin ve adenosin difosfat (ADP) damar geçirgenliğinin artmasına sebep olur (Dursunoğlu ve Dursunoğlu, 2005). NO üretiminin veya aktivitesinin azalması endotelin vazodilatator kapasitesinin bozulmasına neden olarak LDL' nin oksidasyonunu artırır, bilindiği gibi bu aterosklerozun en önemli basamağıdır (Steinberg ve ark, 1989).

**Tablo 1:** Sağlıklı ve hasarlı endotel farkları

<b>Normal Endotel</b>	<b>Hasarlı Endotel</b>
Vazodilatasyon	Vazokonstriksiyon
Trombosit ve lökositlerin adezyonunda azalma	Trombosit ve lökositlerin adezyonunda artış
Düz kas hücre göçü/proliferasyonunda azalma	Düz kas hücre göçü/proliferasyonunda artış
LDL kolesterol bariyeri	Lipid depolanması artışı
Lipoprotein lipaz aktivitesi	Lipid klerensinde azalma

(Dursunoğlu ve Dursunoğlu, 2005)

Endotel disfonksiyonu ile beraber proinflamatuvar moleküllerin üretimi artar. Lökosit adezyon molekülleri ve lökosit kemoatraktanları bunlar arasındadır (Miller ve ark, 2005). Makrofajlar da oksidatif koşullarda LDL kolesterolün oksidasyonuna katkıda bulunurlar (Aviran ve ark, 1998). Aterojenez mekanizmasında immun cevap da rol almaktadır. Bunun en önemli kanıtları; stabil olmayan aterosklerotik plaklarda makrofaj ve T hücreleri gibi immün sistem hücreleri ile birlikte proinflamatuvar sitokinlerin (IL-6, TNF- $\alpha$ ), adezyon moleküllerinin (VCAM-1), kemokinlerin, CD40, CD40 ligandının ve C-reaktif proteininin saptanması sayılabilir (Jara ve ark, 2006).

Aterosklerotik plakta birçok yapı bulunmaktadır. Bunlar okside edilmiş LDL içeren makrofajlar (köpük hücreleri), T lenfositler, mast hücreleri, plazma hücreleri, ekstraselüler lipid ve birbirlerinden ayrılmış intimal düz kas hücreleridir.

### **2.5.1. Endotelial Hücre Aktivasyonu ve İnflamasyon**

Ateroskleroz patogenezinin ilk temel basamağını endotel disfonksiyonu oluşturur. Ross'un önerdiği "hasara tepki hipotezi" olayların endotel disfonksiyonu tarafından başlatıldığını ileri sürmektedir (Ross, 1993). Disfonksiyon, tek sıra olarak dizilenmiş endotel hücrelerinin seçici geçirgen özelliğini ve antitrombotik yüzey özelliğini bozar. Ayrıca disfonksiyon gelişmesini takiben vazodilatasyona olan eğilim vazokonstriksiyona doğru değişirken, antitrombotik özellik protromboz tarafına, antiproliferatif özellik proliferatif özellik tarafına doğru dengeyi bozacak şekilde değişmeye başlar (Koeng, 1999). Endotel disfonksiyonu ile beraber proinflamatuvar moleküllerin üretimi de artar.

Endotel hücreleri arasındaki bağların, normal şartlar altında albüminin daha büyük olan moleküllerin geçmesine olanak vermeyecek ölçüde sıkı olduğu bilinmektedir. Endotel zedelendiğinde damarın permeabilitesi arttığı için, bu endotel engeli aşılarak LDL'nin damar duvarından geçişi kolaylaşır. Bu esnada LDL



modifikasyonunun meydana geldiği bildirilmiştir (Landmesser ve ark, 2004; Xu ve ark, 1993). Endotel hücreleri, intimaya yerleşen lipoprotein moleküllerinin ilk modifikasyonunu yapar. Aterosklerozun ortaya çıkmasındaki en önemli basamak okside olan LDL'nin meydana geldiği bu modifikasyondur.

Aterojenez mekanizmasında immun cevap da rol almaktadır. İnsanda aterosklerozun tüm safhalarında CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> lenfositleri gösterilmiştir. Bu hücrelerin varlığı aterosklerozda bağışıklığın görev aldığına dair teorinin bir desteği olmuştur (Schwartz, 1995). Bu durumun diğer önemli kanıtları olarak; stabil olmayan aterosklerotik plaklarda makrofaj ve T hücreleri gibi immün sistem hücreleri ile birlikte proinflamatuvar sitokinlerin (IL-6, TNF- $\alpha$ ), adezyon moleküllerinin (VCAM-1), kemokinlerin, CD40, CD40 ligandının ve C-reaktif proteininin saptanması sayılabilir (Jara ve ark, 2006). Aktive olan trombositlerdeki CD40 ligandı endotelde yangısal (inflamatuvar) olayları tetikler ve C reaktif proteinin dolaylı olarak yükselmesine ve birçok inflamatuvar yanıt hücresinin (makrofajlar, aktive T-lenfositler, aktive degranüle olan mast hücreleri) birikmesine yol açar (Kumral, 2003). İnflamasyon; enfeksiyon ya da başka bir nedenle meydana gelmiş doku hasarına karşı hücresele ve humoral cevaptır. Burada amaç hasarlanmış dokunun tamiri ve yenilenmesini sağlamaktır. Bu hipoteze göre ateroskleroz; damar duvarında gelişen bir yaranın iyileşme sürecinde karşılaşılan olayların tümüdür.

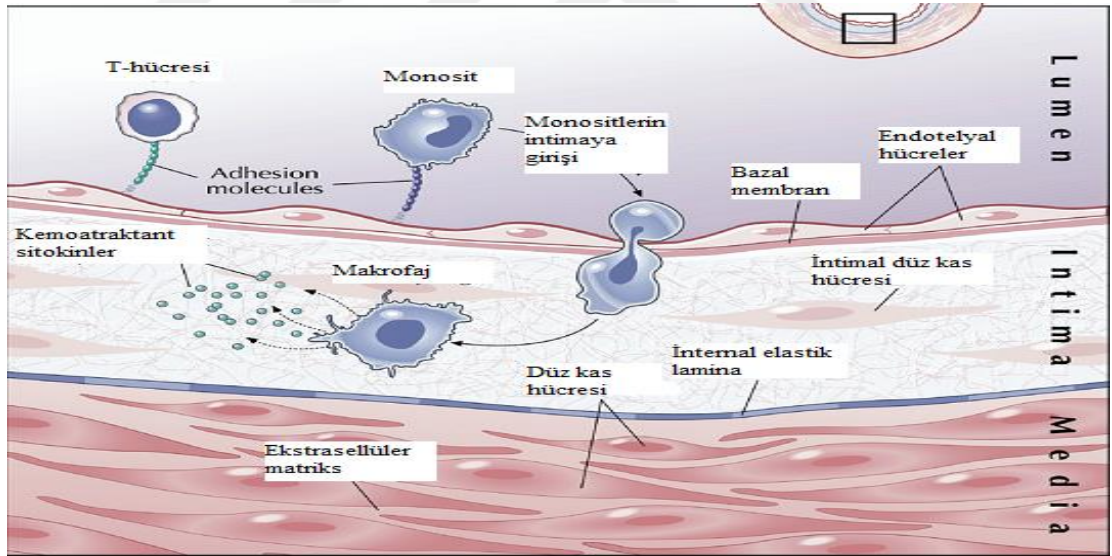
### **2.5.2. İntimal Lipoprotein Modifikasyonu ve Köpük Hücre Oluşumu**

Normalde albüminde daha büyük moleküller endotel hücreleri arasından geçemezler, çünkü bu geçiş hücreler arasındaki sıkı bağ müsaade etmez. Transsitoz, albümine oranla çok daha büyük olan lipoproteinlerin endotel engelini aşmak için kullandıkları bir mekanizmadır. Bu mekanizma kandaki lipoprotein seviyesi ile ilişkiliyken lipoprotein reseptörlerinden bağımsız olarak işlev görmektedir. Fakat, endotel zedelendiği zaman hücrelerin oluşturduğu bu engelin bozulduğu ve böylece subendotelyuma lipoproteinlerin geçişinin hızlandığı ileri sürülmüştür (Erol, 2004). Lipoprotein partikülleri intima içinde proteoglikanlara bağlanırlar ve böylece intimada kalış süreleri uzar (Camejo ve ark, 1998; Williams ve Tabas, 1998). Bu uzama LDL'nin oksidasyonuna olanak sağlar.

Nitrik oksit üretiminin veya aktivitesinin azalması endotelin vazodilatator kapasitesinin bozulmasına neden olarak LDL'nin oksidasyonunu artırır, bilindiği

gibi bu aterosklerozun en önemli basamağıdır (Steinberg, 1989). LDL'nin okside hali düz kas hücreleri ve makrofajlar için de aktivatördür. LDL'nin okside halinin bu hücrelerdeki doku faktörü sentezini de uyardığı bildirilmiştir (Taubman, 2001).

Lökosit adezyonu sağlıklı endotel hücresinde dirençle karşılaşır. Adezyon moleküllerinin endotel yüzeyindeki ifadesi ise monositler ve T lenfositlerin endotele adezyonuna olanak sağlamaktadır. Adezyondan sonra meydana gelen ve kemokin olarak bilinen maddelerce sağlanan bir sinyal, lökositlerin intima içine geçmesi için gereklidir. LDL'nin okside halinin uyarması ile endotel ve düz kas hücrelerini de içeren pek çok hücre tarafından monositleri çekmekle görevli protein MCP-1 salgılanması başlar. MCP-1, monositlerin seçici-yönlendirilmiş göçünü sağlamakla görevlidir (Zengin, 2011). Hasarlı intimada üretilen herhangi bir sitokin ya da büyüme faktörü, monositlerin makrofajlara dönüşümünü uyarır ve bu aşama ateroskleroz gelişimi için önemlidir (Smith ve ark, 1995; Hansson, 2005). Bu büyüme faktörleri toll benzeri reseptörler ve temizleyici reseptörlerdir (Peiser ve ark, 2002; Janeway ve Medzhitov, 2002) (Şekil 3).



**Şekil 3:** İnflamatuvar hücrelerin endotele adezyonu ve göçü (Libby ve Ridker, 2006).

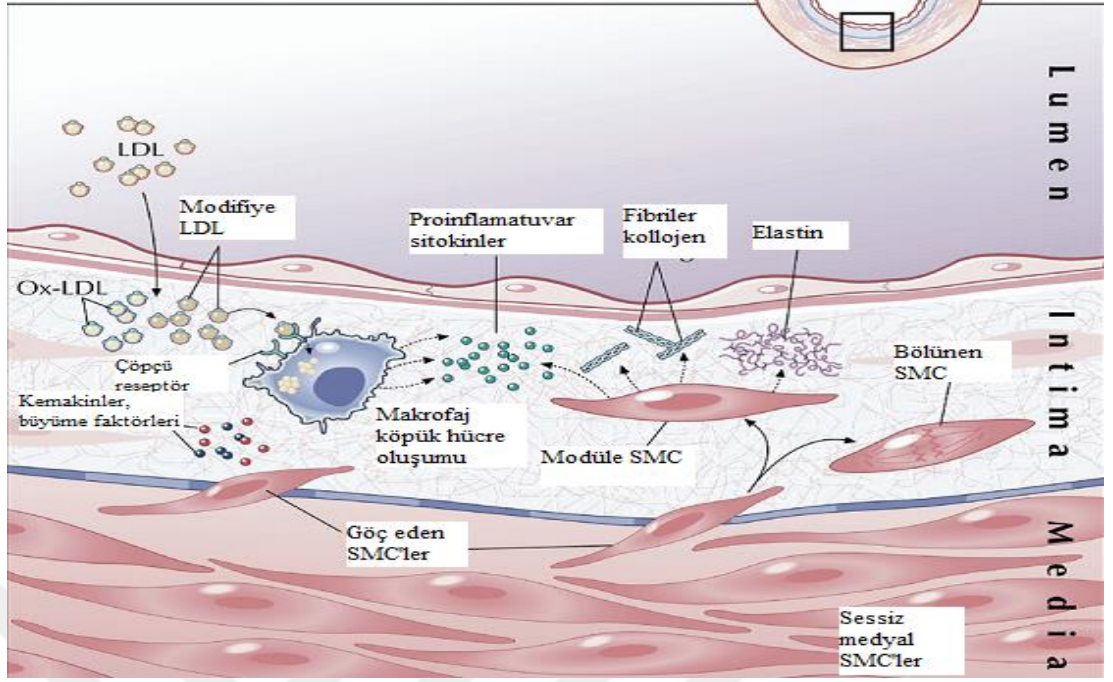
İnflamatuvar veya oksidatif stres durumlarında, sağlıklı endotelin yüzeyinde olmayan kemotransitörler ve adezyon molekülleri açığa çıkarak inflamatuvar hücrelerin endotele adezyonu ve transendotelial göçüne sebep olur (Libby ve Ridker, 2006).

Monosit adezyonunun artışı, ICAM-1, VCAM-1 ve selektinlerin endotelial hücreler inflamatuvar aktivasyona uğradıklarında meydana gelen ifade artışı ile gerçekleşir (Huo ve Ley, 2001; Cook-Miles, 2002). Bir kere yapışan monositler

endotel hücrelerinin arasından subendotelyal alana doğru harekete geçerler. Arteriyal intimaya girdikleri zaman makrofajları ve modifiye edilmiş lipoproteinlerin fagositozunda işlev gören çöpçü reseptörleri (MARCO, SR-B1, SR-A, CD36 gibi) oluştururlar (Kunjathoor ve ark, 2002; Yoshida ve ark, 1998). Erken aterosklerotik lezyonların en belirgin özelliklerinden biri olan köpük hücrelerinin veya lipid yüklü makrofajların oluşması lipoprotein partiküllerinin fagositozu ile gerçekleşir (Şekil 4).

Okside LDL'yi kontrolsüz bir şekilde fagosite eden köpük hücreler, LDL oksidasyonu ile oluşan lipid peroksidazlarla veya apoptozis vasıtasıyla parçalanıp intima tabakasında ekstrasellüler lipid birikmesine sebep olurlar (Ball ve ark, 1995). Hücrel apoptozis, özellikle hücrel plaklarda bol miktarda var olan TNF- $\alpha$  ile birlikte MCSF-1 gibi büyüme faktörlerinin bitmesi tarafından indüklenir (Badimon ve ark, 1999). Bu sırada makrofajlardan, endotelden ve trombositlerden salgılanan büyüme faktörleri ve sitokinler aracılığı ile medya tabakasındaki düz kas hücreleri de intima tabakasına göç etmektedir. İntimada prolifere olan bu hücreler de yüzeylerindeki çöpçü reseptörler aracılığıyla okside haldeki LDL'yi içlerine almak suretiyle köpük hücrelerine dönüşmektedirler (Guyton ve Klemp, 1994).

Okside edilmiş LDL'den türeyen kolesterol hücrelere yeterli miktarda gönderilmezse bunlar sitosolik parçalar şeklinde birikirler. Bu hücreler aterosklerozda prototip hücre olan köpük hücrelerine dönüşerek birikimi başlar (Hansson, 2005; Libby, 2002). Ardından arter duvarının medya tabakasında bulunan damar düz kas hücreleri de (Li ve Forsterman, 2000) medya tabakasından intimaya göç ederek ileri lezyon ve plak oluşumuna neden olmaktadır (Berliner ve ark, 1995; Doran ve ark, 2008).



**Şekil 4:**Köpük hücrelerinin oluşumu, düz kas hücrelerinin göçü ve aşırı çoğalması (Libby ve Ridker, 2006).

Endotel geçirgenliğinde meydana gelen artmayla birlikte LDL subendotel intima tabakasında okside ve modifiye LDL formlarına dönüştürülür. Makrofajların yüzeyinde bulunan çöpçü reseptörlere bağlanabilen bu formlar makrofajların içine alınarak köpük hücrelerini oluştururlar. Köpük hücreleri, lökositler için kemokinleri, makrofajların oluşum ve gelişimi için proinflamatuar sitokinleri ve medya tabakasındaki düz kas hücrelerinin intima tabakasına göçünü ve aktivasyonunu sağlamak için büyüme faktörlerini salgılayarak aterom plağının ilerlemesini sağlar. (Libby ve Ridker, 2006).

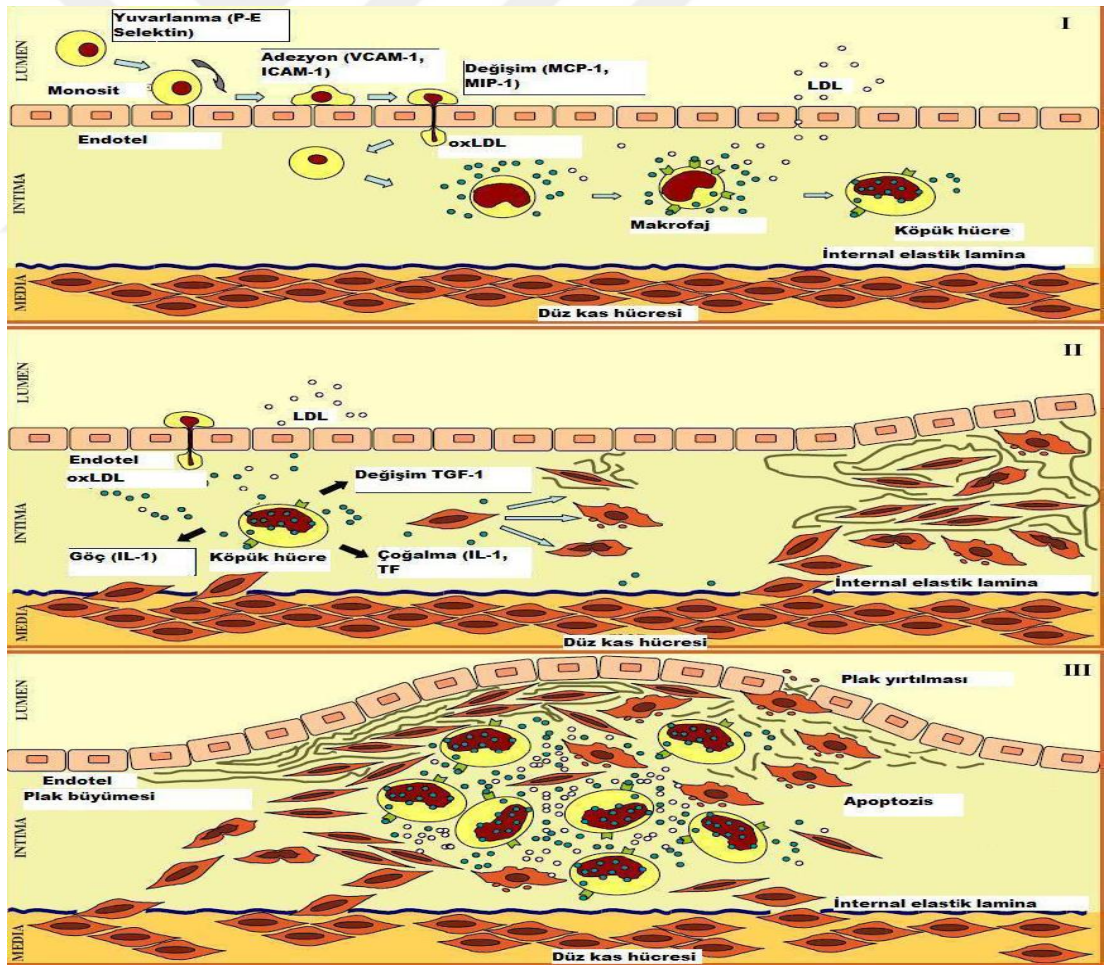
### 2.5.3. Karmaşık Plakların Gelişmesi

Makrofajlardaki köpük hücreleri yüksek miktarda kolesterol esterleri içerir ve aynı zamanda hücreler erken ve geç lezyonların belirleyicisidir (Giuseppe ve ark, 2009).

Ateroskleroz lezyonunun erken yaşlarda dahi gözlenebilen bir formu olan yağlı çizgilenme gözle görülebilir niteliktedir ve köpük hücrelerinin intima tabakasında aşırı birikimi sonucu oluşur. Makroskopik anlamda görülebilen bu sarı çizgiler damar lümeninde kan akımı yönündedir (Fuster ve ark, 1999).

Büyüme faktörlerinin etkisiyle de düz kas hücreleri medya tabakasından intimaya göç ederek hem çoğalırlar hem de yeni hücreler arası matriks sentezleyerek

intimal kalınlaşmaya neden olurlar (Giuseppe ve ark, 2009). Hücre göçünün ve çoğalmanın devam etmesi, lipit birikiminin artmasıyla lezyonlar fibröz başlık oluşumuna neden olur (Ross,1999; Paulsson ve ark, 2000). Fibröz başlık medya tabakasından intima tabakasına göç eden düz kas hücrelerinden ve glikozaminoglikanlar, kollajen lifler, preteoglikanlar ve elastin gibi düz kas hücrelerinin ürettiği bağ dokusundan meydana gelir (Şekil 5). Fibröz plaklar, makroskopik olarak incelendiğinde genellikle lümene doğru büyüyen beyaz renkli lezyonlar olarak tanımlanır. Damar lümenini dikkate değer şekilde daraltıyor olsalar da eğer sağlam durumdalarsa önemli herhangi bir klinik vakaya neden olmadıkları düşünülmektedir. Bu bağlamda denilebilir ki; fibröz başlık ne kadar kalın olursa plak o ölçüde kararlıdır. Bunun aksine, inflamatuvar hücreler ve lipit bakımından zengin ve ince bir fibröz kapsülü olan plakların yırtılma ve zedelenme riskleri bir o kadar yüksektir (Zengin, 2011).

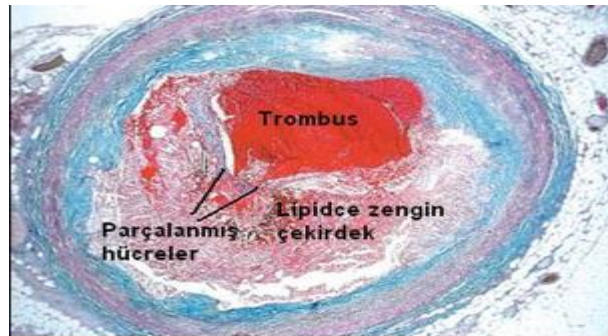


**Şekil 5:** Plak büyümesi, nekrotik çekirdeğin genişlemesi, fibröz, tromboz ve yeniden modellenmeyle karmaşık plakların gelişmesi. (Giuseppe ve ark, 2009).

#### 2.5.4. Akut Olayların Başlaması

İlerlemiş aterosklerotik lezyonlara rağmen, damar lümeninin progresif daralması sonucunda iskemik semptomlar oluşur. Miyokard infarktüsü ve kalp krizi gibi kardiyovasküler olaylar tıkanıklık veya plak yırtılması sonucunda meydana gelir (Davies ve ark, 1993; Lee ve Libby, 1997). Plak, önemli bir stenoza sebep olsa bile zengin kollajen içeriği olan plaklarda yırtılma olasılığı azdır (Kumral, 2003).

Plak yırtılması sonucu, plak lipidleri ve doku faktörü, kan bileşenleriyle birlikte pıhtılaşmanın başlamasına neden olur. Bunun sonucunda trombosit yapışması gerçekleşir ve tromboz gerçekleşir (Davies ve ark, 1993; Lee ve Libby, 1997). Tromboz hem intralümen hem de intraplak olarak, neredeyse her zaman ateroskleroza, arteriyel sistemde meydana getirdiği lezyonun klinik manifestasyonlarına ve anatomik progresyonuna eşlik etmektedir. Koroner trombozun temel iki nedeni vardır: plak yırtılması ve endotelyal yıpranma. Plak yırtılması tehlikelidir çünkü plak yırtılması plak çekirdeğinden kana kadar olan bölge tüm trombotik materyallere (fosfolipidler, doku faktörleri ve platelet adesif matriks molekülleri) maruz kalır (Hansson, 2005). Fibröz keplerin zayıf ve kısmen parçalandığı yerlerde yırtıklar meydana gelir ve bu yerlerde aktif bağışıklık hücreleri yoğunudur (Van der Wal ve ark, 1994). Bunlar kepleri zayıflatan ve çekirdekte hücreleri aktive eden, sabit plakları hassas ve hareketli plaklara dönüştüren inflamatuvar molekülleriyle proteolitik enzimleri üretir. Bu hareketli yapı yırtılabilir (Şekil 6), trombusa dönüşebilir ve akut koroner sendromuna neden olabilir (Hansson, 2005).



**Şekil 6:** Miyokardial enfarktüstü ölen bir hastanın arteri (Hansson, 2005).

Lipidce zengin plakta trombus vardır. Lipidce zengin çekirdeği kaplayan fibröz kep yırtılır. Kırmızı kısımlar luminal trombus ve plak arası kanamayı ifade eder, mavi kısımlar ise kollajenlerdir. (Hansson, 2005).

Ateroskleroz komplikasyonlarının %70'ini plak rüptürü ve üzerinde gelişen trombus oluşturur. Aterosklerozun diğer komplikasyonları arasında; plak erozyonu, plak kalsifikasyonu, plak içi hemoraji, anevrizma ve damar stenozu sayılabilir. (Naghavi ve ark, 2003; Fuster ve ark, 2005; Enar, 2004).

## 2.6.Ateroskleroza Neden Olan Risk Faktörleri

Bugüne kadar elde edilen bilgiler temel alındığında, aterosklerozun çevresel risk faktörlerinin etkisi sonucunda belli bir genetik alt yapı ve riske sahip bireylerde olduğu gözlenmiştir. Eskiden sanıldığı gibi kaçınılmaz, dejeneratif bir hastalık değil; önlenabilir, başlamışsa durdurulabilir ve hatta geriletilebilir bir hastalıktır. Epidemiyolojik araştırmalar Tablo 3'te verilen faktörlerin risk faktörleri olarak ateroskleroz gelişmesinde rolü olduğunu ortaya çıkarmıştır (Sonel, 2002).

**Tablo 2:**Ateroskleroz risk faktörleri.

Değiştirilmesi mümkün olmayanlar	Değiştirilmesi mümkün olanlar
1. Aile hikayesi 2. Cinsiyetin erkek olması 3. İleri yaş	1. Total kolesterol ve LDL kolesterolünün yüksekliği 2. HDL kolesterolünün düşük olması 3. Hipertansiyon 4. Diyabet 5. Sigara 6. Sedanter hayat 7. Şişmanlık ve insülin direnci 8. Emosyonel stres 9. Homosistein yüksekliği

(Sonel, 2002)

Aterosklerozun risk faktörlerinin ortak noktası endotel disfonksiyonudur (Zengin, 2011). Önemli risk faktörleri genellikle aterosklerozun birden fazla basamağında görevlidirler. Örneğin, hiperlipideminin farklı çeşitleri endotelial aktivasyona katkıda bulunabilir (lipoproteinlerin oksidasyonu ya da bu durum olmaksızın) (Suriyaphol ve ark, 2002), NOS'un bozulması ya da kullanılabilirliği (Aikawa ve ark, 2002), köpük hücre oluşumunun başlaması (çeşitli olası değişikliklerden sonra) (Tabas ve ark, 2007), trombosit aktivasyonu ve trombotik potansiyelin artması (örneğin; hiperlipidemik serumda trombosit çöpçü reseptör CD36 ile etkileşimde olan fazla miktarda okside fosfolipit bulunmuştur) (Podrez ve ark, 2007), ve geri dönüşümlü plak istikrarsızlığının başlaması (Kockx ve ark, 1998; Libby, 2009).

### 2.6.1. Değiştirilmesi Mümkmn Olmayan Risk Faktörleri

**1. Yaş:** Değiştirilmesi mümkmn olmayan risk faktörleri arasında en önemlisi olarak düşünülebilir, çünkü yaşın ilerlemesiyle birlikte koroner kalp hastalığı insidansı ve prevalansı artış gösterir (Fuster ve ark, 2002). Kadınlarda erken menopoza ek olarak 55 yaş ve üzeri, erkeklerde ise 45 yaş ve üzeri kalp hastalığı için güçlü bir risk faktörüdür (Yüksel, 2006; İliçin ve ark, 2006).

**2. Cinsiyet:** Yapılan bir çok çalışmaya göre, cinsiyetin erkek olması başlı başına bir risk faktörü olarak belirlenmiştir. Erkekler ateroskleroza kadınlardan çok daha fazla eğilimlidirler. Erkeklerde aterosklerotik damar hastalığının 10-20 yıl kadar erken başladığı ve sıklığının kadınlarla kıyaslandığında 3-6 kat daha fazla olduğu bilinmektedir. Erkeklerde, 10 yaş daha yaşlı olan kadınlar ile aynı oranda koroner kalp hastalığı insidansı görülür. Menopoza kadar olan süreç kadınları hastalık yapan ileri ateroskerozdan korur. Menopoz öncesi süreçteki kadınlarda, diyabet, büyük olasılıkla ailesel olan ve sık görülmeyen hiperlipidemi formları ya da ciddi bir hipertansiyon gibi predispozan durumlar olmadıkça miyokard infarktüsü ender görülen bir durumdur. Beyaz kadın ve erkek bireyler arasında yapılan çalışmalara göre 35-55 yaşlarında koroner kalp hastalığı nedeniyle gerçekleşen ölüm oranının beşte bir olduğu gösterilmiştir (Crawford ve Di Marco, 2003; Castelli, 1984).

**3. Aile Hikayesi:** Takip eden nesilde gözlenen yüksek hastalık riskinin ailedeki erken başlangıçlı KAH öyküsü ile ilişkili olduğu iyi bilinen bir gerçektir (Crawford ve Di Marco, 2003). Bir bireyde ateroskleroz gelişmesi riskini, erken koroner arter hastalığının bireyin ailesindeki birinci dereceden kadın akrabalarda 64 yaşından önce, birinci dereceden erkek akrabalarda ise 55 yaşından önce görülmesi 1,3-1,6 kat yükseltmektedir (Fuster ve ark, 2002). Erken yaşlarda oluşan koroner kalp hastalığına sahip akraba sayısındaki artış veya ailede koroner kalp hastalığına yakalanma yaşındaki azalma, aile öyküsünün tahmin edici değerini artırır (Rissanen, 1979; Williams ve ark, 1994). Her ne kadar aile hikayesinin değiştirilmesi mümkmn olmayan bir risk faktörü olduğu düşünülse de olumlu aile öyküsü bireylerin detaylı bir şekilde taranmasını zorunlu kılar. Bu durumda erken yaşlarda yapılan taramalarla diğer risklerin önlenmesi veya tedavisi söz konusu olabilir (Williams ve ark, 1994).



## 2.6.2. Değiştirilmesi Mümkün Olan Risk Faktörleri

**1. Total Kolesterol ve LDL Kolesterolün Yüksekliği:** Lipoproteinler, endotel disfonksiyonunun başlamasında ve ilerlemesinde işlev görür. En önemli aterojenetik lipoprotein ise LDL'dir (Babiak ve Rudel, 1987; Goldstein ve ark, 1983). Kolesterol, karaciğerden diğer dokulara LDL vasıtasıyla taşınır. Damar duvarında kolesterol bakımından zengin olan aterosklerotik plakın meydana gelmesinde ve ilerlemesinde LDL yüksekliği ilk sıralarda yer alan etkenlerden biridir.

Pek çok çalışma sonucuna göre, plazma LDL kolesterol düzeyleri de koroner kalp hastalığının en önemli belirleyicilerindedir (Tokgözoğlu, 2003). Endotel fonksiyon kaybı, plak biçimlenmesi ve büyümesi, plak stabilitesinin bozulması, plağın yırtılması ve tromboz olmak üzere aterosklerozun bütün evrelerinde yüksek LDL seviyeleri rol almaktadır. LDL'nin proinflatuar bir ajan olduğu ve aterosklerotik lezyonun en kritik göstergesi olan kronik inflammatuar yanıtı harekete geçirdiği son zamanlarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Navab ve ark, 1996).

Serum total kolesterol yüksekliği, koroner arter hastalığı için bağımsız önemli risk faktörleri arasındadır (Wood ve ark, 1998; Criqui ve ark, 1998). Kolesterol düzeyi ile koroner arter hastalığı riski arasında doğrusal bir ilişki vardır. Plazmadaki total kolesterol miktarında gözlenen %10'luk düşüş, koroner arter hastalığının oluşması riskinde %20'lik azalma meydana getirir (Grundy ve ark, 2004; Law ve ark, 1994).

**2. HDL Kolesterolün Düşük Olması:** Kardiyovasküler hastalık riski, kanda total kolesterol ve LDL düzeylerinin yükselmesiyle birlikte artar. KAH'nın negatif risk faktörlerinden olan HDL'nin (yüksek yoğunluklu lipoprotein) düzeyi ise ne kadar yüksek olursa hastalık riski o kadar düşüktür (Boyacı, 2003). HDL kolesterol düzeyinin 60mg/dl üzerinde ölçülmesi hastalık riskini azaltır ve risk hesaplamalarından bir risk faktörünün elenmesini sağlar (Yüksel, 2006). Prematür koroner arter hastalığı olan bireylerde, HDL düzeylerinin düşük olduğu saptanmıştır (Navab ve ark, 1996). Düşük HDL kolesterol düzeyleri, yaşam tarzı, obeziteye yol açan aşırı kilo alımı, sigara, genetik faktörler ve fiziksel inaktivite ile ilişkilidir (Genest ve ark, 1992).

**3. Hipertansiyon:** Klinik olarak nadiren tek bir gendeki mutasyon hipertansiyona yol açabilir. Buna monogenik türde hipertansiyon denir. Esansiyel

hipertansiyonun büyük çoğunluğu birden fazla gen noktasındaki mutasyona bağlı, yani poligeniktir (Tokgözoğlu, 2003). Koroner kalp hastalığı için kritik risk faktörlerinden biri de hipertansiyondur. Hipertansiyon, tüm aterosklerotik kardiyovasküler vakaların %35 kadarının sorumlusudur (Kannel, 1996). Kan basıncının 140/90mm/Hg'den fazla olması veya antihipertansif tedavi görüyor olmak koroner hastalık riskini artırır ve bu durum diğer risk faktörlerinden bağımsızdır (Yüksel, 2006; Kannel, 1996).

Bozulmuş endotel fonksiyonu, artmış miyokardiyal oksijen ihtiyacı, endotel lipoprotein geçirgenliğinin artışı, artmış miyokardiyal duvar stresi, oksidatif stresin artması ve akut plak rüptürünü harekete geçiren hemodinamik stres hipertansiyonun koroner olayları meydana getirişindeki olası mekanizmalar arasındadır (Franklin ve ark, 1999).

**4. Diyabet:** Tip II diabetes mellitus kompleks bir metabolik hastalık olup hem insülin direnci hem de kısmi insülin eksikliği ile karakterizedir (Tokgözoğlu, 2003). Diyabet koroner arter hastalığının varlığına özdeş bir rizikoya sahip olduğu için risk faktörü olarak değerlendirilmede de ayrı bir yere sahiptir (Yüksel, 2006).

Diyabet KAH eşdeğeri olarak görülmektedir. Yapılan pek çok epidemiyolojik çalışma, hem insüline bağımlı hem de bağımlı olmayan diyabetin kritik bir koroner risk etkeni olduğunu göstermektedir (Aronson ve Rayfield, 1996).

**5. Sigara:** Değiştirilebilir risk faktörlerinin en önemlisi olan sigara, ülkemizdeki yaygın kullanımı nedeniyle özel bir önem taşımaktadır. TEKHARF verilerine göre sigara kullanımının Türkiye'de görülme sıklığı erkek cinsiyette 10,4 milyon, kadın cinsiyette ise 3,9 milyon kişidir (Onat ve ark, 2007; Keleş, 2008).

Kronik tütün kullanımıyla birlikte HDL düzeyinde bir düşüş, prototip bir akut faz proteini olan C-Reaktif Protein düzeyinde ve fibrinojen konsantrasyonunda bir artış, sekonder polistemi ve kan viskozite artışı (kan akışında yavaşlama ve hidrostatik basınçtaki artış ile damar frajilitesinin artması) neticesinde endotel disfonksiyonu gelişebilmektedir. Ayrıca sigara tüketimiyle birlikte artan serbest radikal oluşumu ile eksojen ve endojen antioksidanların aşığı regüle olmasıyla da endotel hücrelerde, monositlerde ve vasküler düz kas hücrelerinde disfonksiyon meydana gelerek aterosklerotik plak oluşumu artmaktadır (Jonas ve ark, 1992; Barnoya ve Glantz, 2005). Uzun süreli sigara kullanımı endotel hücrelerine direkt

toksik etki yapmaktadır. Sigara nitrik oksit inaktivasyonunu, HDL, LDL oksidasyonunu ve sistemik inflamatuvar cevabı artırmaktadır (Barnoya ve Glantz, 2005).

Aktif sigara tüketiminin yanı sıra pasif içicilik de koroner dolaşımda endotel disfonksiyonu oluşturabilmektedir (Ridker ve ark, 2005). Böylece pasif içiciliğin de koroner riski artırdığı gösterilmiştir.

**6. Sedanter Hayat:** Günümüzde süratle gelişen teknoloji, insan gücüne duyulan ihtiyacı giderek azaltmış ve bunun neticesinde insan, egzersiz eksikliğiyle de doğal yapısına uymayan hareketsiz (sedanter) bir yaşam biçimi benimsemiştir. Günümüzdeki bu az hareket, Hypokinetic Disease (hareket azlığı hastalıkları) adı verilen yeni bir hastalık grubunun doğmasına neden olmuştur ve bu hastalıklar, özellikle de bu grubun ilk sıralarında yer alan kalp-damar hastalıkları günümüzde en çok mortalite oranı olan hastalıklardır (Karacan, 2003).

Sedanter hayat tarzı, oldukça önemli bir takım sağlık problemlerini de beraberinde getirmektedir. Özellikle böyle bir yaşam tarzı benimseyen orta yaş ve üzeri dönemlerdeki bireylerde yüksek tansiyon, obezite, kas zayıflığı, postürel bozukluk, diyabet ve koroner arter risk faktörlerinin artması gibi pek çok problem yaygın olarak görülmektedir (Karacan, 2003). Sedanter yaşam tarzı doğrudan ve dolaylı olarak kardiyak riskleri ortaya çıkarmaktadır. Kalp kasındaki zayıflama ve pompalama işlevinin aktivitesini kaybedip dolaşımın daha tesirsiz hale gelmesi doğrudan risklerdir. Dolaylı riskler ise kandaki LDL kolesterol seviyesinin yükselmesi, hipertansiyon ve şişmanlığın artması olarak sıralanabilir (Solak ve ark, 2010).

**7. Şişmanlık ve İnsülin Direnci:** Obezite sadece görsel bir sorun değil, aynı zamanda kronik hastalıklara zemin hazırlayan bir etkidir (Thomson ve ark, 1999). Her sene yaklaşık olarak 300.000 insanın obezitenin meydana getirdiği müzmin rahatsızlıklar sebebiyle öldüğü rapor edilmektedir (Prentice, 1997). Çalışmalar obezitenin hipertansiyon, dislipidemi, diyabet, kardiyovasküler sistem hastalıkları ve kolon, endometrium, safra kesesi ve meme gibi belirli tipteki kanserlere yakalanma risklerini artırdığını göstermiştir (Eker ve Şahin, 2002). Obezite sadece insülin direncine ve diyabete sebebiyet vermez ayrıca aterosklerotik dislipidemiye de yol açar (Alizadeh ve ark, 2008; Yudkin ve ark, 1999). Dünya Sağlık Örgütü'nün obezite

değerlendirmesi için kullanılan beden kitle indeksi (BKİ) ile yaptığı sınıflamaya göre; 18.8-24.9 normal, 25-29.9 kilo fazlalığı, >30 obezite, >40 ileri derecede obezite olarak tanımlanmaktadır. BKİ'deki bir birimlik artış koroner kalp hastalığının mortalitesinde %4-5 artışa neden olmaktadır (National Institutes of Health, 1998). C reaktif protein ve lipoprotein-A düzeylerinin de obez bireylerde normal bireylere oranla yüksek olduğu gösterilmiştir. Kardiyovasküler hastalık riskini artıran bir alt grup da abdominal obezitedir ve karın içi yağ kitlesinin artışı ile karakterizedir (Rao ve ark, 2001).

Klinik bir durum olan insülin direnci sendromunda, bozulmuş glikoz toleransına ek olarak inflamasyon, dislipidemi, hiperinsülinemi, hipertansiyon, obezite ve hiperkoagülabilité bulunmaktadır. İnsülin direncinin temelinde yer alan patofizyolojik mekanizmayı hedefleyen tedavi stratejilerinin aynı zamanda kardiyovasküler hastalıkların meydana gelmesini önlemede de oldukça etkin olacağı düşünülmektedir (Bell, 2004).

**8. Emosyonel Stres:** Bedensel güdülerimize ya da dışarıdan gelen uyarıcılara karşı kalıtsal, türe has ve önceden ayarlanmış olan belli tepkiler veririz. Emosyonlar, genelde hayatta kalmak amacına yönelik geliştirilmiş ve sahnesi vücut olan davranış kalıpları olarak tanımlanır. Emosyon dediğimizde anlaşılacak olan, uyarıcıya veya düşünceye karşılık olarak iç ortamdaki değişmeyi takiben bir davranışsal yanıtın meydana gelmesidir (Savrun, 2005).

Türk Kardiyoloji Derneği (TKD)'nin 2002'de yayınladığı Koroner Kalp Hastalığı Korunma ve Tedavi Klavuzu'nda "Psikososyal Etkenler" başlığı altında "ruhi depresyon, kaygı durumu, düşmanlık duygusu ve sosyal yalnızlık gibi psikososyal etkenler sigara içme gibi riskli davranışlara eşlik etmenin yanı sıra sempatik sinir sistemini aktive etmeyi de içeren doğrudan fizyopatolojik mekanizmalar yoluyla koroner kalp hastalığı riskini arttırırlar" ifadesi yer almaktadır. Koroner arter hastalığı gelişiminde ve ilerlemesinde psikososyal etkenlerin öneminin uzun süredir tartışılmasının yanı sıra oldukça kapsamlı bir literatür bilgisi psikososyal etkenlerin koroner arter hastalığının patogenezinde oldukça büyük katkıları olduğunu göstermektedir (Rozanski ve ark, 1999). İnsanlarda emosyonel stresle koagülasyon anormalliklerinin ortaya çıkabileceği de bilinen gerçeklerdendir (EUROSAPIRE Study Group, 1997).

**9. Homosistein Yüksekliği:** Homosistein, insan plazmasında hem homosisterin (sülfürlü indirgenmiş form) hem de homosistin (disülfidli oksitlenmiş form) şeklinde bulunabilen, metiyonin metaboliti, sülfürlü bir aminoasittir. 1969 yılında, McCully tarafından ilk defa kardiyovasküler hastalıklarla plazma homosistein düzeyindeki artışın klinik ilişkisi gösterilmiştir (McCully, 1969). Normalde homosistein plazmada birikir. Sıvı halde oldukça dayanıksızdır ve miktarı çoğalınca oksidasyonla homosistine döner. Sağlıklı bireylerin idrarındaki homosistein tespit edilemeyecek kadar azdır (Temel ve Özerol, 2002).

Total homosisteinin (tHcy) çeşitli mekanizmalara yaptığı etki sayesinde vasküler hasara neden olabileceği öne sürülmüştür. Bu mekanizmalar arasında, lipid oksidasyonu, endotel disonksiyon, ekstrasellüler matriks proliferasyonu, düz kas hücre proliferasyonu, sitotoksikite veya koagülasyon ve trombositler sayılabilir (Bellamy ve McDowell, 1997). Aterojenez, sonucunda gelişen ateroskleroz ve komplikasyonlarına eşlik eden trombozda homosisteinin rolü tam olarak bilinmemektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda, hiperhomosisteineminin doğrudan vasküler endotel hücrelerinde hasar oluşturabileceği, endotelin antikoagulan özelliğini prokoagulan dönüştürebileceği ve *in vitro* şartlarda düz kas hücrelerinin proliferasyonuna neden olabileceği ortaya konmuştur (Tsai ve ark, 1994; Tang ve ark, 1998). Ayrıca homosistein, vasküler düz kas hücrelerinde mitogenez ve sitotoksik etki ortaya çıkarabilir (Chen ve ark, 2000).

Damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunda gözlenen aşırı artışta homosisteine maruz kalmanın rolü büyüktür. Homosisteine bağlı olarak üretilen ROS, düz kas hücre proliferasyonunda temel işlev gören NF-κB transkripsiyon etmen etkinliğini uyardığı düşünülmektedir (Seshadri ve Robinson, 2000).

Centro laboratuvarları tarafından homosistein konusunda yapılan bir çalışmada, homosisteinin yüksek miktarının ölümcül veya ölümcül olmayan aterosklerotik vasküler hastalığın görülme riskini koronerlerde 1.7, serebral dolaşımda 2.5 ve periferik dolaşımda da 6.8 kat artırdığı belirlenmiştir. Yine bu çalışmanın analizinde vasküler risk ve homosistein arasında paralel bir ilişki olduğu ve tHcy miktarındaki her 5 µmol/L'lik yükselişe karşılık KAH riskinin erkeklerde %60 ve kadınlarda %80 oranında arttığı saptanmıştır (Centro Laboratuvarları).

## **2.7.İnternal Mammarian Arter Dokusu ve By-pass Uygulamasındaki Tercih Sebepleri**

Vasküler duvardaki yapısal modifikasyonlarla ve embriyogenez ve neovaskülarizasyon gibi adaptif yanıtlar sırasında meydana gelen vasküler gelişimsel değişikliklerle ilişkili fizyolojik süreçler “vasküler yeniden modellenme” olarak adlandırılır (Korshunov ve ark, 2007; Cowan ve Langille, 1996). Vasküler yeniden modellenme, rutin endotelial değişimin ve sırasıyla vasküler bütünlüğü ve fonksiyonu sürdürmek ve trombozu önlemek için hasarlı damar duvarı onarımının oldukça önemli bir mekanizmasıdır (Krankel ve ark, 2014).

Koroner arter, tıkanmanın büyümesine bağlı olarak daralır ve nihayetinde, tıkanıklığın olduğu bölgede kan akışını yeniden yönlendirecek şekilde yeni bir damar ağının oluşması olarak tanımlanan “kolleteral dolaşım” geliştirebilir. Her ne kadar bu bir önlem olsa da aşırı efor veya stres meydana geldiği zamanlarda, bu yeni arterler kalp kasına oksijence zengin kan sağlama konusunda yetersiz kalabilirler. Kalbe normal kan akışını yeniden sağlamak için bir kan damarı grefti ile bir veya daha fazla tıkanmış koroner artere bypass (Koroner Arter Bypass Greftleme [CABG]) yapılır (Sydell ve Arnold Miller Family Kalp ve Damar Enstitüsü, 2000-2009). Koroner bypass, kelime anlamı olarak “uğramadan geçme” demektir, burada bahsedilen “kan”ın koronere uğramamasıdır, dolayısıyla koroner bypass, bir kısmında darlık oluşmuş hasta arterin sağlıklı kısmına kanın ulaşmasını sağlamak anlamına gelmektedir. Bu olay “greft” adı verilen vücudun başka yerlerinden alınıp koronere dikilen başka damarlar sayesinde gerçekleştirilir (Oğuş, 2014). Greftler genellikle hastanın göğüs, kol veya bacağındaki kendi arter ve toplardamarlarından gelir. Greft, tıkanan arterin (veya arterlerin) çevresinden dolaşım kalbe oksijence zengin kanın akması amacıyla yeni yollar oluşturur (Sydell ve Arnold Miller Family Kalp ve Damar Enstitüsü, 2000-2009). CABG, günümüzde en sık yapılan kalp ameliyatlarından biridir.

Arteriyel greft ve venöz greft olmak üzere iki ayrı greft tipi bulunmaktadır. İMA, radial arter, sağ gastroepiploik arter ve inferior epigastrik arter sırasıyla en sık kullanılan arteriyel greftlerdir. Arteriyel greftler, venöz greftlere göre plak gelişmesine ve oklüzyona daha dirençlidir, fakat venöz greftlerin temini daha kolay olduğu için kullanımda daha çok tercih edilirler (Cox ve ark, 1991).

Koroner arter bypass cerrahisinde, greft olarak ilk kez 1964 yılında Kolesov tarafından sirkumfleks arterin marginal dalına kullanılan İMA (Bashour ve ark, 1986) son yıllarda yapılan çalışmalarla bugün koroner arter by-pass cerrahi uygulamalarında sağlıklı dokuya en çok benzeyen greft olduğu saptanmıştır. Rus cerrah Kolesov tarafından ilk defa gerçekleştirilen bu CABG ameliyatı hem koroner bypass ameliyatı alanında hem de “çalışan kalpte” gerçekleştirilmesi açısından bir ilk olma özelliği taşımaktadır (Oğuş, 2014). İMA greftleri, aterosklerotik değişikliklere dirençli, dolayısıyla yüksek patentlik oranına sahip greftlerdir (Dursun ve Şanlı, 2013). Bu durum da İMA dokusunu ilk tercih edilen kondüit yapmaktadır. Çünkü, İMA kullanımı erken ve uzun dönem hayatta kalma üzerinde olumlu etkiye sahiptir, bununla da kalmayıp CABG sonrasında da daha sorunsuz bir sürvi sağlar (Mery ve Turek, 2011). İMA dokusuna ait en önemli özellik, insanlarda elastik yapıya sahip tek periferik arter olmasıdır (Yazıcıoğlu ve ark, 1999). Bu greftler, duvarlarında internal elastik lamina ve adventisya tabakalarında vazovazorum bulunmadığı için intimal hiperplazi ve sellüler göçe karşı direnç gösterir (Motwani ve Topol, 1998). Ayrıca medya tabakalarında musküler hücrelerin daha az oranda bulunması ve medya tabakanın ince olması vazokonstriksiyona eğilimi azaltır. Ateroskleroza karşı direnç oluşturmada endotelyumun sentezlediği prostoglandinler gibi trombosit inhibitörlerinin ve NO gibi vazodilatörlerin de katkısı vardır (Douglas, 1994). İMA, arterin çıkarılması sırasında meydana gelebilecek olan endotel hasarına karşı da dirençli olduğundan ateroskleroz gelişimi gözlenmez (Mery ve Turek, 2011).

İMA'larda, %2 oranında bir aterosklerotik değişiklik görüldüğü rapor edilmiştir (Krijne ve ark, 1990). Yaşa bağlı olarak İMA'larda herhangi bir dejenerasyon oluşmadığı, ilerleyen yaşlarda da İMA'nın yine aynı fizyolojik niteliklerini koruduğu gözlenmiştir (Yazıcıoğlu ve ark, 1999). Altmış beş yaş altındaki hastaların İMA'larında aterom saptanması çok nadirdir. Bu nedenle bir koroner artere greft olarak uygulandığında intimal hiperplazi değişimi, safen ven greftlere oranla çok daha seyrek olmaktadır. Bununla birlikte İMA tıkanıklığının yine de görülmesi, aterosklerotik nedenlerden çok mekanik nedenlerden kaynaklanmakta gibi görünmektedir (Sağ ve ark, 1997). Pratikte İMA greftinde düzenli, parabolik ve laminar akım özelliği gözlenir ve bundan dolayı bu grefte duvar shear stresi yüksektir. Duvar shear stresinin yüksek olması; endotelyal yanıtı harekete geçirir,

nötrofil adezyonuna karşı direnç geliştirir ve düz kas hücrelerinin proliferasyonunu engeller. Duvar shear stresinde gelişen azalma ise arteriyel çapı küçültür ve intimal hiperplazi ve ateroskleroz gelişimini tetikler (Sterpetti ve ark, 1993).

Sol internal mammarian arter (LİMA) ve sağ internal mammarian arter (RİMA), çapları 1-3 mm boyutunda olan ve sol/sağ kol atar damarlarından çıkıp göğsün iki tarafından karın kaslarına doğru ilerleyen atardamarlardır. Bu atardamarların her iki yanında da göğüs duvarı, sternum ve kaburgaları besleyen yan dallar vardır. Karın içinde İliac arterlere kadar ulaşırlar, vücudun doğal arterinden oluşmuş, kollardan bacaklara doğru birer köprü damarlarıdır. Bu özellikleri sebebiyle çıkarılıp vücudun başka herhangi bir yerinde kullanılması, sağlıklı bireyde eksiklik gibi bir sorun oluşturmaz (Oğuş, 2014). Hem sağ hem de sol İMA greftleri *in situ* greft uygulamasında kullanılırlar, ancak sol İMA *in situ* greft olarak sağ İMA greftlerine oranla daha fazla tercih edilmektedir (Gurevitch ve ark, 2003). Sağ ve sol İMA arasında fizyolojik ya da morfolojik bağlamda herhangi bir farkın saptanmadığı ve hedefteki koroner arterin ve onun anatomik lokasyonunun önemli noktayı oluşturduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Chow ve ark, 1994).

## **2.8.Kodlama Yapmayan RNA'lar**

İnsan genomu zarif fakat şifreli bir bilgi deposudur. Yaklaşık üç milyar baz çifti, doğrudan ya da dolaylı olarak, insan hücre, doku ve organlarının her bir formunun neredeyse bütün moleküllerinin sentezi için talimatları kodlar (The ENCODE Project Consortium, 2007). İnsan genom dizisi, 24 kromozomun her biri için son derece doğru DNA dizisini sağlar (International Human Genome Sequencing Consortium, 2004). Ancak, insan genomunun yalnızca protein kodlayan transkriplerden değil aynı zamanda çok sayıda ve farklı büyüklükteki ncRNA'dan oluştuğu bugün açıkça görülmektedir (Birney ve ark, 2007; Kapranov ve ark, 2007). Kodlama yapmayan bu transkriptler boyları, biyogenezleri, polariterleri ve olası fonksiyonlarına dayalı olarak çeşitli sınıflara ayrılırlar (Brosnan ve Voinnet, 2009). Bu ncRNA'ların fonksiyonel yedi sınıfını belirlemek ve tanımlamak otuz beş yıldan fazla zaman almıştır: ribozomal (r), transfer (t), küçük nükleer (small nuclear / sn), antisense (AS), küçük nükleolar (small nucleolar / sno), mikro (mi) ve Piwi-etkileşimli (pi) (Willingham ve Gingeras, 2006).



NcRNA'ların, gen ifadenmesi için güçlü ve özgün düzenleyiciler olarak rol oynadıkları bugüne kadar yapılan çalışmalarla hemen hemen tüm türlerde kabul görmüştür. NcRNA'lar tarafından yapılan düzenleme; mRNA transkripsiyonu, splicingi, eksportu, kararlılığı ve translasyonu gibi çeşitli basamakların hem pozitif hem de negatif düzenlenmesini etkileyebilir. NcRNA'ların ifadenmesi genellikle, stres ve çevresel uyarılar tarafından düzenlenmektedir ve belirli gelişimsel aşamalardaki pek çok farklı ncRNA'nın birikimi ya da çok hücreli organizmalarda, özgün hücre tiplerinde hatta belirli hücre-içi alanların içinde bulunmaları önemli ve sıkı kontrollü biyolojik rollerinin olduğunu düşündürmektedir (Brosnan ve Voinnet, 2009). Son yıllarda elde edilen pek çok veri de yine protein kodlamaktan sorumlu olmayan bu ncRNA'ların kardiyovasküler hastalıkların da dahil olduğu pek çok hastalığın gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Nishiguchi ve ark, 2014).

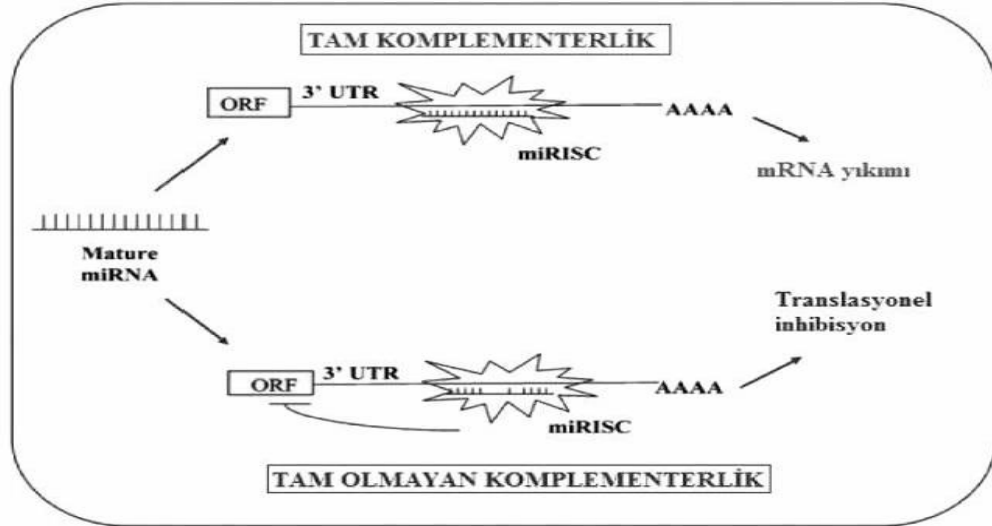
### 2.8.1. MikroRNA'lar

miRNA'lar, intergenik alanlarda, intronlarda ya da kodlayan dizilerde bulunan öncül kök-halka (stem-loop) yapısından Dicer enzimi tarafından üretilen 20-24 nt uzunluğundaki RNA'lardır (Brosnan ve Voinnet, 2009). Yüksek seviyede korunmuşluğa sahip, miRNA kodlayan yüzlerce genin varlığı keşfedilmiş durumdadır ve günümüz itibaiyle 1000'in üzerinde miRNA insan genomunda tanımlanmıştır (Saydam ve ark, 2011).

miRNA ailesinin ilk keşfedilen üyeleri, bir toprak solucanı olan *Caenorhabditis elegans*'ın gelişimi sırasında gözlenen ve spesifik ifadenme modelleri sebebiyle "küçük geçici RNA'lar" olarak tarif edilen "linage-4 (*lin-4*)" ve "lethal-7 (*let-7*)"dir (Saydam ve ark, 2011). miRNA'lar ilk kez Victor Ambros laboratuvarlarında, Lee ve çalışma arkadaşları tarafından 1993 yılında keşfedilmiştir (Lee ve ark, 1993). Lee ve arkadaşları 1993 yılında *C. elegans*'ı gen içeriği bakımından taramışlar ve larva gelişiminin zamanlamasını kontrol ettiği bilinen *lin-4* ismini verdikleri genin herhangi bir protein kodlaması yapmamasına rağmen 22 nt uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiğini bildirmişlerdir. miRNA *lin-4*'ün, *lin-14* mRNA'sının translasyonunu baskıladığını göstermişlerdir (Lee ve Ambros, 2001). 2000 yılında ise bu defa Reinhart ve çalışma arkadaşları yine *C. elegans*'ta 22 nt uzunluğunda, *let-7* olarak isimlendirilen ve canlıının gelişim zamanlamasının düzenlenmesini sağlayan

başka bir miRNA'nın varlığını tespit etmişlerdir (Reinhart ve ark, 2000). Ancak, keşfedilen bu genetik materyale ilk defa 2001 yılında "mikroRNA" ismi verilmiştir (Lee ve ark, 1993; Ruvkun, 2001). İlerleyen senelerde *lin-4* ve *let-7*'ye benzeyen pek çok küçük RNA molekülü, aşağı yukarı bütün çok hücreli organizmalarda keşfedilmiş ve hepsi için "miRNA" terimi kullanılmıştır (Saydam ve ark, 2011; Lagos-Quintana ve ark, 2001).

miRNA'lar, tamamlayıcı dizilerdeki spesifik mesajlara tamamen ya da kısmen bağlanabilmek için RNA-indüklü susturucu komplekslerin (RISC) rehberliğindeki baz eşleşmesini kullanırlar. Hedeflenen mesajların baskılanması RISC'in işin içine girmesinin genel bir sonucudur ve translasyonel inhibisyon yoluyla eksonükleolitik mRNA yıkılmasında bir hızlanma ya da miRNA-mRNA çiftlerinde kesilmeler meydana gelebilir. miRNA'lar, gelişmede, stres adaptasyonunda ve hormonal sinyallerde hayati rollere sahiptirler ve bunların kökenleri, biyogenezi ve faaliyetleri ile başlangıçta beklenenden çok daha fazla ilişkili görünmektedirler (Brosnan ve Voinnet, 2009). miRNA'ların hedef mRNA ile komplementerliği tam ise mRNA'nın parçalanmasıyla, komplementerlik daha az ise translasyonun baskılanmasıyla sonuçlanır (Şekil 7) (Paranjape ve ark, 2009).



**Şekil 7:** MikroRNA'nın hedef mRNA'ya bağlanması (Paranjape ve ark, 2009).

miRNA'lar tümör baskılayıcılar ve onkogenler (örneğin; Bcl2, Ras, Myc ve E2F'nin düzenlenmesiyle) gibi davranabilirler ve hücrel proliferasyonu ve apoptozisi düzenleyebilirler. İnsan genomunda yüzlerce miRNA olduğu tespit edilmiştir ve sayısal analizler insan genlerinin %20-%30'undan daha fazlasının

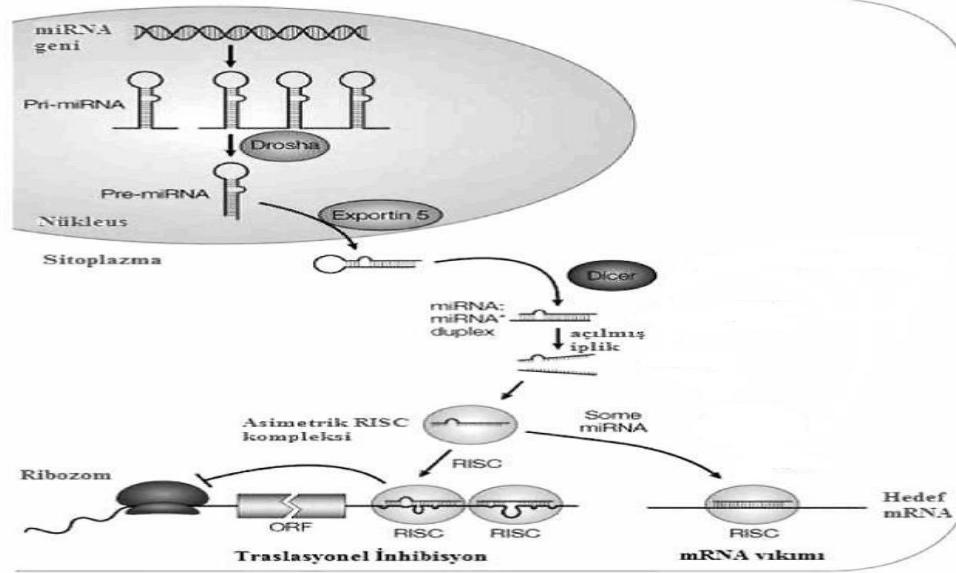
miRNA'lar tarafından düzenlendiğini göstermektedir. Mikroarray deneyleri de bu görüşü desteklemektedir, hedef mRNA'ların büyük bir kısmının miRNA aracılıklı bir şekilde down-regüle olduğu ortaya çıkarılmıştır (Willingham ve Gingeras, 2006).

### 2.8.2. MikroRNA'ların Biyogenezi

miRNA'lar, hairpin (saç tokası) formundaki genomik sekanslardan ifadelenirler (Şekil 8). Bu RNA saç tokası yapıları Rnaz-III enzimine benzer olan Dicer ve Drosha enzimleri tarafından tanınır (Lagos-Quintana ve ark, 2001; Lau ve ark, 2001; Lee ve Ambros, 2001). Bir çok durumda, miRNA'ları şifreleyen genomik diziler, omurgalı evrimi boyunca ve böcekler ve diğer kurtçuklar gibi türlerde korunmuştur (Sharp, 2009). Bir kriter olarak hedef dizilerin evrimsel korunmuşluğu kullanılarak, miRNA'ların omurgalılarda tüm mRNA'ların yaklaşık %50'sinin düzenlediği tahmin edilmektedir (Friedman ve ark, 2009). Bu düzenlemeye temelde mRNA'nın 3' çevrilmeyen bölgesinin (3' UTR) içindeki dizinin tanınması aracılık eder. miRNA'ların "tohum" dizisini tamamlayıcı korunmuş diziler (bazılar miRNA'nın 5' ucundan 2-7 pozisyonlarını kaplarlar) herhangi bir normalizasyon protokolünden beklenenden 3 kat daha yüksek frekansta bulunurlar. Genelde, tüm mRNA'ların yarısı kısa 3' UTR'ye sahip gibi görünmektedir ve bu tip düzenleme için uygun hedef değildir, oysa uzun 3' UTR'si olanlar genellikle hedef durumundadırlar. Uzun 3' UTR'si olan bu RNA'lar, ortalama olarak, 3' UTR başına dört korunmuş miRNA hedef sitesi içerir. Bu nedenle, bu sistemlerde miRNA tarafından yapılan gen ifadenmesinde kapsamlı bir düzenleme mevcuttur. Son kanıtlar aynı zamanda kanser ve otoimmün yetersizlikler gibi birçok hastalığın da miRNA'lar tarafından yapılan düzenlemelerdeki değişikliklerle ilişkili olduğunu göstermiştir (Sharp, 2009).

miRNA'lar (~22 nt), mRNA bozulmasını ve/veya translasyonel baskılanmasını uyarırlar. miRNA'nın 5' ucunda bulunan 2-7 nükleotid "çekirdek (tohum)" olarak isimlendirilir ve hedefle hibridizasyon için önemlidir (Bartel, 2009). Bir sınıf olarak miRNA'lar, her bir miRNA türü uzaysal-zamansal olarak özgün bir ifade modeli gösteriyor olmasına rağmen bütün dokularda bulunur. Bir miRNA, lokal bir saç tokası yapılanmasını içeren uzun bir ilkin transkriptten (pri-miRNA) köken alır (Kim ve ark, 2009). Hayvanlarda, nükleer Rnaz-III Drosha, saç tokası şeklindeki öncü miRNA'nın (pre-miRNA) açığa çıkmasını sağlar. Sitoplazmik Rnaz-III Dicer, fonksiyonel miRNA zinciri ve yolcu (\*) zinciri içeren bir küçük RNA dubleksini

(miRNA/miRNA\*) oluşturmak için terminal loop’u (döngüyü) kaldırır. Dupleks daha sonra, fonksiyonel miRNA zincirinin (olgun miRNA’nın) Ago’ya eklenmesini sağlayan Dicer, TRBP (Transaktivasyondan sorumlu RNA bağlayıcı protein) ve Argonat’tan oluşan “Argonat Yükleme Kompleksi”ne bağlanır (Kim ve ark, 2010).



**Şekil 8:**miRNA biyogenezi (Paranjape ve ark, 2009).

İnsanlarda miRNA’ları kodlayan genlerin transkripsiyonu RNA pol II tarafından nükleusta gerçekleştirilir. 1 kb’dan daha büyük diziler halinde transkribe olan molekül primer miRNA (pri-miRNA) olarak adlandırılır ve pri-miRNA’ların 5’ cap ve 3’ poly A kuyrukları vardır. Pri-miRNA, Drosha enzimi ve kofaktör proteini Pasha (DiGeorge sendromu kritik bölgesi 8/DGCR8) ile kesilerek ~70 nt’lik öncül molekül pre-miRNA’yı oluşturur. Drosha bir nükleaz, Pasha ise çift iplikli RNA bağlayan bir proteindir, ikisinin oluşturduğu kompleks ise “mikro işlemci kompleks (micro-processor complex)” olarak adlandırılır. Pre-miRNA’nın nükleustan sitoplazmaya taşınması ise nükleer taşıma reseptörü eksportin-5 ve nükleer protein Ran-GTP aracılığı ile olur. Sitoplazmada pre-miRNA, TRBP ve Dicer tarafından kesilir ve sonuçta bir zinciri kılavuz miRNA, diğer zinciri (yolcu zincir) kılavuz miRNA’ya eşlenik diziyi barındıran çift zincirli molekül oluşur. Dicer, öncelikle pre-miRNA’nın sap-ilmik yapısını keser daha sonra RISC’in içinde bulunan ve bir Rnaz olan argonatın etkisiyle miRNA dupleksinden 5’ ucu daha stabil olanı kılavuz iplik olarak tayin eder. Olgun miRNA dizileri köken aldıkları öncül sap-ilmek kolunun

hangisi olduğunu temsil etmek için miRNA-5p veya miRNA-3p olarak adlandırılır. Bu çift zincirli molekülün kılavuz zinciri RISC ile birleşir ve hedef mRNA dizisinin inhibisyonuna neden olur veya translasyonunu engeller, yolcu zincir ise parçalanır (He ve Hannon, 2004; Saydam ve ark, 2011; Shomron ve Levy, 2009; Lee ve ark, 2003; Esquela-Kerscher ve Slack, 2006; Feinver ve Moore, 2016).

### **2.8.3. MikroRNA'lar ve Ateroskleroz**

miRNA'ların çoğu doku, hücre ve/veya hastalığa spesifik tarzda eksprese olduğundan onların ekspresyon paternleri altta yatan patofizyolojik olayları yansıtmaktadır (Small ve ark, 2010). Yapılan son çalışmalar ile miRNA'lardaki mutasyonlar ve ekspresyon düzensizlikleri ile birçok hastalık arasında direkt bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Lawrie ve ark, 2008). miRNA'lar organizmada birçok biyolojik süreçte görev aldığı için, miRNA genlerinde meydana gelen çeşitli mutasyonlar hastalıklara neden olabilmektedir. miRNA'ların başta kanser olmak üzere, kardiyovasküler bozukluklar, inflamatuvar hastalıklar, infeksiyonlar, gelişimsel bozukluklar, müsküler bozukluklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli hastalıklarla ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Lu ve ark, 2008).

Biriken çalışmalar, aterosklerotik plak gelişimi ve gerileme dengesini değiştiren anahtar sinyalizasyon ve lipid homeostazi yollarının düzenlenmesinde miRNA'ların önemini ortaya koymuştur. miRNA'ların son zamanlarda hücrel adezyon, proliferasyon, lipid alımı ve salınımı gibi patofizyolojik süreçlerin önemli düzenleyicileri olarak ortaya çıkmaları ve inflamatuvar araçların oluşması, bu ateroskleroz yolları ve tanımlanan yeni tedavi hedeflerine olan etkilerine dair yeni moleküler bilgiler sağlamaktadır. Bunlara ek olarak, miRNA'ların dolaşımdaki kan da dahil olmak üzere hücre dışında tespit edilebilir olması, tanı ve prognoz için veya kardiyovasküler tedavilere yanıtta biyobelirteç olarak kullanım ihtimalini artırmıştır (Feinber ve Moore, 2016).

miRNA'lar, endotelial hücre, VSMC ve makrofaj fonksiyonlarını kontrol eder ve böylece aterosklerozun ilerlemesini düzenler (Madriral-Matute ve ark, 2013). miRNA'ların gen ifadenmesi düzenleyicisi olarak endojen fizyolojik rolüne ilaveten hücreler pasif ve/veya aktif olarak miRNA salınımı yaparlar ve böylece diğer hücrelerin gen ifadenmesini düzenleyen parakrin moleküller gibi fonksiyon gösterirler (Hergenreider ve ark, 2012; Vickers ve ark, 2011). Bu nedenle, kanser,

metabolit ve beyin hasarları ya da ateroskleroza da içeren çeşitli hastalıkların miRNA fonksiyon bozukluğuyla ilişkili olması şaşırtıcı değildir (Madrigal-Matute ve ark, 2013).

Kolesterol homeostazı hücre fiziolojisi için gereklidir ve hücreler ya da sistemik kolesterolün değişen seviyesi metabolik hastalıklarla ilişkilidir. LDL kolesterolün yüksek seviyeleri ya da HDL kolesterolün düşük seviyeleri gibi hücreler kolesterolün birikimini destekleyen dengesizlikler ateroskleroza tetikler. Bu bağlamda bakılacak olursa, HDL ve LDL'nin fazlalığını ve işlevini kontrol eden miRNA'ların son zamanlardaki keşfi, plazma lipoprotein seviyelerini idare eden düzenleyici devrelere dair olan anlayışımızı büyük ölçüde genişletmiştir (Feinberg ve Moore, 2016). Böylece, miRNA'ların kolesterol ve yağ asidi metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadıklarını söyleyebiliriz (Madrigal-Matute ve ark, 2013).

Sürekli hiperlipidemi ve değişmiş shear stress (kayma gerilmesi) damar duvarında aterosklerotik lezyon oluşumuna zemin hazırlar. Endotelial hücreler, biyokimyasal ve biyomekanik uyarılara cevap olarak aterogenezi tetikleyen, VCAM-1, ICAM-1 gibi bazı adezyon moleküllerinin ifadesinin erken indüksiyonu, E-selektinin damar duvarına lökosit alımını kolaylaştırması ve henüz olgunlaşmamış plaklar ile ilişkili en erken işaretler arasında olmasını sağlayacak moleküller ve hücreler anlamında bir dizi yapısal değişiklikler geçirirler (Libby ve ark, 2011). Çeşitli miRNA'lar doğrudan bu moleküllerin 3'UTR'lerini hedefleme kabiliyetleri sayesinde aterogenezi ilişkilendirilmişlerdir (Suárez ve ark, 2010).

Bağışıklık tepkileri aterogenezi şekillendiren önemli faktörlerdendir. Aterosklerozun erken patojenik olaylarından birisi arter duvarında endotelial disfonksiyonu ve lipoprotein tutulumunun olduğu bölgelere dolaşımdan monosit alınımıdır. Makrofajlara farklılaşmalarının ardından bu hücreler, damar duvarında lipid homeostazını sağlayarak ve arter duvarında hem immün hem de immün olmayan hücre tipleri üzerinde hareket eden inflamasyonu destekleyici arabulucuları salgılayarak aterosklerozda merkezi bir rol oynarlar. Henüz olgunlaşmamış plaklara makrofajlar tarafından lipoprotein alınımı, ateroskleroz işaretlerinden biri olan lipid-yüklü makrofaj köpük hücre formasyonu ile sonuçlanır (Moore ve ark, 2013). miRNA'lar, aterosklerozun ilerlemesini etkileyen bu anahtar makrofaj süreçlerinin her birine etki edebilir. Pek çok miRNA makrofaj kolesterol mekanizmasıyla

ilişkilendirilmiştir (Feinberg ve Moore, 2016). Makrofajlar, mikro-çevresel sinyallere yanıt olarak farklı aktivasyon programları başlatabilirler ve sürekli uzayan bir listesi olan miRNA'ların bazıları bu farklı fenotipler arasındaki dengenin düzenlenmesinden sorumlu tutulmaktadır (Moore ve ark, 2013). Diğer bazı miRNA'larsa makrofajların inflamatuvar uyarılara karşı cevabının artırılması ya da azaltılmasıyla ilişkilendirilmiştir (Feinberg ve Moore, 2016).

T-hücre (Th1, Th2, Th17 ve Treg) ve B-hücre alt populasyonları ateroskleroz gelişimini modüle edebilir. Bu nedenle, bağışıklık hücre farklılaşması ve fonksiyonunu düzenleyen miRNA'ların plak evriminde geniş etkilere sahip olması beklenir. İnsan T- ve B-hücre alt tiplerindeki miRNA ifade modellerine dair olan atlas son zamanlarda tamamlanmış ve T- ve B-hücre farklılaşması, aktivasyonu ve fonksiyonunun düzenlenmesindeki rolleri incelenmiştir (Rossi ve ark, 2011; Zernecke, 2012). Ancak, makrofajlarla karşılaştırıldığında bu immün hücre alt tiplerinin ateroskleroz sürecinde miRNA düzenlemesi yeteri kadar anlaşılammıştır (Feinberg ve Moore, 2016).

VSMC'ler, bir farklılaşma olarak kabul edilen kontraktıl fenotipleriyle vasküler duvar fonksiyonunun korunmasına katkıda bulunurlar. Vasküler yaralanmaya cevap sırasında, VSMC'ler, göçü, proliferasyonu ve inflamasyonu destekleyen sinyalleri indükleyen bir etkiye sahip olan sentetik fenotip dönüşümüne maruz kalırlar (Doran ve ark, 2008). Bazı miRNA'ların, transkripsiyon faktörleri, koaktivatörler, transfer büyüme faktörü- $\beta$  sinyal etkileyicileri ya da sitokinler/büyüme faktörleri gibi önemli VSMC düğüm düzenleyicilerinin düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (Feinberg ve Moore, 2016).

Son zamanlarda miRNA'lar karşımıza, gen ifadenmesinin hassas ayarlanmasıyla önemli endotel hücre fonksiyonu düzenleyicileri olarak da çıkmıştır (Sun ve ark, 2013). Tip 2 diyabeti olan hastalarda kardiyovasküler hastalık riski daha yüksektir ve endotel hücre fonksiyon bozukluğu ve vasküler inflamasyon da tip 2 diyabet patogeneziyle yakından ilişkilidir (Howard ve ark, 1996; Guerci ve ark, 2001). Pek çok miRNA'nın diyabetik koşullar altında endotel hücre fonksiyonu ile ilişkili olduğu ortaya çıkarılmıştır (Sun ve ark, 2013). Yaş da aterosklerozu da içeren kardiyovasküler hastalıklar için majör risk faktörleri arasında sayılmaktadır ve pek çok miRNA'nın endotel hücre yaşlanmasını modüle ettiği, erken ve geç insan göbek

vasküler endotel hücre (HUVEC) hatlarında yapılan ölçümlerle bulunmuştur (Vasa-Nicotera ve ark, 2011).

Aterosklerozun klinik belirtisi, ileri tromboz oluşumu, istikrarsızlık ve yırtılmanın bir sonucudur ve biz henüz sadece KVH ile olan potansiyel ilişkisini anlıyor olmamıza rağmen miRNA'lar bu senaryonun başlıca aktörleri gibi görünmektedirler (Madrigal-Matute ve ark, 2013).

#### **2.8.4. Dolaşımdaki MikroRNA'lar**

Dolaşım halindeki miRNA'ların iyi birer biyobelirteç, bir hastalığın ana oyuncularını ya da her ikisi olarak düşünülüp düşünülemediği hala bir tartışma konusudur (Madrigal-Matute ve ark, 2011). Yine de dolaşımdaki miRNA'lar, karaciğer yağlanması, ateroskleroz ve kanser gibi pek çok hastalıkta farklı miRNA profillerinin tanımlanmasından beri yeni hastalık belirteçleri olarak oldukça fazla bir potansiyele sahiptir (Cheung ve Sanyal, 2010; Fichtlscherer ve ark, 2011; Mmanus ve Ambros, 2011; Kosaka ve ark, 2010). Bu miRNA'lar, pek çok hücreden salınan endositik kökenli 30-90 nm boyundaki veziküllerde tespit edilebilir, ayrıca HDL partiküllerinde ya da AGO2-miRNA'lar gibi lipidsiz protein komplekslerinde bulunabilirler (Vickers ve ark, 2011; Chen ve ark, 2012; Creemers ve ark, 2012; Arroyo ve ark, 2011).

miRNA'lar hücreler ve dokular arasında taşınabilir. Kanda hem vezikül bağlantılı miRNA'lara hem de membran içermeyen miRNA'lara rastlamak mümkündür. Vezikül bağlantılı olmayan miRNA'ların Argonat 2 ve nükleofosmin gibi RISC proteinlerinin oluşturduğu protein kompleksleri tarafından kararlı hale getirildiği düşünülmektedir (Arroyo ve ark, 2011; Wang ve ark, 2010). Membrana bağlı miRNA'lar apoptotik cisimlerde, eksozomlarda ve mikroveziküllerde bulunur. miRNA'ların bu kesecikler içinde paketlenmesi rastgele olabilir, ancak aynı zamanda düzenlenmiş bir mekanizma öne sürülmüştür, örneğin Zernecke ve arkadaşları bazı miRNA'ların apoptotik cisimcikleri zenginleştirdiğini göstermiştir (Zernecke ve ark, 2009). Dolaşımdaki miRNA'lar aynı zamanda HDL partiküllerinde bulunur. miRNA'ların HDL ile hücresel eksportunun nötral sfingomyelinaz tarafından düzenlendiği ve alıcı hücrelere dağıtımının da çöpçü reseptör sınıfı B tip I bağımlı olduğu gösterilmiştir (Vicker ve ark, 2011).



Dolaşımdaki miRNA'ların sadece kanda bol miktarda bulunması ile değil aynı zamanda oldukça kararlı bir yapı göstermesi nedeniyle klinikte hastalıkların tanısı ve prognozunda önemli bir biyobelirteç olarak kullanılabilmesi gösterilmiştir. Yapılan son çalışmalarla miRNA'ların başta kan olmak üzere çeşitli vücut sıvılarında varlığı potansiyel klinik biyobelirteçler olarak kullanımını mümkün kılmıştır. miRNA'lar plazmada bulunan RNAaz'lara oldukça dirençlidirler. Bunların yanı sıra miRNA'ların kaynatma, yüksek-düşük pH, uzun süreli depolama, dondurup çözme gibi zor koşullara dayanıklı olduğu da bildirilmiştir (Mitchel ve ark, 2008).

Dolaşımdaki miRNA'lar, onları dikkat çekici aday moleküler biyobelirteç yapacak pek çok özelliği vardır. Kararlıdır ve evrimsel olarak korunmuşlardır, ayrıca ifadelerinde meydana gelen değişiklik sıklıkla doku ya da hastalığa özgüdür. Ürün, plazma, serum ve beyin omurilik sıvısı gibi pek çok vücut sıvısında da varlıkları tespit edilmiştir ve kantitatif PCR dizilemeyle hassas ve özgül miRNA belirlemesi yapmak mümkündür (Creemers ve ark, 2012).

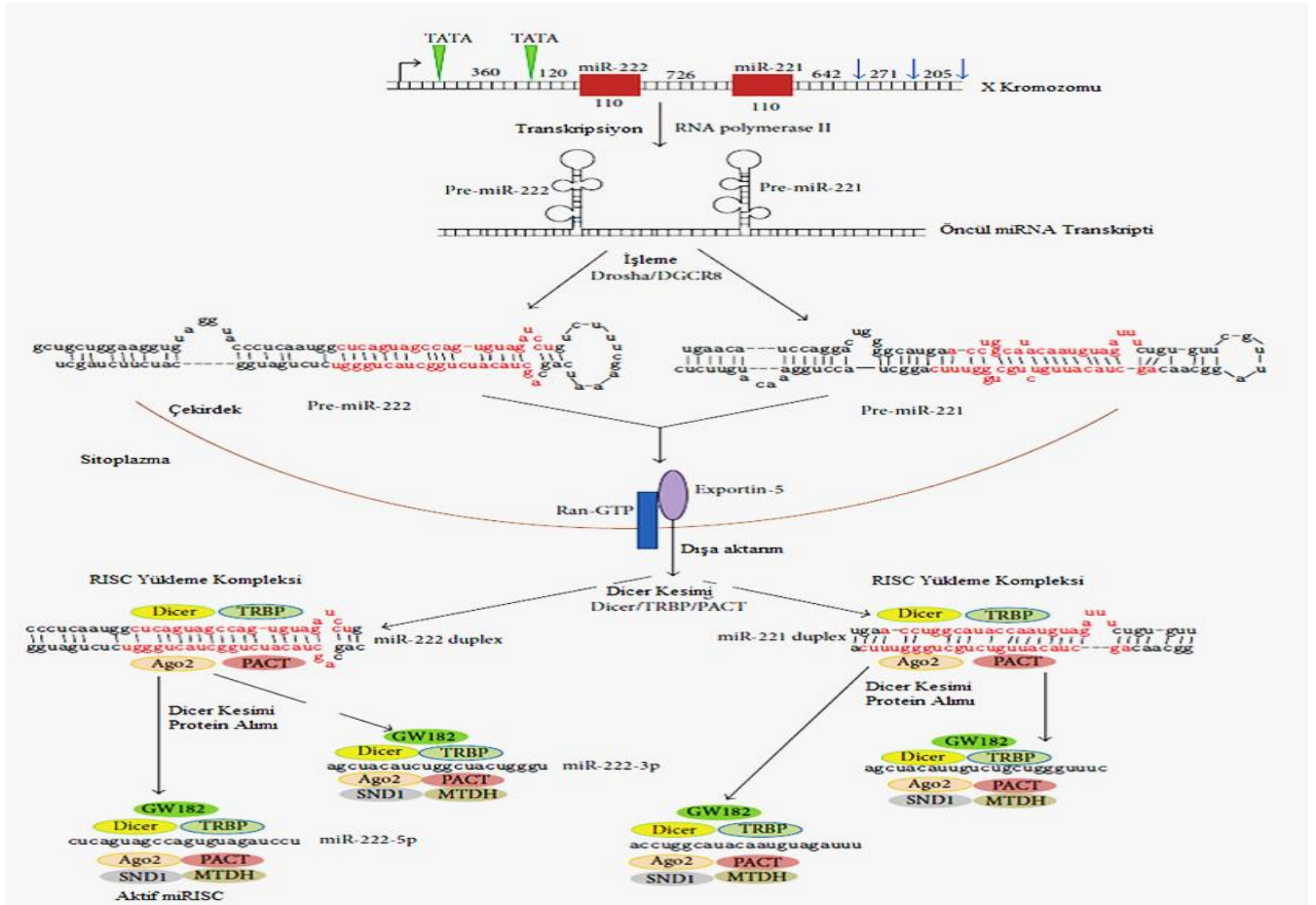
Eksozomlara miRNA girişini, dağıtımını, hedefleme yapmasını ve algılanmasını yöneten mekanizmasını anlamaya yönelik çalışmalara karşı oldukça büyük bir ilgi söz konusudur. Bu bağlamda, dolaşıma salınan miRNA'larla ilgili yapılacak ileri araştırmaların kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde ve yine bu miRNA'ların potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanımında yeni kapılar açması muhtemeldir (Madrigal-Matute ve ark, 2013).

### **2.8.5. MikroRNA-221 ve MikroRNA-222**

miR-221/222 kümesi vasküler biyolojide, VSMC ve endotel hücrelerde gösterdikleri etkiyle anahtar bir oyuncudur (Chistiakov ve ark, 2014). İnsan miR-221 ve paraloğu olan miR-222, VSMC'lerdeki fenotipik değişikliklerle ve endotel hücrelerin anjiogenik özelliklerinin etkilenmesiyle damar ağında önemli aktiviteler göstermektedir (Poliseno ve ark, 2006; Davis ve ark, 2009).

İnsan DNA'sında miR-221/222 gen kümesi kromozom Xp11.3 konumunda yerleşmiştir (Şekil 9) (Di Leva ve ark, 2010). miR-221 ve miR-222 genleri 726 bp'lik bir mesafeyle birbirlerinden ayrılırlar. Her iki genin nükleotid dizisi de birbirleriyle oldukça yüksek benzerlik taşır. Aslında, bu genler atasal genin duplikasyonu ile oluşan iki paralog genidir. Bu genler, RNA polimeraz II ile tek bir uzun kodlamayan RNA öncülü olarak transkribe olurlar (Leung ve ark, 2013).

Promotor bölgesi, pre-miR-222'nin 550 ve 190 bp yukarısında yerleşmiş vaziyette iki tane standart TATA kutusu içerir. Üç adet poli-A sinyali, pre-miR-221'in aşağısında yerleşmiş durumdadır. Çekirdekte, ortak pri-miR-221/222 transkripti daha sonra Drosha/DiGeorge sendrom kritik alan gen 8 (DGSR8) "mikroişlemci" kompleksi tarafından kesilip eklenir ve her biri 110 nt uzunluğa sahip olan ayrı ayrı pre-miR-221 ve pre-miR-222 öncülleri oluşur. Sonuç olarak, pre-miR-221'in olgunlaşması olgun 23 nt uzunluğundaki miR-221-5p ya da miR-221-3p'yi oluşturur. miR-222 için de 21 nt uzunluğunda iki olgun miRNA (miR-222-5p ve miR-222-3p) oluşumundan söz etmek mümkündür (Chistiakov ve ark, 2014).



**Şekil 9:** İnsan miR221/222'sinin biyogenezini (Chistiakov ve ark, 2014).

miRNA kodlayan genler kırmızı kutular içinde gösterilmiştir. Ortak promotördeki TATA kutuları yeşil üçgen oklarla işaret edilmiştir. Poli (A) sinyalleri mavi oklarla gösterilmiştir. Sayılar, düzenleyici transkripsiyon elementleri arasındaki mesafeyi, her bir miRNA'nın uzunluğunu ve genler arasındaki boşlukları (bp olarak) belirtmektedir. Olgun miRNA dubleksinin dizisi kırmızı kutu içinde gösterilmiştir.

Ago2: Argonat-2; DGCR8: DiGeorge sendromu bölge geni 8; GW182: 182 kDa ağırlığındaki glisin-triptofan protein; MTDH: metadherin; PACT: protein kinaz R-aktif edici protein; Ran-GTP: GTP bağlayan nükleer protein Ran; SND1: stafilokok nükleaz domaini içeren protein 1; TRBP: TAR RNA-bağlayan protein (Chistiakov ve ark, 2014).

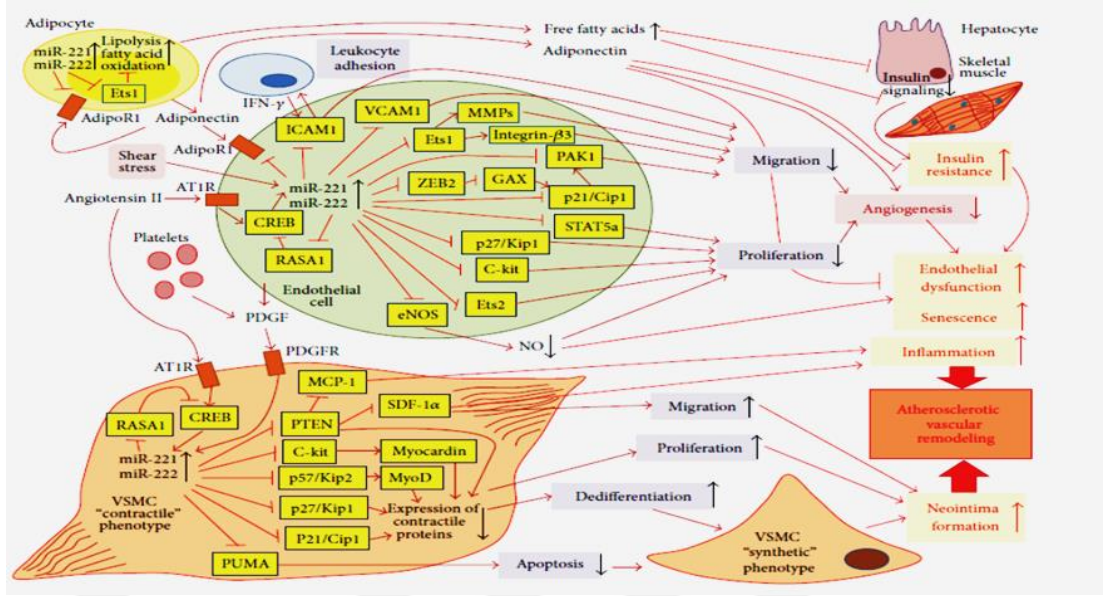
İlginç bir şekilde, miR-221/222 kümesi, endotelial hücelere ve VSMC'lere karşı zıt etkiler sergiler (Şekil 10). Bu miRNA'lar, endotelial hücelerde proliferasyon ve migrasyonu inhibe eder ve pro-apoptoza neden olur. VSMC'lerde ise her iki miRNA da proliferasyon ve hücre hareketliliğini uyarır ve anti-apoptozisi indükler (Liu ve ark, 2012).

miR-221/222, VSMC'lerin dediferansiyonunun tetiklenmesinde anahtar bir rol oynar ve kontraktıl fenotipten sentetik fenotipe geçişte kilit değer taşır. miR-221/222 kümesinin vasküler yaralanmaya oluşturulan cevapta ve proliferatif VSMC'lerde durgun VSMC'leri büyük ölçüde up-regüle ettiği bildirilmiştir (Liu ve ark, 2012). VSMC'lerde, yaralanmaya oluşturulan cevapta miRNA kümesinin sentezlenmesi PDGF tarafından indüklenir (Davis ve ark, 2009). Neointimal hiperplazide, VSMC'ler aktif olarak prolifere olurlar ve birincil tunika medyadan tunika intimaya göç ederler, bu durum da arteriyal duvarın kalınlaşmasına neden olur (Purcell ve ark, 1997). VSMC'lerin anormal proliferasyonu, ateroskleroz, postanjioplasti ya da stent içi restenoz ve transplant vaskülopati gibi vasküler proliferatif hastalıklarda sıklıkla rol oynar (Owens, 2007). miR-221 ve miR-222, neointimal lezyonlarda yaralanmaya yanıt olarak artar (Liu ve ark, 2012). *In vitro* çalışmalar, miR-221/222'yi VSMC proliferasyonunun PDGF aracılıklı düzenlenmesiyle ilişkilendirmiştir. PDGF, VSMC'lerde miR-221/222'yi indükler ve ortaya bu miRNA'ların hedef genleri olan c-Kit ve p27Kip1'in ifadenmesini artırırken düz kas hücresine özgül kontraktıl gen ifadenmesini azaltan bir etki çıkar (Davis ve ark, 2009). Nakavt edilmiş miR-221/222 kullanılarak yapılan *in vivo* çalışmalar göstermiştir ki p27Kip1 ve p57Kip2'nin hedeflenmesiyle mekanik yaralanmadan sonra miR-221/222 eksikliği VSMC proliferasyonu ve neointimal lezyon formasyonu azaltır (Liu ve ark, 2012).

Normal damarlar, adventisyal vasavazorum lümeninde meydana gelen oksijen difüzyonu yoluyla beslenir, fakat intimal duvar kalınlaştığında oksijenin etkin difüzyon mesafesi bozulur ve vasavazorum damar duvarının iç katmanlarında çoğalır

(Suárez, 2010). Kolesterol yüklü makrofajlar kısmen, yeni damar oluşumunu destekleyen sitokinlerin üretiminden sorumludurlar. Bu süreç, miR-221/222 tarafından endotelial nitrik oksit sentazın (eNOS) hedeflenmesiyle kontrol edilir (Suárez ve ark, 2007).

Endotel hücrelerinin, proanjiogenik transkripsiyonel program ve hücrel fenotip ve davranışındaki değişikliklerin indüklenmesiyle vasküler yaralanmaya karşı kendiliğinden cevap oluşturduğu bulunmuştur. Endotel hücrelerinde miR-221/222 kümesinin antianjiogenik aktivitesi ve vasküler yeniden modellenme ve neovaskülarizasyona karşı endotelial aktivasyonu koruduğu gösterilmiştir. miR-221/222, endotel hücrelerinin sessiz fenotipinin oluşturulmasından ve vasküler endotelial homeostazının korunmasından sorumludur (Chistiakov ve ark, 2014). Olgun insan endotel hücrelerinde miR-221/222, c-Kit, transkripsiyon faktörleri Ets1, Ets2, çinko-parmak E-kutusu bağlayıcı homeobox 2 (ZEB2), sinyal aktivatör ve transdüktörü 5A (STAT5A) ve eNOS gibi pek çok hedefin inhibisyonunun aracılık ettiği güçlü antianjiogenik özellikler sergiler (Poliseno ve ark, 2006; Dentelli ve ark, 2010; Chen ve ark, 2010; Kuehvacher ve ark, 2007; Suárez ve ark, 2007). miR-221 ifadesi, ileri glikasyonun son ürünlerine ya da glikoza cevaben endotelial hücrelerde artış gösterir ve miR-221'in aşırı ifadelenmesi c-Kit ifadesini düşürür (Li ve ark, 2009). Bu durumun aksine oldukça yenilerde yapılan bir çalışmada, glikozun ya da ileri glikasyonunun son ürünlerinin yüksek konsantrasyonunun endotel hücrelerinde miR-221/222 ifadelenmesini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, azalmış miR-221/222 ifadesi, bu miRNA'ların direkt hedefleri olarak bilinen p27Kip1 ve p57Kip2'ye (siklin bağımlı kinaz inhibitörleri) bağlı hücre döngüsü durdurulmasını indükler (Togliatto ve ark, 2011). Endotelial hücrelerin c-Kit bağımlı anjiogenik özellikleri de miR-221/222 tarafından hedeflenir (Poliseno ve ark, 2006). Vasküler endotel hücrelerinde, miR-221/222'nin rolü gelişimsel basamağa ve mikroçevreye bağlı olarak büyük ölçüde değişir (Chistiakov ve ark, 2014).



**Şekil 10:**Aterosklerotik vasküler yeniden modellenmede, miR-221/222'nin vasküler endotelyum ve vasküler düz kas hücreleri üzerine etkileri (Chistiakov ve ark, 2014).

Arteriyal endotelyal hücrelerde miR-221/222'nin ifadenmesi anjiotensin II ve kan akış gerilmesi tarafından artarak düzenlenebilir. miR-221/222, CREB (cAMP tepki elemanı bağlayıcı protein) inhibitörü olan RAS p21 protein aktivatörü 1 (RASA1)'in baskılanması yoluyla ekspresyonun pozitif düzenleyicisi olabilir, böylece anjiotensin II'nin her iki miRNA'nın da ifadenmesini indüklemesi teşvik edilmiş olur. miR-221/222'nin artmış seviyesi, endotelyal proliferasyon ve migrasyonu inhibe etmek suretiyle terminal olarak farklılaşmış sessiz endotelyal hücrelerin anjiogenik aktivasyonunu baskılar. Proliferasyon, miR-221/222 kümesinin, siklin bağımlı kinaz hücre döngüsü düzenleyicileri p21Cip1 ve p27Kip1, transkripsiyon faktörleri Ets1 ve Ets2, sinyal transdüktör ve aktivatörü STAT5A ve sap/kök hücre büyüme faktörü c-Kit üzerindeki negatif etkileri yoluyla baskılanır. miR-221/222 özellikle, eNOS ifadenmesini azaltarak düzenler, bu durum da vasküler endotelyal hücrelerin proliferasyonunda ve fonksiyonunda önemli bir modülatör olan NO'nun düşük seviyede üretilmesine neden olur. Azalan NO üretimi endotelyal fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunur ve endotelyal hücrelerin yaşlanmasını destekler. miR-221/222, p21Cip1'i direkt olarak ya da p21Cip1'in transkripsiyonel bir aktivatörü olan mezenşim homeobox2 (MEOX2 ya da GAX) translasyonunu baskılayan ZEB2'nin (çinko-parmak E-kutusu bağlayıcı homeobox2) bloklanması yoluyla down-regüle edebilir. miR-221/222 kümesi, matriks metaloproteinazlar (MMP) ve

ICAM-1, VCAM-1, integrin- $\beta$ 3 ve serin/treonin-protein kinaz PAK1 gibi çeşitli anahtar adezyon modulatorlerinin endotelial üretimini baskılanmasıyla endotel hücre migrasyonunu azaltır. miR-221/222 kümesi, adiponektin reseptör AdipoR1'in endotelial ifadenmesini azalttığı düşünülmektedir. Adiponektin, adipositler tarafından üretilir ve endotelial fonksiyon bozukluğunun önüne geçerek endotelial hücreler için koruyucu bir rol oynar. Obezitede, miR-221/222 adipoz dokuda up-regüle olur, bu durum yağ asidi sentaz ve diğer lipid-sentezleyen enzimlerin ifadenmesini kontrol eden bir transkripsiyon faktörü olan Ets1'in inhibisyonuyla lipid katabolizmasının (lipoliz ve yağ hücresi oksidasyonu) aktivasyonuna yol açar. Sonuç olarak, adipositlerden kana salınan serbest yağ asidi miktarı artar bu durumda da karaciğerdeki insülin sinyalleri inhibe edilir ve iskelet kasları periferik insülin direncini indükler. İnsülin direnci, endotelial fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunur. VSMC'lerde, miR-221/222'nin ifadenmesi anjiyotensin II ve aktif plateletler tarafından ve vasküler yaralanmaya yanıt olarak endotel hücrelerinden salınan PDGF tarafından uyarılır. Bu miRNA'ların up-regüle olması VSMC'lerin proliferasyonunu ve hareket yeteneğinin artmasını destekler. VSMC'lerde miR-221/222, farklılaşma ve VSMC'lerin kontraktif fenotipinin oluşması için kritik olan p21Cip1, p27Kip1, p57Kip2, c-Kit ve fosfatase ve tensin homologu (PTEN) gibi çeşitli düzenleyici faktörleri inhibe eder. p57Kip2 ve c-Kit, miyogeneze dahil olan iki anahtar transkripsiyon faktörü; MyoD ve miyokardini aktive eder. Gerçekten de, düz kas hücresine spesifik kontraktif proteinlerin ifadenmesinin miR-221/222-bağımlı azaltılarak düzenlenmesi, VSMC'lerin yeniden-farklılaşmasına ve "kontraktif" fenotipten "sentetik" fenotipe geçişe neden olur. PTEN'in baskılanmasıyla, miR-221/222, MCP-1 ve aterosklerotik plaklar gibi iltihaplanmış bölgelere makrofajlar, dentritik hücreler ve proinflatuvar lenfositleri çeken stromal hücre-kökenli büyüme faktörü 1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ ) gibi çeşitli proinflatuvar kemokinlerin ifadenmesini indükler. Bunlara ek olarak, miR-221/222, kritik bir apoptotik uyarıcı olan PUMA (apoptozun p53-up-regüle edici modulatorü)'yü down-regüle eder, böylece, VSMC'lerin apoptozunu önlemiş olur. Son olarak, VSMC'lerin yeniden-farklılaşması, arteriyel duvarın ateroskleroz ilişkili yeniden modellenmesinde önemli bir basamak olan, neointimal formasyona dahil olur (Chistiakov ve ark, 2014).

### **3. MATERYAL-METOD**

#### **3.1.Örneklerin Toplanması ve Saklanması**

Çalışma kapsamında ateroskleroz tanısı konmuş hastaların hem doku hem de kan örnekleri kullanılmıştır. 20 adet doku örneği 214S031 ve 155S044 numaralı TÜBİTAK projeleri için 02.07.2013 tarihli, 2013-07/05 ve 2013-07/06 nolu etik kurul kararı çerçevesinde alınmış olan etik kurul gereğince toplanmış örneklerden sağlanmıştır. Buna ek olarak çalışmada kullanılmak üzere 44 adet hasta ve 36 adet kontrol grubuna ait toplam 80 adet kan örneği alınmıştır. Çalışma kapsamında kullanılacak hasta ve kontrol gruplarına ait örnekler için Cumhuriyet Üniveritesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Etik Kurul No: 2015-03/62). Hasta grubu Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi ve Kardiyoloji Anabilim dalları tarafından ateroskleroz hastalığı kesin tanısı konmuş bireylerden oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılacak kontrol grubunu aynı anabilim dalları tarafından klinik muayenesi sonucu herhangi bir kalp-damar hastalığı ve herhangi başka bir hastalığı bulunmayan sağlıklı bireyler oluşturmuştur. Toplanan doku parçaları, RNA later (dokuda RNA koruyucu) (Qiagen, Cat No./ID: 76104) içine alınmış ve kullanılma zamanına kadar -80°C'de saklanmıştır. Bireylerden kan alınırken içerisinde özel tespit sıvısının olduğu RNA tüpleri (PreAnalytix, Cat No: 762165 (BD)) kullanılmıştır. Kan örnekleri, çalışma sırasına kadar -80 °C' de saklanmıştır.

#### **3.2.RNA İzolasyonu**

##### **3.2.1. Doku Örneklerinden RNA İzolasyonu**

Alınan doku örneklerinden miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Cat No: 217004) Protokolü modifiye edilerek miRNA içeren total RNA izolasyonu yapıldı. Buna göre, RNA later içerisinde saklanan doku örneklerinden yaklaşık 40 mg tartılır ve daha önceden kaynamış su, %70'lik alkol ve RNase away ile temizlenip RNase away (Sigma, Product No: 83931) muameleli streç filmle kaplanmış olan steril havanlara alınır. Sıvı azotla parçalama işleminin ardından dokuların üzerine 700 µl Trizol (ThermoFisher, Cat No: 15596026) eklenir ve numuneler MagNa Lyser homojenizatörde (Roche) homojenize edilmek üzere MagNa Lyser Green Beads (Roche, Product No: 03358941001) tüplere alınır. 7000 g'de 30 sn 2 kere homojenizasyon yapılır. İki homojenizasyon arasında örnekler yaklaşık 1dk soğuk

zincir üzerinde bekletilir. Homojenat yeni bir tüpe aktarılıp 5 dk oda sıcaklığında bekletilir. Daha sonra üzerine 140 µl kloroform eklenip 15 sn karıştırılır ve oda sıcaklığında 2-3 dakika beklenip +4°C'de 15 dk 12000 g'de santrifüj yapılır. Üst faz yeni bir toplama tüpüne alınıp üzerine 1,5 hacim %100 etanol eklenir ve pipetaj yapılır. Bu karışımdan 700 µl 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirilmiş olan miRNeasy mini kolona eklenir ve 9600 g'de 15 sn oda sıcaklığında santrifüj yapıp atık dökülür. Kalan örnekle bu aşama tekrarlanır. 700 µl Buffer RWT mini kolona eklenip oda sıcaklığında 15 sn 9600 g'de santrifüj yapıp atık dökülür. 500 µl Buffer RPE mini kolona eklenir. Yine oda sıcaklığında 15 sn 9600 g'de santrifüj yapıp atık dökülür. İkinci kez 500 µl Buffer RPE mini kolona eklenir ve bu defa oda sıcaklığında 2 dk 9600 g'de santrifüj yapıp atık dökülür. Kolon kurutma maksadıyla yeni bir 2 ml'lik toplama tüpüne alınır ve 1 dk en yüksek hızda santrifüj edilir. 1,5 ml'lik yeni bir tüpe yerleştirilen mini kolona 30-50 µl RNase içermeyen su eklenir ve 1 dk 9600 g'de santrifüjle RNA elue edilmiş olur. Elde edilen örnekler bir sonraki aşamaya kadar -20°C'de saklanır.

### **3.2.2. Kan Örneklerinden RNA İzolasyonu**

PAXgene Blood RNA tüplerine alınan kan örneklerinde, tam kandan miRNA içerikli total RNA izolasyonu yapmak için miRNeasy Serum/Plazma Kit (Qiagen, Cat No/ID: 217184) Protokolü'nde bazı modifikasyonlar gerçekleştirildi. Buna göre, 1200 µl kan örneği direkt olarak tüplerden alınıp 2 ml'lik ependorflara aktarılır. Örnekler 4500 g'de 10 dk +4°C'de santrifüj edilip üst faz yeni bir tüpe alınır. 16000 g'de 10 dk +4°C'de ikinci bir santrifüj yapıp üst faz alınır. Üzerine 350 µl 2-merkaptetanol eklenmiş TES (Tris-EDTA-NaCl) tamponu, 50 µl %10'luk SDS (Sodyum Dodesil Sülfat), 30 µl proteinaz-K ve 1 µl glikojen eklenir. 58°C'de 20 dk su banyosunda inkübasyona bırakılır. Inkübasyon sonrası örneklerin üzerine 1200 µl Trizol eklenip 5 dk oda sıcaklığında bekletilir. Üzerine, 400 µl kloroform eklenip 15 sn karıştırılır. 2 dk oda sıcaklığında inkübasyonun ardından 12000 g'de 15 dk +4°C'de santrifüj yapılır. Üst faz yeni bir tüpe alınıp 1,5 hacim %100 etanol eklenip pipetaj yapılır ve 700 µl örnek 2 ml'lik tüplere yerleştirilmiş miRNeasy mini kolona yüklenir. Oda sıcaklığında 15 sn 11000 g'de santrifüj yapıp atık dökülür. Örneğin artan kısmı için aynı işlem tekrarlanır. Atık döküldükten sonra kolona 700 µl Buffer RWT eklenip oda sıcaklığında 15 sn 11000 g'de santrifüj yapılır. Atık dökülüp 500



$\mu$ l Buffer RPE eklenir ve oda sıcaklığında 15 sn 11000 g'de santrifüj yapılır. Atık dökülüp 500  $\mu$ l %80'lik etanol eklenir ve oda sıcaklığında bu defa 2 dk 11000 g'de santrifüj yapılır, toplama tüpü atılıp kolon yeni bir toplama tüpüne alınır. Kapağı açık olarak kurutma maksatlı en yüksek hızda 5 dk santrifüj yapıp toplama tüpü değiştirilir. Yeni 1,5 ml'lik tüplere alınan kolana 14  $\mu$ l RNase içermeyen su eklenir ve 1 dk en yüksek devirde santrifüj işlemi gerçekleştirilir. Elde edilen örnekler bir sonraki aşamaya kadar -20°C'de saklanır.

### 3.3.RNA Miktar ve Saflığının Belirlenmesi

miRNA içeren total RNA'nın miktarı Qubit 3.0 Fluorometer kullanılarak belirlendi. Ölçüme başlanmadan önce tüm deney reaktifleri oda sıcaklığına getirilir. Standartlar için iki adet deney tüpü ve her bir örnek için de birer tüp hazırlanır. Qubit Çalışma Solüsyonu hazırlamak için Qubit reagent 1:200 oranında Qubit buffer ile sulandırılır. Her bir standart ve örnek için 200  $\mu$ l Çalışma Solüsyonu hazırlanır. Deney tüpleri aşağıdaki tabloya (Tablo 5) uygun olarak hazırlanır.

**Tablo 3:**Qubit 3.0 Fluorometer ölçümü için deney tüplerinin hazırlanması.

	<b>Standart</b>	<b>Örnek</b>
	Deney Tüpü	Deney Tüpü
Eklenecek Çalışma Solüsyonu Hacmi	190 $\mu$ l	180-199 $\mu$ l
Eklenecek Standart Solüsyon Hacmi	10 $\mu$ l	--
Kullanılan Örnekten Eklenecek Hacim	--	1-20 $\mu$ l
<b>Herbir Deney Tüpü için Toplam Hacim</b>	<b>200 <math>\mu</math>l</b>	<b>200 <math>\mu</math>l</b>

Bütün tüpler 2-3 sn vortekslenir. 2 dk boyunca oda sıcaklığında inkübasyon yapıp ardından ölçüme geçilir. Önce standartlar ardında da örnek tüpleri fluorometere yüklenip okutulur.

### 3.4.cDNA Sentezi ve RT-PCR

Ateroskleroz hastalığı tanısı konmuş bireylerin endoraktomi materyali ve İMA dokularından alınan örnekler ve ateroskleroz kesin tanısı konmuş bireylerle ateroskleroz ve başka herhangi bir hastalığı bulunmayan bireylerden alınan kan örneklerinden izole edilen miRNA içerikli total RNA'lardan seçilen miRNA'ların ifade düzeylerinin incelenmesi için cDNA sentezi miRCURY LNA Universal RT microRNA PCR sistemine uygun olarak yapılmıştır. Bu sistem, SYBR Green

kullanılarak kantitatif real time PCR ile miRNA'ların hassas ve doğru bir şekilde algılanması için tasarlanmış LNA tabanlı miRNA'ya özgül bir sistemdir. Metod, genel ters transkripsiyonu takiben LNA geliştirilmiş primerlerle real time PCR amplifikasyonuna dayanır. miRCURY LNA Universal RT microRNA PCR protokolü iki kısımdan oluşur.

### 3.4.1. Tek-Zincir cDNA Sentezi

cDNA sentezi için örneklerin RNA konsantrasyonu RNase içermeyen su kullanılarak (~ 100 ng) eşitlenir. Reaktantlar çözülüp vortekslenir ve hemen buz üzerine yerleştirilir. Liyofilize halde gelen RNA Spike-in protokolüne uygun olarak 80 µl RNase içermeyen su ile çözülüp -20°C'ye kaldırılır. Aşağıdaki tabloya (Tablo 6) uygun olarak reaksiyon bileşenleri hazırlanır.

**Tablo 4:** Reverse transkripsiyon reaksiyon bileşenleri

<b>Bileşenler</b>	<b>Bir Tüp için Gerekli Hacim (µl)</b>
5x Reaksiyon Tamponu	2
Nükleaz İçermeyen Su	Değişken
Enzim Mix	1
Sentetik RNA Spike ins	0,5
Total RNA	Değişken
<b>Toplam Hacim</b>	<b>10</b>

Reaksiyon tüpleri bütün bileşenlerin iyice karışması için vortekslenir ve örnekler, 60 dk 42°C'de, 5 dk 95°C'de (enzim inaktivasyonu) termal döngü cihazında inkübe edilerek cDNA sentezi gerçekleştirilir. Cihazdan alınan örnek tüplerine 40 µl RNase içermeyen su eklenir ve bir sonraki aşama için +4°C'de saklanır.

### 3.4.2. Real Time PCR Amplifikasyonu

RT-PCR'da PCR ürünlerinin oluşumu, SYBR Green I moleküllerinin oluşturduğu floresan ışımının ölçümü ile takip edilebilmektedir. SYBR Green I molekülünün çift zincirli DNA moleküllerine bağlanma verimi çok yüksektir ve serbest boya molekülleri çok az floresan ışıma yapmaktadır. PCR sürecinde primerlerin hedef DNA molekülüne bağlanmasıyla 530 nm'de SYBR Green floresan ışınması ölçülebilir hale gelmekte ve uzama fazında ise daha fazla çift zincir DNA molekülünün oluşmasıyla floresan sinyal giderek güçlenmektedir. Bu sayede real

time PCR’da her uzama fazının sonunda 530 nm’de floresans miktarı ölçülerek PCR ürün miktarı hesaplanabilmektedir.

Reaksiyonlarda Exiqon marka mikroRNA (miR-221, miR-222) spesifik primerleri ve referans gen olarak da SNORD primeri kullanılmıştır. Liyofilize halde gelen LNA primer karışımları 220 µl nükleaz içermeyen su ile çözülür. Her bir plaka kuyusuna 5 µl PCR Master Mix, 1 µl primer ve 4 µl cDNA örneği yüklenir. Yükleme işleminin ardından şeffaf okuyucu yüzey plaka üzerine yapıştırılır. Plaka LightCycler®96 Real-Time PCR System (Roche) cihazına yerleştirilir. Reaksiyon koşulları Tablo 7’de gösterilmektedir.

PCR sonrasında hedeflenen genler dışında bir ürünün çoğalmadığından ve primer dimerlerinin oluşmadığından emin olmak için “erime eğrisi analizi” yapılabilir. Erime eğrisi analizi ile PCR ürün karakterizasyonu; DNA molekülünün uzunluğu ve GC içeriğine bağlı olarak, sıcaklık muamelesiyle %50’sinin tek sarmallı hale geldiği %50’sinin ise çift sarmallı olarak kaldığı karakteristik bir erime sıcaklığına sahip olmasına dayanmaktadır. Analiz sırasında reaksiyon karışımı 95 °C’ye kadar ısıtılır. Isıtma sürecinde sıcaklık, PCR ürününün erime sıcaklığına ulaştığında çift zincirli DNA denatüre olur ve SYBR Green floresan ışımının keskin bir şekilde azalmasına neden olur. Bu sayede sıcaklık geçişlerinde floresan ışımının sürekli olarak takip edilmesiyle oluşturulan erime eğrileriyle analiz sonucu gözlemlenebilir.

**Tablo 5:**Light Cycler 96 platformunda gerçekleştirilen QRT-PCR reaksiyon koşulları

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
PCR Başlangıç İnkübasyonu	95	10 dk	1
Amplifikasyon	95	10 sn	45
	60	1 dk	
Erime Eğrisi Analizi	95	10 sn	1
	65	1 dk	
	97	1 sn	
Soğutma	37	30 sn	1

Real time PCR deneyleri sonucu elde edilen ham veriler  $\Delta\Delta CT$  metodu ile analiz edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlılıklar için ise t-test ( $p < 0,05$ ) uygulanmıştır.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamız, kesin hastalık tanısı konup koroner bypass cerrahisi uygulaması sırasında tıkanıklığı olan 20 adet hastanın koroner arter plakları ve yine aynı hastaların İMA dokusu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Doku örneklerine ek olarak anjiyografi sonuçlarına göre 44 hasta, 36 kontrol (hiç aterosklerotik plak gelişimi gözlenmeyen veya anjiyografi sonuçları %50'nin altında olan) olmak üzere toplam 80 adet kan örneğinde de inceleme yapılmıştır.

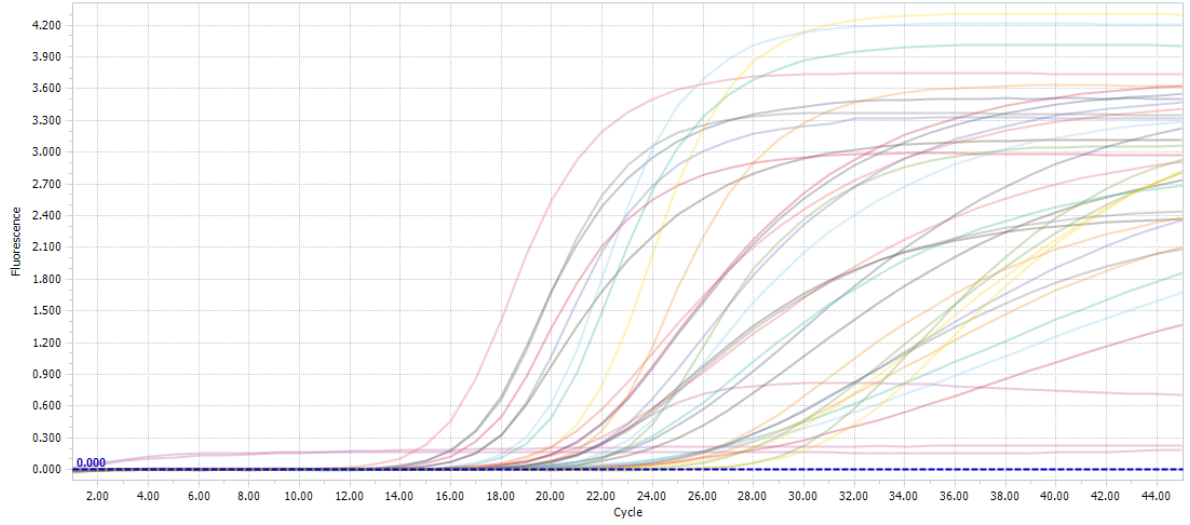
20 adet doku örneği, 5 kadın ve 15 erkekten oluşmaktadır. Doku örneklerinin alındığı bireylerden 17 tanesi hem sigara içmektedir hem de hipertansiyon hastalığına sahiptir, 3 tanesinin ise hipertansiyonu yoktur ve sigara içmemektedir. Bireylerin 8 tanesinde diyabet varken 12 tanesinde yoktur ve çalışma grubunu oluşturan bireylerin tamamı hiperlipidemiye sahiptir. Kan örneklerinin alındığı bireylere ait demografik veriler ise Tablo 8'de özetlenmiştir.

**Tablo 6:** Kan örneklerine ait demografik bilgiler

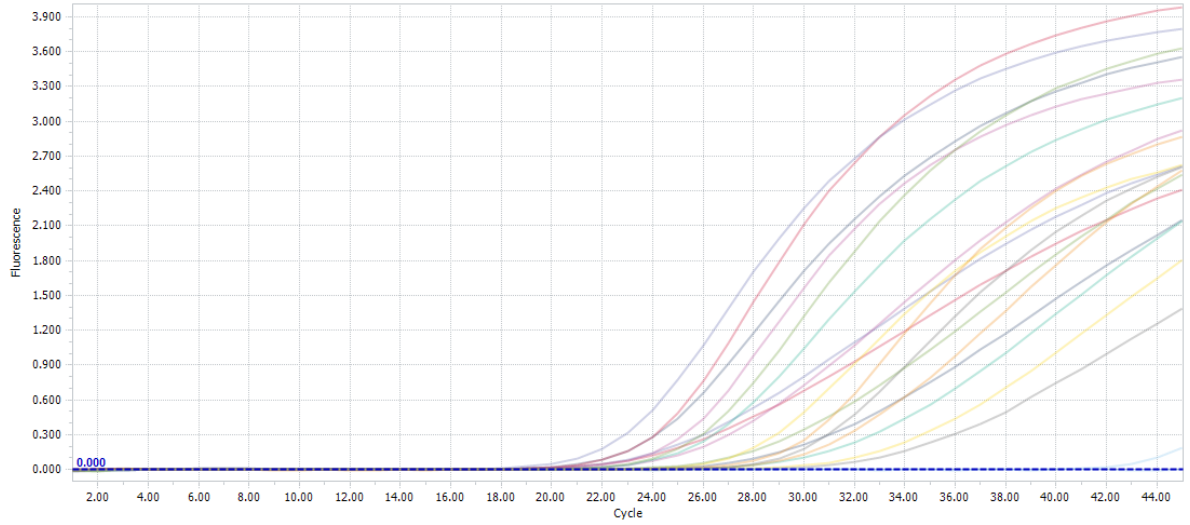
	Hasta	Kontrol
Toplam	44	36
Cinsiyet		
Kadın	11 (%25)	20 (%55,56)
Erkek	33 (%75)	16 (%44,44)
Sigara Durumu		
Var	39 (%88,63)	14 (%38,9)
Yok	5 (%11,37)	22 (%61,1)
Hipertansiyon		
Var	40 (%90,9)	23 (%63,9)
Yok	4 (%9,1)	13 (%36,1)
Diyabet		
Var	33 (%75)	16 (%44,44)
Yok	11 (%25)	20 (%55,56)

Çalışma kapsamında plaklı koroner arter dokuları ile İMA dokularında ve hasta-kontrol gruplarına ait kan örnekleri arasında miR-221/222'nin ifade düzeylerinin karşılaştırılması yapılmıştır. Bu bağlamda öncelikle doku ve kan örneklerinden miRNA içerikli total RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Bunu takiben RNA'lar

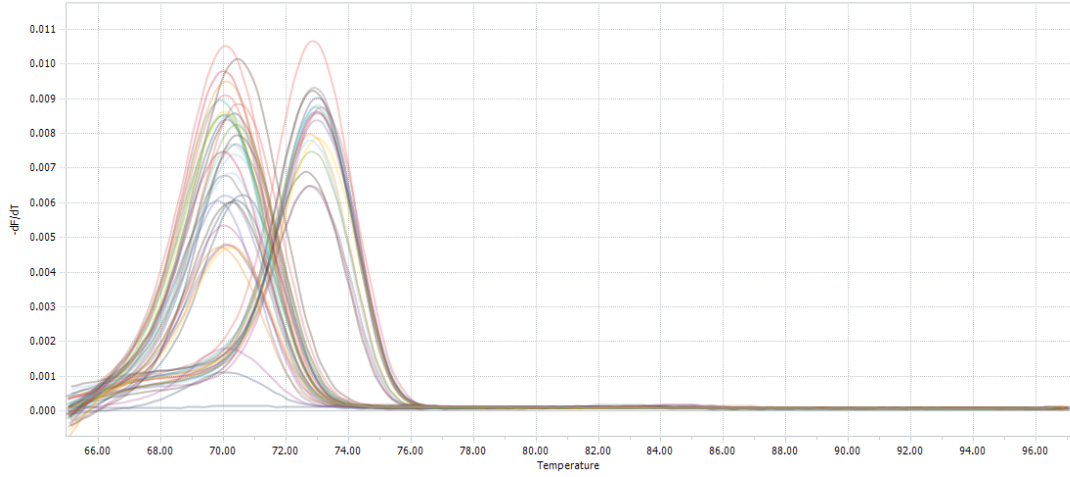
cDNA'ya çevrilmiş ve ardından seçilen miRNA'ların ateroskleroz hastalığıyla ilişkisini belirlemek amacıyla RT-PCR uygulaması yapılmıştır.



**Şekil 11:**miR-221/222 ve kontrol geni SNORD'a ait doku örneklerinde RT-PCR floresan eğrileri

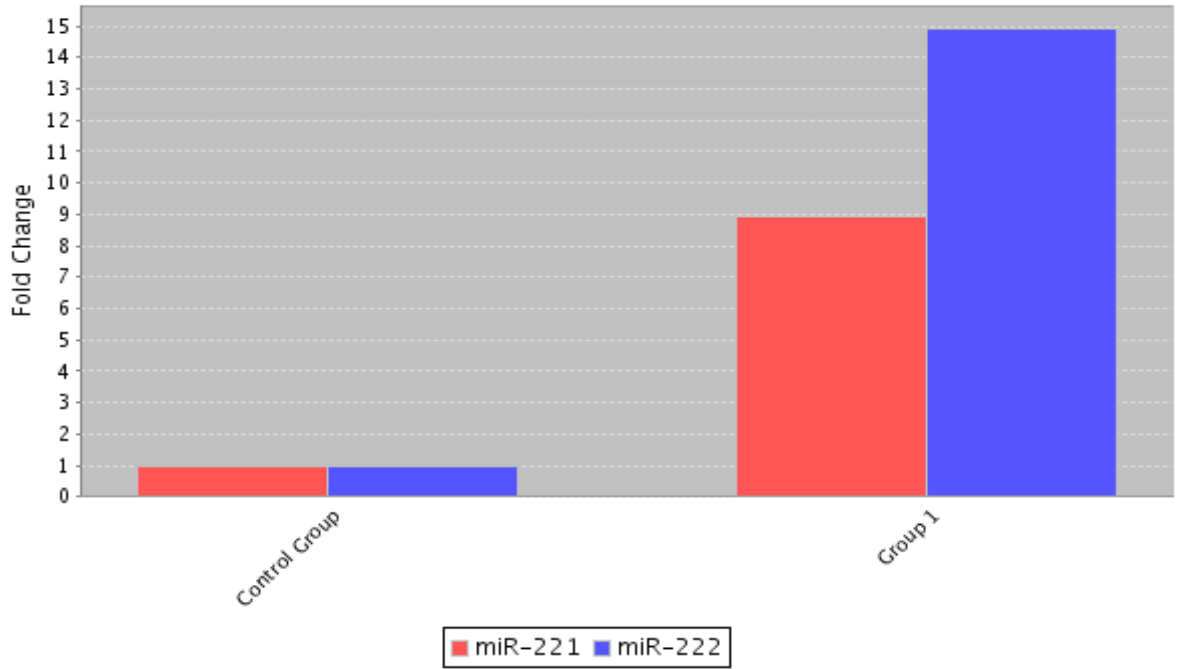


**Şekil 12:**miR-221/222 ve kontrol geni SNORD'a ait kan örneklerinde RT-PCR floresan eğrileri

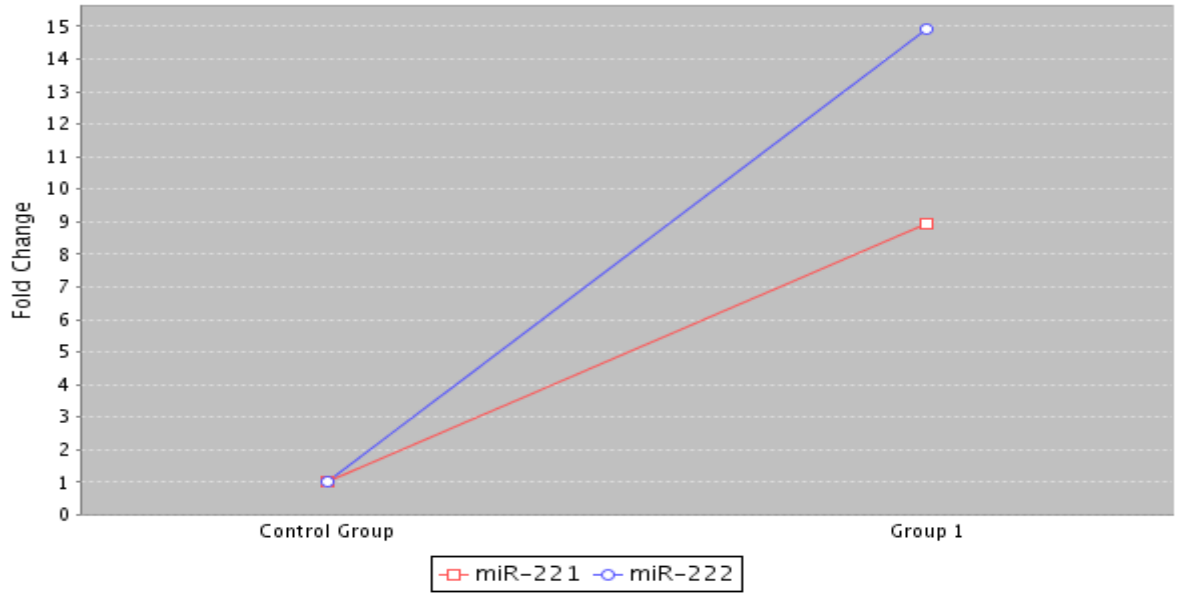


**Şekil 13:**miR-221/222 ve SNORD'a ait erime eğrisi analiz sonuçları

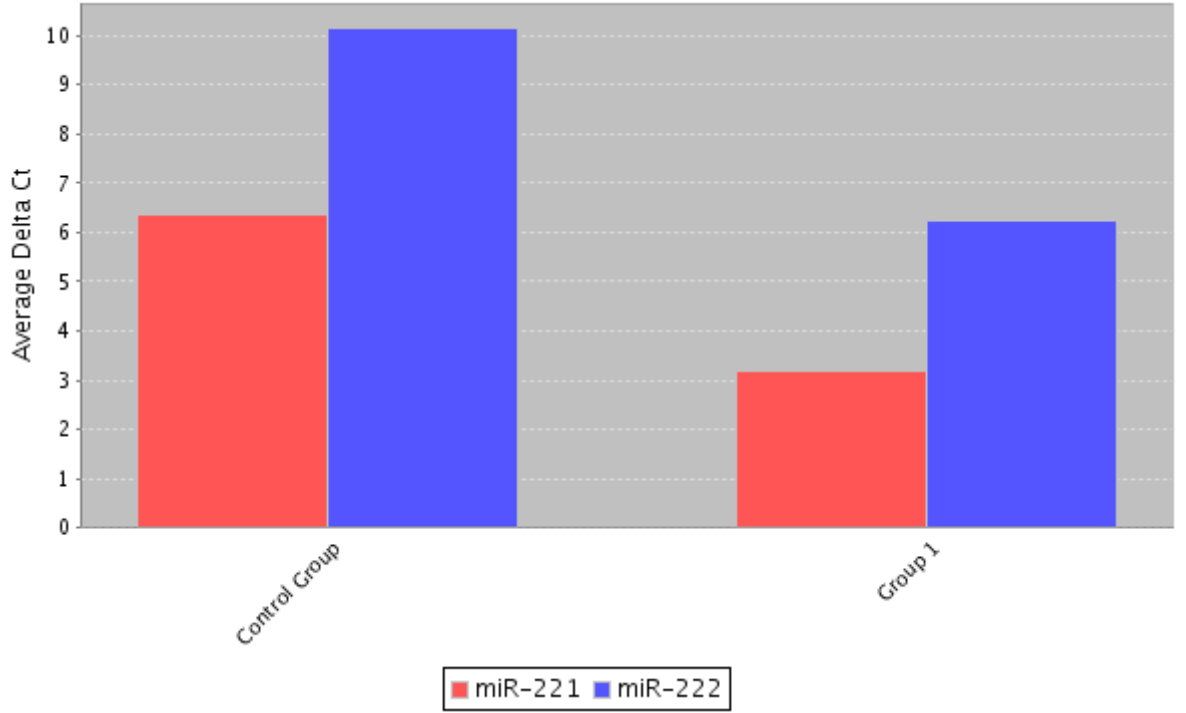
İfade düzeyleri incelenmiş olan miR-221/222 genleri ve kontrol geni olarak seçilen SNORD'a ait RT-PCR'daki floresan eğrileri ve Cq değerlerinin bir kısmı yukarıda gösterilmiştir (Şekil 11, Şekil 12, Şekil 13). Genlerin ifade düzeyleri RT-PCR cihazında  $\Delta\Delta C_T$  metodu kullanılarak analiz edilmiştir. Koroner arter plaklarından elde edilen ifade sonuçları ile İMA'lardan elde edilen sonuçlar ve hasta kan örnekleri ile kontrol kan örneklerinin sonuçları kıyaslanmıştır. Verilerin  $\Delta\Delta C_T$  metodu ile istatistiksel analizi “RT<sup>2</sup> Profiler RT-PCR Array Data Analysis Version 3.5” (<http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php>) yazılımı kullanılarak yapılmıştır.



**Şekil 14:**Kontrol grubu olarak kullanılan IMA doku örneklerine göre hasta grubu koroner arter doku örneklerindeki miR-221/222 genlerinin kat değişimleri



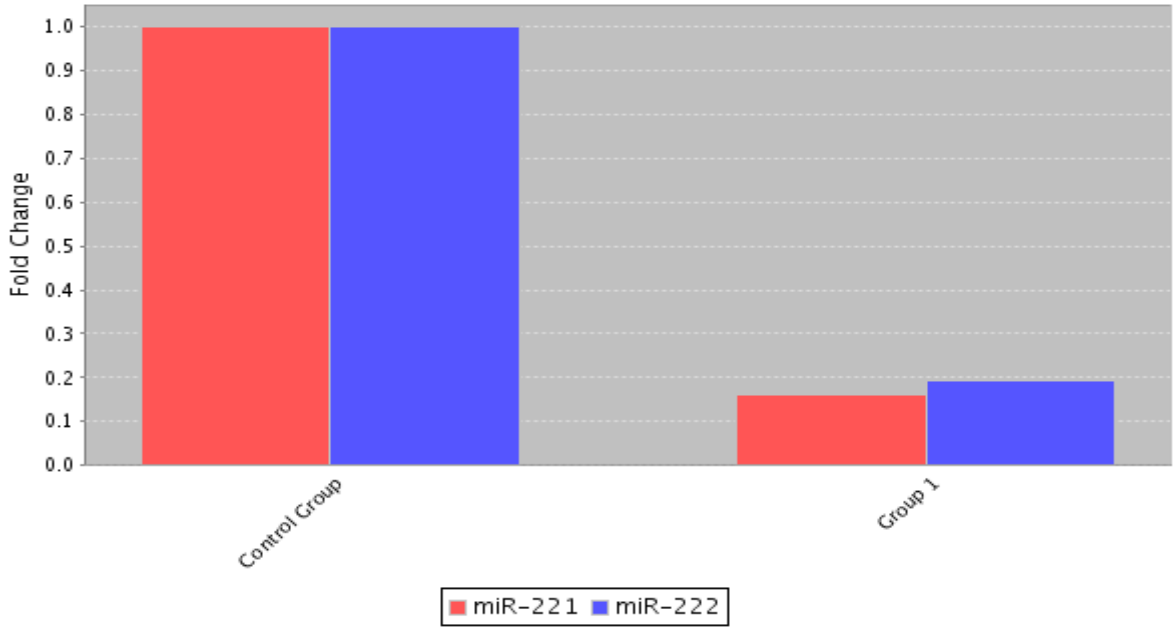
**Şekil 15:**Doku örneklerinde miR-221 ve miR-222 genlerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre ifade düzeylerinde gözlemlenen artış oranları



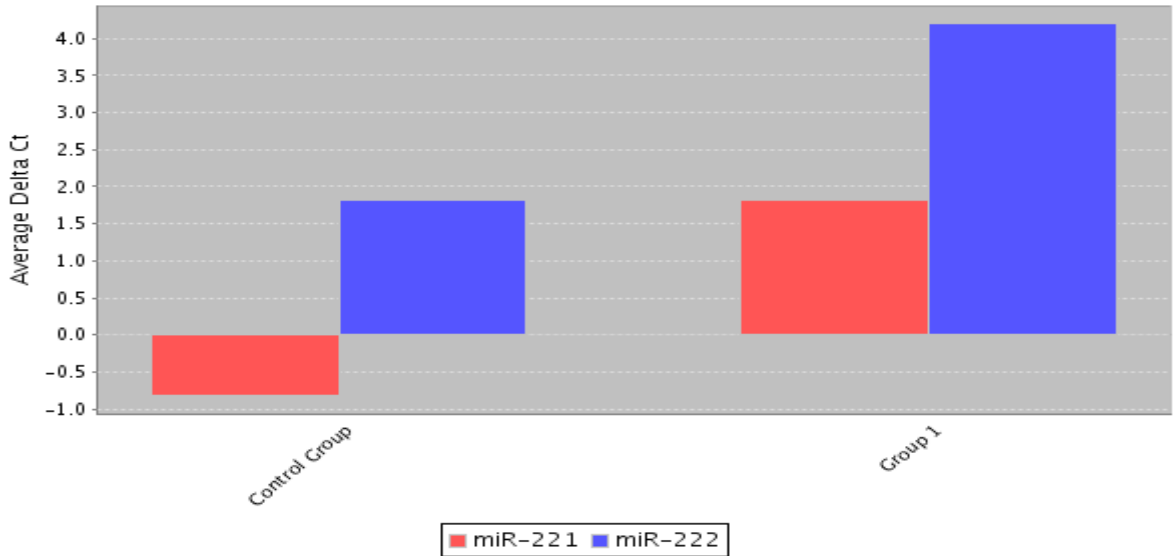
**Şekil 16:** Genlerin, koroner arter dokularında İMA dokularına göre ortalama Delta Cq değışimi

Hem miR-221 hem de miR-222 geninin ifadesinde koroner arter plaklarında İMA'ya oranla artış gözlenmiştir (Şekil 14, Şekil 15, Şekil 16). miR-221 geninin ifade düzeyinde kontrol grubuna göre koroner arter plaklarında istatistiksel olarak anlamlı ( $p=0,015$ ) 8,94 kat artış gözlenirken miR-222 geninin ifade düzeyindeki 14,91 kat artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,117$ ).





**Şekil 17:**Kan örneklerinde miR-221 ve miR-222 genlerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre ifade düzeylerinde gözlemlenen azalış oranları



**Şekil 18:**Genlerin, hasta bireylerin kan örneklerinde sağlıklı bireylerin kan örneklerine göre ortalama Delta Cq değişimi

Kan örneklerinde, miR-221/222'nin ifadenme seviyelerinde hasta grubunda kontrol grubuna göre azalma görülmesine rağmen istatistiksel olarak bir anlamlılık tespit edilmemiştir (miR-221 için  $p=0,139$  ve miR-222 için  $p=0,080$ ). miR-221 sağlıklı bireylerin tüm kan örneklerinde hasta bireylerden toplanan örneklere oranla 6,22 kat daha fazla ifadelenirken miR-222 sağlıklı bireylerde hasta bireylere oranla 5,19 kat daha fazla ifade olduğu bulunmuştur (Şekil 17, Şekil 18).

## 5. TARTIŞMA-SONUÇ

Çalışma kapsamında, miR-221/222'nin ifadenme seviyeleri bu alanda kullanımı ilk defa gerçekleştirilecek olan aterosklerotik koroner arter plakları ile aynı bireylerden alınan İMA dokularında karşılaştırılmıştır. Doku örneklerine ek olarak hasta ve kontrol grubu olarak ayrılan bireylerden alınan kan örneklerinde de miR-221/222'nin ifadenme seviyeleri karşılaştırılmıştır.

Koroner kalp hastalıkları ülkemizde ve tüm dünyada görülme sıklığı giderek artan başlıca ölüm nedenlerinden olan kronik bir hastalıktır (Bazo ve ark, 2011). Aterosklerotik lezyon gelişiminde etkisi olan pek çok faktör daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir, son zamanlarda ise bu faktörlere ek olarak epigenetik olaylar da hastalık gelişiminde ve ilerlemesinde sorumlu ve önemli bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır.

Nc-RNA'ların hem uzun hem de kısa olarak ayrılan sınıfları epigenetik düzenlemelerde rol oynar. Kısa kodlama yapmayan RNA'ların bir sınıfı olan miRNA'lar; hücre büyümesinde, yağ metabolizmasında, doku farklılaşmasında, hücre çoğalmasında, embriyonik gelişimde, organogenez ve apoptoziste görev almaktadır (Esquela-Kerscher ve Slack, 2006). Ayrıca hücre sinyal ağında (Cui ve ark, 2006), gen ekspresyonunun türler arası farklılaşmasında (Cui ve ark, 2007) ve transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesinde (Cui ve ark(b), 2007) de görev aldıkları düşünülmektedir. Aterosklerozun yaygın bir karakteristiği, endotelial hücre fizyolojisindeki değişiklik ve vasküler düz kas hücrelerinde hiperplazi olarak kendini gösteren neointimal biçimlenmedir. Vasküler patoloji ve gen ekspresyon modifikasyonu arasındaki ilişki, miRNA'ların damar hastalıklarının patogenezinde merkezi bir role sahip olduklarına dair makul bir açıklama verir (Quintavalle ve ark, 2011).

Eritropoezis, farklılaşma, anjiogenez, çoğalma ve hücre göçü miR-221/222'nin bilinen görevleri arasındadır. Her iki miRNA'nın da düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerde yüksek derecede ifadelendiği bulunmuştur (Wei ve ark, 2012). Pek çok çalışmada; c-Kit, p27 (Kip1) ve p57 (Kip2) miR-221/222'nin düz kas hücresi ve endotelial hücreleri de içeren farklı hücre tiplerinde varsayılan hedefleri olduğu gösterilmiştir ve söz konusu bu genlerin düz kas hücre çoğalması ve neointimal biçimlenmeye katıldığı düşünülmektedir (Quintavalle ve ark, 2011).

p27(Kip1) antimitojenik sinyallere karşı oluşan cevapta, büyüme düzenleyen önemli bir moleküldür (Nho ve Sheaff, 2003). p57; p27 ile %40 oranında homolojiye sahip olup, proliferasyon ve diferansiyasyonda görevlidir (Zieske, 2000). Kök hücre faktör reseptörü olan c-Kit (CD117) ise bir kök hücre belirteçidir. c-Kit doku özgül kök hücrelerin birçok tipinde ifade edilen bir reseptör tirozin kinazdır ve hematopoez ve melanogenez de içeren birçok gelişimsel işlemler için gereklidir, c-Kit reseptör ligand, kök hücre faktörü, büyüme faktörlerinin PDGF ailesinin bir üyesidir ve epitel hücreleri, lökositler, fibroblastlar ve miyofibroblastlar tarafından salgılanır (Pamukçu Baran ve ark, 2007).

Vasküler sistem inflamasyonunda yer alan farklı hücre tiplerinde miRNA ifadesinin incelenmesine dair bir çok araştırma yapılmıştır (Weber ve ark, 2010; Urbich ve ark, 2008). miR-221/222 ile ilgili olarak da pek çok fare modelinde ve insanda, başka hastalık ve dokularda çalışmalar yapılmıştır. Bizim çalışmamızda koroner arter plakları miR-221/222'nin ifadenme seviyeleri açısından İMA dokuları ile kıyaslamıştır. Çalışma sonucunda, koroner arter plaklarında İMA dokularına oranla miR-221 8,94 kat, miR-222 ise 14,91 kat artış göstermiştir. Bununla birlikte miR-221'in artışı istatistiksel olarak anlamlıyken ( $p=0,015$ ), miR-222'nin artışında istatistiksel açıdan bir anlamlılık gözlenmemiştir ( $p=0,117$ ). Benzer şekilde, Raitoharju ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada altı adet LIMA (sol internal mammarian arter) ve on iki adet de aortik, karotis ve femoral aterosklerotik arterlerden elde edilen plaklarda miRNA ifadenme profilleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, miR-221 hastalıklı dokularda kontrole göre bizim sonuçlarımıza benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı olarak fazla ifadenirken miR-222'de istatistiksel öneme sahip bir değişiklik izlenmemiştir (Raitoharjua ve ark, 2011).

Yapılan bazı çalışmalar göstermiştir ki, miR-221 ve miR-222 endotel hücrelerin göçünü ve proliferasyonunu desteklemezken apoptozunu tetikler ve Ets-1 transkripsiyon faktörünü hedefleyerek endotel hücrelerinin bazı inflamatuvar moleküllerini artırır. Bu durumun aksine, vasküler düz kas hücrelerinde bu miRNA'lar proliferasyon ve göçü desteklerken apoptozu baskılar (Liu ve ark, 2012; Zhu ve ark, 2011). Başka bir çalışmada bu miRNA'ların aynı zamanda, VSMC'lerin proliferasyonunu uyaran Anjiotensin II etkisine aracılık ettikleri belirlenmiştir

(Leung ve ark, 2013). Liu ve arkadaşlarının 2012 yılında gerçekleştirdikleri çalışmada da bunu destekler biçimde, miR-221/222'nin vasküler duvardaki biyolojik fonksiyonunun hücre özgül olduğu belirlenmiştir (Liu ve ark, 2012). *In vitro* şartlarda miR-221/222'nin hücre döngüsü inhibitörleri olan p27(Kip1) ve p57(Kip2)'nin hedeflenmesiyle düz kas hücre çoğalmasına aracılık eder. miR-222 düz kas hücrelerinin çoğalmasının artması yoluyla neointimal büyümeyi destekler. Düz kas hücreleri granüllü endoplazmik retikulumdan zengin sentetik fenotipe ya da miyofilamentten zengin kontraktıl fenotipe bulunabilir. Sentetik fenotipi destekleyen miR-221 düz kas hücrelerinin proliferasyonundan ve trombosit türevi büyüme faktörünün indüklediği farklılaşmanın giderilmesinde kritik bir rol oynar. Endotelial hücrelerin çoğalması ise miR-221/222 tarafından inhibe edilir. miR-221/222 düz kas hücrelerinin apoptozunu azaltır ve göçünü artırır, oysa endotelial hücrelerin göçü ve apoptozunda zıt etki yaptığı gösterilmiştir (Wei ve ark, 2012). p27(Kip1) ve p57(Kip2) ifadesi de bununla uyum içinde düz kas hücrelerinde fazladır fakat endotelial hücrelerde her ikisinin de mRNA ve protein seviyesi düşüktür. Aksine c-Kit de endotelial hücrelerde yüksek ifadenime gösterirken düz kas hücrelerinde göstermediği bulunmuştur (Liu ve ark, 2012).

2012 yılında Liu ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmayla miR-221/222 inhibisyonunun endotelin yeniden oluşturulmasını artırma gücüne sahip olduğunu göstermiştir. Bunun aksine neointimal biçimlenme miR-221/222 inhibisyonuyla önemli ölçüde azalır. Sonuç olarak miR-221/222'nin aterosklerozlu, anjioplastili, stent implantasyonu olan ya da arter by-pass geçiren hastalarda ideal terapötik hedef olabileceği önerilmiştir (Liu ve ark, 2012).

Başka bir çalışmada, karotid plaklarla aterosklerotik olmayan sol internal torasik arterlerde (LITA) bazı miRNA'ların ifadenime seviyeleri karşılaştırılmış ve miR-30e-5p, miR-26b ve miR-125a'nın ifadesi artarken miR-520b ve miR-105'in ifadesinin azaldığı gözlenmiştir (Bidzhekov ve ark, 2012). Raitoharju ve arkadaşlarının periferik arterlerden (karotis, femoral ve abdominal aort) elde ettikleri insan aterosklerotik plaklarını LITA'larla kıyasladıkları çalışmada, miR-21, miR-34a, miR-146a, miR-146b-5p ve miR-210'un aterosklerotik plaklarda oldukça fazla ifadelenendiği tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada bu miRNA'ların bazı tahmini hedeflerinin de HDL ve LDL metabolizmasının yanı sıra VSMC'lerin morfolojisine,

fenotipine ve proliferasyonuna bağı olarak azaldığı bulunmuştur (Raitoharjua ve ark, 2011).

Endotelyal öncül hücreler (EPC) de vasküler yaralanmaların onarılmasında önemli bir rol oynar. Minami ve arkadaşları EPC'lerdeki miR-221/222 seviyesini incelemek için kardiyovasküler hastalığı olan ve olmayan iki grup oluşturmuştur. RT-PCR kullanılarak yapılan çalışma sonucunda EPC'lerde miR-221/222 seviyesinin artışı hasta grubunda kontrol grubuna göre önemli bulunmuştur. Hasta grubunda EPC miktarıyla miR-221/222 seviyesi arasında zayıf bir negatif ilişki olduğu bulunmuştur (Minami ve ark, 2009). miR-221/222'nin arteriyel yaralanmadan sonra intimal kalınlaşmayı tetiklediği görülmüştür (Coleman ve ark, 2013).

Vasküler hücrelerin gelişimin ve fonksiyonunun doğrudan düzenlenmesine ek olarak, miR-221 ve miR-222 vasküler olmayan dokular üzerinde de etkilerini gösterirler. Bu fonksiyonel aktivitelerden bazıları ateroskleroz gelişimiyle ya da aterogenezi destekleyen kardiyometabolik risk faktörleri ile ilişkili olabilir (Chistiakov ve ark, 2014). Örneğin, miR-221'in adipoz dokuda yağ metabolizmasını PPAR- (peroksizom proliferatör aktive edici reseptör-) bağımlı yolağı etkileyerek ve doğrudan adiponektin reseptörü AdipoR1 ve Ets1'i hedefleyerek kontrol ettiği yenilerde bulunmuştur (Meerson ve ark, 2013).

Çalışma sonuçlarımız, benzer dokularda yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir. miR-221/222'nin aterosklerotik plak oluşumunda ve hastalık patofizyolojisinde görev alan hücre tiplerinde normalde yerleşik olarak bulunduğu bilinmektedir. Hastalık gelişimiyle bu miRNA'ların ifadenme seviyelerindeki artışa bakarak patolojik sürecin ilerlemesinde miR-221/222'nin görev aldığı düşünülmektedir. miR-221/222'nin ifadenme seviyesinin artmasının hastalık gelişimini desteklediği düşünülmektedir. Buna göre miR-221/222'nin aterosklerotik sürecin gözlendiği doku tiplerinde uygun bir biyobelirteç olduğu söylenebilir.

Dokulardan seruma salınan miRNA'lar daha kararlı ve nükleaz sindirimine karşı dirençlidirler ve bazı hastalıklar için gösterge niteliği taşımaktadırlar (Chen ve ark, 2008). Bu nedenle miR-221/222'nin ifadenme seviyesi kan örneklerinde de incelenmiştir. Çünkü, total kan örneklerinden elde edilen kan miRNA'ları özel işaretler olabilir ve bir hastalığın tanı, tedavi ve hatta etiyolojisi için bile biyobelirteç

tanımlanmasında kullanılabilir (Li ve ark, 2010). Bizim çalışmamızda kullanılan tam kan örneklerinden elde edilen sonuçlara göre hastalık gelişiminin gözleendiği grupta sağlıklı bireylerden oluşturulmuş kontrol grubuna göre her iki miRNA'da da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır (miR-221 için  $p=0,139$  ve miR-222 için  $p=0,080$ ). Kan örneklerinde hasta grubunda kontrol grubuna göre miR-221 6,22 kat, miR-222 ise 5,19 kat daha az ifadelenmiştir. Li ve çalışma arkadaşlarının 2010 yılında aterosklerotik obliterans (ASO) hastalarının intima dokuları ve kan örnekleri ile yaptıkları bir çalışmada bazı miRNA'ların hem doku hem serum örneklerinde ifadelenme seviyesinin değiştii gösterilmiştir. Bu çalışmaya göre, miR-21, miR-130a, miR-27b ve miR-210 önemli derecede artış gösterirken miR-221, miR-222 ve let-7f'de hafif bir artış ya da azalış görülebilir olmasına rağmen serumda önemli bir değişiklik izlenmemiştir. Buna göre bu yedi miRNA'dan yalnızca üçü (miR-130a, miR-27b ve miR210) serum biyobelirteci olarak kullanıma uygun bulunmuştur, bu sonuç dokudaki miRNA'ların yalnızca bir kısmının seruma salınmasıyla ilişkilendirilmiştir (Li ve ark, 2010). Weber ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 10 KAH'lı ve 15 sağlıklı bireyin tam kan örneklerini kullanmışlardır. RT-PCR kullanarak 16 aday miRNA'nın seviyelerini belirlemişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre, miR-222'nin de dahil olduğu 11 adet miRNA'nın hastalıklı bireylerin kan örneklerinde azaldığını tespit etmişlerdir (Weber ve ark, 2011).

Tsai ve arkadaşları tarafından, 67 iskemik inmeli, 66 herhangi bir karotid plak skoru olmayan aterosklerozlu ve 157 sağlıklı birey üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada serumda miR-221 seviyesinin sağlıklı bireylerle kıyaslandığında hastalıklı örneklerde önemli derecede bir azalma olduğu gözlenmiştir. Çalışmada, miR-21 ve miR-221 ile hastalıklar arasındaki ilişki incelenmiş, miR-21 ve miR-221'in bağımsız belirleyiciler olduğu ve sonuçta ateroskleroz ve inme için yeni birer biyobelirteç oldukları gösterilmiştir (Tsai ve ark, 2013). Başka çalışmalarda da; eritrositlerde, plateletlerde, serum ve plazmada miRNA'ların profillerine bakılmış ve KVVH'li olan ve olmayan bireylerde her bir örnek tipindeki miRNA profilinin farklı olduğu gösterilmiştir (Fichtlscherer ve ark, 2010). Dolaşımdaki miR-221'in serumdaki seviyesinin hipertansiyon, obezite, metabolik sendrom, KAH ve karotid ateroskleroz gibi pekçok vasküler ve metabolik patolojilerde önemli değişiklikler sergilediği

gösterilmiştir ve bu durum bu miRNA'yı potansiyel bir tanı biyobelirteci haline getirmektedir (Chistiakov ve ark, 2014).

Klinik bir çalışmada, ateroskleroz hastalığı ile ilişkisi olduğu düşünülen subklinik hipotiroidizm (SCH) hastalığına sahip bireylerde dolaşım halindeki altı adet miRNA'nın ifadenme düzeylerine RT-PCR ile bakılmıştır. Bu çalışmada Zhang ve arkadaşları normal kontrol örneklerinden, sadece SCH'li hastalardan, SCH'ye ek olarak ateroskleroz hastalığı da olan bireylerden ve yalnızca ateroskleroza olan bireylerden oluşan gruplarda miRNA profillerini analiz etmişlerdir. Sonuçta, miR-221 ve miR-222'nin hem SCH ve ateroskleroza birlikte taşıyan hem de yalnızca ateroskleroz hastalığına sahip olan bireylerde azaldığını, iki durum arasındaki ifadenme seviyesinde ise bir farklılık olmadığını gözlemlemişlerdir (Zhang ve ark, 2013).

Dolaşım halindeki miRNA içerikleri aynı bireyin kan örneklerinin farklı komponentlerinde bile farklılık göstermektedir. Örneğin Wang ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yapılan bir çalışmada aynı sağlıklı bireylere ait serum ve plazma örnekleri arasındaki miRNA spektrumları kıyaslanmıştır. Buna göre serum örnekleri miRNA konsantrasyonu bakımından plazma örneklerinden daha yoğun bulunmuştur. Bu farklılığın sebebinin bazı fizyolojik etkiler olduğu düşünülse de buna dair kesin bir yorum getirilememiştir (Wang ve ark, 2012).

Kanıtlar, kanser gibi hastalıklar sırasında serumda gözlenen miRNA'ların yalnızca dolaşımdaki kan hücrelerinden değil aynı zamanda hastalık devam ederken etkilenmiş olan diğer dokulardan da türetildiğini desteklemektedir ve bu miRNA'lar serumda potansiyel biyobelirteçler olarak işlev görebilir (Volinia ve ark, 2006). Örneğin, aterosklerozda plak ve trombus biçimlenmesine katılan bütün hücresel bileşenler (endotelial hücreler, makrofajlar, düz kas hücreleri gibi) dolaşımda bulunan ve ateroskleroz için biyobelirteç olma potansiyeline sahip miRNA'ların salgılanmasını yapabilir. Ayrıca, bu hücresel bileşenler de teorik olarak dolaşımdan miRNA alımı ya da daha az miRNA salınımı yapabilir, her iki durum da dolaşımdaki miRNA seviyesinde bir azalmayla sonuçlanır (Tijssen ve ark, 2012).

Benzer çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da kan örneklerinde miR-221/222 seviyesinin hasta grubunda kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir. Buna göre, bu miRNA'ların dolaşıma salınımının azalmasından ve hatta

teorikte belirtildiği üzere dolaşımdan ateroskleroz patolojisinde yer alan hücrelere geçişinden söz edilebilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada koroner arter plakları ile İMA dokuları ve hasta-kontrol grubu olarak ayrılan kan örneklerinde miR-221/222'nin ifadenme seviyeleri arasındaki farklılıklar incelenmiştir. Kan örneklerinde miRNA'ların hasta grubunda kontrol grubuna göre ifadesinin azaldığı gözlenmiştir. miR-221 ve miR-222'nin, koroner arter plaklarında İMA dokularına oranla artmış ifade seviyeleri bulunmuştur ve miR-221'in seviyesindeki artış ile ateroskleroz arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık tespit edilmiştir. miR-221/222'nin artan ifadenme seviyelerinin koroner arter plak oluşumu ve hastalığın patolojik sürecinde önemli bir etken olabileceği düşünölmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Aikawa, M., Sugiyama, S., Hill, C.C., Voglic, S.J., Rabkin, E., Fukumoto, Y., Schoen, F.J., Witztum, J.L., Libby, P. (2002). Lipid Lowering Reduces Oxidative Stress and Endothelial Cell Activation in Rabbit Atheroma. *Circulation*, 106:1390–1396.
- Alizadeh Dehnavi, R., De Roos, A., Rabelink, T.J, Van Pelt, J., Wensink, M.J., Romijn, J.A., Tamsma, J.T. (2008). Elevated CRP Levels are Associated with Increased Carotid Atherosclerosis Independent of Visceral Obesity. *Atherosclerosis*, 200:417-423.
- Allahverdian, S., Pannu, P.S., Francis, G.A. (2012). Contribution of Monocyte-Derived Macrophages and Smooth Muscle Cells to Arterial Foam Cell Formation. *Cardiovasc Res*, 95:165–172.
- Anderson, T.J. (1999). Assessment and Treatment of Endothelial Dysfunction in Humans. *J Am Coll Cardiol*, 34:631-638.
- Aronson, D., Rayfield, E.J. (1996). Diabetes and Obesity. Atherosclerosis and Coronary Artery Disease, Philadelphia, Volume 1, 2:327-359.
- Arroyo, J.D., Chevillet, J.R., Kroh, E.M., Ruf, I.K., Pritchard, C.C., Gibson, D.F., Mitchell, P.S., Bennett, C.F., Pogosova-Agadjanyan, E.L., Stirewalt, D.L., Tait, J.F., Tewari, M. (2011). Argonaute2 Complexes Carry A Population of Circulating MicroRNAs Independent of Vesicles in Human Plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 108:5003–5008.
- Assmann, G., Cullen, P., Schulte, H. (2002). Simple Scoring Scheme for Calculating The Risk of Acute Coronary Events Based on The 10-Year Follow-Up of The Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) Study. *Circulation*, 105:310-315.
- Aviram, M., Rosenblat, M., Bisgaier, C.L., Newton, R.S., Primo-Parmo, S.L., La Du, B.N. (1998). Paraoxonase Inhibits High Density Lipoprotein Oxidation and Preserves Its Functions. A Possible Peroxidative Role for Paraoxonase. *J Clin Invest*, 101:1581-1590.
- Babiak, J., Rudel, L.L. (1987). Lipoproteins and Atherosclerosis. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, 1:515.
- Badimon, J.J., Lettino, M., Toschi, V., Fuster, V., Berrozpe, M., Chesebro, J.H., Badimon, L. (1999). Local Inhibition of Tissue Factor Reduces The Thrombogenicity of Disrupted Human Atherosclerotic Plaques: Effects of Tissue Factor Pathway Inhibitor on Plaque Thrombogenicity Under Show Conditions. *Circulation*, 99(14):1780-1787.

- Ball, R.Y., Stowers, E.C., Burton, J.H., Cary, N.R., Skepper, J.N., Mitchinson, M.J. (1995). Evidence That The Death of Macrophage Foam Cells Contributes to The Lipid Core of Atheroma. *Atherosclerosis*, 114(1):45-54.
- Barnoya, J., Glantz, S.A. (2005). Cardiovascular Effects of Secondhand Smoke: Nearly as Large as Smoking. *Circulation*, 111:2684-2698.
- Bartel, D.P. (2009). MicroRNA Target Recognition and Regulatory Functions. *Cell*, 136(2):215-233.
- Bashour, T.T., Hanna, E.S., Mason, D.T. (1986). Myocardial Revascularization with Internal Mammary Artery Bypass: An Emerging Treatment of Choice. *Am Heart J*, 11:143-153.
- Bazo, A.P., Salvadori, D. Jr., Salvadori, R.A., Sodr , L.P., Da Silva, G.N., De Camargo, E.A., Ribeiro, L.R., Salvadori, D.M. (2011). DNA repair gene polymorphism is associated with the genetic basis of atherosclerotic coronary artery disease. *Cardiovasc Pathol*, 20(1):e9-15.
- Bell, D.S. (2004). Type 2 Diabetes Mellitus: What is The Optimal Treatment Regimen? *Am J Med*, 116:23-29.
- Bellamy, M.F., McDowell, I.F. (1997). Putative Mechanisms for Vascular Damage by Homocysteine. *J Inherit Metab Dis*, 20:307-315.
- Berliner, J.A., Navab, M., Fogelman, A.M., Frank, J.S., Demer, L.L., Edwards, P.A., Watson, A.D., Lusis, A.J. (1995). Atherosclerosis: Basic Mechanisms. Oxidation, Inflammation, and Genetics. *Circulation*, 91(9):2488-2496.
- Bidzhekov, K., Gan, L., Denecke, B., Rostalsky, A., Hristov, M., Koepfel, T.A., Zerneck, A., Weber, C. (2012). MicroRNA Expression Signatures and Parallels Between Monocyte Subsets and Atherosclerotic Plaque in Humans. *Thromb Haemost.*, 107(4):619-625.
- Birney, E., Stamatoyannopoulos, J.A., Dutta, A., Guigo, R., Gingeras, T.R., Margulies, E.H., Weng, Z., Snyder, M., Dermitzakis, E.T. (2007). Identification and Analysis of Functional Elements in 1% of The Human Genome by The ENCODE Pilot Project. *Nature*, 447:799-816.
- Boyacı, B. (2003). Türk Kardiyoloji Derneği Koroner Kalp Hastalığı Korunma Kılavuzu ve ATP III Benzerlikleri ve Farklılıkları. *Lipid G ndemi*, 6:1-3.
- Braunwald, E. (1992). Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine. W. B. Saunders, 4.th. Edd. s:1114.

- Brosnan, C.A., Voinnet, O. (2009). The Long and The Short of Noncoding RNAs. *Cell Biology*, 21:416-425.
- Camejo, G., Hurt-Camejo, E., Wiklund, O., Bondjers, G. (1998). Association of Apo-B Lipoproteins with Arterial Proteoglycans: Pathological Significance and Molecular Basis. *Atherosclerosis*, 139:205-222.
- Castelli, W.P. (1984). Epidemiology of Coronary Heart Disease: The Framingham Heart Study. *Am J Med*, 76:4.
- Centro Laboratuvarı (Erişim Tarihi: 29.02.2016). Homosistein. <http://www.centro.com.tr/download/homosistein.pdf>
- Chen, C., Halkos, M.E., Surowiec, S.M., Conklin, B.S., Lin, P.H., Lumsden, A.B. (2000). Effects of Homocysteine on Smooth Muscle Cell Proliferation in both Cell Culture and Artery Perfusion Culture Models. *J Surg Res*, 88:26-33.
- Chen, X., Ba, Y., Ma, L., Cai, X., Yin, Y., Wang, K., Guo, J., Zhang, Y., Chen, J., Guo, X., Li, Q., Li, X., Wang, W., Zhang, Y., Wang, J., Jiang, X., Xiang, Y., Xu, C., Zheng, P., Zhang, J., Li, R., Zhang, J., Shang, X., Gong, T., Ning, G., Wang, J., Zen, K., Zhang, J., Zhang, C.Y. (2008). Characterization of MicroRNAs in Serum: A Novel Class of Biomarkers for Diagnosis of Cancer and Other Diseases. *Cell Research*, 18:997-1006.
- Chen, X., Liang, H., Zhang, J., Zen, K., Zhang, C.Y. (2012). Secreted MicroRNAs: A New Form of Intercellular Communication. *Trends Cell Biol.*, 22:125–132.
- Chen, Y., Banda, M., Speyer, C.L., Smith, J.S., Rabson, A.B., Gorski, D.H. (2010). Regulation of The Expression and Activity of The Antiangiogenic Homeobox Gene GAX/MEOX2 by ZEB2 and MicroRNA-221. *Molecular and Cellular Biology*, 30:3902–3913.
- Cheung, O., Sanyal, A.J. (2010). Role of MicroRNAs in Non-Alcoholic Steatohepatitis. *Curr Pharm Des.*,16:1952–1957.
- Chistiakov, D.A., Sobenin, I.A., Orekhov, A.N., Bobryshev, Y.V. (2014). Human MiR-221/222 in Physiological and Atherosclerotic Vascular Remodeling. *BioMed Research International*, 2015:1-18.
- Chow, M.S.T., Sim, E., Orszulak, T.A., Schaff, H.V. (1994). Patency of Internal Thoracic Artery Grafts: Comparison of Right Versus Left and Importance of Vessel Grafted. *Circulation*,90(2):129-132.
- Coleman, B.C., Lightell, Jr. J.D., Moss, S.C., Bates, M., Parrino, P.E., Woods, T.C. (2013). Elevation of MiR-221 and MiR-222 in The Internal Mammary Arteries of

- Diabetic Subjects and Normalization with Metformin. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 374: 125-129.
- Cook-Miles, J.M. (2002). VCAM-1 Signals During Lymphocyte Migration: Role of Reactive Oxygen Species. *Molecular Immun*, 39:499-508.
- Cowan, D.B., Langille, B.L. (1996). Cellular and Molecular Biology of Vascular Remodeling. *Current Opinion in Lipidology*, 7(2):94–100.
- Cox, J.L., Chiasson, D.A., Gotlieb, A.I. (1991). Stranger in A Strange Land: The Pathogenesis of Saphenous Vein Graft Stenosis with Emphasis on Structural and Functional Differences Between Veins and Arteries. *Prog Cardiovasc Dis*, 34:45-68.
- Crawford, M.H., Di Marco, J.P. (2003). Crawford Kardiyoloji. And Yayıncılık, İstanbul, 1. Baskı, 5:1-10.
- Creemers, E.E., Tijssen, A.J., Pinto, Y.M. (2012). Circulating MicroRNAs: Novel Biomarkers and Extracellular Communicators in Cardiovascular Disease? *Circ Res.*, 110:483–495.
- Criqui, M.H, Heiss, G., Cohn, R., Cowan, L.D., Suchindran, C.M., Bangdewala, S., Kritchevsky, S., Jacobs, Jr. D.R., O’Grady, H.K., Davis, C.E. (1998). Plasma Triglyceride Level and Mortality From Coronary Heart Disease. *NEJM*, 328:1220-1225.
- Cui, Q., Yu, Z., Purisima, E.O., Wang, E. (2006). Principles of MicroRNA Regulation of A Human Cellular Signaling Network. *Mol Syst Biol*, 2: 46.
- Cui, Q., Yu, Z., Pan, Y., Purisima, E.O., Wang, E. (2007). MicroRNAs Preferentially Target The Genes with High Transcriptional Regulation Complexity. *Biochem Biophys Res Commun*, 352:733–738.
- Cui, Q., Yu, Z., Purisima, E.O., Wang, E. (2007). MicroRNA Regulation and Interspecific Variation of Gene Expression. *Trends Genet*, 23:372–375.
- Çağatay, G., Soydan, İ. (1997). Klinik Kardiyoloji. Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, Sayfa:99.
- Davies, M.J., Richardson, P.D., Woolf, N., Katz, D.R., Mann, J. (1993). Risk of Thrombosis in Human Atherosclerotic Plaques: Role of Extracellular Lipid, Macrophage, and Smooth Muscle Cell Content. *Br Heart J*, 69:377-381.
- Davignon, J., Ganz, P. (2004). Role of Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. *Circulation*, 109:27-32.

- Davis, B.N., Hilyard, A.C., Nguyen, P.H., Lagna, G., Hata, A. (2009). Induction of MicroRNA-221 by Platelet-Derived Growth Factor Signaling is Critical for Modulation of Vascular Smooth Muscle Phenotype. *J Biol Chem.*, 284:3728–3738.
- Dentelli, P., Rosso, A., Orso, F., Olgasi, C., Taverna, D., Brizzi, M.F. (2010). MicroRNA-222 Controls Neovascularization by Regulating Signal Transducer and Activator of Transcription 5A Expression. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 30:1562–1568.
- DiCorleto, P.E., Gimbrone, M.A. (1996). Vascular Endothelium. Atherosclerosis and Coronary Artery Disease, Philadelphia: Lippincott-Raven; vol 1. s:387.
- Di Leva, G., Gasparini, P., Piovan, C., Ngankeu, A., Garofalo, M., Taccioli, C., Iorio, M.V., Li, M., Volinia, S., Alder, H., Nakamura, T., Nuovo, G., Liu, Y., Nephew, K.P., Croce, C.M. (2010). MicroRNA Cluster 221-222 and Estrogen Receptor  $\alpha$  Interactions in Breast Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 102:706–721.
- Doğan, İ., Aktop, Z., Erdem, Z., Erden, O., Doğan, S.M. (2015). Koroner Arter Hastalığı Varlığı ve Karotis İntima-Media Kalınlığının Anjiyografik İlişkisi. *Eur J Health Sci*, 1:20-26.
- Doran, A.C., Meller, N., McNamara, C.A. (2008). Role of Smooth Muscle Cells in The Initiation and Early Progression of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28:812-819.
- Douglas, J.S. Jr. (1994). Percutaneous Approaches to Recurrent Myocardial Ischemia in Patients with Prior Surgical Revascularization. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 6: 98-108.
- Dursun, M., Şanlı, Ş. (2013). Koroner Baypass Greftlerinin Değerlendirilmesi. *Türk Radyoloji Seminerleri, Trd Sem*, 1:83-92.
- Dursunoğlu, N., Dursunoğlu, D. (2005). Obstrüktif Uyku Apne Sendromu, Endotel Disfonksiyonu ve Koroner Ateroskleroz. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, 53(3):299-306.
- Eker, E., Şahin, M. (2002). Birinci Basamakta Obeziteye Yaklaşım. *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi*, cilt 11, sayı 7:246-249.
- Enar, R. (2004). Akut Miyokard İnfarktüsü. *Trombokardiyoloji, Nobel Tıp Kitabevleri*,
- Enar, R. (2006). Ateroskleroz-Aterotromboz. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi*, 52:9-27.

- Erentürk, S. (1997). Koroner Bypass Operasyonlarında Greft Seçimi. *GKD Cer Derg*, 5:145-155.
- Erol, Ç. (2004). Klinik Kardiyoloji. Medikal & Nobel Tıp Kitap Saray, 3:9-15.
- Esquela-Kerscher, A., Slack, F.J. (2006). Oncomirs – MicroRNAs with A Role in Cancer. *Nat Rev Cancer*, 6(4):259-269.
- EUROASPIRE Study Group (1997). A European Society of Cardiology Survey of Secondary Prevention of Coronary Heart Disease: Principal Results. *Eur Heart J*, 18:1569-1582.
- Farugi, R.M., Di Corleto, P.E. (1993). Mechanisms of Monocyte Recruitment and Accumulation. *B.H.J.*, 69:19-29.
- Feinberg, M.W., Moore, K.J. (2016). MicroRNA Regulation of Atherosclerosis. *Circulation Research*, 118:703-720.
- Fichtlscherer, S., De Rosa, S., Fox, H., Schwietz, T., Fischer, A., Liebetrau, C., Weber, M., Hamm, C.W., Röxe, T., Müller-Ardogan M., Bonauer, A., Zeiher, A.M., Dimmeler, S. (2010). Circulating MicroRNAs in Patients with Coronary Artery Disease. *Circ Res*, 107(5):667-684.
- Fichtlscherer, S., Zeiher, A.M., Dimmeler, S. (2011). Circulating MicroRNAs: Biomarkers or Mediators of Cardiovascular Diseases? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 31:2383–2390.
- Franklin, S.S., Khan, S.A., Wong, N.D., Larson, M.G., Levy, D. (1999). Is Pulse Pressure Useful in Predicting Risk for Coronary Heart Disease? The Framingham Heart Study. *Circulation*, 100: 354-360.
- Friedman, R.C., Farh, K.K., Burge, C.B., Bartel, D.P. (2009). Most Mammalian mRNAs are Conserved Targets of MicroRNAs. *Genome Research*, 19:92-105.
- Fuster, V., Fayad, A.Z., Badimon, J.J. (1999). Acute Coronary Sendromes: Biology. *Lancet*, 353:5-9.
- Fuster, V., Alexander, R.W., O'Rourke, R. (2002). Hurt's The Heart. And Danışmanlık Eğitim Yayıncılık ve Organizasyon Ltd. Şti., 1. Baskı, 1065-1109.
- Fuster, V., Moreno, P.R., Badimon, J.J. (2005). Atherothrombosis and High-Risk Plaque. *JACC*, 46:937-954.
- Galkina, E., Ley, K. (2009). Immune and Inflammatory Mechanisms of Atherosclerosis. *Annu Rev Immunol*, 27:165–197.

- Genest, J. Jr., Martin Munley, S.S., McNamara, J.R., Ordovas, J.M., Jenner, J., Myers, R.H. (1992). Familial Lipoprotein Disorders in Patients with Premature Coronary Artery Disease. *Circulation*, 85:2025-2033.
- Giuseppe, P., Barbara, S., Simona, G., Gabriella, L. (2009). Cholesterol Oxidation Products in The Vascular Remodeling Due to Atherosclerosis. *Mol Aspects Med*, 30(3):180-189.
- Glagov, S., Weisenberg, E., Zarias, C.K., Stankunavicius, R., Kolettis, G.J. (1987). Compensatory Enlargement of Human Atherosclerotic Coronary Arteries. *N Engl J Med*, 316: 1371-1375.
- Goldstein, J.L, Kita, T., Brown, M.S. (1983). Defective Lipoprotein Receptors and Atherosclerosis: Lessons From An Animal Counterpart of Familial Hypercholesterolemia. *N Eng J Med*, 309:288-296.
- Grundy, S.M., Cleeman, J.I., Merz, C.N.B., Brewer, H.B., Clark, L.T., Hunninghake, D.B., Pasternak, R.C., Smith, S.C., Stone, N.J. (2004). For The Coordinating Committee of The National Cholesterol Education Program Implications of Recent Clinical Trials for The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *Circulation*, 110:227-239.
- Guerci, B., Bohme, P., Kearney-Schwartz, A., Zannad, F., Drouin, P. (2001). Endothelial Dysfunction and Type 2 Diabetes. Part 2: Altered Endothelial Function and The Effects of Treatments in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab.*, 27:436-447.
- Gurevitch, J., Gaspar, T., Orlov, B. (2003). Noninvasive Evaluation of Arterial Grafts with Newly Released Multidetector Computed Tomography. *Ann Thorac Surg*, 76:1523-1527.
- Guyton, J.R., Klemp, K.F. (1994). Development of The Atherosclerotic Core Region. Chemical and Ultrastructural Analysis of Microdissected Atherosclerotic Lesions from Human Aorta. *Arterioscler Thromb.*, (8):1305-1314.
- Hansson, G.K. (2005). Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *N Engl J Med*, 352:1685-1695.
- Hansson, G.K., Libby, P. (2006). The Immune Response in Atherosclerosis: A Double-Edged Sword. *Nat Rev Immunol*, 6(7):508-519.
- He, L., Hannon, G.J. (2004). MicroRNAs: Small RNAs with A Big Role in Gene Regulation. *Nature Reviews Genetics*, 5:522-531.
- Hergenreider, E., Heydt, S., Treguer, K., Boettger, T., Horrevoets, A.J.G., Zeiher, A.M., Scheffer, M.P., Frangakis, A.S., Yin, X., Mayr, M., Braun, T., Urbich, C.,

- Boon, R.A., Dimmeler, S. (2012). Atheroprotective Communication Between Endothelial Cells and Smooth Muscle Cells through MiRNAs. *Nat Cell Biol.*,14:249–256.
- Hopkins, P.N., Williams, R.R. (1981). A Survey of 246 Suggested Coronary Risk Factors. *Atherosclerosis*, 40: 1–52.
- Hopkins, N.P. (2013). Molecular Biology of Atherosclerosis. *Physiol Rev*, 93: 1317–1542.
- Howard, G., O'Leary, D.H., Zaccaro, D., Haffner, S., Rewers, M., Hamman, R., Selby, J.V., Saad, M.F., Savage, P., Bergman, R. (1996). Insulin Sensitivity and Atherosclerosis. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) Investigators. *Circulation*, 93(10):1809-1817.
- Huo, Y., Ley, K. (2001). Adhesion Molecules and Atherogenesis. *Acta Physiol Scand*, 173:35-43.
- International Human Genome Sequencing Consortium (2004). Finishing The Euchromatic Sequence of The Human Genome. *Nature*, 431:931–945.
- İliçin, G., Biberoglu, K., Süleymanlar, G., Ünal, S. (2003). İç Hastalıkları. Güneş Kitabevi, 2. Baskı, 449-474.
- Janeway, C.A. Jr., Medzhitov, R. (2002). Innate Immune Recognition. *Annu Rev Immunol*, 20:197-216.
- Jara, L.J., Medina, G., Vera Lastra, O., Amigo, M.C. (2006). Accelerated Atherosclerosis, Immune Response and Autoimmune Rheumatic Diseases. *Autoimmun Rev*, 5:195 201.
- Jonas, M.A., Oates, J.A., Ockene, J.K., Hennekens, C.H. (1992). Statement on Smoking and Cardiovascular Disease for Health Care Professionals. *Circulation*, 86:1664-1669.
- Kannel, W.B. (1996). Blood Pressure as A Cardiovascular Risk Factor: Prevention and Treatment. *JAMA*, 275:1571–1576.
- Kapranov, P., Cheng, J., Dike, S., Nix, D.A., Dutttagupta, R., Willingham, A.T., Stadler, P.F., Hertel, J., Hackermüller, J., Hofacker, I.L., Bell, I., Cheung, E., Drenkow, J., Dumais, E., Patel, S., Helt, G., Ganesh, M., Ghosh, S., Piccolboni, A., Sementchenko, V., Tammana, H., Gingeras, T.R. (2007). RNA Maps Reveal New RNA Classes and A Possible Function for Pervasive Transcription. *Science*, 316:1484–1488.
- Karacan, S. (2003). Sedanter Yaşamın Toplum Hayatına Zararları. *TSA*, 7/1:133-145.



- Keleş, İ. (2008). Türk Erişkinlerde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri (Tekharf Çalışması). *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Kardiyoloji Gündemi Sempozyum Dizisi*, 64:11-14.
- Kim, V.N., Han, J., Siomi, M.C. (2009). Biogenesis of Small RNAs in Animals. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10:126-139.
- Kim, Y.K., Heo, I., Kim, V.N. (2010). Modifications of Small RNAs and Their Associated Proteins. *Cell*, 143:703-709.
- Kockx, M.M., De Meyer, G.R., Buysens, N., Knaapen, M.W., Bult, H., Herman, A.G. (1998). Cell Composition, Replication, and Apoptosis in Atherosclerotic Plaques After 6 Months of Cholesterol Withdrawal. *Circ Res*, 83:378–387.
- Koeng, W. (1999). Atherosclerosis Involves More Than Just Lipids: Focus on Inflammation. *Eur. Heart. J.*, 1:19-26.
- Korshunov, V.A., Schwartz, S.M., Berk, B.C. (2007). Vascular Remodeling: Hemodynamic and Biochemical Mechanisms Underlying Glagov's Phenomenon. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 27(8):1722–1728.
- Kosaka, N., Iguchi, H., Ochiya, T. (2010). Circulating MicroRNA in Body Fluid: A New Potential Biomarker for Cancer Diagnosis and Prognosis. *Cancer Sci.*, 101:2087–2089.
- Krankel, N., Luscher, T.F., Landmesser, U. (2014). Novel Insights into Vascular Repair Mechanisms. *Current Pharmaceutical Design*, 20(14):2430-2438.
- Krijne, R., Deng, M.C.-H.K., Heinrich, K.W., Sons, H., Krian, A. (1990). Semiselective Angiography of The Internal Mammary Arteries as A Preparation for Coronary Bypass Surgery. *Am J Cardiol*, 66:377-378.
- Kuehbach, A., Urbich, C., Zeiher, A.M., Dimmeler, S. (2007). Role of Dicer and Drosha for Endothelial MicroRNA Expression and Angiogenesis. *Circulation Research*, 101:59–68.
- Kumral, E. (2003). Aterosklerozun Epidemiyolojisi ve Genel Özellikleri. Ateroskleroz ve Serebrovasküler Hastalıklar, Tayf Matbacılık, İstanbul, 1. Baskı:3-9.
- Kunjathoor, V.V., Febbraio, M., Podrez, E.A., Moore, K.J., Andersson, L., Koehn, S., Rhee, J.S., Silverstein, R., Hoff, H.F., Freeman, M.W. (2002). Scavenger Receptors Class A-I/II and CD36 are The Principal Receptors Responsible for The Uptake of Modified Low Density Lipoprotein Leading to Lipid Loading in Macrophages. *J Biol Chem.*, 277:49982-49988.

- Kurban, S., Mehmetoğlu, İ.(2005). Okside Düşük Dansiteli Lipoprotein Otoantikörleri ve Klinik Önemi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 25:73-84.
- Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Lendeckel, W., Tuschl, T. (2001). Identification of Novel Genes Coding for Small Expressed RNAs. *Science*, 294:853-858.
- Landmesser, U., Hornig, B., Drexler, H. (2004). Endothelial Function: A Critical Determinant in Atherosclerosis? *Circulation*, II-27-II-33.
- Lau, N.C., Lim, L.P., Weinstein, E.G., Bartel, D.P. (2001). An Abundant Class of Tiny RNAs with Probable Regulatory Roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 294:858-862.
- Law, M.R., Wald, N.J., Thompson, S.G. (1994). By How Much and How Quickly Does Reduction in Serum Cholesterol Concentration Lower Risk of Ischaemic Heart Disease? *BMJ*, 308:367.
- Lawrie, C.H., Gal, S., Dunlop, H.M., Pushkaran, B., Liggins, A.P., Pulford, K., Banham, A.H., Pezzella, F., Boulwood, J., Wainscoat, J.S., Hatton, C.S.R., Harris, A.L. (2008). Detection of Elevated Levels of Tumour-Associated MicroRNAs in Serum of Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *British Journal of Haematology*, 141:672-675.
- Lee, R.C., Feinbaum, R.L., Ambros, V. (1993). The *C. elegans* Heterochromic Gene *lin-4* Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-14*. *Cell*, 75(5):843-854.
- Lee, R.C., Ambros, V. (2001). An Extensive Class of Small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 294:862-864.
- Lee, R.T., Libby, P. (1997). The Unstable Atheroma. *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol*, 17:1859–1867.
- Lee, Y., Ahn, C., Han, J., Choi, H., Kim, J., Yim, J., Lee, J., Provost, P., Radmark, O., Kim, S., Kim, V.N. (2003). The Nuclear RNase III Drosha Initiates MikroRNA Processing. *Nature*, 425(6956):415-419.
- Leung, A., Trac, C., Jin, W., Lanting, L., Akbany, A., Saetrom, P., Schones, D.E., Natarajan, R. (2013). Novel Long Noncoding RNAs are Regulated by Angiotensin II in Vascular Smooth Muscle Cells. *Circulation Research*, 113:266–278.
- Li, H., Forsterman, U. (2000). Nitric Oxide in Pathogenesis of Vascular Disease. *J Pathol*, 190:244-254.

- Li, T., Cao, H., Zhuang, J., Wan, J., Guan, M., Yu, B., Li, X., Zhang, W. (2010). Identification of miR-130a, miR-27b and miR-210 as Serum Biomarkers for Atherosclerosis Obliterans. *Clinica Chimica Acta*, 412:66-70.
- Li, Y., Song, Y.H., Li, F., Yang, T., Lu, Y.W., Geng, Y.J. (2009). MicroRNA-221 Regulates High Glucose-Induced Endothelial Dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun.*, 381(1):81–83.
- Libby, P. (2002). Inflammation in The Atherosclerosis. *Nature*, 420:868-874.
- Libby, P., Ridker, P.M. (2006). Inflammation and Atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol*, 48:33-46.
- Libby, P. (2009). Molecular and Cellular Mechanisms of The Thrombotic Complications of Atherosclerosis. *J Lipid Res*, 50:352–357.
- Libby, P., Ridker, P.M., Hansson, G.K. (2011). Progress and Challenges in Translating The Biology of Atherosclerosis. *Nature*, 473:317–325.
- Liu, X., Cheng, Y., Yang, J., Xu, L., Zhang, C. (2012). Cell-Specific Effects of MiR-221/222 in Vessels: Molecular Mechanism and Therapeutic Application. *J Mol Cell Cardiol.*, 52:245–255.
- Lu, M., Zhang, Q., Deng, M., Miao, J., Guo, Y., Gao, W., Cui, Q. (2008). An Analysis of Human MicroRNA and Disease Associations. *PloS ONE*, 3(10):e3420.
- Madrigal-Matute, J., Martin-Ventura, J.L., Blanco-Colio, L.M., Michel, J.B., Meilhac, O. (2011). Heat-Shock Proteins in Cardiovascular Disease. *Adv Clin Chem*, 54:1-43.
- Madrigal-Matute, J., Rotllan, N., Aranda, J.F., Fernandez-Hernando, C. (2013). MicroRNAs and Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*, 15:322.
- Magnus, P., Beaglehole, R. (2001). The Real Contribution of The Major Risk Factors to The Coronary Epidemics: Time to End The “only-50%” Myth. *Arch Intern Med*;161:2657-2660.
- Matthews, A.T., Ross, M.K. (2015). Oxyradical Stress, Endocannabinoids and Atherosclerosis. *Toxics*, 3(4):481-498.
- Maton, A. (1993). Human Biology and Health. Englewood Cliffs, N.J.:Prentice Hall
- McCully, K.S. (1969). Vascular Pathology of Homocysteinemia: Implications for The Pathogenesis of Arteriosclerosis. *Am J Pathol*, 56:111-128.

- McManus, D.D., Ambros, V. (2011). Circulating MicroRNAs in Cardiovascular Disease. *Circulation*, 124:1908–1910.
- Meerson, A., Traurig, M., Ossowski, V., Fleming, J.M., Mullins, M., Baier, L.J. (2013). Adipose MicroRNA-221 is Up-Regulated in Obesity and Affects Fat Metabolism Downstream of Leptin and TNF- $\alpha$ . *Diabetologia*, vol.56, no.9:1971–1979.
- Mery, C.M., Turek, J.W. (2011). TSRA Review of Cardiothoracic Surgery. (Erişim tarihi: 20.05.2016) <http://kitaplar.ankara.edu.tr/dosyalar/pdf/851.pdf>
- Miller, Y.I., Viriyakosol, S., Worrall, D.S., Boullier, A., Butler S., Witztum J.L. (2005). Toll- Like Receptor 4-Dependent and –Independent Cytokine Secretion Induced by Minimally Oxidized Low-Density Lipoprotein in Macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 25(6):1213-1219.
- Minami, Y., Satoh, M., Maesawa, C., Takahashi, Y., Tabuchi, T., Itoh, T., Nakamura, M. (2009). Effect of Atorvastatin on MicroRNA221/222 Expression in Endothelial Progenitor Cells Obtained from Patients with Coronary Artery Disease. *European Journal of Clinical Investigation*, 39:359-367.
- Mitchel, P.S., Parkin, R.K., Kroh, E.M., Fritz, B.R., Wyman, S.K., Pogosova-Agadjanyan, E.L., Peterson, A., Noteboom, J., O'Briant, K.C., Allen, A., Lin, D.W., Urban, N., Drescher, C.W., Knudsen, B.S., Stirewalt, D.L., Gentleman, R., Vessella, R.L., Nelson, P.S., Martin, D.B., Tewari, M. (2008). Circulating MicroRNAs as Stable Blood-Based Markers for Cancer Detection. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 105(30):10513-10518.
- Moore, K.J., Sheedy, F.J., Fisher, E.A. (2013). Macrophages in Atherosclerosis: A Dynamic Balance. *Nat Rev Immunol*, 13:709–721.
- Motwani, J.G., Topol, E.J. (1998). Aortocoronary Saphenous Vein Graft Disease: Pathogenesis, Predisposition and Prevention. *Circulation*, 97:916-931.
- Naghavi, M, Libby, P., Falk, E., Casscells, S.W., Litovsky, S., Rumberger, J., Badimon, J.J., Stefanadis, C., Moreno, P., Pasterkamp, G., Fayad, Z., Stone, P.H., Waxman, S., Raggi, P., Madjid, M., Zarrabi, A., Burke, A., Yuan, C., Fitzgerald, P.J., Siscovick, D.S., De Korte, C.L., Aikawa, M., Airaksinen, K.E.J., Assmann, G., Becker, C.R., Chesebro, J.H., Farb, A., Galis, Z.S., Jackson, C., Jang, I.K., Koenig, W., Lodder, R.A., March, K., Demirovic, J., Navab, M., Priori, S.G., Pekhter, M.D., Bahr, R., Grundy, S.M., Mehran, R., Colombo, A., Boerwinkle, E., Ballantyne, C., Insull, W., Schwartz, R.S., Vogel, R., Serruys, P.W., Hansson, G.K., Faxon, D.P., Kaul, S., Drexler, H., Greenland, P., Muller, J.E., Virmani, R., Ridker, P.M., Zipes, D.P., Shah, P.K., Willerson, J.T. (2003). From Vulnerable Plaque to Vulnerable Patient. *Circulation*, 108:1664-1672.

- National Institutes of Health (1998). Clinical Guidelines on The Identification, Evaluation and The Treatment of Overweight and Obesity in Adults: The Evidence Report. *Obes Res*, 6(supp2):51-209.
- Navab, M., Berliner, J.A., Watson, A.D., Hama, S.Y., Territo, M.C., Lusis, A.J., Shih, D.M., Van Lenten, B.J., Frank, J.S., Demer, L.L., Edwards, P.A., Fogelman, A.M. (1996). The Yin and Yang of Oxidation in The Development of The Fatty Streak: A Review Based on The 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture. *Arterioscler Thromb Vas Biol*, 16:831.
- Nho, R.S., Sheaff, R.J. (2003). p27kip1 Contributions to Cancer. *Prog Cell CycleRes.*, 5:249-259.
- Nishiguchi, T., Imanishi, T., Akasaka, T. (2014). MicroRNAs and Cardiovascular Diseases. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, 14 pages.
- Oğuş, N.T. (2014). Koroner Kalp Hastalığı Nedir? (Erişim Tarihi: 20.05.2016) <http://www.noyantemucinogus.com.tr/koroner-kalp-hastaligi-nedir/>
- Onat, A., Albayrak, S., Karabulut, A. (2007). TEKHARF 2006 Taramasında Ölüm ve Koroner Olaylar. *Türk Kardiyol Dern Arş*, 35:149-153.
- Owens, G.K. (2007). Molecular Control of Vascular Smooth Muscle Cell Differentiation and Phenotypic Plasticity. *Novartis Foundation Symposia*, 283:174–191.
- Pamukçu Baran, Ö., Nergiz, Y., Bahçeci, S. (2007). Göbek Kordonu Kan ve Stromal Kökenli Hücrelerin Sinir Hücrelerine Farklılaşması. *Dicle Tıp Dergisi*, 34(3):233-238.
- Paranjape, T., Slack, F.J., Weidhass, J.B. (2009). MicroRNAs: Tools for Cancer Diagnostics. *Gut*, 58:1546-1554.
- Paulsson, G., Zhou, X., Torrielli, M., Hansson, G.K. (2000). Oligoclonal T Cell Expansion in Atherosclerotic Lesions of Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*, 20:10–17.
- Peiser, L., Mukhopadhyay, S., Gordon, S. (2002). Scavenger Receptors in Innate Immunity. *Curr Opin Immunol*, 14:123-128.
- Podrez, E.A., Byzova, T.V., Febbraio, M., Salomon, R.G., Ma, Y., Valiyaveetil, M., Poliakov, E., Sun, M., Finton, P.J., Curtis, B.R., Chen, J., Zhang, R., Silverstein, R.L., Hazen, S.L. (2007). Platelet CD36 Links Hyperlipidemia, Oxidant Stress and A Prothrombotic Phenotype. *Nat Med*, 13:1086–1095.

- Poliseno, L., Tuccoli, A., Mariani, L., Evangelista, M., Citti, L., Woods, K., Mercatanti, A., Hammond, S., Rainaldi, G. (2006). MicroRNAs Modulate The Angiogenic Properties of HUVECs. *Blood*, 108:3068–3071.
- Prentice, M. (1997). Obesity The Inevitable Penalty of Civilisation. *British Med Bulletin*, 53 (suppl 2):229-237.
- Purcell, C., Tennant, M., McGeachie, J. (1997). Neointimal Hyperplasia in Vascular Grafts and Its Implications for Autologous Arterial Grafting. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 79:164–168.
- Quintavalle, M., Condorelli, G., Elia, L. (2011). Arterial Remodeling and Atherosclerosis: miRNA Involvement. *Vascular Pharmacology*, 55:106-110.
- Raitoharju, E., Lyytikäinen, L.P., Levula, M., Oksala, N., Mennander, A., Tarkka, M., Klopp, N., Illig, T., Kähönen, M., Karhunen, P.J., Laaksonen, R., Lehtimäki, T. (2011). miR-21, miR-210, miR-34a and miR-146a/b are Up-Regulated in Human Atherosclerotic Plaques in The Tampere Vascular Study. *Atherosclerosis*, 219(1):211-217.
- Rao, S.V., Donahue, M., Pi-Sunyer, X., Fuster, V. (2001). Obesity as A Risk Factor in Coronary Artery Disease. *Am Heart J*; 142:1102-1107.
- Reid, G., Kirschner, M.B., Van Zandwijk, N. (2011). Circulating MicroRNAs: Association with Disease and Potential Use as Biomarkers. *Crit Rev Oncol Hematol*;80:193-208.
- Reinhart, B.J., Slack, F.J., Basson, M., Paquinelli, A.E., Bettinger, J.C., Rougvie, A.E., Horvitz, H.R., Ruvkun, G. (2000). The 21 Nucleotide let-7 RNA Regulates Developmental Timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 403:901-906.
- Ridker, P.M., Rifai, N., Cook, N.R., Bradwin, G., Buring, J.E. (2005). Non-HDL Cholesterol, Apolipoproteins A and B, Standart Lipid Measures, Lipid Ratios and CRP as Risk Factors for Cardiovascular Disease in Women. *JAMA*, 294:326-333.
- Rissanen, A.M. (1979). Familial Aggregation of Coronary Heart Disesease in A High Incidence Area. *Br Heart J*, 42:294.
- Ross, R. (1993). The Pathogenesis of Atherosclerosis. *Nature*, 362:801-809.
- Ross, R. (1999). Atherosclerosis an Inflammatory Disease. *N Eng J Med*, 340:115–126.
- Ross, M.K., Matthews, A.T., Mangum, L.C. (2014). Chemical Atherogenesis: Role of Endogenous and Exogenous Poisons in Disease Development. *Toxics*, 2(1):17-34.

- Rossi, R.L., Rossetti, G., Wenandy, L., Curti, S., Ripamonti, A., Bonnal, R.J.P., Birolo, R.S., Moro, M., Crosti, M.C., Gruarin, P., Maglie, S., Marabita, F., Mascheroni, D., Parente, V., Comelli, M., Trabucchi, E., De Francesco, R., Geginat, J., Abrinani, S., Pagani, M. (2011). Distinct MicroRNA Signatures in Human Lymphocyte Subsets and Enforcement of The Naive State in CD4+ T Cells by The MicroRNA miR-125b. *Nat Immunol*, 12:796-803.
- Rozanski, A., Blumenthal, J.A., Kaplan, J. (1999). Impact of Psychological Factors on The Pathogenesis of Cardiovascular Disease and Implication for Therapy. *Circulation*, 99:2192-2217.
- Ruvkun, G. (2001). Molecular Biology. Glimpses of A Tiny RNA World. *Science*, 294(5543): 797-799.
- Sağ, C., Uzun, M., Kırılmaz, A., Kuşaklıoğlu, H., Erinc, K., Baysan, O., Demirkan, D. (1997). Proksimal Sol Ön İnen Arter Cerrahisinde Mammarian Arter Açıklığı Üzerine Etkili Faktörlerin Değerlendirilmesi. *Türk Kardiyol Dern Arş*,25:35-38.
- Saydam, F., Değirmenci, İ., Güneş, H.V. (2011). MikroRNA'lar ve Kanser. *Dicle Medical Journal*, 32(1):113-120.
- Savrun, M. (2005). Emosyonel Sistem ve Stres. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinleri Medikal Açından Stes ve Çareleri Sempozyum Dizisi*, 47:75-88.
- Schwartz, S.M., De Blois, D., O'Barien, E.R. (1995). The Intima: Soil for Atherosclerosis and Restenosis. *Circ res*, 77:445-465.
- Schulte, C., Zeller, T. (2015). MicroRNA-Based Diagnostics and Therapy in Cardiovascular Disease—Summing up The Facts. *Cardiovasc Diagn Ther.*,5(16):17–36.
- Seshadri, N., Robinson, K. (2000). Homocysteine, B Vitamins, and Coronary Artery Disease. *Med Clin of North America*, 84:215-237.
- Sharp, P.A. (2009). The Centrality of RNA. *Cell*, 136:577-580.
- Shomron, N., Levy, C. (2009). MicroRNA-Biogenesis and Pre-miRNA Splicing Crosstalk. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2009:1-6.
- Simons, M., Raposo, G. (2009). Exosomes-Vesicular Carriers for Intercellular Communication. *Curr Opin Cell Biol*;21:575-81.
- Small, E.M., Frost, R.J.A., Olson, E.N. (2010). MicroRNAs Add A New Dimension to Cardiovascular Disease. *Circulation*, 121:1022–1032.

- Smith, J.D., Trogan, E., Ginsberg, M., Grigaux, C., Tian, J., Miyata, M. (1995). Decreased Atherosclerosis in Mice Deficient in Both Macrophage Colony-Stimulating factor (op) and Apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:8264-8268.
- Solak, H., Solak, T., Görmüş, N., Solak Görmüş, I. (2010). Koroner Arter Hastalıkları ve Cerrahisi. Efil Yayınevi, 1. Baskı, 33-36.
- Sonel, A. (2002). Kardiyoloji. Semih Ofset, Ankara, 4. Baskı, s498.
- Sterpetti, A.V., Cucina, D., D'Angelo, L.S., Cardillo, B., Cavallaro, A. (1993). Shear Stress Modulates The Proliferation Rate, Protein Synthesis and Mitogenic Activity of Arterial Smooth Muscle Cells. *Surgery*, 113:691-699.
- Suárez Y., Fernandez-Hernando C., Pober J.S., Sessa W.C. (2007). Dicer Dependent MicroRNAs Regulate Gene Expression and Functions in Human Endothelial Cells. *Circ Res.*, 100:1164–1173.
- Suárez, Y. (2010). Microregulation of Plaque Neovascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 30:1500–1501.
- Suárez, Y., Wang, C., Manes, T.D., Pober, J.S. (2010). Cutting Edge: TNF-Induced MicroRNAs Regulate TNF-Induced Expression of E-Selectin and Intercellular Adhesion Molecule-1 on Human Endothelial Cells: Feedback Control of Inflammation. *J Immunol*, 184:21–25.
- Sun, X., Belkin, N., Feinberg, M.W. (2013). Endothelial MicrRNAs and Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*, 15:372.
- Suriyaphol, P., Fenske, D., Zahringer, U., Han, S.R., Bhakdi, S., Husmann, M. (2002). Enzymatically Modified Nonoxidized Low-Density Lipoprotein Induces Interleukin-8 in Human Endothelial Cells: Role of Free Fatty Acids. *Circulation*, 106:2581–2587.
- Stanley, L. (2000). Robbins Temel Patoloji. Saunders Company (Editör: Uğur Çevikbaş), 6.Basm s:283.
- Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C., Witztum, J.L. (1989). Beyond Cholesterol, Modifications of Low-Density Lipoprotein That Increase Its Atherogenicity. *N Engl J Med*, 320:915-924.
- Sydell and Arnold Miller Family Kalp ve Damar Enstitüsü (2000-2009). Koroner Arter Hastalık Tedavisi Rehberi. [www.clevelandclinic.org/heart](http://www.clevelandclinic.org/heart)



- Tabas, I., Williams, K.J., Boren, J. (2007). Subendothelial Lipoprotein Retention as The Initiating Process in Atherosclerosis: Update and Therapeutic Implications. *Circulation*, 116:1832–1844.
- Tang, L., Mamotte, C.D., Van Bockxmeer, F.M., Taylor, R.R. (1998). The Effect of Homocysteine on DNA Synthesis in Cultured Human Vascular Smooth Muscle. *Atherosclerosis*, 136:169-173.
- Taubman, M.B. (2001). Atherosclerosis, Thrombosis and Coroner Artery Disease. *Hematology*, Chapter:130, s:1743-1752.
- Temel, İ., Özerol, E. (2002). Homosistein Metabolizma Bozuklukları ve Vasküler Hastalıklarla İlişkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9:149-157.
- The ENCODE Project Consortium (2007). Identification and Analysis of Functional Elements in 1% of The Human Genome by The ENCODE Pilot Project. *Nature*, 447:799-816.
- Thomson, D., Edelsberg, J., Colditz, G.A. (1999). Lifetime Health and Economic Consequence of Obesity. *Arch Intern Med*, 159:2177-2813.
- Tijssen, A.J., Pinto, Y.M., Creemers, E.E. (2012). Circulating MicroRNAs as Diagnostic Biomarkers for Cardiovascular Diseases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 303:1085-1095.
- Togliatto, G., Trombetta, A., Dentelli, P., Rosso, A., Brizzi, M.F. (2011). MiR-221/MiR222-Driven Post-Transcriptional Regulation of P27KIP1 and P57KIP2 is Crucial for High-Glucose- and AGE-Mediated Vascular Cell Damage. *Diabetologia*, 54(7):1930–1940.
- Tokgözoğlu, L. (2003). Aterosklerozun Genetiği. Ateroskleroz ve Serebrovasküler Hastalıklar, İstanbul Tayf Matbacılık, 1. Baskı:15-25.
- Tsai, J.C., Perrella, M.A., Yoshizumi, M., Hsieh, C.M., Haber, E., Schlegel, R., Lee, M.E. (1994). Promotion of Vascular Smooth Muscle Cell Growth by Homocysteine: A Link to Atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91:6369-6373.
- Tsai, P.C., Liao, Y.C., Wang, Y.S., Lin, H.F., Lin, R.T., Juo, S.H. (2013). Serum MicroRNA-21 and MicroRNA-221 as Potential Biomarkers for Cerebrovascular Disease. *J. Vasc. Res.*, 50:346-354.
- Urbich, C., Kuehbacher, A., Dimmeler, S. (2008). Role of MicroRNAs in Vascular Diseases, Inflammation and Angiogenesis. *Cardiovascular Research*, 79:581–588.

- Vallace, P. (1996). Vascular Endothelium, Its Physiology and Pathophysiology. Weatherall DJ et al. Oxford text book of medicine, 3rd ed Oxford Medical Publications, 2:2295-2300.
- Van Der Wal, A.C., Becker, A.E., Van Der Loos, C.M., Das, P.K. (1994). Site of Intimal Rupture or Erosion of Thrombosed Coronary Atherosclerotic Plaques is Characterized by An Inflammatory Process Irrespective of The Dominant Plaque Morphology. *Circulation*, 89:36-44.
- Vane, J.R., Anggard, E.E., Botting, R.M. (1990). Regulatory Functions on The Vascular Endothelium. *N Eng J Med*, 323:27-36.
- Vasa-Nicotera, M., Chen, H., Tucci, P., Yang, A.L., Saintigny, G., Manghini, R., Mahe, C., Agostini, M., Knight, R.A., Melino, G., Federici, M. (2011). MiR-146a is Modulated in Human Endothelial Cell with Aging. *Atherosclerosis*, 217(2):326–330.
- Vickers, K.C., Palmisano, B.T., Shoucri, B.M., Shamburek, R.D., Remaley, A.T. (2011). MicroRNAs are Transported in Plasma and Delivered to Recipient Cells by Highdensity Lipoproteins. *Nat Cell Biol.*,13:423–433.
- Volinia, S., Calin, G.A., Liu, C.G., Ambs, S., Cimmino, A., Petrocca, F., Visone, R., Iorio, M., Roldo, C., Ferracin, M., Prueitt, R.L. Yanaihara, N., Lanza, G., Scarpa, A., Vecchione, A., Negrini, M., Harris, C.C., Croce, C.M. (2006). A MicroRNA Expression Signature of Human Solid Tumors Defines Cancer Gene Targets. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 103:2257-2261.
- Wang, K., Zhang, S., Weber, J., Baxter, D., Galas, D.J. (2010). Export of MicroRNAs and MicroRNA-Protective Protein by Mammalian Cells. *Nucleic Acids Research*, 1-12.
- Wang, K., Yuan, Y., Cho, J.H., McClarty, S., Baxter, D., Galas, D.J. (2012). Comparing The MicroRNA Spectrum Between Serum and Plasma. *Plos ONE*, 7(7):e41561.
- Weaver, C.T., Harrington, L.E., Mangan, P.R., Gavrieli, M., Murphy, K.M. (2006). Th17: An Effector CD4 T Cell Lineage With Regulatory T Cell Ties. *Immunity*, 24:677-688.
- Weber, C., Schober, A., Zerneck, A. (2010). MicroRNAs in Arterial Remodelling, Inflammation and Atherosclerosis. *Curr Drug Targets*, 11(8):950-956.
- Weber, M., Baker, M.B., Patel, R.S., Quyyumi, A.A., Bao, G., Searles, C.D. (2011). MicroRNA Expression Profile in CAD Patients and The Impact of ACEI/ARB. *Cardiol Res Pract*, 2011: 532915.

- Wei, Y., Schober, A., Weber, C. (2012). Pathogenic Arterial Remodeling: The Good and Bad of MicroRNAs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 304:1050-1059.
- Williams, K.J., Tabas, I. (1998). The Response-to-Retention Hypothesis of Atherogenesis Reinforced. *Curr. Opin. Lipidol*, 9:471-474.
- Williams, R.R., Hopkins, P.N., Wu, L.L., Schumacher, C., Hunt, S.C. (1994). Evaluating Family History to Prevent Early Coronary Heart Disease. Primer in Preventive Cardiology, (editors, Pearson, T.A., Criqui, M.H., Luepker, R.V., Oberman, A., Winston, M.), Dallas: American Heart Association, 93-106.
- Willingham, A.T., Gingeras, T.R. (2006). TUF Love for “Junk” DNA. *Cell*, 125:1215-1220.
- Wilson, P.W., D’Agostino, R.B., Levy, D., Belanger, A.M., Silbershatz, H., Kannel, W.B. (1998). Prediction of Coronary Heart Disease Using Risk Factor Categories. *Circulation*, 97:1837-1847.
- Wood, D., De Backer, G., Faergeman, O., Graham, I., Mancia, G., Pyörälä, K. (1998). Prevention of Coronary Heart Disease in Clinical Practise. *Eur Heart J*, 19:1434-1503.
- Xu, Q., Willeit, J., Marosi, M., Kleindienst, R., Oberhollenzer, F., Kiechi, S., Stulng, T., Luef, G., Wick, G. (1993). Association of Serum Antibodies to Heat Shock Protein 65 with Carotid Atherosclerosis. *Lancet*, 341:225-229.
- Yazıcıoğlu, L., Aral, A., Akalın, H. (1999). İnternal Mammarian Arter Greftlerinde Ateroskleroz Gelişimi. *GKDC Dergisi*, 7:195-199.
- Yoshida, H., Kondratenko, N., Green, S., Steinberg, D., Quehenberger, O. (1998). Identification of The Lectin-Like Receptor for Oxidized Lowdensity Lipoprotein in Human Macrophages and Its Potential Role as A Scavenger Receptor. *Biochem J*, 334:9-13.
- Yudkin, J.S., Stehouwer, C.D.A., Emeis, J.J., Coppel, S.W. (1999). C-Reactive Protein in Wealthy Subjects: Associations with Obesity, Insulin Resistance, and Endothelial Dysfunction Apotential Role for Cytokines Originating from Adipose Tissue? *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 19:972-978.
- Yüksel, H. (2006). Aterosklerotik Kardiyovasküler Hastalıklarda Primer ve Sekonder Korunma. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi*, 52:77-88.
- Zengin, H. (2011). Ateroskleroz Patogenezi. *J. Exp. Clin. Med.*, 29:101-106.

- Zernecke, A., Bidzhikov, K., Noels, H., Shagdarsuren, E., Gan, L., Denecke, B., Hristov, M., Köppel, T., Jahantign, M.N., Lutgens, E., Wang, S., Olson, E.N., Schober, A., Weber, C. (2009). Delivery of MicroRNA-126 by Apoptotic Bodies Induces CXCL12-Dependent Vascular Protection. *Sci Signal*, 2(100):ra81.
- Zernecke, A. (2012). MicroRNAs in The Regulation of Immune Cell Functions Implications for Atherosclerotic Vascular Disease. *Thromb Haemos*, 107:626-633.
- Zhang, X., Shao, S., Geng, H., Yu, Y., Wang, C., Liu, Z., Yu, C., Jiang, X., Deng, Y., Gao, L., Zhao, J. (2014). Expression Profiles of Six Circulating MicroRNAs Critical to Atherosclerosis in Patients with Subclinical Hypothyroidism: A Clinical Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 95(5):E766-774.
- Zhu, N., Zhang, D., Chen, S., Liu, X., Lin, L., Huang, X., Guo, Z., Liu, J., Wang, Y., Yuan, W., Qin, Y. (2011). Endothelial Enriched MicroRNAs Regulate Angiotensin II-Induced Endothelial Inflammation and Migration. *Atherosclerosis*, 215(2):286-293.
- Zieske, J.D. (2000). Expression of Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors During Corneal Wound Repair. *Prog Retin Eye Res.*, 19(3):257-270.

## EKLER

### EK 1. Bilgilendirilmiş Olur Formu

#### GENETİK ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

##### LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Ateroskleroza etkileyen hastalıkların genetik (kalıtsal) nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Koroner Arter Hastalarının Plaklarında ve Dolaşımındaki Uzun Kodlama Yapmayan RNA İfade Düzeylerinin İncelenmesi”dir. Bu çalışmadaki temel amaç; Ateroskleroza neden olan genetik mekanizmaların araştırılmasıdır.

Bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni çocuğunuzda/ailenizin bir üyesinde kalp damar hastalığı şikâyetinin bulunması/ tanısının konulmuş olmasıdır. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı’nda bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir. Kendinizde bir şikâyet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı 20’dir.

Bu çalışmayı yapabilmek için geçirmiş olduğunuz by-pass ameliyatı sırasında sizden alınmış olan dokularınızı kullanacağız. Bu dokudan genetik materyal RNA elde edilecektir. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Doku alınması sırasında oluşabilecek riskler: Rutin By-Pass ameliyatı yapılacaktır. By-pass ameliyatı dışında alınacak doku ile ilgili başka bir risk bulunmamaktadır. By-pass ameliyatının gereği olarak bu dokular alınıp atılmaktadır. Bizim amacımız bu dokuları atmadan araştırma için saklamaktır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

**Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar:**Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size veya çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar verirseniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden destekleyici/araştırmacı sorumludur.

**Doku Örneklerinin Saklanması:** Sizden alınan örneklerin kullanımı bu olur formunda tanımlanan araştırma ile sınırlı olacaktır. Eğer bu örnekleri bu olur formunda tanımlanmayan başka test/amaçlar için kullanmak istersek, önce Etik Kurul'a onay verilmesi için başvurulacaktır. Eğer yeni çalışma onaylanacak olursa sizden başka bir bilgilendirilmiş olur formu imzalamanız istenecektir.

*Veya*

Bu bilimsel araştırma sırasında alınan kan örneklerinin tamamı kullanılmayıp bir bölümü benzeri araştırmalarda kullanılmak üzere saklanabilir. Lütfen aşağıdaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyiniz.

( ) Kan ve DNA örneklerinin sadece bu çalışmayla ilgili olarak kullanılmasını istiyorum. Çalışma bitiminde kalan örneklerin uygun şekilde yok edilmesini istiyorum. İlerde yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

( ) Kan ve DNA örnekleri bu çalışmada kullanıldığı gibi gelecekteki hastalığımla ilgili diğer bilimsel çalışmalarda kullanılabilir. Ancak kalan örneklerimin hastalığım dışındaki başka bir araştırmada kullanılmasını uygun bulmuyorum.

( ) Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileri çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

( ) Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

( ) Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum ve gelecekte de her türlü genetik çalışmada anonim (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

\*Kodlanmış örnek: Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sayın Prof. Dr. Öcal Berkan ve Prof. Dr. Birhan Yılmaz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp-Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (gönüllü) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile

yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Prof. Dr. Öcal Berkan'ı 0532 786 90 21 no.'lu telefon ve Tıp Fakültesi Kalp-Damar Cerrahisi Anabilim Dalı'nda arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersen, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI		
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		



## İZİNLER

### EK 2. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

#### KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Aterosklerozlu Hastaların Koroner Arter Plaklarında ve Doluşımlarındaki mikroRNA-221/222 İfade Düzeylerinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başhekimlik Girişi TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 258 00 25
	FAKS	0 346 258 00 24
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Serdal Arslan			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	--			
	DESTEKLEYİCİ	--			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	--			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	--			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma	<input checked="" type="checkbox"/>				
Diger ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Aterosklerozlu Hastaların Koroner Arter Plaklarında ve Dolaşımlarındaki mikroRNA-221/222 İfade Düzeylerinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2015-03/62	Tarih: 31.03.2015					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmann/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmann/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.						
İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.							

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Emin Yener Gültekin

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Emin Yener Gültekin	Üroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Kürşat Karadayı	Genel Cerrahi	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hülya Toker	Periodontoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayşe Demirkazık Çançalar	Biyofizik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Aynur Engin	Enfeksiyon Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Fatih Kılıçlı	Endokrinoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Fatih Bolat	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ziynet Çınar	Biyoistatistik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Aterosklerozlu Hastaların Koroner Arter Plaklarında ve Dolaşımındaki mikroRNA-221/222 İfade Düzeylerinin İncelenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Yrd. Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinti
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Altun	Tıbbi Farmakoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinti
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Aile Hekimi	Sivas Halk Sağlığı Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Hüseyin Saygın	Üroloji	Sivas Devlet Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğr. Gör. Engin Daşlı	Avukat	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Şemsettin Ağtaş.	Biyoloji Öğretmeni	Sivas Lisesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

**Adı-Soyadı:** Aslıhan Esra BİLDİRİCİ

**Doğum Yeri ve Tarihi:** Sivas-1991

**Medeni Hali:** Bekar

**Yabancı Dil:** İngilizce

**İletişim Adresi:** Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 58140-Sivas

**E-posta Adresi:** aslihanbildirici@hotmail.com

### Eğitim ve Akademik Durumu

**Lise:** Sivas Selçuk Anadolu Lisesi, 2009

**Lisans:** Cumhuriyet Üniversitesi, 2013

### İş Tecrübesi

Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastahanesi      Biyolog,      2014-2015